

紫苏的组织培养及快繁技术研究

黄美娟, 张 蕾, 黄海泉

(西南林学院 园林学院, 云南 昆明 650224)

摘 要:以紫苏(*Perilla frutescens* (Linn) Britt)的种子获得无菌苗,取无菌苗的带节茎段为外植体,对影响紫苏丛芽增殖和生根的主要因子进行了研究。结果表明:紫苏种子较好的灭菌方法为:75%酒精 20 s+0.1%升汞 8 min;增殖培养基为:MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;生根培养基为:1/2 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;且移栽后成活率可达 90%以上。

关键词:紫苏;组织培养;快速繁殖

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)01-0198-03

紫苏(*Perilla frutescens* (Linn) Britt)为唇形科紫苏属草本植物,又称红苏、赤苏、香苏。高 1~1.5 m,茎绿或紫色;叶宽卵或圆形,具粗锯齿;粉红至紫红色穗状花序;全株密被长柔毛;小坚果灰褐色近球形;花、果期 8~12 月。原产东亚,不丹、印度、朝鲜及日本等地均有分布。在我国种植栽培有 2 000 多年的历史,为常用中药材,始载于《名医别录》,具有解表散寒、行气和胃的功能,全株均供药用和香料^[1-2]。近年来,紫苏因其特有的活性与营养物质及其景观效果,成为一种倍受世界关注的经济价值很高的多用途植物^[3]。俄罗斯、日本、美国、加拿大等国家对紫苏属植物进行了大量的商业性栽种,开发出了食用油、药品、腌渍品、化妆品等几十种产品^[4]。除具有良好的药用和营养价值外,又因其株形、叶型俱佳,叶片上绿下紫,粉红色穗状花序,具有很强的观赏价值。另外,其全株含有宜人的香气,在园林中适宜屏植,宜栽植做大型花坛中心或花境背景,是园林绿化的良好素材;同时还可作切花之用。

随着组织培养技术的不断发展,唇形科植物在组织培养方面取得了一定的成果,猫须草^[5]、丹参^[6]、黄芩^[7]、广藿香^[8]、鞘蕊花^[9]、丁香罗勒^[10]、红根草^[11]等组织培养已获得再生植株。而紫苏的组织培养及快繁技术尚未见报道。如能建立起一套完善的紫苏离体快繁体系,将为紫苏这一优良物种扩繁以及进行更深一步的研究开发和推广应用具有一定的参考和实用价值。

1 材料与方法

第一作者简介:黄美娟(1973-),女,硕士,讲师,研究方向为园林植物与观赏园艺生物技术。

通讯作者:黄海泉。E-mail:haiquan1@163.com。

基金项目:云南省高校园林植物与观赏园艺重点实验室资助项目。

收稿日期:2007-10-30

1.1 材料

以昆明世博园药草园提供的紫苏种子为材料。

1.2 方法

1.2.1 无菌苗的获得 选用饱满的紫苏种子用自来水浸泡 1 h,放入 5%洗衣粉溶液中搅拌 5 min,用水洗净,滤纸吸干后用 75%酒精处理 20 s,再用 0.1%升汞分别处理 6、8、10、12、15 min,用无菌水冲洗 5 次,放入培养基 MS+3.0%蔗糖+0.7%琼脂中,pH 5.8。

1.2.2 增殖培养 当无菌苗长至 3~4 cm 时剪取带节茎部接入增殖培养基中,以 MS 为基本培养基,附加不同浓度的 6-BA、KT,设 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 mg/L 5 个浓度梯度,NAA 浓度均为 0.1 mg/L,3.0%蔗糖和 0.7%琼脂,pH 5.8,具体组合详见表 2。

1.2.3 生根培养与移栽 生根基本培养基为 1/2 MS,附加 1.0 mg/L 6-BA 及不同浓度的 NAA,设 0.05、0.1、0.2 mg/L 3 个浓度梯度,3.0%蔗糖和 0.7%琼脂,pH 5.8,具体组合详见表 3。当根长至 2~3 cm 时进行练苗移栽。以上培养温度为(23±2)℃,光照条件为 1 500~2 000 Lx,光照时间为 12 h/d 左右。

1.3 评价项目

污染率=污染总数/接种总数×100%;

发芽率=发芽种子数/接种种子总数×100%;

增殖系数(倍)=转瓶后瓶数/转瓶前瓶数;

生根率(%)=生根的苗数/接入总苗数×100。

2 结果与分析

2.1 无菌苗的获得

由表 1 可以看出,不同的灭菌时间对紫苏种子的污染和发芽率有较大影响,污染率随着升汞灭菌时间的增加而降低,处理 A1 的污染率较高,达 70.8%;而 A2 的污染率显著下降,并趋于平稳。其发芽率表现为先升后降的趋势,主要是因为从 A2 开始便出现了灭死现象,当升汞处理时间为 15 min 时,灭死现象最为严重,导致其

污染率最低但发芽率不高。从生长状况来看, A2 较 A3~A5 出苗更为整齐, 生长更为健壮。因此, 综合其发芽率、污染率及生长态势, 紫苏种子较好的灭菌方法为: 75%酒精 20 s+0.1% HgCl 8 min。

