

兴安百里香茎芽增殖途径的植株再生

魏晓雪¹, 姜明月¹, 张文天¹, 吕跃东², 张妍妍^{2*}

(1. 黑龙江省科学院火山与矿泉研究所, 黑龙江 五大连池 164155; 2. 黑龙江省林业科学研究所, 哈尔滨 150040)

摘要: 为探索野生兴安百里香组织培养最佳培养条件获得完整再生植株, 以五大连池野生兴安百里香为研究对象, 研究外植体类型、消毒时间和培养基种类对兴安百里香茎芽增殖与微枝生根的影响。结果表明: 带腋芽茎段为兴安百里香组培的最佳外植体, 采用质量浓度 0.1% 升汞浸泡 4 min 的方法消毒效果最佳; 最适宜愈伤组织诱导培养基为 MS + 6 - BA1.0 mg/L + 2 4 - D0.5 mg/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂粉 6 g/L; 最适宜茎芽增殖培养基为 MS + 6 - BA1.0 mg/L + 2 4 - D0.5 mg/L; 最适宜微枝生根培养基为 MS + 6 - BA 1.0 mg/L + 2 4 - D 0.8 mg/L。此研究结果为通过工厂化育苗技术培育野生兴安百里香优质观赏苗木奠定了基础。

关键词: 兴安百里香; 带芽茎段; 组织培养; 再生体系

中图分类号: S573.9

文献标识码: A

文章编号: 1006 - 8023(2019)04 - 0022 - 06

DOI:10.16270/j.cnki.slgc.2019.04.004

Plant Regeneration of the Stem Bud Proliferation Pathway of *Thymus dahuricus*

WEI Xiaoxue¹, JIANG Mingyue¹, ZHANG Wentian¹, LV Yuedong², ZHANG Yanyan^{2*}

(1. Institute of Volcanoes and Mineral Springs, Heilongjiang Academy of Science, Wudalianchi 164155;

2. Forestry Research Institute of Heilongjiang Province, Harbin 150040)

Abstract: In order to explore the optimal culture conditions for wild *Thymus dahuricus* tissue culture to obtain a complete regenerated plant, we studied the effects of explant type, disinfection time and medium variety on stem bud proliferation and microbranched rooting of *Thymus dahuricus* with Wudalianchi wild *Thymus dahuricus*. The results showed that: the best explants for tissue culture of *Thymus dahuricus* were axillary bud stem segment. The best disinfection effect was achieved by soaking for 4 min with a mass concentration of 0.1% mercury. The best medium for callus induction was: MS + 6 - BA1.0 mg/L + 2 4 - D0.5 mg/L + saccharose 30 g/L + powdered agar 6 g/L. The most suitable medium for stem - bud multiplication was: MS + 6 - BA1.0 mg/L + 2 4 - D0.5 mg/L. The best medium for rooting of microtwigs was: MS + 6 - BA 1.0 mg/L + 2 4 - D 0.8 mg/L. The results laid a foundation for the cultivation of high quality ornamental seedlings of wild *Thymus dahuricus* by means of industrial seedling raising technology.

Keywords: *Thymus dahuricus*; stem with axillary bud; tissue culture; regeneration system

0 引言

百里香属(*Thymus*) 植株具有强烈的芳香气味, 其花茎叶可提取芳香油, 是重要的芳香和药用植物, 也可作为观赏、环保以及蜜源植物^[1-3]。百里香芳香油是重要的天然香料, 具有一定的商业价值, 广泛应用于化妆品、医疗、保健和食品等方面, 具有

广阔的开发前景^[4-8]。

一般百里香主要来自野生资源, 人们对百里香精油的需求量与日俱增, 野生资源不能满足需要, 而且很快会导致野生资源的枯竭, 故需要开展人工栽培。目前, 百里香的人工栽培主要依靠种子育苗, 但种子育苗易受病毒浸染, 导致种性退化, 产量和品质下降, 不能适应规模化和标准化生产的需要, 因此前人进行了大量百里香属的组织培养技术研究^[9-10]。

以往有关百里香属组织培养试验中, 主要研究了不同品种、不同外植体、培养基及生长调节剂对丛生芽的诱导和生根的影响^[10-16]。赵庆臻等^[14]对五脉百里香进行了组培快繁尝试, 采用野生带腋芽茎段作为组培材料。李晓东等^[15]以离体培养的百里香不定芽为材料, 研究了培养基添加不同浓度的苯丙氨酸或茉莉酸甲酯对不定芽生长以及精油提

收稿日期: 2019 - 01 - 25

基金项目: 黑龙江省院所基本应用技术研究专项(ZNBZ2017HS01; ZHEBZ2019HS01)

第一作者简介: 魏晓雪, 博士, 副研究员。研究方向: 植物生理生态。E-mail: weixiaoxue1983@126.com

* 通信作者: 张妍妍, 硕士, 副研究员。研究方向: 林木遗传育种。E-mail: 46192992@qq.com

引文格式: 魏晓雪, 姜明月, 张文天, 等. 兴安百里香茎芽增殖途径的植株再生[J]. 森林工程, 2019, 35(4): 22 - 27.

