

## 研究报告

### Research report

# 维拉薰衣草叶片愈伤组织诱导及有效再生体系建立

董玉梅<sup>1\*</sup>, 段如兰<sup>1\*</sup>, 李正楠<sup>1</sup>, 王曼君<sup>1,2</sup>, 尹兴福<sup>1</sup>, 李晶<sup>3,4</sup>, 刘雅婷<sup>1,2</sup>

1. 云南农业大学农学与生物技术学院, 昆明, 650201
2. 经济林木种质改良与资源综合利用湖北省重点实验室(黄冈师范学院), 黄冈, 438000
3. 昆明学院农学院, 昆明, 650214
4. 昆明学院, 云南省高校都市型现代农业工程研究中心, 昆明, 650214

\*共同第一作者

✉ 通讯作者: liuyating999@yahoo.com.cn ✉ 作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 41 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0041

收稿日期: 2012 年 07 月 27 日

接受日期: 2012 年 08 月 06 日

发表日期: 2012 年 08 月 29 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放获取论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

董玉梅等, 2012, 维拉薰衣草叶片愈伤组织诱导及有效再生体系建立, 分子植物育种(online) Vol.10 No.41 pp.1305-1311 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0041)

引用格式(英文):

Dong et al., 2012, Callus Induction and Plant Regeneration of Vera Lavender (*Lavandula vera*) Leaves, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.41 pp.1305-1311 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0041)

**摘要** 本研究以维拉薰衣草叶片为外植体, 以 MS 为基本培养基, 设置不同生长调节剂浓度配比, 探索维拉薰衣草愈伤组织诱导、再分化培养基, 以及不定芽增殖和生根培养基。结果表明: 愈伤组织诱导培养基以 MS+2,4-D 2 mg/L+KT 0.5 mg/L 最佳, 愈伤组织在接种后第 7 天即开始萌动, 诱导率可达 100%; 愈伤组织再分化形成不定芽时, 以 MS+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L 效果最佳, 分化频率可达 85%, 且多为有效分化; 不定芽增殖培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L 增殖效果最好, 增殖率可达到 500% 多, 且平均芽长最高; 诱导不定芽生根时, 使用 MS 无生长调节剂培养基效果最好, 生根率可达 82%。以上各种培养基均添加琼脂 7 g/L+蔗糖 30 g/L, pH 调至 5.8。

**关键词** 薰衣草; 叶片外植体; 愈伤组织诱导; 再生

## Callus Induction and Plant Regeneration of Vera Lavender (*Lavandula vera*) Leaves

Dong Yumei<sup>1\*</sup>, Duan Rulan<sup>1\*</sup>, Li Zhengnan<sup>1</sup>, Wang Manjun<sup>1,2</sup>, Yin Xingfu<sup>1</sup>, Li Jing<sup>3,4</sup>, Liu Yating<sup>1,2</sup>

1 College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming, 650201, P.R. China

2 Hubei Key Laboratory of Economic Forest Germplasm Improvement and Resource Comprehensive Utilization, Huanggang Normal University, Huanggang, 438000, P.R. China

3. Agriculture College, Kunming University, Kunming, 650214, P.R. China

4. Urban Modern Agriculture Engineering Research Center, Kunming University, Kunming, 650214, P.R. China

\*These authors contributed equally to paper

✉ Corresponding author, liuyating999@yahoo.com.cn; ✉ Authors

**Abstract** Vera Lavender (*Lavandula vera*) leaves as explants were used in present study to optimize the concentrations of plant growth regulator for exploring lavender callus induction, differentiation medium, as well as the culture media for adventitious buds and rooting. Results showed that MS medium supplemented with 2,4-D 2 mg/L plus KT 0.5 mg/L was the optimal medium for the callus induction (100%) after seven days culturing; callus regenerated adventitious buds in MS medium containing 6-BA 1.5 mg/L, KT 0.5 mg/L and NAA 0.5 mg/L had achieved with 85% regeneration frequencies; 6-BA 0.5 mg/L and NAA 0.5 mg/L facilitated to propagation and growth of adventitious buds with more than 500% proliferation rate; MS medium without any plant growth regulator had good effect for inducing rooting with 82% rooting rate. MS media described as above were added agar 7 g/L and sucrose 30 g/L, and adjust pH to 5.8 used in this research.

