

多裂叶荆芥离体再生体系的建立

刘雯雯¹, 梁玉玲^{1,2}, 管延英³, 鲜于梁艳¹

(1. 河北大学 生命科学学院, 河北 保定 071002; 2. 河北省生物工程技术研究中心, 河北 保定 071002;

3. 保定学院 生化系, 河北 保定 071000)

摘要:以多裂叶荆芥无菌幼苗根、茎段、叶片等为外植体, 进行不定芽离体再生, 建立了多裂叶荆芥离体快速繁殖体系, 研究了不同外植体和附加不同外源激素配比对不定芽离体再生的影响。结果表明: 多裂叶荆芥离体再生的最佳外植体为带有叶腋的茎段, 诱导不定芽再生的适宜培养基为 MS+0.2 mg/L NAA+1.0 mg/L TDZ, 每个外植体产生不定芽数平均为 18 个; 不定芽增殖培养每 4 周为 1 个周期, 理论年繁殖系数可达 1×18^{12} ; 当不定芽生长至 3~4 cm 时移入生根培养基诱导生根; 适宜的生根培养基为 MS+0.2 mg/L NAA, 移栽成活率为 53.85%。

关键词:多裂叶荆芥; 离体再生; 6-BA; TDZ

中图分类号:R 282.71 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)-06-0107-05

多裂叶荆芥(*Nepeta multifida* (L.) Briq.) 属唇形科裂叶荆芥属一年生草本植物, 具有解表散风、透疹功效, 用于感冒、头痛、麻疹、风疹和疮疡初起, 炒炭后可用于消炎、止血等^[1], 为八大祁药之一。中药荆芥为裂叶荆芥和多裂叶荆芥的茎叶和花叶, 药用价值高^[2]。多裂叶荆芥喜阳光充足, 怕干旱, 生长期忌大雨, 雨水过多容易导致大面积死亡, 忌重茬, 种植风险较大。目前国外对荆芥的研究多集中于非挥发油的化学部分^[3], 如在荆芥当中提取一些新的化合物具有抗真菌的活性^[4], 另外荆芥还可作为一种抗焦虑药物使用^[5]。国内则对挥发油的研究较多, 包括挥发油的化学组成、炮制对油的影响、制剂、药理作用、以挥发油为主要成分的药材质量控制等方面^[3]。而对多裂叶荆芥再生体系建立的研究甚少且不全面。该研究利用多裂叶荆芥根、带叶腋的茎段、不带叶腋的茎段和叶片 4 种幼嫩外植体材料进行离体再生, 建立起多裂叶荆芥离体快繁体系, 以期为其大规模工厂化育苗奠定基础, 并为利用基因工程技术进行品质改良提供基本的技术保障。

1 材料与方法

1.1 试验材料

多裂叶荆芥(*Nepeta multifida* (L.) Briq.) 成熟种子

购自河北省安国药材市场。将种子用 70% 的酒精消毒 1 min, 1.5% 的次氯酸钠消毒 10~15 min, 用无菌水冲洗 4~5 遍, 接种于 MS 培养基上, 25℃ 下无菌萌发, 光照时间 14 h/d。约 3 d 后种子萌发, 培养 20 d 后, 待无菌苗高 4 cm 以上时分别切取根、带叶腋茎段、不带叶腋茎段和叶片作为外植体进行培养。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基成分与培养条件 基本培养基为含 3% 蔗糖和 0.7% 琼脂粉的 MS 培养基(pH 5.8)。MS 基本培养基附加不同浓度的植物激素组合用于诱导不定芽再生和诱导根的再生。培养基配制后经 121℃ 高压灭菌 15 min 待用。外植体接种后, 在温度(25±2)℃、光照强度 3 000 lx、光照时间 16 h/d 条件下培养。