取率等的影响。徐治朋等^[16]研究了 Cu^{2+} 对离体培养的红花百里香不定芽生长及挥发油的影响。虽然百里香属植物的组培快繁研究已历时多年,但由于兴安百里香(*Thymus dahuricus*)分布范围不广,生境寒冷等原因,关于野生兴安百里香组培技术研究较少,现有的百里香属快速繁殖方法并不适用于野生兴安百里香^[17-18]。因此急需开展野生兴安百里香离体培养再生组培体系的建立与改善工作,为今后工厂化育苗和种质资源保存等工作奠定基础。

1 材料与方法

1.1 外植体筛选

2017年5月,分别选取五大连池野生兴安百里香的叶片、带芽茎段做为供试材料进行外植体诱导。将供试外植体用清水冲洗干净,用0.1%升汞浸泡4 min,无菌水冲洗3次。剪取长约1.0 cm的带芽茎段,接种于MS+6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L+蔗糖30 g/L+日产琼脂粉6 g/L(Solarbio, A8190)的培养基中,pH值调至5.8~6.0。

选取2~5节成熟的叶片,把叶片远轴面向上接种到MS+6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂粉6 g/L的培养基上,pH值调至5.8~6.0。

每种外植体接种10瓶,每瓶4个外植体,试验重复3次。培养30 d后调查各供试外植体的茎芽诱导情况。培养温度白天 27 ± 1 °C,夜间 22 ± 1 °C,光照强度2 000 Lux,光照10 h/黑暗14 h。

1.2 外植体灭菌

剪取长约1.0 cm的带芽茎段,用清水反复冲洗备用。灭菌处理:①75%酒精浸泡30 s,0.1%升汞(HgCl_2)浸泡4 min,之后无菌水冲洗3次;②75%酒精浸泡30 s,0.1%升汞浸泡6 min,之后无菌水冲洗3次;③0.1%升汞浸泡4 min,之后无菌水冲洗3次;④0.1%升汞浸泡6 min,之后无菌水冲洗3次;⑤75%酒精浸泡30 s,5%次氯酸钠浸泡10 min,之后无菌水冲洗3次;⑥75%酒精浸泡30 s,5%次氯酸钠浸泡20 min,之后无菌水冲洗3次。每处理10个茎段,3次重复,2周后观察效果。

1.3 基本培养基的筛选

将经过灭菌的芽苗接种于以下4种基本培养基进行培养:①1/2MS:大量元素含量减半;②MS;③WPM;④改良WPM:以 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 684 mg/L(单位下同)、 KNO_3 190、 $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{FeN}_2\text{NaO}_8$ 73.4和盐

酸硫酸素0.1代替原WPM培养基中的 K_2SO_4 、 CaCl_2 、 FeSO_4 和 Na_2EDTA 。培养基中添加蔗糖30 g/L,琼脂粉6 g/L,pH值调至5.8~6.0,培养温度白天 27 ± 1 °C,夜间 22 ± 1 °C,光照强度2 000 Lux,光照10 h/黑暗14 h。每处理10个茎段,2次重复,待培养20 d调查芽苗数、平均生长量等指标。

1.4 试管苗初代培养

将接种于基本培养基上未染菌、生长状况良好的芽苗剪成1.0~1.5 cm的茎段接种于以MS为基本培养基,分别添加6-BA 0.2、0.5、1.0、2.0 mg/L的培养基上,添加蔗糖30 g/L,琼脂粉6 g/L,pH值调至5.8~6.0,每处理10个茎段,3次重复,于接种后的20 d观察芽苗生长分化情况。培养温度白天 27 ± 1 °C,夜间 22 ± 1 °C,光照强度2 000 Lux,光照10 h/黑暗14 h。