**Keywords** Lavender (*Lavandula vera*); Leaf explants; Callus induction; Regeneration

## 研究背景

薰衣草属(*Lavandula* L.), 分布于大西洋群岛及地中海地区至索马里, 巴基斯坦及印度; 我国

原先引进栽培的仅 2 种, 即狭叶薰衣草(*Lavandula angustifolia* Mill)、又称真薰衣草, 和宽叶薰衣草(*Lavandula latifolia* Vill), 现在又逐渐从国外引进了

羽叶薰衣草(*Lavandula pinnat*)、齿叶薰衣草(*Lavandula dentate*)和新疆薰衣草(*Lavandula vera*), 亦可音译为“维拉薰衣草”等多个品种(刘方农等, 2007, 芳香植物鉴赏与栽培, 上海科学技术文献出版社, pp.312-314; 王羽梅, 主编, 2008, 中国芳香植物, 科学出版社, pp.218-221)。

薰衣草是典型的全草香型香草, 其全草可提炼薰衣草油(富含酚, 醇类等物质), 其功能多、用途广, 常被用于医药、食品、保健、化妆品工业, 尤其在药用方面既可治疗身体疾病, 又可治疗心理不适(Al-Amier et al., 1999)。在身体疾病治疗方面, 具有抗细菌、抗真菌、镇痛的作用, 还可治昆虫叮咬和烧伤等; 对心理不适治疗方面, 具有镇静、安神、缓解压力的作用(Cavanagh and Wilkinson, 2002)。

近年来, 国外研究者已陆续开展临床研究: Denner 提出薰衣草提取物除了传统疗效外, 还对退行性炎症、传染性疾病和肿瘤具有抑制作用(Denner, 2009); Vakilian 等研究发现, 薰衣草精油对妇产科常见的阴部伤口有较好疗效, 同一些外阴切术的常用药相比, 具有健康、无毒、香薰的疗效(Vakilian et al., 2011; Jones, 2011); Altaei 以实验兔子的口腔溃疡疾病为对象, 利用薰衣草精油和安慰剂作对照给药, 研究结果显示薰衣草精油对口腔溃疡有显著疗效(Altaei, 2012)。另外, 薰衣草提取物中含有重要的非酶类抗氧化剂—迷迭香酸(Georgiev et al., 2009), 具有抗氧化和抗产多巴胺细胞中神经毒素相关疾病, 如神经细胞中因过氧化氢引起的细胞死亡或其他的氧化伤害等(Lee et al., 2008)。因此, 薰衣草精油及其它提取物具有安神、镇静、缓解压力的疗效(Kovacheva et al., 2006)。

维拉薰衣草(*L. vera*)精油含量高, 也是经济价值好的薰衣草, 叶狭长绿色, 花呈穗状, 淡紫色, 全株有浓郁的芳香(<http://baike.baidu.com/view/1445818.htm>), 也是重要的蜜源植物。除了具有化妆品、保健功能、药用功能、食用功能外, 其花型优美典雅, 其蓝紫色穗状轮生花序颖长秀丽、全草散发浓郁的芳香气味, 不仅为庭院中一种多年生耐寒、耐旱花卉, 同时也适宜户外大面积种植成旅游观光园(林沛林等, 2008, 北海道薰衣草的繁殖与栽培, 安徽科技通讯, 8: 188)。目前, 国际上正在兴起一种“芳香主题旅游”。如法国、日本采用“花境”形式经营芳香植物农场, 每年都吸引大批游客。国外还有以薰衣草为主题的植物园、芳香医院等。此