1.2.2 诱导不定芽再生 在 MS 培养基中固定 NAA 的浓度为 0.2 mg/L, 分别添加 0、0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L 等不同浓度的 6-BA 或 TDZ 诱导不定芽再生, 观察 6-BA 以及 TDZ 对外植体不定芽诱导的影响。选取根、带叶腋的茎段、不带叶腋的茎段、叶片 4 种不同种类的外植体, 分别接种到不同激素梯度的分化培养基中进行培养。4 种外植体选择要求长势相近, 每种外植体每瓶接种 5 个, 共接种 10 瓶。接种后观察不定芽的再生情况, 筛选出不定芽诱导的适宜培养基。待不定芽生长形成丛生芽后, 将不定芽分割后进行继代培养以促进芽的增殖。愈伤组织诱导率=(形成愈伤组织的外植体个数/接种外植体个数)×100%; 生根率=(分化根的外植体个数/接种外植体个数)×100%; 分化率=(分化出芽的外植体个数/接种外植体个数)×100%; 丛生芽率=(分化出丛生芽的外植体个数/接种外植体个数)×100%; 每个外植体上超过 2 个芽均定义为丛生芽。

第一作者简介:刘雯雯(1988-), 女, 河北衡水人, 硕士, 研究方向为植物基因工程及分子生物学。E-mail: xiaokelala1214@163.com.

责任作者:梁玉玲(1965-), 女, 河北保定人, 教授, 研究方向为植物基因工程及分子生物学。E-mail: yuling_liang@163.com.

基金项目:河北大学自然科学研究计划资助项目(2011-217)。

收稿日期:2013-11-18

1.2.3 诱导不定芽生根 分别采用 1/2MS、MS+0.1 mg/L NAA、MS+0.2 mg/L NAA、MS+0.1 mg/L IBA 培养基为诱导不定芽生根的培养基。将芽丛中生长 1 个月,高 1~2 cm 健壮且生长一致的芽苗切下接种于以上培养基中。每瓶接种 5 个,接种 10 瓶。接种后观察不定芽的生长和生根状况。生根率(%)=(生根苗个数/总再生苗个数)×100%;生根数(条)=每个再生苗生根数之和/生根苗个数。

1.2.4 练苗与移栽 当根长至 3~4 cm 左右时,练苗 3 d 后将小苗取出,移栽入花卉土中,20~25℃的环境中培养,30 d 后统计存活率,期间注重保湿管理。

1.2.5 年繁殖系数的计算 参考计算公式 $y=m \times x^n$, 其中, y =年繁殖系数; m =无菌母株苗数; x =每个培养

周期增殖倍数; n =全年可增殖的周期数即 $n=365/T$; T =每个继代周期的天数;多裂叶荆芥的理论上的年繁殖系数为 $y=1 \times 18^{12}$ 。

2 结果与分析

2.1 多裂叶荆芥离体快繁体系的建立

通过种子消毒获得无菌苗,然后选取其根、带叶腋的茎段和不带叶腋的茎段、叶片作为外植体在不同培养基方案下进行不定芽诱导。研究发现,带叶腋的茎段,分化速度最快,2~3 d 叶腋处出现丛生芽,7 d 左右茎段生理学下端切口处出现嫩绿色愈伤组织,15 d 后愈伤组织上再生出丛生芽,丛生芽率最高可达到 76%。培养 1 个月后统计再生丛生芽数,发现平均每个外植体可产

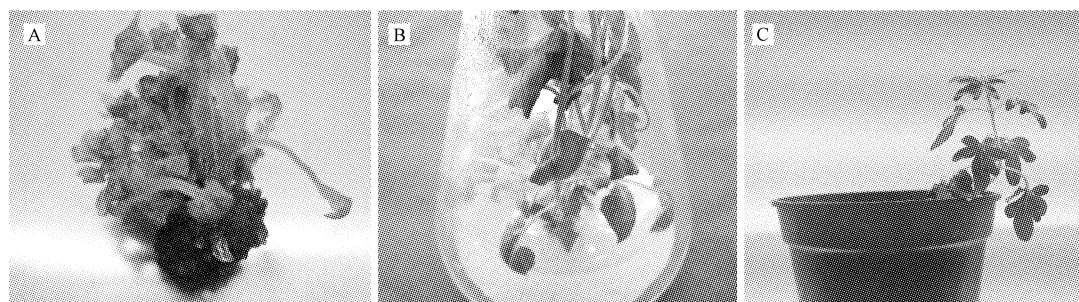


图 1 多裂叶荆芥的组织培养与植株再生

注:(A)带叶腋茎段再生的丛生芽;(B)再生植株;(C)移栽苗。

Fig. 1 Tissue culture and plantlet regeneration of *Nepeta multifida* (L.) Briq.