1.5 试管苗增殖培养

待腋芽伸长后,将试管苗转接于添加了以下几种激素的MS培养基中:①6-BA 0.5 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L;②6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L;③6-BA 1.5 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L;④6-BA 2.0 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L;⑤6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.3 mg/L;⑥6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.8 mg/L;⑦6-BA 1.0 mg/L+2,4-D 1.0 mg/L,进行增殖培养。上述培养基均加蔗糖30 g/L,琼脂粉6 g/L,pH值调至5.8~6.0。每个处理接种10瓶,每瓶5个单芽茎段,3次重复,培养30 d后调查增殖效果。

1.6 试管苗生根培养

当继代培养中芽苗直径长至0.5 cm以上时,将生长健壮、高0.5~1 cm的幼苗转至生根培养基中,每瓶接芽苗3个,观察生根情况。培养条件同1.5。每个处理接种10瓶,每瓶3个组培苗,重复3次。30 d后统计生根和生长情况。

1.7 数据处理与统计分析

按下列方法统计褐化率、出芽率、污染率、生根率、增殖率和增殖系数,采用SPSS12.0软件进行方差分析及多重比较。

褐化率 = (外植体褐化数/接种外植体数) $\times 100\%$ 。

出芽率 = (外植体诱导出芽数/接种外植体数) $\times 100\%$ 。

污染率 = (外植体污染数/接种外植体数) $\times 100\%$ 。

生根率 = (生根苗数/接种苗数) × 100%。

增殖率 = (增殖的苗数/接种苗数) × 100%。

增殖系数 = 增殖的苗数/接种苗数。

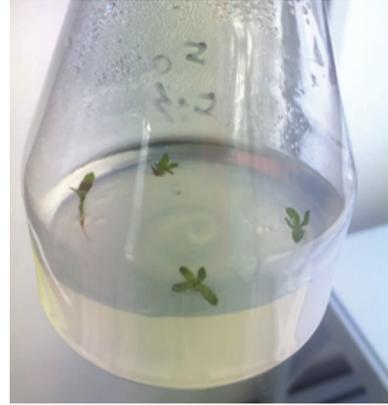
2 结果与分析

2.1 不同种类外植体对芽苗生长的影响

叶片接种 20 d 后, 叶片切口边缘产生肉眼可见的愈伤组织或在伤口边缘处直接产生晶亮、绿色的不定芽。愈伤组织多为白色、黄绿色或淡黄色, 较致密, 生长缓慢。产生的愈伤组织有些能继续分化出不定芽, 而有些随着培养时间的延长变褐坏死。产生的不定芽多为浅绿色或黄绿色。不定芽大多密集在伤口边缘, 丛生或单生, 并且可以在原有培养基上继续长出叶片。有些叶片上产生的不定芽须经过愈伤组织阶段, 而有些不定芽不需经过愈伤组织阶段, 直接在伤口边缘产生。

带腋芽茎段在接种后的 10 d 观察到茎段底部有淡绿色或黄绿色的愈伤组织产生, 有部分茎段未产生愈伤组织而褐化死亡。在茎段接种 25 d 后诱导产生不定芽, 如图 1 所示, 随着培养时间的延长小叶片也逐渐展开。

在培养 30 d 后统计发现(表 1), 茎段的诱导率较高, 为 40.0%, 褐化率相对稍低, 为 48.0%, 芽高 1.6 cm; 叶片的芽出芽率为 22.0%, 褐化率较高, 为 60.0%, 芽高 0.5 cm。因此, 带腋芽茎段为兴安百里香组培的最佳外植体。



(a) 带腋芽茎段接种 10 d 后诱导情况

(a) Induction after 10 days of inoculation with axillary stem segments



(b) 带腋芽茎段接种 30 d 后诱导情况

(b) Induction after 30 days of inoculation with axillary stem segments

图 1 带腋芽茎段接种诱导情况

Fig. 1 Induction of inoculation with axillary stem segments

表 1 不同外植体来源的芽苗生长差异

Tab. 1 Differences in growth of sprouts from different explants

外植体种类 Explant type	接种数/个 Number of vaccinations/self	褐化率/% Browning rate/%	出芽率/% Budding rate/%	芽高/cm Bud height/cm
带腋芽茎段 Bud stem segment	50	48.0 ± 3.56b	40.0 ± 4.27a	1.6 ± 0.45a
叶片 Leaf blade	50	60.0 ± 5.62a	22.0 ± 2.61b	0.5 ± 0.12b

注: 同一列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P < 0.05$), the same below