外, 还可以将薰衣草深加工成干花、香囊、香枕等旅游纪念品(吴卓珈, 2005, 生态农林新产业: 芳香植物, 今日科技, 6: 11-13)。近年来在国内也有大面积种植薰衣草为主题的农庄, 兴起了时尚度假游或者婚庆典礼等薰衣草主题旅游庄园(如北京蓝调薰衣草庄园)。

随着薰衣草用途的逐步广为人知, 其需求量也与日俱增, 传统的繁殖方式已成为制约薰衣草产业发展的重要因素。目前薰衣草的传统繁殖方法有: 1、种子繁殖, 但不易萌发, 由于薰衣草是异花授粉植物而不易保持优良品种的特性, 种子后代容易分化。2、无性繁殖, 采用嫩枝或半木质的枝条进行扦插、压条或分株繁殖等, 缺点是植株容易衰老, 而且扦插时老枝不易生根, 嫩枝易腐烂(江明等, 2009; 王佳佳等, 2010)。因此, 采用离体快繁(许耀祖等, 2005), 可以保持优良品种的种性。而本研究以薰衣草叶片为外植体、探索简单有效的愈伤组织诱导及再分化体系, 此体系的建立可有 3 个用途: 1、可直接为大田栽培快速提供性状一致的种苗; 2、可为转基因研究奠定基础; 3、可为悬浮细胞培养奠定基础, 如薰衣草悬浮细胞培养生产迷迭香酸, 通过各种条件, 如营养条件、生物反应器条件等优化研究, 以获得特定条件下、稳定的迷迭香酸高产细胞株(Pavlov et al., 2000; 2005; Georgiev et al., 2006)。

另外, 笔者认为, 在植物离体培养、快繁时, 单凭“诱导率”、“再生率”、“生根率”和“高频再生体系”等不足以完全表达培养材料在适合培养基中的生命质量和生活状态, 除以上各频率描述外, 结果中应呈现更多的、培养材料生长相关信息的描述。

## 1 结果与分析

### 1.1 维拉薰衣草叶片脱分化形成愈伤组织

接种后 4~6 d, 叶片边缘开始卷曲上翻, 7 d 左右自边缘处开始膨大长出乳白色至浅黄色愈伤组织, 25~30 d, 接种的叶片已经完全失去原有的形态特征, 愈伤组织诱导率因培养基所加生长调节剂浓度不同而异, 其中 MS+2,4-D 2 mg/L+KT 0.5 mg/L 培养基愈伤组织诱导率最高, 达 100% (表 1)。同已有报道不一样, 所获愈伤组织不是质地致密、绿色或浅绿色, 而是乳白色至浅黄色质地疏松的愈伤组织。

### 1.2 维拉薰衣草愈伤组织再分化培养

愈伤组织接种到不同的分化培养基上(图 1 A), 7 d 后有绿色的芽点从愈伤组织表面分化而成, 培

表 1 维拉薰衣草叶片愈伤组织诱导培养

Table 1 Callus induction of *L. vera* leaves

处理 Treatment	2,4-D (mg/L)	NAA (mg/L)	KT (mg/L)	接种外植体数 No. of explants	诱导率(%) Rate of callus induction (%)	愈伤组织生长状态 Growth status of calli
1	0.5	0	0.5	60	51	部分叶片形愈伤组织, 致密, 浅黄 Partially callus induction, dense, pale-yellow
2	1	0	0.5	60	72	部分叶片形愈伤组织, 疏松, 浅黄 Partially callus induction, loose, pale-yellow
3	2	0	0.5	60	100	都形成愈伤组织, 疏松, 乳白至浅黄 Completely callus induction, loose, ivory-white to pale-yellow
4	0	0.5	0.5	60	47	部分叶片形愈伤组织, 致密, 黄色 Partially callus induction, dense, yellow
5	0	1	0.5	60	62	部分叶片形愈伤组织, 疏松, 浅黄 Partially callus induction, loose, pale-yellow
6	0	2	0.5	60	75	部分叶片形愈伤组织, 疏松, 浅黄 Partially callus induction, loose, pale-yellow