Note:(A) Cespitose buds of stem with axillary;(B) Plant regeneration;(C) Seedling transplanting.

生 18 个丛生芽(图 1A)。虽然在培养过程中带叶腋茎段下端的愈伤组织出现了褐化现象,但并不影响丛生芽的再生与生长。如果将愈伤组织与外植体分离开进行继代培养,愈伤组织则会褐化死亡。将 2~3 cm 长的丛生芽从基部切割下来进行继代培养,可再产生丛生芽。待苗长到 3 cm 左右时,转入生根培养基诱导不定芽生根。1 个月之后获完整的多裂叶荆芥再生植株(图 1B),练苗后进行移栽(图 1C)。

2.2 不同外植体诱导不定芽再生情况比较

以多裂叶荆芥无菌苗根、带叶腋茎段、不带叶腋茎段、叶片 4 种外植体接种在不同的不定芽诱导培养基上诱导不定芽再生,培养 30 d 后比较不同外植体的再分化情况。结果表明,多裂叶荆芥不同外植体的再分化能力明显不同,根在培养 5~7 d 开始肿大膨胀形成绿色愈伤组织,愈伤组织上可再分化出新的根,而没有不定芽的分化(图 2A);带叶腋茎段在培养 1~2 d 后,叶腋处便开始再生出不定芽,随后基部产生嫩绿色块状愈伤组织,愈伤组织上再生出新的不定芽(图 2B)和根;不带叶腋的茎段则不易分化出芽,而是在切口处脱分化形成愈伤组织,培养 15 d 可再生出根(图 2C);叶片则在培养 7~10 d 时切口边缘膨胀形

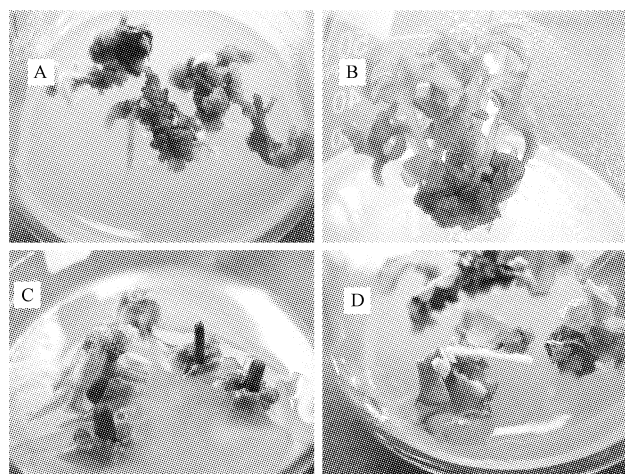


图 2 多裂叶荆芥不同外植体培养 1 个月后的生长情况

注:(A)根愈伤组织和再生根;(B)带叶腋的茎段再生的不定芽;(C)不带叶腋茎段愈伤组织和再生根;(D)叶片愈伤组织和再生根。

Fig. 2 The growth of different explants of *Nepeta multifida* (L.) Briq.

Note:(A) Root callus and root regeneration;(B) Adventitious bud of stem with axillary;(C) Callus of stem without axillary and root regeneration;(D) Leaf callus and root regeneration.

成浅绿色愈伤组织,培养 15 d 左右开始再生出少量的根(图 2D)。

多裂叶荆芥无菌苗的根、带叶腋茎段、不带叶腋茎段和叶片等外植体均可直接分化,其中根、不带叶腋茎段和叶片可分化出根,分化出根的百分率最高分别是

表 1 不同细胞分裂素对多裂叶荆芥不同外植体分化根的影响

Table 1 The effect of different cytokinins on root differentiation of different explants of *Nepeta multifida* (L.) Briq.