2.2 不同灭菌剂与灭菌方法的对比

由表 2 可知, 处理 5、6 灭菌效果极差, 污染率超过 85%; 处理 1、2、4 灭菌效果相对较好, 尽管污染数少, 但是褐化严重, 已经影响到苗的正常生长; 处理 3, 即用 0.1% 升汞浸泡 4 min 的灭菌方法, 污染率为 43.3%, 出芽率可达到 64.7%, 为较为适宜的

灭菌方法。

2.3 培养基组分对芽苗生长的影响

将芽苗分别接种于 4 种待选基本培养基上培养 20 d, 表现各不相同(表 3)。WPM 培养基与改良 WPM 培养基上的芽苗生长速度慢, 在靠近茎的基部叶片有黄化死亡现象, 生长一段时间后, 苗木褐化明

表2 不同灭菌剂与方法的灭菌效果

Tab.2 Sterilization effect of different sterilizing agents and methods

培养基 Medium	接种数/个 Number of vaccinations/self	污染数/个 Pollution number /self	污染率 Pollution rate/%	出芽数/个 Number of buds/self	出芽率/% Budding rate/%
1	30	10	33.3	10	35.0 ± 2.66bc
2	30	8	26.7	6	31.8 ± 2.82c
3	30	13	43.3	20	64.7 ± 5.32a
4	30	10	33.3	10	40.0 ± 4.85b
5	30	28	93.3	0	0 ± 0d
6	30	26	86.7	1	25.0 ± 1.57cd

表3 芽苗在不同基本培养基上的生长情况

Tab.3 Growth of sprouts on different basic media

基本培养基 Basic medium	接种数/个 Number of vaccinations/self	芽苗总数/个 Total number of sprouts/self	平均叶片数/枚 Average number of blades/ medals	平均生长量/cm Average growth/cm
1/2MS	20	25	3.4 ± 0.69b	1.02 ± 0.11ab
MS	20	28	4.7 ± 0.82a	1.33 ± 0.26a
WPM	20	23	2.8 ± 0.55bc	0.41 ± 0.05b
改良 WPM Improved WPM	20	20	2.5 ± 0.18c	0.44 ± 0.09b

显。MS 培养基培养的芽苗生长速度较快,20 d 左右可观察到明显的茎尖伸长,茎段和茎尖基部出现了少量的淡黄绿色愈伤组织,苗木生长旺盛,新叶片展开,叶片较多,并且根部、腋芽均有分化现象。这说明,MS 培养基适合培养兴安兴安百里香。因此选择 MS 培养基为基本培养基。

2.4 不同浓度 6-BA 对兴安百里香试管苗初代培养的影响

腋芽在培养 8 d 左右可观察到节间开始伸长,茎段和茎尖基部均出现了少量的淡黄绿色愈伤组织,小叶片陆续展开。培养 20 d 后调查结果(表 4)表明,选用 6-BA 浓度 0.2、0.5、1.0、2.0 mg/L 均能诱导芽苗分化。当 6-BA 浓度为 1.0 mg/L 时,培养 20 d 后,兴安百里香试管苗增殖系数(4.6)及增殖率(72.2%)为最高,试管苗生长速度较快(平

均新生芽苗高 1.54 cm),既能满足试管苗繁育要求,又降低了繁殖成本。

2.5 兴安百里香试管苗增殖培养基的筛选

兴安百里香试管苗经过 30 d 增殖培养后,调查结果见表 5。由表 5 可知,经过 30 d 的增殖培养,所有处理的兴安百里香苗均有不同程度的增殖,处理 2 增殖率可达 71.5%,增殖系数 7.6,且苗木粗壮,处理 6 和处理 7 增殖率相对也较高,苗木生长较旺盛,另外从增殖率及增殖系数可以看出,6-BA 对兴安百里香增殖影响最大,起决定性作用。综合上述结果,兴安百里香最适增殖培养基应为处理 2,即:MS + 6-BA 1.0 mg/L + 2-IA-0.5 mg/L。应用此培养基培养野生兴安百里香,增殖率可达 71.5%,增殖系数为 7.6,且苗木粗壮、生长旺盛。

表4 不同浓度 6-BA 对兴安百里香试管苗诱导培养的影响

Tab.4 Effects of different concentrations of 6-BA on induction culture of *Thymus dahuricus* seedlings

