

## 紫苏组织培养体系的研究

于淑玲, 石晓云

(邢台学院生物化学系, 河北邢台 054001)

**摘要:**以紫苏的幼嫩茎尖、带叶腋芽和嫩叶为外植体,建立了其组织培养实验体系。最佳培养基组合为:诱导培养基 MS + 6 - BA3.0 mg/L + NAA0.5 mg/L;再分化培养基 MS + 6 - BA3.0 mg/L;增殖培养基 MS + 6 - BA2.0 mg/L;生根培养基 1/2MS + NAA0.2 mg/L。

**关键词:**紫苏;组织培养;增殖;生根

**中图分类号:**S567.239

**文献标识码:**A

**文章编号:**1672-4658(2008)02-0118-03

紫苏(*Perilla frutescens* L)为唇形科紫苏属一年生草本植物,又称为桂荏、赤苏、白苏、回回苏、香苏等。原产于中国和泰国,主要分布在东南亚地区,我国华北、华中、华南、西南及台湾都有野生和栽培种,在我国有悠久的栽培历史。紫苏的利用价值极其广泛,全株均有很高的营养价值,具有低糖、高纤维、高矿质元素的特点,种子含有大量油脂;紫苏还有很多药用价值,可增食欲、降血压、预防心脑血管疾病;同时紫苏具有特异芳香,广泛用于各种香精,还有杀菌防腐作用。<sup>[1-3]</sup>紫苏具有重要开发利用价值,市场需求旺盛。本实验以野生紫苏为材料,通过对其幼嫩茎尖、带叶腋芽、嫩叶的组织培养,建立了诱导、分化、增殖、生根等一整套离体快繁体系。这对紫苏种质的保存,抗逆新品种的培育和推广以及规模化生产和利用具有重要意义。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料的获得

以野生紫苏幼嫩茎尖、带叶腋芽、嫩叶作为实验材料。3月中旬将紫苏种子种植在实验室花盆中,覆土 0.5~1 cm,20 d 后出苗,发芽率 26%,5 月份当株高 20 cm 左右时分别进行取材,将材料在自来水下冲洗 10 min,马上组培。

### 1.2 培养基

诱导、再分化与增殖基本培养基为 MS 培养基,生根培养基采用 1/2MS 培养基,<sup>[4]</sup>每种培养基附加不同配比的 6-BA、NAA 和 IBA 等激素,蔗糖 30 g/L,琼脂 7 g/L(生根培养基琼脂 6.5 g/L),pH6.0。

### 1.3 培养条件

培养物置于光照培养箱内,培养温度为 25±2℃,光照强度为 2000~3000 lux,光照时间为 12 h/d。

### 1.4 培养方法

**消毒方法** 于超净工作台上外植体先用 70% 乙醇消毒 30 s,后用 0.1% L 汞消毒 6~8 min,无菌水冲洗 3~4 次,准备接种。

**愈伤组织诱导培养** 紫苏嫩叶消毒后,切取靠嫩叶中脉附近 1 cm<sup>2</sup> 左右见方的叶块,以叶背接触培养基,用镊子将叶片铺平接种到诱导培养基上,每种培养基上均接种 40 片,每个三角瓶接 3 片。

**再分化培养** 将愈伤组织从叶片上切取下来接种到再分化培养基上,要让愈伤组织嵌入培养基,根据愈伤组织块的大小,大的每个三角瓶接 2 个,小的每个三角瓶可接 4 个,使其再分化出不定芽。

**增殖培养** 将幼嫩茎尖和带叶腋芽接种到增殖培养基上,每个三角瓶接 3 株,1 个月后统计增殖率。

**生根培养** 切取 3~4 cm 左右的组培苗分别接入各组合生根培养基中,每个三角瓶接 3 株,每处里接种 30 株。

## 2 结果与分析

### 2.1 愈伤组织的诱导

紫苏叶片在不同的诱导培养基上经过培养,15 d 左右在叶片边缘出现淡黄绿色的愈伤组织,40 d 左右愈伤组织长成大约 0.3~1 cm 大小,颜色为浅绿色或绿色,比较致密。观察并记录数据。

通过表 1 比较,可以看出接种在 MS + 6 - BA3.0 mg/L + NAA0.5 mg/L 培养基上,叶片愈伤组织的诱导效果比较好,诱导率高,而且观察可以看出愈伤组织块相对较大,颜色较绿,也比较紧实;接种在 MS + 6 - BA1.0 mg/L + NAA0.1 mg/L 培养基上诱导率相对较低,观察可以看出叶

