

# 迷迭香离体培养快繁技术的研究

许秀玉 李小川 陈建新 王振师

(广东省林业科学研究院 广州 510520)

**摘要** 以茎段为起始外植体,进行迷迭香离体培养快繁技术的研究。结果表明:茎段在 MS + BA 0.2 mg/L + IBA 0.01 mg/L 培养基上腋芽诱导分化效果最好,诱导率可达 75%;诱导出的腋芽转入 1/2 MS + BA 0.3 mg/L + IBA 0.1 mg/L + AC 1 g/L 培养基中增殖与伸长效果最佳,每个腋芽的平均诱导芽数为 3.5 个,平均芽长为 3.0 cm;在 1/4 MS + IBA 0.1 mg/L + AC 1 g/L 培养基中诱导生根,生根率达 87%。

**关键词** 迷迭香 组织培养 离体培养

**中图分类号**:S722.3<sup>+</sup>7 **文献标识码**:A **文章编号**:1006-4427(2006)04-0063-03

迷迭香(*Rosmarinus officinalis* L.)属唇形科亚灌木或多年生草本植物,叶对生,无柄,株高 40~150 cm,耐干旱瘠薄、喜光、喜温暖<sup>[1]</sup>,是一种具有多种用途、开发前景良好的经济作物。其花和叶能提取具有优良抗氧化性的抗氧化剂和迷迭香精油,广泛用于医药、油炸食品、富油食品、各类油脂的保鲜保质,并可用于香料、空气清新剂、驱蚊剂以及杀菌、杀虫等日用化工业<sup>[1]</sup>。迷迭香原产欧洲及地中海沿岸地区,现以法国、西班牙、意大利、南斯拉夫、突尼斯、摩洛哥等国栽培较多,我国近年已引入,有待进一步开发<sup>[2]</sup>。迷迭香因种子发育不良,种子萌发率极低,故通常采用扦插育苗。目前,国内外对迷迭香组织培养的研究较少。迷迭香组织培养系统的建立可以实现迷迭香工厂化育苗<sup>[3]</sup>,并为其遗传选优、杂交育种、转基因等遗传改良工作奠定基础。

## 1 试验材料

试验材料是从国外引进的迷迭香品种 PRIMLEY BLUE,采其当年生枝条中上部茎段(3~4 cm)作为离体培养的初始外植体。

## 2 试验方法

### 2.1 外植体处理

将采集的外植体先去除叶片,投入洗衣粉溶液中清洗 2 遍,无菌水冲洗数次,然后在 20 ml/L 多菌灵溶液中浸泡 10 min,再分别两次投入 1 g/L HgCl<sub>2</sub> 溶液中消毒 2 min,无菌水冲洗 5 次,最后将茎段切成 1.5~2.0 cm 长,接入培养基中。

### 2.2 腋芽的诱导与分化

以 MS 为基本培养基,附加 BA 0.1~1.0 mg/L, NAA 0.1, 0.2 mg/L 或 IBA 0.01 mg/L,另附加蔗糖 30 mg/L,琼脂 6.2 g/L,调节 pH 值 5.8,在 121℃ 下高压灭菌 25 min,培养温度为(25±3)℃,光照时间 16 h/d,光照强度 2 000 lx 左右。

### 2.3 芽的增殖与伸长培养

以 1/2 MS(大量元素减半)为基本培养基,附加 BA 0~0.4 mg/L, IBA 0~0.1 mg/L 或 NAA 0~0.05 mg/L, AC(活性炭) 0~1 g/L,其余培养条件同上。将诱导分化出的腋芽接种于上述培养基中,各处理接种数都为 30 个。

### 2.4 试管苗的生根

以 1/4 MS(大量元素为 MS 培养基的 1/4)为基本培养基,附加 IBA 0~0.5 mg/L, AC(活性炭) 0~1 g/L,另附加蔗糖 20 mg/L,其余培养条件同上。