6-BA 浓度/(mg · L ⁻¹) 6-BA concentration (mg · L ⁻¹)	增殖系数 Proliferation coefficient	增殖率/% Proliferation rate/%	平均节间长/cm Average internode length/cm	平均新生芽苗高/cm Average newborn seedling height/cm
0.2	1.6 ± 0.14bc	44.8 ± 4.23d	0.30 ± 0.07b	0.34 ± 0.06d
0.5	2.0 ± 0.16b	52.1 ± 3.69c	0.39 ± 0.03ab	0.53 ± 0.14c
1.0	4.6 ± 1.08a	72.2 ± 8.36a	0.48 ± 0.11a	1.12 ± 0.21a
2.0	4.1 ± 1.20ab	58.5 ± 5.61b	0.40 ± 0.08ab	0.88 ± 0.16b

表5 不同培养基对兴安百里香试管苗增殖的影响

Tab.5 Effects of different media on the proliferation of *Thymus dahuricus* seedlings

培养基 Medium	6-BA 浓度/(mg·L ⁻¹) 6-BA concentration /(mg·L ⁻¹)	2,4-D 浓度/(mg·L ⁻¹) 2,4-D concentration /(mg·L ⁻¹)	接种数/个 Number of vaccinations/self	增殖率/% Proliferation rate/%	增殖系数 Proliferation coefficient	苗高/cm Seedling height/cm
1	0.5	0.5	50	22.2 ± 2.17e	2.1 ± 0.13d	1.24 ± 0.14d
2	1.0	0.5	50	71.5 ± 8.56a	7.6 ± 1.06a	2.45 ± 0.41a
3	1.5	0.5	50	55.4 ± 3.25c	3.3 ± 0.59c	1.55 ± 0.26c
4	2.0	0.5	50	40.3 ± 2.41d	3.0 ± 1.20c	1.37 ± 0.35cd
5	1.0	0.3	50	41.6 ± 3.54d	3.0 ± 0.21c	2.33 ± 0.55a
6	1.0	0.8	50	62.3 ± 5.89b	5.9 ± 0.78b	1.93 ± 0.17b
7	1.0	1.0	50	58.1 ± 3.68bc	4.0 ± 0.66bc	1.90 ± 0.11b

2.6 兴安百里香试管苗生根培养基的筛选
由表6可见,生根培养30 d后,在6-BA 1.0

mg/L + 2,4-D 0.8 mg/L 条件下,生根率最高,达到82.6%,平均生根数3.78条,根长4.9 cm。

表6 不同培养基对兴安百里香试管苗生根的影响

Tab.6 Effects of different media on rooting of *Thymus dahuricus* seedlings

培养基 Medium	6-BA 浓度/(mg·L ⁻¹) 6-BA concentration /(mg·L ⁻¹)	2,4-D 浓度/(mg·L ⁻¹) 2,4-D concentration /(mg·L ⁻¹)	生根率/% Rooting rate/%	平均生根数/条 Average number of roots/strip	平均根长/cm Average root length/cm
1	0.5	0.5	34.5 ± 3.77d	0.59 ± 0.05e	1.3 ± 0.31e
2	1.0	0.5	58.3 ± 5.63b	3.06 ± 0.54b	3.4 ± 0.35b
3	1.5	0.5	49.3 ± 6.45c	2.14 ± 0.89c	3.2 ± 0.61bc
4	2.0	0.5	56.8 ± 3.49b	1.49 ± 0.12d	3.6 ± 0.75b
5	1.0	0.3	35.8 ± 2.41d	0.64 ± 0.06e	2.8 ± 0.42d
6	1.0	0.8	82.6 ± 10.27a	3.78 ± 0.32a	4.9 ± 0.69a
7	1.0	1.0	41.7 ± 6.53cd	1.68 ± 0.05cd	3.0 ± 0.58c

3 结论与讨论

本研究中,针对五大连池野生兴安百里香,叶片、带芽茎段都可以诱导出不定芽,说明不定芽的起源有可能经历两条途径。一是经历了愈伤组织阶段,首先由叶肉组织或维管束周围的薄壁细胞脱分化形成愈伤组织,再由愈伤组织分化形成不定芽;另一条途径是不经过愈伤组织阶段,由叶片表皮下细胞或茎段薄壁细胞直接脱分化、分裂形成不定芽。茎段的诱导率较高,褐化率相对稍低;叶片的褐化率较高。通过实验,筛选出带腋芽茎段为百里香组培的最佳外植体。本研究中,兴安百里香茎段的腋芽可以直接诱导萌发;MS中加6-BA和2,4-D,由腋芽萌发的定芽长度明显增长和大量增殖并且部分出现愈伤组织。这与李晓东等^[9]和王玲等^[13]对银斑百里香、东北百里香定