表 1 不同处理对种子灭菌效果的影响

处理	70%酒精 /s	0.1%升汞 /min	接种数 /粒	污染数 /粒	污染率 /%	发芽数 /粒	发芽率 /%
A1	20	6	96	68	70.8	12	12.5
A2	20	8	96	32	33.3	54	56.3
A3	20	10	96	28	29.2	43	44.8
A4	20	12	96	20	20.8	28	29.2
A5	20	15	96	12	11.5	16	16.7

2.2 不同培养基对紫苏增殖效果的影响

由表 2 可知, 紫苏的增殖系数随着 6-BA 和 KT 浓度的升高呈上升趋势, 而且 6-BA 较 KT 的增殖系数大, 生长势强。当 6-BA、KT 浓度达 4.0 以上时, 苗纤细过密, 叶片小而薄, 呈水渍、透明状, 即出现玻璃化现象。当 KT 达到 6.0 mg/L 后, 生长更弱、更差。观察发现, B2 上苗的增殖系数较高, 生长粗壮, 叶色正常, 不需壮苗, 可直接用于生根。综合增殖系数、生长势等指标, 较好的增殖培养基为: MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

表 2 不同培养基对紫苏增殖效果的影响

处理	6-BA /mg·L ⁻¹	KT /mg·L ⁻¹	NAA	增殖系数	苗生长 状况
B1	1.0		0.1	3.8	苗粗壮、长势高
B2	2.0		0.1	4.6	苗较粗壮、长势较高
B3	4.0		0.1	4.9	苗较纤细、长势较高
B4	6.0		0.1	5.1	苗较纤细、长势较高
B5	8.0		0.1	5.6	苗纤细、长势低矮
B6		1.0	0.1	2.8	苗较纤细、长势较高
B7		2.0	0.1	2.7	苗较纤细、长势较高
B8		4.0	0.1	3.5	苗较纤细、长势较高
B9		6.0	0.1	4.2	苗纤细、长势低矮
B10		8.0	0.1	4.5	苗纤细、无明显长势

2.3 生根培养

剪取 3~4 cm 左右的带芽茎段转至生根培养基中, 据观察, 紫苏茎基部在接种后第 3 天开始产生愈伤组织, 6 d 后开始长出乳白色细根, 生根率均达 100%, 12 d 后根系长达 2~3 cm, 不同培养基中苗的生长情况见表 3。

表 3 不同培养基对紫苏生根的影响

处理	培养基/mg·L ⁻¹	生根状况
D1	1/2 MS+6-BA 1.0+NAA 0.05	纤细、数量少
D2	1/2 MS+6-BA 1.0+NAA 0.1	粗壮、数量多
D3	1/2 MS+6-BA 1.0+NAA 0.2	纤细、数量多

由表 3 可知, 紫苏根系在培养基 D2 中较其它培养基更为发达、粗壮, 其苗生长较快, 叶色浓绿, 因而较好的生根培养基为: 1/2 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

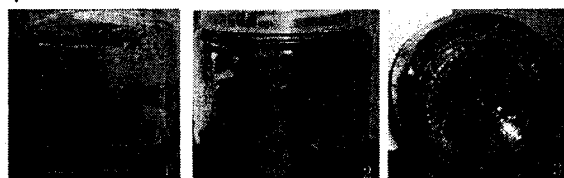
在生根培养第 13 天时即可打开培养瓶盖, 在室内

进行练苗 6 d 后, 将苗从瓶中取出, 洗净根系上的培养基, 移栽到泥炭土: 草木: 灰蛭石=5:2:3 的培养基质中, 注意浇水保湿消毒, 成活率可达 90% 以上。

3 讨论

紫苏全株密被长柔毛, 用其茎、叶作外植体, 很难对其彻底消毒, 对其幼嫩叶片作外植体进行诱导愈伤培养, 也能诱导出苗, 但污染率非常高。在种子灭菌过程中, 同时出现污染和灭死的现象, 可能是由于紫苏种子成熟不一的原因。

植物生长调节剂的种类、浓度及配比是影响植物组织培养最重要的因素, 细胞分裂素促进芽的分化。在紫苏组培过程中, 较低浓度的细胞分裂素有利于苗的生长, 过高浓度的细胞分裂素有利于芽的诱导, 但不利于苗的生长, 苗易出现玻璃化、叶片脱落等现象。因此, 在紫苏芽的诱导过程中, 细胞分裂素浓度不宜过高, 但对于其他生长调节剂及其组合对紫苏生长影响还有待于进一步的研究。