[收稿日期]2007-11-13

[基金项目]河北省科技厅自然科学基金项目。课题编号:2006230156

[作者简介]于淑玲(1966-),女,河北清河县人,毕业于河北师范大学,副教授,主要从事植物学教学与科研工作。E-yushuling6333@126.com

于淑玲,石晓云:紫苏组织培养体系的研究

片愈伤组织块生长的较小,数量比较少。但在两种培养基上愈伤组织发生时间较同步。所以,对紫苏叶片诱导愈伤组织最好采用 MS + 6 - BA3.0 mg/L + NAA0.5 mg/L 培养基。

表1 不同培养基对叶片愈伤组织诱导率的影响

诱导培养基种类	接种叶片数(个)	愈伤组织数(个)	愈伤组织诱导率(%)
MS + 6 - BA3.0 mg/L + NAA0.5 mg/L	40	31	77.5
MS + 6 - BA1.0 mg/L + NAA0.1 mg/L	40	14	35

## 2.2 再分化培养

将叶片愈伤组织切取下来,用解剖刀去掉过于松散的部分,接种到再分化培养基上,使愈伤组织约 1/4 ~ 1/3 部

分嵌入到培养基中,进行培养和观察,1 个月记录数据,见表 2。

表2 不同培养基对再分化倍数的影响

再分化培养基种类	接种愈伤组织数(个)	再生芽数(个)	再分化倍数
MS + 6 - BA3.0 mg/L	22	114	5.18
MS + 6 - BA2.0 mg/L + NAA0.5 mg/L	23	59	2.57

在再分化培养过程中,有 2 个愈伤组织变成褐色,最终死亡,并且有少部分较小的愈伤组织没有再分化出不定芽,有些大而紧实的愈伤组织分化出茂密的芽丛。从表 2 可以看出 MS + 6 - BA3.0 mg/L 培养基是较好的再分化培养基。将再生芽分别切取下来转接到 1/2MS + 6 - BA 0.1 mg/L +

NAA0.2 mg/L 培养基上进行壮苗培养。

## 2.3 增殖培养

将幼嫩茎尖和带叶腋芽接种到增殖培养基上,茎尖和芽的顶端朝上,经过培养均能增殖出新的不定芽,1 个月记录数据,见表 3。

表3 培养基与外植体种类对增殖倍数的影响

增殖培养基种类	外植体种类	外植体数量(个)	增殖后芽数(个)	增殖倍数
MS + 6 - BA2.0 mg/L	幼嫩茎尖	30	156	5.2
MS + 6 - BA2.0 mg/L	带叶腋芽	30	61	2.03
MS + 6 - BA1.0 mg/L + NAA0.1 mg/L	幼嫩茎尖	30	95	3.17
MS + 6 - BA1.0 mg/L + NAA0.1 mg/L	带叶腋芽	30	47	1.57

两种外植体总体上在 MS + 6 - BA2.0 mg/L 培养基上,增殖的芽数较多,但芽体较细弱,茎细、矮且叶片小,而在 MS + 6 - BA1.0 mg/L + NAA0.1 mg/L 培养基上增殖的芽数相对较少,但比较健壮,茎粗壮、高,也有较大的叶片。单从增殖倍数上考虑可以选择 MS + 6 - BA2.0 mg/L,不过生产上最好采用 MS + 6 - BA1.0 mg/L + NAA0.1 mg/L 培养基,不但有较高的增殖倍数,而且壮苗数较多,便于生根和

移栽。

## 2.4 生根培养

在紫苏组培苗接种到生根培养基以前,先接种到 1/2MS + 6 - BA0.1 mg/L + NAA0.2 mg/L 培养基上进行壮苗,促使组培苗的茎长高、长粗,当茎高到 3 ~ 4 cm 时,可将其转到生根培养基上。生根情况见表 4。

表4 不同培养基对生根率与平均根数的影响

生根培养基种类	接种苗数(个)	生根苗数(个)	生根率(%)	平均根数(个)
1/2MS + NAA0.1 mg/L	30	28	93.33	5.67
1/2MS + NAA0.2 mg/L	30	28	93.33	7.37
1/2MS + NAA0.5 mg/L	30	29	96.33	4.27

将组培苗接种到生根培养基上,一般 7 ~ 10 d 出现根原基,时间上接种在 1/2MS + NAA0.5 mg/L 培养基的稍早并且

较同步,接种在其它两种培养基上的稍次之。通过表 4 可以看出接种在三种培养基上紫苏组培苗的生(下转第 125 页)

式的,学生可以按照自己的学习、理解和掌握程度来选择所要学习的内容,也可以进行自我设计、自我组织和自我评价。这种双向式的学习活动也充分体现了以学生为主体,以教师为主导的教学思想。