芽的诱导有相似之处。

对外植体进行灭菌处理是建立组织培养体系的第一个环节,消毒剂和消毒时间决定着灭菌效果的好坏。消毒处理时间太短则灭菌效果差,外植体会因染菌而逐渐死亡;消毒处理时间太长,消毒剂会导致外植体褐化,甚至直接死亡^[19-20]。消毒时间过长对百里香叶片的伤害很大,导致大量外植体褐变死亡,而污染率也较高。因此,以0.1%升汞浸泡4 min的灭菌方法,为较为适宜的灭菌方法。MS培养基培养的芽苗生长速度较快,20 d左右的苗木生长旺盛,新叶片展开,叶片较多,并且根部、腋芽均有分化现象。因此选择MS培养基为基本培养基。

在植物组织培养过程中,6-BA被广泛用于试管苗的生根研究^[21-23]。在兴安百里香的生根实验中,6-BA浓度对生根影响较大,在0.2~1.0

mg/L 范围内,随着 6-BA 浓度升高,生根率也随之升高,但并不是随着 6-BA 浓度越大,生根情况越好。因此,愈伤组织诱导最适培养基为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + 2,4-D 0.5 mg/L + 蔗糖 30 g/L + 日产琼脂粉 6 g/L,培养 20 d 后,百里香试管苗分化系数及分化率最高。不同质量浓度激素配比条件下,增殖系数差异显著。最适增殖培养基为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + 2,4-D 0.5 mg/L,应用此培养基培养野生百里香,增殖率可达 71.5%,增殖系数为 7.6,且苗木粗壮、生长旺盛。配方为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + 2,4-D 0.8 mg/L 培养基的生根率最高,且生根比较健壮。

【参 考 文 献】

- [1] 赵波. 辽宁省百里香属(*Thymus L.*) 植物生物学特性及挥发油特性研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2015.
ZHAO B. Studies on biological and essential oil characteristics of *Thymus L.* in Liaoning Province [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2015.
- [2] 杨敏. 百里香研究进展[J]. 园艺与种苗, 2018, 38(11): 68-70.
YANG M. Research advances on *Thymus mongolicus* [J]. Horticulture & Seed, 2018, 38(11): 68-70.
- [3] 于二汝, 王少铭, 侯颖辉, 等. 5 种黔引百里香的形态特征和蒸馏法提取精油的化学型比较研究[J]. 热带作物学报, 2018, 39(1): 84-92
YU E R, WANG S M, HOU Y H, et al. Botanical characters and composition of essential oils from five varieties of *Thyme* grown in Guizhou area [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2018, 39(1): 84-92.
- [4] SAIDI M, GHAFOURIAN S, ZARINABAADI M, et al. In vitro antimicrobial and antioxidant activity of black thyme (*Thymbra spicata L.*) essential oils [J]. Roum Archives of Microbiology and Immunology, 2012, 71(2): 61-69.
- [5] ZABOROWSKA Z A, PRZYGONSKI K, BILSKA A. Antioxidative effect of thyme (*Thymus vulgaris*) in sunflower oil [J]. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment, 2012, 11(3): 283-291.
- [6] 吴爽, 魏凤香, 李红枝, 等. 柠檬百里香叶挥发油成分分析及对肝癌细胞毒性作用[J]. 中药材, 2013, 36(5): 756-759.
WU S, WEI F X, LI H Z, et al. Chemical composition of essential oil from *Thymus citriodorus* and its toxic effect on liver cancer cells [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2013, 36(5): 756-759.
- [7] 刘光发, 宋海燕, 罗婉如, 等. 百里香-丁香罗勒精油抗菌纸对草莓的防腐保鲜效果[J]. 包装工程, 2018, 39(19): 91-97.
LIU G F, SONG H Y, LUO W R, et al. Effect of antimicrobial paper coated with *Thymus vulgaris L.* and *Ocimum gratissimum L.* essential oil on preservation of strawberry [J]. Packaging Engineering, 2018, 39(19): 91-97.