## 3 结果与分析

### 3.1 腋芽的诱导与分化

将茎段接种于分化培养基中 10 d 左右腋芽即开始萌动,出现黄色瘤状突起。继续培养,黄色瘤状突起转为绿色,进一步膨大形成肉眼可见的芽。迷迭香茎段芽的诱导对激素极为敏感,当 BA 浓度 ≥ 0.5 mg/L

时,腋芽诱导率不仅大大降低,且茎段基部会产生大量淡红色愈伤组织,培养 25 d 左右,诱导出的芽逐渐成黄色半透明状,最终连茎段一同死亡;当 BA 浓度  $\leq 0.1$  mg/L 时,腋芽诱导率也大大降低,原来绿色的叶子变为褐色、土黄色,最终茎段也失去分化增殖能力。

本次试验以 MS + BA 0.2 mg/L + IBA 0.01 mg/L 对茎段腋芽诱导效果最好,诱导率可达 75% (见表 1),且小芽生长正常。

表 1 不同培养基对芽诱导与分化的影响

培养基	接种数(个)	污染数(个)	分化数(个)	诱导率(%)
MS	100	70	0	0
MS + BA 0.1 mg/L + IBA 0.01 mg/L	100	72	7	25
MS + BA 0.2 mg/L + IBA 0.01 mg/L	100	68	24	75
MS + BA 0.3 mg/L + IBA 0.01 mg/L	100	65	13	37
MS + BA 0.3 mg/L + NAA 0.1 mg/L	100	69	5	16
MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L	100	50	4	8
MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L	100	50	1	2

### 3.2 芽的增殖与伸长培养

当诱导出的腋芽长至 1.0 cm 左右时将其从茎段上切下转入芽增殖与伸长培养基中,培养 25 d 左右即可分化出 2~5 个小芽,每个小芽可长至 1.0~4.0 cm,然后将这些伸长的小芽切成 1.5~2.0 cm 长,继续接种于芽增殖与伸长培养基中分化出更多的小芽,如此循环反复以进行迷迭香的离体快繁。

迷迭香芽增殖与伸长培养对激素极为敏感。在不加任何激素的 1/2 MS 基本培养基中,诱导出的腋芽不能分化出更多的小芽,且不再继续伸长生长,最终玻璃化死亡;当附加 BA 0.1 mg/L、IBA 0.01 mg/L 时,平均诱导芽数可达 3.0 个(见表 2),但诱导出的芽不抽长,簇生在一起只是叶片膨大,有些甚至产生愈伤组织;当附加 BA 浓度超过 0.5 mg/L 时,诱导出的腋芽基部会产生愈伤组织,叶色变黄,逐渐死亡。试验表明,培养基中附加 1 g/L AC 能明显促进小芽的伸长生长,其中以 1/2 MS + BA 0.3 mg/L + IBA 0.1 mg/L + AC 1 g/L 对芽的增殖与伸长效果最好,平均诱导芽数可达 3.5 个,平均芽长 3.0 cm(见表 2)。

表 2 不同培养基对芽增殖与伸长的影响

培养基	平均芽长(cm)	平均诱导芽数(个)
1/2 MS	1.0	0
1/2 MS + BA 0.1 mg/L + IBA 0.01 mg/L	1.0	3.0
1/2 MS + BA 0.2 mg/L + IBA 0.01 mg/L	1.5	2.0
1/2 MS + BA 0.3 mg/L + IBA 0.01 mg/L	1.0	3.5
1/2 MS + BA 0.3 mg/L + IBA 0.1 mg/L	1.5	3.0
1/2 MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L	1.0	0
1/2 MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L	1.0	0
1/2 MS + BA 0.1 mg/L + IBA 0.01 mg/L + AC 1 g/L	2.0	3.0
1/2 MS + BA 0.3 mg/L + NAA 0.01 mg/L + AC 1 g/L	2.5	3.0
1/2 MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.01 mg/L + AC 1 g/L	1.5	2.0
1/2 MS + BA 0.3 mg/L + IBA 0.1 mg/L + AC 1 g/L	3.0	3.5

