

迷迭香茎尖培养

邓明华¹, 文锦芬², 赵 凯¹

(1. 云南农业大学 园林园艺学院 云南 昆明 650201; 2. 昆明理工大学 现代农业工程学院 云南 昆明 650224)

摘 要:以迷迭香茎尖为试验材料,研究了不同浓度的 6-BA、NAA 对迷迭香茎尖培养植株再生的影响。结果表明:MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L 有利于茎尖培养。1/2 MS+IAA 0.3~0.4 mg/L 有利于不定根的诱导。

关键词:迷迭香;茎尖培养;植株再生

中图分类号:S 685.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)10-0158-03

迷迭香(*Rosmarinus officinalis*)系唇形科,多年生矮灌木型或匍匐型木本植物,原产于地中海沿岸,其叶片绿色披针形,花具有蓝色、粉红色、淡紫色及白色等^[1]。植株的枝叶中含有精油和天然抗氧化剂,均能散发出浓郁的香味,已经被国际上许多发达国家,特别是日本、美国 and 法国列为重要的开发经济植物,且投入大量的人力、物力和财力进行研究和开发,其产品已经被广泛用于香水、浴液、化妆品、香皂和空气清洁剂。在医药方面,迷迭香提取物具有催经活血、利胆降压、抗菌定神、抗癌等药理作用。同时,迷迭香枝叶萃取物含有天然抗氧化剂,可以有效的防止油脂等氧化,并且在高温下不容易分解,适合于油炸和焙烤食品的保存^[1-3]。近年来,

我国许多研究单位已经对迷迭香进行了引种、栽培、加工等方面的研究,取得了一定的成绩。但是由于迷迭香的种子发育不良,萌芽率极低,常采用的扦插繁殖也因为多代扦插,病毒积累及种性退化,导致精油和天然抗氧化剂含量下降,而影响迷迭香的推广与应用^[6,8]。利用植物组织培养的方式生产迷迭香种苗是解决优质种苗供应的有效手段之一。目前关于迷迭香组织培养的研究鲜有报道^[9,11]。茎尖培养因再生苗变异极小,而倍受关注。研究以迷迭香茎尖为试验材料,研究影响迷迭香茎尖培养的一些因素,以期对迷迭香茎尖培养提供理论和实践借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料消毒

取温室盆栽迷迭香顶芽,放在自来水中冲洗 30 min,后用 75% 的酒精浸泡 10 s,用无菌水冲洗 3 遍后,加入 0.1% HgCl₂ 溶液浸泡 5 min(每升溶液加吐温 2 滴),再用无菌水冲洗 5~6 遍(整个过程要不断搅拌)。最后将灭菌的材料在无菌的情况下放入无菌烧杯中备用。

第一作者简介:邓明华(1974),男,湖南临湘人,硕士,讲师,主要从事园艺植物相关方面的研究工作。E-mail: dengminghua1974@yahoo.com.cn.

基金项目:云南省自然科学基金资助项目(2005C0023Q);云南省教育厅青年研究基金资助项目(04Y59B, 07Y11682)。

收稿日期:2008-04-23

Starch Metabolism of Somatic Embryogenesis of Xinjiang Ecotype of *Arabidopsis thaliana*

LU Guo-wu¹, WANG Xue-fen², ZHANG Xia¹

(1. Life Science College of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China; 2. Key Laboratory of Ministry of Education for Medicinal Plant Resource and Natural Pharmaceutical Chemistry, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China)

Abstract: Somatic embryos were induced from tender leaf and leafstalk of seedling of Xinjiang ecotype of *Arabidopsis thaliana*. The culture medium was MS+6-BA 0.1 mg/mL+NAA 1 mg/mL+2,4-D 1 mg/mL, and the differentiation medium was MS+KT 1 mg/mL+2,4-D 0.2 mg/mL, starch metabolism was studied by PAS during the somatic embryogenesis. Results indicated that there were two peaks starch accumulation in the somatic embryogenesis of *Arabidopsis thaliana*.