- [8] 佟晶晶, 王明阳, 潘佳雯, 等. 植物精油抗菌和抗真菌活性的研究进展[J]. 中国饲料, 2018, 29(7): 46-49.
TONG J J, WANG M Y, PAN J W, et al. Research advances in antibacterial and antifungal activity of plant essential oils [J]. China Feed, 2018, 29(7): 46-49.
- [9] 李晓东, 王永飞, 马三梅, 等. 东北百里香组培再生体系的建立普通百里香的组织培养和快速繁殖[J]. 湖北农业科学, 2009, 48(6): 1294-1297.
LI X D, WANG Y F, MA S M, et al. Tissue culture and rapid propagation of *Thymus vulgaris* [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2009, 48(6): 1294-1297.
- [10] 宋阳, 王冲, 魏岩. 兴安百里香播种繁殖研究[J]. 种子, 2014, 33(1): 116-118.
SONG Y, WANG C, WEI Y. Study on characteristics of seeds and sowing of *Thymus dahuricus* Serg. [J]. Seed, 2014, 33(1): 116-118.
- [11] 徐世千, 李晓东, 张建国. 不同方法提取组培百里香精油质量及成分的比较分析[J]. 植物科学学报, 2013, 31(6): 609-615.
XU S Q, LI X D, ZHANG J G. Comparative analysis of essential oil quality and composition from tissue culture seedlings of *Thymus vulgaris L.* using different extraction methods [J]. Plant Science Journal, 2013, 31(6): 609-615.
- [12] 徐治朋. 红花百里香组织培养体系优化及挥发油产量的调节研究[D]. 重庆: 西南大学, 2016.
XU Z P. Study on optimization of tissue culture system and regulation of essential oil yield of *Thymus serpyllum L.* [D]. Chongqing: Southwest University, 2016.
- [13] 王玲, 杨丽鹏, 张秀珍, 等. 东北百里香组培再生体系的建立[J]. 园艺学报, 2011, 38(6): 1185-1190.
WANG L, YANG L P, ZHANG X Z, et al. The establishment of the adventitious bud regeneration system of *Thymus manschuricus* [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2011, 38(6): 1185-1190.
- [14] 赵庆臻, 闫华超, 程霜, 等. 地椒的组织培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(4): 357.
ZHAO Q Z, YAN H C, CHENG S, et al. The tissue culture and plant regeneration of ground pepper [J]. Plant Physiology Communications, 2002, 38(4): 357.
- [15] 李晓东, 徐世千, 鲁朝辉, 等. 苯丙氨酸和茉莉酸甲酯对百里香离体培养芽生长及其精油的影响[J]. 香料香精化妆品, 2014, 42(2): 1-6.
LI X D, XU S Q, LU Z H, et al. Study on the effects of phenylalanine and methyl jasmonate on profile of essential oil from tissue culture of *Thymus vulgaris L.* [J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2014, 42(2): 1-6.
- [16] 徐治朋, 李晓东, 鲁朝辉, 等. Cu²⁺ 对离体培养的红花百里香不定芽生长及挥发油的影响[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2016, 38(5): 37-44.
XU Z P, LI X D, LU Z H, et al. Effects of Cu(2+) on the growth of the adventitious buds of *Thyme serpyllum* in vitro culture and their essential oil [J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 2016, 38(5): 37-44.