细胞分裂素浓度 Concentration of cytokinins /mg · L ⁻¹	根 Root		根分化率 Differentiation rate of root/ %				叶片 Leaf	
			不带叶腋茎段 Stem without axillary					
	6-BA	TDZ	6-BA	TDZ	6-BA	TDZ	6-BA	TDZ
0	98.00	—	50.00	—	3.33	—		
0.5	95.00	96.00	30.00	0	22.00	0		
1.0	84.00	60.00	15.00	0	22.00	0		
1.5	74.00	57.45	0	0	2.00	0		
2.0	31.00	25.00	0	0	3.00	0		
3.0	28.00	14.00	0	0	4.00	0		
4.0	33.33	—	0	—	0	—		

注:“—”代表试验未进行。下同。

2.3 不同细胞分裂素对带叶腋茎段分化不定芽的影响

将多裂叶荆芥带叶腋茎段接种到不同 6-BA 和 TDZ 浓度培养基上,30 d 后统计不定芽分化情况。由表 2 可知,细胞分裂素为 6-BA 时,带叶腋茎段芽分化率可达到 94.29%以上,随着 6-BA 浓度的升高,丛生芽率也升高,

表 2 不同细胞分裂素对多裂叶荆芥带叶腋茎段分化不定芽的影响

Table 2 The effect of different cytokinins on adventitious bud regeneration from segments of stem with axil of the *Nepeta multifida* (L.) Briq.

细胞分裂素浓度 Concentration of cytokinins /mg · L ⁻¹	愈伤组织诱导率		根分化率		芽分化率		丛生芽率	
	Callus induction rate/ %		Differentiation rate of root/ %		Differentiation rate of bud/ %		Cespitose buds rate/ %	
	6-BA	TDZ	6-BA	TDZ	6-BA	TDZ	6-BA	TDZ
0.5	100.00	100.00	20.00	0	100.00	100.00	10.00	26.00
1.0	100.00	100.00	13.33	0	100.00	100.00	13.33	76.00
1.5	70.00	100.00	5.00	0	100.00	100.00	25.00	44.90
2.0	77.14	100.00	5.71	0	100.00	100.00	22.86	33.33
3.0	97.14	100.00	0	0	100.00	94.00	57.14	20.00
4.0	54.29	—	0	—	94.29	—	48.57	—

细胞分裂素为 TDZ 时,带叶腋茎段芽分化率均在 94.00%以上,愈伤组织诱导率均为 100.00%,丛生芽率随着 TDZ 的浓度的升高先升高后降低,当 TDZ 的浓度为 1.0 mg/L 时,带叶腋茎段的分化情况最好,无玻璃化现象,分化率 100.00%,且丛生芽率达到最高值 76.00%,平均丛生芽数为 18 个。

对比 2 种细胞分裂素丛生芽率、丛生芽数和不定芽生长状况,TDZ 作为细胞分裂素是最佳选择,MS+0.2 mg/L NAA+1.0 mg/L TDZ 为最优的多裂叶荆芥不定芽诱导培养基方案。

2.4 细胞分裂素对不同外植体诱导愈伤组织的影响

试验选取的 4 种外植体均可产生愈伤组织,其中,根系表面肿大产生浅褐色愈伤组织,最后愈伤组织上面产生新根,根很难分化出芽;带叶腋茎段在形态学下端切口处产生绿色愈伤组织,并分化出根系和不定芽;不带叶腋茎段两端切口处产生愈伤组织,低浓度细胞分裂素下,产生新根,高浓度细胞分裂素下不分化,保持愈伤化状态,20 d

98.00%、50.00%、22.00%(表 1),而带叶腋茎段分化不定芽分化率最高可达到 100.00%(表 2),分化不定芽能力显然要强于另外 3 种。且分化出不定芽可继续进行增殖,最终进行大规模工厂化育苗。4 种外植体对比,带叶腋茎段最适合诱导不定芽再生。

当 6-BA 浓度为 3.0 mg/L 时丛生芽率达到最大 57.14%。因此,MS+0.2 mg/L NAA+3.0 mg/L 6-BA 最适合带叶腋茎段的不定芽诱导,平均丛生芽数为 9 个,但不定芽会出现玻璃化现象,玻璃化苗在后期的生根培养基中又恢复健康状态。