注: 诱导率=接种的外植体(叶盘)数/形成的愈伤组织块数×100%

Note: Rate of callus induction equals to percentage of that numbers of leaf explants divide by numbers of calli

养至 25~30 d 后, 不定芽形成。愈伤组织在分化成不定芽的同时, 会继续生长膨大, 颜色逐渐变深, 甚至褐化。一旦生长调节剂浓度不适合, 愈伤组织褐化程度增加, 玻璃化不定芽增多, 或无效不定芽增多, 再分化频率降低。本研究发现, MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L 处理中再生频率最高, 可达 85% (表 2), 愈伤组织较少褐化, 平均芽长最大、形成的有效不定芽数也最多, 每块平均有效不定芽有 5~10 个(图 1 D), 以 85% 的再生频率计, 每块愈伤组织再生 10 个不定芽, 则接种 100 块愈伤组织可再生 850 个不定芽; 而有的处理, 愈伤组织分化频率也可达 50~75% 之间(图 1 B, C),

但每块愈伤组织上的有效不定芽(即具有完整的主茎的不定芽)只有有 1~2 个, 以 75% 的再生频率计, 每块愈伤组织最多再生 2 个有效不定芽, 则接种 100 块愈伤组织可再生 150 个有效不定芽。由此可知, 处理间对培养材料的效应不只是简单的 (85%~75%=) 10% 的差异, 而是((85-150)/150=) 4.7 倍的差异。以此类推, 再分别以 150、850 个有效不定芽来扩繁增殖, 出现更大几何级数的差异皆有可能。

### 1.3 维拉薰衣草不定芽增殖培养

愈伤组织再分化培养基中, 生长调节剂减量后

表 2 维拉薰衣草愈伤组织再分化培养

Table 2 Regeneration of callus of leave explants (*L. vera*)

处理 Treatment	NAA (mg/L)	6-BA (mg/L)	KT (mg/L)	接种愈伤组织数 No. of the calli	再生频率(%) Rate of regeneration (%)	平均不定芽长(厘米) Mean of adventitious buds (cm)
1	0.5	0.5	0	50	23	5.1
2	0.5	1	0	50	30	5
3	0.5	1.5	0	50	32	4.5
4	0.5	2	0	50	75	4.1
5	0.5	0	0.5	50	29	5.2
6	0.5	0	1	50	32	5
7	0.5	0	1.5	50	40	4.9
8	0.5	0	2	50	56	4.2
9	0.5	0.5	0.5	50	85	5.5

注: 再生频率=再分化出芽的愈伤组织数/接种愈伤组织数×100%

Note: Rate of regeneration equals to percentage of that numbers of budding divide by numbers of calli