(下转第 31 页)

幼苗移栽到自然环境中生长 3 a 后,其茎干重和根干重与白光、红光处理的植株相比无显著差异,但显著高于远红光处理的植株,蓝光处理幼苗的总体生长状况与白光处理相似,说明蓝光可用于欧洲赤松幼苗繁育^[14]。

综上所述,在桑树种子萌发及幼苗生长阶段予以不同红蓝光配比处理,可影响其在自然环境下的生长表现,其中在蓝光(100% B)下萌发并长成的桑树实生幼苗,在移栽到自然环境下其总体生长状况优于白光处理、红光(0% B)、红蓝组合光(15% B、20% B、30% B 和 50% B)处理,表明采用蓝光(100% B)适用于温室繁育桑树实生幼苗,可增强幼苗抗性。

【参 考 文 献】

- [1] MASSA G D, EMMERICH J C, MORROW R C, et al. Plant - growth lighting for space life support: A review [J]. *Gravitational and Space Research*, 2007, 19(2): 19 - 30.
- [2] MASSA G D, KIM H H, WHEELER R M, et al. Plant productivity in response to LED lighting [J]. *Hortscience*, 2008, 43(7): 1951 - 1956.
- [3] WILSON B C, JACOBS D F. Quality assessment of temperate zone deciduous hardwood seedlings [J]. *New Forests*, 2006, 31(3): 417 - 433.
- [4] PINHO P, HYTONEN T, RANTANEN M, et al. Dynamic control of supplemental lighting intensity in a greenhouse environment [J]. *Lighting Research and Technology*, 2013, 45(3): 295 - 304.
- [5] DICKSON A, LEAF A L, HOSNER J F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries [J]. *Forestry*, 1960, 36(1): 10 - 13.
- [6] MCCREE K J. The action spectrum, absorptance and quantum yield of photosynthesis in crop plants [J]. *Agricultural Meteorology*, 1972, 9: 191 - 216.
- [7] INADA K. Action spectra for photosynthesis in higher plants [J]. *Plant and Cell Physiology*, 1976, 17(2): 355 - 365.
- [8] GOINS G D, YORIO N C, SANWOM M, et al. Photomorphogenesis, photosynthesis, and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LEDs) with and without supplemental blue lighting [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1997, 48(7): 1407 - 1413.
- [9] CHEN M, CHORY J, FANKHAUSER C. Light signal transduction in higher plants [J]. *Annual Review of Genetics*, 2004, 38: 87 - 117.
- [10] LEONG T Y, ANDERSON J M. Effect of light quality on the composition and function of thylakoid membranes in *Atriplex triangularis* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1984, 766(3): 533 - 541.
- [11] MOHAMMED G H. The status and future of stock quality testing [J]. *New Forests*, 1997, 13(1): 491 - 514.
- [12] MEXAL J G, LANDIS T D. Target seedling concepts: height and diameter [C]. *Target Seedling Symposium, Meeting of the Western Forest Nursery Associations, General Technical Report RM - 200*, 1990: 17 - 35.
- [13] RIIKONEN J, KETTUNEN N, GRITEVICH M, et al. Growth and development of Norway spruce and Scots pine seedlings under different light spectra [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, 121: 112 - 120.
- [14] RANADE S S, GIL M R G. Application of monochromatic blue light during germination and hypocotyl development improves out-planted Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) trees performance [J]. *Forest Ecology and Management*, 2016, 361: 368 - 374.
- [17] 罗彩霞, 田永强, 潘彦彪. 百里香研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(33): 11669 - 11672.
LUO C X, TIAN Y Q, PAN Y B. Research progress of *Thymus* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2014, 42(33): 11669 - 11672.
- [18] 穆丹, 梁英辉. 佳木斯地区百里香的引种栽培及园林应用研究 [J]. *安徽农学通报*, 2013, 19(16): 31 - 32.
MU D, LIANG Y H. Introduction and landscape application of *Thyme* in Jiamusi region [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2013, 19(16): 31 - 32.
- [19] 李艳霞, 刘忠玲, 刘建明, 等. 树莓品种“波拉纳”组培繁殖体系建立 [J]. *森林工程*, 2018, 34(2): 26 - 29.
LI Y X, LIU Z L, LIU J M, et al. Establishment of tissue culture and propagation system for raspberry (*Rubus idaeus*) cultivar "Polana" [J]. *Forest Engineering*, 2018, 34(2): 26 - 29.
- [20] 李琳, 杜倩, 梁素钰. 黑果枸杞无菌苗愈伤组织诱导体系的建立 [J]. *林业科技*, 2018, 43(06): 1 - 3.
LI L, DU Q, LIANG S Y. Establishment of callus induction of non - bacterial seedling of lycium ruthenicum [J]. *Forestry Science & Technology*, 2018, 43(6): 1 - 3.
- [21] 覃杰明, 何含杰, 张党权, 等. 6 - BA 和 GA3 对盐胁迫下红杆铁皮石斛幼苗生理生化影响 [J]. *亚热带植物科学*, 2016, 45(1): 27 - 31.
QIN J M, HE H J, ZHANG D Q, et al. Physiological and biochemical influences of 6 - BA and GA3 on red - stem dendrobium officinale under salt stress [J]. *Subtropical Plant Science*, 2016, 45(1): 27 - 31.
- [22] 李学东, 华帅, 刘长安. NAA 与 6 - BA 对黑金丝柚木组织培养的影响 [J]. *亚热带植物科学*, 2017, 46(4): 379 - 382.
LI X D, HUA S, LIU C A. Effects of NAA and 6 - BA on tissue culture of *Tecton grandis* [J]. *Subtropical Plant Science*, 2017, 46(4): 379 - 382.
- [23] 张虎, 巫建新, 许建民, 等. 6 - BA 与 ZT 对芫花茎段外植体组织培养的影响 [J]. *江苏林业科技*, 2018, 45(4): 29 - 32.
ZHANG H, WU J X, XU J M, et al. Effects of 6 - BA and ZT on the tissue culture of *Daphne genkwa* segment explant [J]. *Journal of Jiangsu Forestry Science & Technology*, 2018, 45(4): 29 - 32.

(上接第 27 页)