左右愈伤组织褐化;叶片在切口部位产生绿色愈伤组织,低浓度细胞分裂素下可产生少量根,高浓度细胞分裂素下保持愈伤化状态不分化,20 d 后愈伤组织褐化。

由表 3 可知,叶片、带叶腋茎段和不带叶腋茎段均可以形成绿色愈伤组织。叶片生成愈伤组织诱导率普遍较高,6-BA 浓度在 0.5~2.0 mg/L 之间达到最高,愈伤组织诱导率高达 90.00%,但是 15 d 之后开始出现褐化;不带叶腋茎段在 1.5 mg/L 时,愈伤组织诱导率最高,为 100.00%,但褐化现象同样存在;带叶腋茎段在形态学下端也会产生愈伤组织,在 6-BA 浓度为 3.0 mg/L 时候愈伤组织诱导率最高为 97.14%,且比其它 6-BA 浓度处理愈伤组织块状大、颜色嫩绿、生长状况健康,后期会褐化,但对不定芽生长无影响。由此可知,带叶腋愈伤组织虽然后期出现褐化现象,但是对不定芽生长影响较低,而叶片和不带叶腋茎段,应采取多次继代培养基和加入活性炭等方法去改善褐化的状况,保持健康的愈伤化状态,此步骤还有待探究。而 TDZ 浓度变化

对愈伤组织的影响不显著,诱导叶片产生愈伤率均为100.00%,但是6-BA具有高效、稳定、廉价和易于使用等特点,应用更为广泛。

表3 不同6-BA浓度对多裂叶荆芥不同外植体愈伤组织诱导率的影响

Table 3 The effects of different 6-BA concentration on callus induction rate of the different explants of *Nepeta multifida* (L.) Briq.

6-BA 浓度 Concentration of 6-BA/mg · L ⁻¹	根 Root	带叶腋茎段 Stem with axillary	不带叶腋茎段 Stem without axillary	叶片 Leaf
0	74.00	95.00	46.00	70.00
0.5	95.00	100.00	65.00	90.00
1.0	100.00	100.00	85.00	90.00
1.5	100.00	70.00	100.00	88.00
2.0	100.00	77.14	86.67	88.00
3.0	100.00	97.14	66.67	84.00
4.0	84.44	54.29	46.94	76.00

2.5 生根培养

将丛生芽中高度达2~3 cm的芽切下,接种到不同的生根培养基中,3~4 d后形态学下端开始形成愈伤组织,7 d开始产生新根。表4为不同激素组合对多裂叶荆芥培养30 d后生根情况统计,当MS+0.2 mg/L NAA时,生根率达到90.00%,幼苗长势较好,无褐化现象,株高能达到5 cm左右;根系粗壮,且平均每个芽能产生4条粗壮幼根。

表4 不同的激素组合对多裂叶荆芥再生植株生根的影响

Table 4 The effects of different hormone combination on rooting of regenerated plantlet of *Nepeta multifida* (L.) Briq.

培养基 Medium	生根数 Rooting number/条	生根率 Rooting rate/%	生长情况 Growth
1/2MS	3	66.67	幼苗全部出现褐化、枯萎现象,长势差
MS+0.1 mg/L NAA	3	54.55	幼苗长势较高,能达到5 cm左右,个别褐化现象,个别长出花穗,生根较粗壮
MS+0.2 mg/L NAA	4	90.00	幼苗长势较好,无褐化现象,株高能达到5 cm左右,生根很粗壮
MS+0.1 mg/L IBA	2	72.73	幼苗基部有褐化现象,长势较好,生乳白色小细根

2.6 练苗与移栽

当再生根长达3~4 cm左右时,打开瓶盖,在培养基表层铺一层无菌水以达到保湿和软化培养基作用。室内自然光照下练苗3 d后可将小苗取出,用自来水冲洗掉附着在苗上的培养基,直接将幼苗移栽入花卉土中,处于温度20~25℃的环境中,期间注重保湿管理。移栽出来的荆芥幼苗经过30 d的培养,成活率为53.85%。