Key words: Callus; Somatic embryogenesis; PAS; Starch

1.2 培养基配制

各培养基添加 30 g/L 的蔗糖, 8.0 g/L 的琼脂粉, 用 0.1 mol/L 的 HCl 和 0.1 mol/L 的 NaOH 调节 pH 值为 5.8 左右, 然后 121℃ 高压灭菌 15 min。

表 1 茎尖诱导培养基			
编号	基本培养基	6-BA/mg · L ⁻¹	NAA/mg · L ⁻¹
PD1	MS	0.5	0.01
PD2	MS	1.0	0.01
PD3	MS	1.5	0.01
PD4	MS	0.5	0.02
PD5	MS	1.0	0.02
PD6	MS	1.5	0.02
PD7	MS	0.5	0.03
PD8	MS	1.0	0.03
PD9	MS	1.5	0.03

表 2 生根培养基		
编号	基本培养基	IAA/mg · L ⁻¹
PR1	1/2MS	0.1
PR2	1/2MS	0.2
PR3	1/2MS	0.3
PR4	1/2MS	0.4
PR5	1/2MS	0.5

1.3 茎尖培养

将灭菌的迷迭香的茎尖, 在解剖镜下, 剥取含 1~2 个叶原基茎尖, 接种到茎尖诱导培养基上, 每瓶 3~4 个茎尖, 3 次重复。置于 2 500 lx 左右, 白天温度 (25±1)℃, 夜间温度 (23±1)℃, 光照/黑暗处理为 14 h/10 h 的培养室中培养, 30 d 统计培养结果。

1.4 生根及移栽

不定芽伸长为 3 cm 左右后, 从基部切下, 置于生根

表 3 不同激素对比对迷迭香茎尖培养的影响						
培养基	外植体数	启动数	启动率/%	成功数	成功率/%	备 注
PD1	9	1	11	0	0	不启动或很少启动 产生少量愈伤组织
PD2	11	3	27	1	9	生长慢 启动少 幼苗叶片正常, 有少量愈伤组织
PD3	12	5	42	2	17	基部膨大, 产生大量愈伤组织, 有愈伤化根产生
PD4	11	10	91	9	82	生长正常, 茎尖伸长慢, 基部有少量愈伤组织
PD5	12	12	100	11	92	生长正常, 茎尖伸生长快, 形态正常, 无愈伤组织
PD6	9	9	100	8	89	生长正常, 基部膨大 产生较多愈伤组织
PD7	10	9	90	1	10	基部产生大量愈伤组织, 很少有茎尖伸长
PD8	12	10	83	1	8	基部产生较多愈伤组织, 极少有茎尖伸长
PD9	11	8	73	0	0	基部产生大量愈伤组织, 有大量愈伤化根产生

2.2 生根培养

选取生长健壮, 2~3 cm 长的小苗, 从基部切下, 移入生根培养基中, 20 d 左右形成 5~6 条白色不定根, 从而得到完整的迷迭香植株。

比较了不同浓度的 IAA 对迷迭香不定芽生根的影响发现: IAA 不同的质量浓度对迷迭香生根的效果不同, 结果见表 4。在 IAA 质量浓度为 0.1~0.5 mg/L 的范围内, 均可诱导不定根的产生, 只是生根质量差异明显。当 IAA 的浓度为 0.1~0.2mg/L 时, 形成的根十分

培养基中诱导不定根的产生。每瓶 2~3 根, 8 次重复。观察记录新根生长的起始时间、数量和长度。待长出完整根系后, 敞瓶练苗 7~10 d, 然后洗净根系上的培养基, 用适当浓度的多菌灵液浸泡后, 移植到经过灭菌的基质中, 浇灌 1/2 MS 无激素培养基, 用塑料薄膜覆盖保湿 15 d 后敞膜并移入盆中, 温室常规管理。统计移栽成活率。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 6-BA 和 NAA 对迷迭香茎尖培养的影响

由表 3 可知, 6-BA 对迷迭香茎尖培养的影响很大。在低浓度的 6-BA (0.5 mg/L) 的诱导下, 极少产生小苗, 或产生的小苗生长很慢。随着 6-BA 浓度的不断升高, 迷迭香茎尖产生的小苗生长迅速, 形态正常, 同时基部有少量愈伤组织出现。当 6-BA 浓度超过 0.1 mg/L 达到 1.5 mg/L 时, 因为过量而产生的副作用愈加明显: 茎尖基部迅速膨大, 高度愈伤化, 甚至湮灭茎尖。

从迷迭香的生长情况来看: NAA 对其生长有很重要的作用。当 NAA 浓度为 0.01 mg/L 时, 迷迭香茎尖不见明显生长, 颜色逐步变绿或绿色小点而进入休眠状态。当 NAA 浓度较大时 (0.03 mg/L), 10 d 内在茎尖基部产生大量的愈伤组织, 很少见到茎尖伸长, 颜色淡, 同时有大量的愈伤化的根出现。而当 NAA 的浓度为 0.02 mg/L 时, 茎尖颜色逐步变绿, 基部逐步增大, 有时形成少量的愈伤组织, 茎尖伸长。两者相比较, 6-BA 比 NAA 对迷迭香茎尖培养的影响更大。由此可见, 以 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L 的激素配比比较适合迷迭香茎尖培养。