图版 紫苏增殖及生根培养

注: 1 紫苏增殖培养; 2, 3 紫苏生根培养。

参考文献

- [1] 刘合刚. 药用植物优质高效栽培技术[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001.
- [2] 傅立国, 陈潭清, 郎楷水, 等. 中国高等植物[M]. 9 卷. 青岛: 青岛出版社, 1999.
- [3] 高文远, 贾伟. 药用植物大规模组织培养[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [4] 于淑琦, 田永清. 我国常见草育种、发育和栽培研究进展[J]. 中草药, 2000, 31(1): 70-72.
- [5] 王连翠, 张玉翠. 猫须草的组织培养与植株再生[J]. 中国农村小康科技, 2005(12): 3.
- [6] 王晓立, 郝建平, 武宗信. 丹参茎尖培养与快速繁殖[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2004, 27(2): 182-184.
- [7] 丁如贤, 张汉明, 付翔. 黄芩茎段直接诱导丛生芽[J]. 中草药, 1998, 29(3): 5.
- [8] 肖省娥, 贺红, 徐鸿华. 广藿香组织培养与植株再生研究[J]. 中药材, 2001, 24(6): 6-7.
- [9] 罗桂芬. 精蕊花的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(2): 11.
- [10] 程治英. 毛叶丁香罗勒的快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1988(6): 13.
- [11] 黄炼栋, 徐寅泽, 胡之璧. 红根草的离体快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1998, 34(5): 19.

罗布麻染色体核型分析

陈彦云¹, 曹君迈², 李国旗¹, 任辉丽¹, 谢敏¹

(1. 宁夏大学 生命科学院, 宁夏 银川 750021; 2. 西北第二民族学院, 宁夏 银川 750021)

摘要:采用染色体常规制片法, 结合显微摄影技术对罗布麻染色体进行检测分析。结果表明: 罗布麻染色体数为 $2n=14$, 核型公式是 $2n=14=6M+2m+4sm(1SAT)+2T$, 全组染色体总长度为 $35.92\mu m$, 长臂总长为 $21.92\mu m$, 核型不对称系数(AS.K%)为 60.97%, 总体积为 $15.19\mu m^3$ 。

关键词:罗布麻; 染色体; 核型分析

中图分类号:S 567.7⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)01-0200-03

罗布麻是夹竹桃科罗布麻属, 为多年直立宿根草本植物, 成活期可达 30 a 以上。罗布麻药用成分主要是西麻甙, 黄酮类, 酸类和三萜类物质, 其药理作用主治“平肝安神、清热利水”, 用于肝阳眩晕, 心悸失眠, 浮肿尿少, 高血压, 神经衰弱, 肾炎浮肿等症, 为《中华人民共和国药典》(2005)年版收录。我国对罗布麻在栽培方面的研究工作始于 20 世纪 50 年代, 罗布麻属植物种类在我国非常贫乏, 只占世界的 1/25^[1]。罗布麻的利用较早, 但开发和深层次的研究起步较晚^[2]。目前, 关于其他植物的染色体核型分析较多^[3-6], 但对罗布麻染色体核型分析的研究尚未见报道。通过开展罗布麻核型分析的研究, 了解罗布麻细胞的染色体数目、形态、核型及其他相关

信息, 对探索物种遗传机制、亲缘关系与进化、远缘杂种的鉴定等都有重要价值。

1 材料与方法

1.1 材料

供试罗布麻(*Apocynum Venetum* Linn)种子采自新疆库尔勒。

1.2 方法

1.2.1 试验方法 选取饱满的种子放在培养皿中, 置于 24℃ 的恒温箱中发芽 2 d, 待胚根长至 0.3~0.5 cm 时于上午 9~10 时切取胚根; 在室温下用 0.05% 的秋水仙素处理 4 h, 用蒸馏水冲洗 2~3 次后用卡诺固定液处理 4~12 h, 放入 2.5% 的纤维素酶和 2.5% 的果胶酶 1:1 混合液中 25℃, 30 r/min 振荡解离 4 h, 将材料放在载玻片上, 切取根尖部位 1~2 mm, 用 45% 醋酸乳酸地衣红染色; 当根尖着色后, 盖盖玻片并按压, 吸取多余染液, 镜检。选取具有染色体分散良好, 核相比较好, 符合分析要求的片子, 冰冻法揭片, 干燥后用中性树胶封片, 然后进行显微摄影及分析。

第一作者简介:陈彦云(1964-), 男, 研究员, 现从事植物资源学教学与研究工作。

基金项目:国家林业局“948”高科技引进资助项目(2004-4-10); 国家自然科学基金资助项目(30660039); 教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-05-0896); 教育部科技基础数据平台(505016)。

收稿日期:2007-08-16

Studies on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Perilla frutescens* (Linn) Britt

HUANG Mei-juan, ZHANG Lei, HUANG Hai-quan

(College of Landscape Architecture, Southwest Forestry College, Kunming, Yunnan 650224, China)

Abstract: The seeds of *Perilla frutescens* (Linn) Britt were used as explants to germinate and develop into the aseptic plantlets in vitro. The primary factors influenced the proliferation and rooting of *Perilla frutescens* (Linn) Britt in vitro were studied by using its aseptic stems with nodes as explants. The results indicated that the optimal sterilization method for seeds of *Perilla frutescens* (Linn) Britt was 75% ethanol 20 s + 0.1% HgCl₂ 8 min; that its optimal proliferation culture medium among all tested media was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L; that its optimal rooting culture medium among all tested ones was 1/2 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L.

Key words: *Perilla frutescens* (Linn) Britt; Tissue culture; Rapid propagation