3 讨论

该试验通过不同外植体的选择以及不同细胞分裂素处理,建立起多裂叶荆芥的快繁体系,带有叶腋的茎段在MS+0.2 mg/L NAA+1.0 mg/L TDZ培养基中平均诱

导出18个不定芽,切下不定芽可继续继代培养扩繁出丛生芽,也可在MS+0.2 mg/L NAA培养基中生根,最后移栽。此体系为其大规模工厂化育苗奠定基础,并为利用基因工程技术进行品质改良提供基本的技术保障。

栽培后期有些分化苗出现玻璃化现象,而转到生根培养基中之后却慢慢恢复正常,可能的原因是如Kevers等^[6]指出的,培养基中的细胞分裂素容易导致玻璃化。细胞分裂素的主要功能之一是促进芽的分化,而玻璃苗也易表现出茎节短、分枝多的特性。玻璃化苗产生率和细胞分裂素含量呈正相关^[7]。而试验中得出,使用6-BA极易产生玻璃化现象,浓度越高,玻璃化现象越严重;而TDZ则不易出现玻璃化,且诱导不定芽的最佳培养基方案所使用浓度也比6-BA低,这与上述预测原因相符。

叶片和不带叶腋茎段诱导的愈伤组织在15 d左右出现褐化现象,并无法增殖和分化,造成了多裂叶荆芥组织培养困难。出现褐化现象的多为木本植物,而多裂叶荆芥作为草本植物出现这种状况,恰恰说明了组培过程中褐化机理的复杂性、影响因子多样性、培养条件相关性的特点^[8]。可以通过尝试更换基本培养基,调整生长素、细胞分裂素,不同防褐化剂处理以及短时间多次继代等方法去抑制褐化的发生^[9]。此步骤有待今后试验求证。

目前的药市行家认为,由于市场需求量大,多裂叶荆芥的栽培很有前景和市场,另外多裂叶荆芥在东北等地亦作荆芥入药,因此多裂叶荆芥的快繁体系建立,有着很重要的价值。而且直接茎段取材,具有简易、快速、污染率低、繁殖系数高的特点^[10],短期内可以提供大量栽培用苗。

参考文献

- [1] 刘巨涛,杨智蕴. 裂叶荆芥中非挥发油化学成分的提取[J]. 解放军医学高等专科学校学报,1998,2(20):65-67.
- [2] 陈宏伟,崔林. 微波法提取荆芥叶中的挥发油[J]. 时珍国医国药,2002,13(10):589.
- [3] 吴婷. 荆芥现代研究概况[J]. 江苏中医药,2004,25(10):64-66.
- [4] Saxena J, Mathela C S. Antifungal activity of new compounds from *Nepeta leucophylla* and *Nepeta clarkei* [J]. Applied and Environmental Microbiology,1996,62(2):702-704.
- [5] Rabbani M, Sajjadi S E, Mohammadi A. Evaluation of the anxiolytic effect of *Nepeta persica* Boiss. in mice[J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine,2008,5(2):181-186.
- [6] Kevers C, Coumans M, Gaaspar T. Physiological and biochemical event leading to vitrification of plant culture *in vitro* [J]. Physioplant,1986,61(1):69-74.
- [7] 蔡祖国,徐小彪,周会萍. 植物组织培养中的玻璃化现象及其预防[J]. 生物技术通讯,2005,3(16):353-355.
- [8] 曹孜义,刘国民,王蒂,等. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州:甘肃科学技术出版社,1996.
- [9] 刘均利,马明东. 华盖木组织培养中褐化控制研究[J]. 浙江林业科技,2007,27(1):20-23.
- [10] 陈薇,寸守锐. 铁皮石斛茎段离体快繁[J]. 植物生理学通讯,2002,38(2):145.