纤细, 数量多, 根很长。而高浓度的 IAA 诱导的不定根为鸡爪状, 难以栽活。只有 IAA 的浓度为 0.3~0.4 mg/L 时, 形成的不定根粗壮, 须根丰富, 质量高。

表 4 不同激素对比对迷迭香不定芽生根的影响						
培养基	接种数	生根数	生根率/%	平均根数	平均根长	备注
PR1	20	11	55	8.5	8.1	纤细, 须根较少
PR2	20	15	5	7.9	6.5	较细, 须根较多
PR3	20	18	90	7.1	3.7	粗壮, 须根丰富
PR4	20	18	90	6.3	3.1	粗壮, 须根较多
PR5	20	14	70	3.2	2.0	鸡爪根, 须根少

2.3 组培苗的移栽

将生根的小苗开瓶练苗 7 ~ 10 d 后, 洗净根系上的培养基, 用适当浓度的多菌灵浸泡后, 栽入灭菌的基质中, 浇灌 1/2 MS 培养液, 保湿 15 d 后, 敞开塑料膜移入盆中, 温室常规管理。一般成活率为 85% 左右。

3 结论与讨论

通过培养发现: 6-BA 和 NAA 两种激素不同浓度的组合是决定迷迭香茎尖培养效果的最重要的外在因素。

综合来说: MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L 是比较适合于迷迭香茎尖培养的激素组合。其再生率可达 90% 左右。

迷迭香不同的品种、同一品种不同的无性系的生物学特性、精油和天然抗氧化剂的含量差异明显。因此在选择品种和无性系进行培养, 生产种苗时, 应该综合加以考虑。

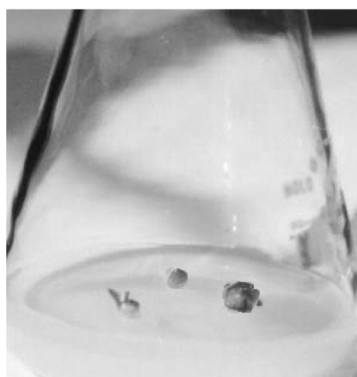


图1 茎尖启动



图2 植株再生



图3 不定根的诱导

参考文献

- [1] 刘星, 周娟. 迷迭香天然防腐剂、抗氧化剂-Aquamarly[J]. 香料香精化妆品, 2007(2): 53-53.
- [2] 肖香, 黄达明, 王洪新, 等. 迷迭香水溶性和脂溶性抗氧化剂的分离[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(1): 188-191.
- [3] 程伟贤, 陈鸿雁, 张义平, 等. 迷迭香提取物抑菌作用研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(5): 406-408.
- [4] 吴建章, 郁建平, 仇佩虹, 等. 迷迭香水溶性物质及抗菌活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(6): 9-11.
- [5] 刘雪梅, 姜爱莉. 迷迭香抗氧化成分的提取及其活性研究[J]. 粮油加工与食品机械, 2005(4): 55-57.
- [6] 王振师, 李兴伟, 李小川. 迷迭香育苗技术[J]. 广东林业科技, 2007,

23(1): 97-99.

- [7] 张华通, 王振师, 林晓萍, 等. 迷迭香扦插繁殖技术研究[J]. 广东林业科技, 2006, 22(1): 18-21.
- [8] 张华通, 吴永平. 迷迭香工厂化育苗技术[J]. 广东林业科技, 2002, 18(3): 6-9.
- [9] 许秀玉, 李小川, 陈建新, 等. 迷迭香离体培养快繁技术的研究[J]. 广东林业科技, 2006, 22(4): 63-65.
- [10] 李小川, 张华通, 周丽华, 等. 迷迭香带芽茎段的组织培养技术[J]. 经济林研究, 2006, 24(3): 15-20.
- [11] 张树河, 翁锦周, 林江波, 等. 迷迭香组培快繁技术研究[J]. 广西农业科学, 2006, 37(2): 111-112.

Shoot Tip Culture for *Rosmarinus Officinalis*

DENG Ming-hua¹, WEN Jin-fer², ZHAO Kai¹

(1. College of Horticulture and Landscape, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China; 2. Faculty of Modern Agricultural Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650224, China)

Abstract: Using shoot tip from *Rosmarinus Officinalis* as explants, effects of different content of 6-BA and NAA on shoot tip culture were studied. Throughe selected: MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L was favoured for shoot tip culture. 1/2 MS+IAA 0.3 ~ 0.4 mg/L was fit for root growth.

Key words: *Rosmarinus Officinalis*; Shoot tip culture; Plant regeneration