#### 2.4 有利于资源共享

CAI 教学的核心是 CAI 课件。制作好的课件可以制作成光盘或者通过互联网进行传播和交流,从而能够在更广泛的范围内实现共享。目前在许多网站上都有可供免费下载的分子生物学课件。在教学中我们可以直接采用,或根据自己的教学情况对这些课件进行修改后再使用和交流。经过不断地完善,这些课件可以集许多教师的经验于一体。

### 3 CAI 教学中的注意事项

#### 3.1 加强 CAI 课件的制作

CAI 课件的好坏直接影响教学效果。好的 CAI 课件集科学性、教育性、趣味性于一体,可以在教学中得到广泛应用。但目前所见到的优秀课件还不多,大部分不能直接“拿来用之”。因此高校教师应该自己动手设计、开发、制作分子生物学课件。只有亲自动手制作,才能更好地用于自己的教学中。制作课件,既需要扎实的专业知识,也需要精通一些计算机软件和编程知识,同时还应该具备教育心理学和美学素质。

#### 3.2 CAI 要运用得当

在分子生物学教学中,不能为了刻意追求现代化教学手段而盲目地使用 CAI,必须讲究一个“度”。例如,对于一些浅显的知识点,单靠教师的讲授学生就可以理解掌握的,那么就没有必要再使用 CAI 了。CAI 教学中的动画、声音

等过多的刺激不但会分散学生的注意力,而且也浪费资源和时间,影响教学效果。

#### 3.3 CAI 不可代替传统教学和实验教学

尽管 CAI 教学比传统教学有着更大的优越性,但 CAI 是不可代替传统教学和实验教学的。在传统教学中,教师的语言艺术起着关键作用。教师上课时就像在表演一样,生动形象的语言,抑扬顿挫的语调,配以适当的表情和手势,在讲授知识的同时也传递着情感。单纯的 CAI 教学是无法达到以情感人的。此外,教师的板书设计还可以吸引学生的注意力,适时启发学生的思考,让学生参与到教学的环节中,对发展思维起着十分重要的作用。利用 CAI 课件对复杂、抽象的动态,微观过程进行模拟演示,有助于学生的理解,对于提高实验教学质量十分有利。但以 CAI 代替实验教学是行不通的,CAI 不是万能的,只能作为传统教学的补充和提高。

计算机辅助教学在分子生物学教学中尚处于起步和发展阶段。在教学中推广 CAI 是适应教育发展的需要,分子生物学教师应该积极地将 CAI 合理地应用到教学工作中。相信随着高等教育改革的推进,CAI 在分子生物学教学中将有着更加广阔的应用前景。

#### 参考文献:

- [1] 郑春和. 生物学的计算机辅助教学[J]. 生物学通报, 1997, 32(8): 35-40.
- [2] 沈法富, 王洪刚, 于元杰. 计算机辅助教学及多媒体在遗传学教学中的应用[J]. 遗传, 2000, 22(1): 34-36.

(上接第 119 页) 根率均较高,且差别不大,但接种在 1/2MS + NAA0.2 mg/L 培养基上平均根数最高。所以 1/2MS + NAA0.2 mg/L 培养基是较好的生根培养基。到 35 d 时根长到 1~1.4 cm 长,即可进行炼苗移栽。

### 3 讨论

(1) 紫苏是一种食用、药用为一体的经济作物,利用价值高,但其种子是小坚果,发芽率较低,通过组织培养可以大量繁殖组培苗,通过合理计算组培时期,可以满足生产的需要。

(2) 由于紫苏不耐低温,目前其种植区域主要在南方,无法满足北方的消费者和生产者的需求。通过建立其组织培养再生体系,利用生物技术手段导入抗冻基因,再生出植株,经田间试验筛选出适合北方气候的品系。

(3) 紫苏靠种子进行繁殖,种性易退化,从而限制了生产的发展。以紫苏幼嫩茎尖为外植体进行增殖培养,可以获得大量再生植株,还可以达到去除病原、提纯复壮的目的。

#### 参考文献:

- [1] 张卫明, 刘秀月. 紫苏叶的成分分析及利用初探[J]. 中国野生植物资源, 1998, 17(2): 32-33.
- [2] 韩丽, 李福臣, 刘洪富, 等. 紫苏的综合开发利用[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(3): 24-26.
- [3] 王素君, 张毅功. 紫苏的栽培与开发利用[J]. 河北农业大学学报, 2003, (5): 122-124.
- [4] 吴涛, 朱玉灵, 范泽民. 薄荷组培苗的组培快繁技术研究[J]. 安徽农业科学, 1999, 27(6): 609-612.