正交优化西红花组培快繁优化

彭海君, 胡润淮

(浙江农林大学 林业与生物技术学院, 浙江 临安 311300)

摘要:以西红花带芽的球茎切块为外植体, 采用正交实验, 通过极差分析、方差分析和多重比较, 优选愈伤组织诱导条件、丛生芽增殖条件和球茎诱导条件。结果表明: 适宜愈伤组织诱导培养基为 1/2MS+NAA 2.0 mg/L+6-BA 0.4 mg/L; 丛生芽增殖培养基为 1/2MS+NAA 0.6 mg/L+6-BA 2.0 mg/L; 球茎诱导培养基为 1/2MS+NAA 0.5 mg/L+10%香蕉汁。

关键词:西红花; 正交实验; 诱导率; 组培; 快繁

中图分类号:R 282.71 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)06-0111-04

西红花(*Crocus sativus* L.)属鸢尾科番红花属球根类多年生草本植物, 别名藏红花、番红花, 素有“红色金子”、“植物黄金”等美称^[1], 原产于伊朗、西班牙、希腊等地中海沿岸地区, 我国于 20 世纪 60 年代引种栽培, 现上海、浙江、江苏、山东等地有较大规模栽植^[2]。西红花以花朵的红色柱头入药, 有解郁安神、活血化瘀之功效, 对

经期不调、气血瘀滞、肿痛、肝肿硬、中风、瘫痪、久咳、虚弱、炎症等有显著疗效, 且无毒副作用, 在民间广泛使用^[3-4]。现代药理研究表明, 西红花可辅助治疗和预防肝炎、肝硬化、肾病、冠心病、心绞痛、心脑血管疾病、肿瘤、调节内分泌、抗缺氧、提高免疫力等^[3]。西红花除了在传统和现代医药上具有很高的药用价值外, 作为一种珍贵调味剂、香料和染料在欧洲应用已经有几百年的悠久历史^[4]。

西红花染色体为三倍体, 花粉败育高, 开花后罕见结实, 只能靠球茎繁殖。西红花球茎繁殖率很低, 一般比率只有 1:(1.2~1.5), 因此繁殖速度较慢。组培快繁因其快速的繁殖能力而在许多濒危珍稀植物繁殖方面得到广泛应用。目前, 解决西红花球茎资源短缺的思

第一作者简介:彭海君(1988-), 男, 浙江临安人, 硕士研究生, 研究方向为药用植物资源利用。E-mail: penghaijun8881@163.com

责任作者:胡润淮(1957-), 男, 教授, 研究方向为药用植物化学分析检测。E-mail: hurh57@163.com

基金项目:2012 年浙江省大学生科技创新活动计划(新苗人才计划)资助项目(2012R412053)。

收稿日期:2013-11-22

Establishment of *in vitro* Regeneration System of *Nepeta multifida* (L.) Briq.

LIU Wen-wen¹, LIANG Yu-ling^{1,2}, GUAN Yan-ying³, XIANYU Liang-yan¹

(1. College of Life Sciences, Hebei University, Baoding, Hebei 071002; 2. Biological Engineering Technology Research Center in Hebei Province, Baoding, Hebei 071002; 3. Department of Biology and Chemistry, Baoding University, Baoding, Hebei 071000)

Abstract: Taking aseptic root, stem and leaf of *Nepeta multifida* (L.) Briq. as explants, *in vitro* regeneration of adventitious buds, *in vitro* rapid propagation system was established. The influence of adventitious bud regeneration between different explants and additional ratio of exogenous hormones were studied. The results showed that the best explant for adventitious buds regeneration *in vitro* was the segment of stem with axils of *Nepeta multifida* (L.) Briq. The optimum medium to induce adventitious buds regeneration was MS+0.2 mg/L NAA+1.0 mg/L TDZ, and each explant could produce average 18 adventitious buds. The cycle to cultivate adventitious buds was 4 weeks. The propagation coefficient in theory was 1×18^{12} . Move the adventitious bud into root medium to induce rooting when the bud grew to 3~4 cm. The best medium for the plantlet rooting was MS+0.2 mg/L NAA and the transplanting survival rate was 53.85%.

Key words: *Nepeta multifida* (L.) Briq.; *in vitro* regeneration; 6-BA; TDZ