注:外植体平均诱导芽数 = 外植体诱导不定芽的总数/诱导出不定芽的外植体数。

### 3.3 试管苗生根与移栽

选择 1.5~2.5 cm 长、叶色正常、茎干粗壮的试管苗接种在生根培养基上。试管苗在生根培养基中培养 30 d 左右,基部可萌发出 1~3 条灰白色的根,不同处理对试管苗生根效果不一(见表 3)。

试管苗在不添加任何植物生长调节物质的 MS 基本培养基中,生根效果较差,培养 20 d 后试管苗叶色开始发黄;低浓度的 IBA 能促进不定根的诱导分化。从本次试验来看,迷迭香属较易生根植物,诱导出的茎段在 1/4 MS + IBA 0.1 mg/L + AC 1 g/L 培养基上,生根诱导率可达 87%。根长达 2~4 cm 时开瓶炼苗 3~

7 d后即可进行移栽。

表3 不同培养基对试管苗生根的影响

培养基	接种数(个)	生根数(个)	生根诱导率(%)
MS	30	0	0
1/4 MS + IBA 0.1 mg/L	30	11	37
1/4 MS + IBA 0.1 mg/L + AC 1 g/L	30	26	87
1/4 MS + IBA 0.5 mg/L + AC 1 g/L	30	7	23

## 4 讨论

迷迭香对消毒剂极为敏感,以茎段为初始外植体进行迷迭香的离体快繁时,茎段在 1 g/L HgCl<sub>2</sub> 溶液中消毒超过 2 min,茎段极易发黑死亡,无法诱导分化出腋芽,不足 2 min,定瓶的外植体污染率几乎达到 100%,本试验采用分别两次投入 1 g/L HgCl<sub>2</sub> 中消毒 2 min 的方法效果较好,能有效控制外植体污染率。其次,迷迭香品种 PRIMLEY BLUE 对激素较为敏感,稍高的激素(0.5 mg/L)浓度即能使其叶片膨大、产生愈伤组织并同时抑制芽的诱导分化、伸长生长,并逐渐玻璃化,最终死亡。从本次试验来看适合其组织培养的激素浓度范围在 0.1~0.3 mg/L 之间。此外,同其它木本植物组织培养相似,AC(活性炭)对迷迭香芽的诱导分化、伸长生长、诱导生根都能起到促进作用<sup>[4,5]</sup>。

## 参考文献

- [1] 杜刚,杨建国,安正云. 迷迭香的栽培与开发利用[J]. 特种经济动植物, 2002(10):29-30.
- [2] 陆翠华. 迷迭香的引种栽培和抗氧化试验[J]. 中国野生植物, 1992(1):17-21.
- [3] 张华通,林爵平,吴永平,等. 迷迭香工厂化育苗技术[J]. 广东林业科技, 2002(3):6-9.
- [4] 沈惠娟. 木本植物组织培养技术[M]. 北京:中国农业科技出版社, 1992.
- [5] 李浚明. 植物组织培养教程[M]. 北京:北京农业大学出版社, 1991.

## Plantlet Clone of *Rosmarinus officinalis* L.

Xu Xiuyu Li Xiaochuan Chen Jianxin Wang Zhenshi

(Guangdong Forest Reserch Institute, Guangzhou, 510520)

**Abstract** The stems were cultured as the initiation explants for investigate the micropropagation of *Rosmarinus officinalis* L. . Cultured young stem on MS medium supplemented with 0.2 mg/L BA and 0.01 mg/L IBA is the best way to induce axillary buds, with inducement rate 75%. For elongation and differentiation more buds from induced axillary buds, the suitable culture medium was 1/2 MS + BA 0.3 mg/L + IBA 0.1 mg/L + AC 1g/L. The mean number of induced buds was 3.5, and mean height of induced buds was 3.0 cm. The medium of 1/4 MS + IBA 0.1 mg/L + AC 1g/L were used for rooting, and the rooting rate is 87%.

**Key words** *Rosmarinus officinalis* L. , tissue culture, plantlet clone