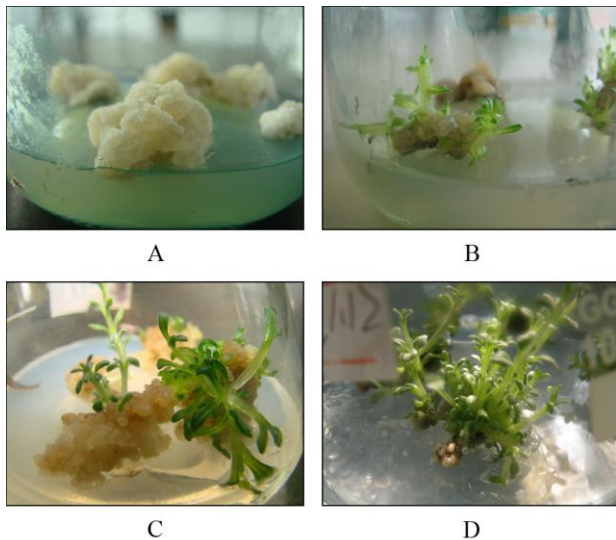


图 1 维拉薰衣草愈伤组织再分化情况

注: A: 用于再分化的叶片愈伤组织; B, C: 分化频率均在 50~75% 之间再生不定芽, 平均每块愈伤组织上的有效不定芽(具有完整的主茎的不定芽)有 1~2 个; D: 是 9 号处理培养基上一块愈伤组织分化的不定芽, 每块平均有效不定芽 5~10 个  
Figure 1 Regeneration of callus of *L. vera*

Note: A: Regenerated calli of leaves; B, C: Differentiation frequencies were between 50% to 75%, and there were one to two available buds (which have the normal stem); D: Treat 9 with 85% regeneration frequency, in which there were five to ten available buds

即可诱导不定芽增殖, 在所有的增殖培养基中, 诱导不定芽增殖的同时, 均会在底部形成或多或少的愈伤组织(图 2 A)。表 3 中所有处理均可诱导不定芽增殖, 只是, 有的处理虽然增殖频率也较高, 但有效芽数较少, 往往由底部的愈伤组织处增殖出很多矮于 1 cm 的不定芽(图 2 B)。而处理 7, MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 0.5 mg/L 增殖频率最高(556%), 且有效芽数也最多, 芽长也最大(图 2 C, D)。

#### 1.4 诱导生根培养

诱导不定芽再生和增殖的培养基均抑制根的生长, 当获得足够多的不定芽后, 将不定芽丛于超净台上作单芽分开(见图 2 D), 接种于诱导生根的培养基上。本研究发现, 当 MS 培养基中添加诱导生根的植物生长调节剂时, 不定芽基部易产生愈伤组织, 而长愈伤不定芽生根培养中的一大忌。因此, 不添加任何生长调节剂的 MS 培养基或 1/2MS 培养基生根培养时, 均不诱导愈伤组织在根部生成, 而 MS 培养基中诱导的平均根数较多、根长较长。

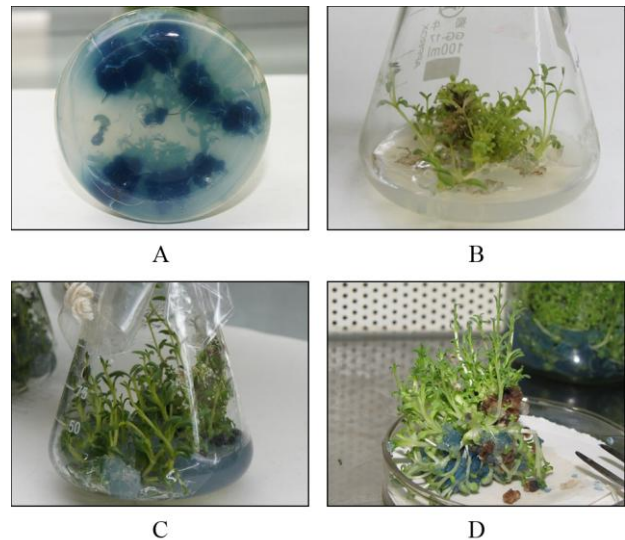


图 2 不定芽增殖状态

注: A: 不定芽基部生成愈伤组织; B: 不定芽增殖较多, 但芽长较小(小于 1 cm); C, D: 处理 7 中不定芽增殖频率高, 平均芽长较长

Figure 2 Adventitious buds proliferating in different status  
Note: A: Callus on the bottom of adventitious buds; B: More adventitious buds, but shorter length of the buds; C and D: Adventitious buds proliferating in treatment seven, which had the biggest mean length

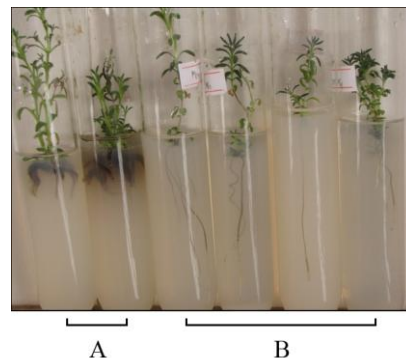


图 3 维拉薰衣草生根

注: A: 根部有愈伤组织, 且平均根长较短; B: 根长较长, 且无愈伤组织

Figure 3 Rooting induction of plantlet of Lavender (*L. vera*)  
Note: A: Callus between the root and bud, and the mean length of root was smaller; B: No callus between the root and bud, and the mean length of root was bigger

## 2 讨论

本研究选择精油含量高, 经济价值好的薰衣草品种维拉进行快繁研究。其主要目的主要有三个, 第一, 快繁此优良品种; 第二, 为转基因体系建立

表 3 不定芽增殖培养

Table 3 Proliferation of adventitious buds

处理 Treatment	NAA (mg/L)	6-BA (mg/L)	接种芽数 No. of the buds	增殖频率(%) Frequency of proliferation (%)	平均芽长(厘米) Mean of adventitious buds (cm)	芽基部是否有愈伤组织 Callus on the base of the adventitious buds (Yes or No)
1	0.1	0.5	50	110	5.1	少量愈伤组织 Yes
2	0.1	1	50	168	4.9	少量愈伤组织 Yes
3	0.1	1.5	50	213	4.7	少量愈伤组织, 褐化 Yes, and browning of callus
4	0.5	1	50	312	5	少量愈伤组织, 褐化 Yes, and browning of callus
5	0.5	1.5	50	298	4.8	少量愈伤组织, 褐化 Yes, and browning of callus
6	0.5	2	50	350	4.5	少量愈伤组织, 褐化 Yes, and browning of callus
7	0.5	0.5	50	556	5.7	少量愈伤组织, 褐化 Yes, and browning of callus
8	1	0.5	50	287	4.8	少量愈伤组织, 褐化 Yes, and browning of callus
9	1.5	0.5	50	125	4.9	较多愈伤组织 Yes, and much more

注: 增殖频率=增殖后芽数/接种芽数×100%

Note: Frequency of proliferation equals to percentage of that numbers of proliferated buds divide by numbers of buds

高频而有效的再生体系; 第三, 为后期利用悬浮细胞培养生产有用此代谢产物奠定基础, 例如从悬浮细胞提取迷迭香酸是目前的研究热点(Pavlov et al., 2000; 2005; Georgiev et al., 2006; 2009; Kovacheva et al., 2006)。

前人有报道建立薰衣草的高频再生体系, 但本研究发现, 在判断培养基对培养材料的目标产物是否高效和有效时, 除单纯地用诱导率、再生频率、增殖频率、生根率以及高频再生体系等描述是不准确和全面的。因为, 如果诱导出来的愈伤组织不能高效分泌有用次生代谢产物, 或者不能有效地再分化为不定芽, 仅一味地追求高诱导率和再生频率是不科学的。同理, 尽管有时生根率较高, 但在根和芽之间形成了阻碍维管束连通的愈伤组织, 则移栽难以成活, 这样的根也是无效根。因此在植物离体再生体系建立时, 单凭“诱导率”、“再生率”、“生根率”和“高频再生体系”等不足以全面描述培养基条件的适合度, 还应综合考虑培养材料的生长状况。

本研究发现, 维拉薰衣草不定芽在培养基中培养时间较长时, 培养基中有蓝色分泌物出现, 使原本无色的培养基变成蓝色(图 2 A), 该物质是什么、

为何会产生以及有何用途有待进一步研究。

### 3 材料与方法

#### 3.1 实验材料

维拉薰衣草(*L. vera*)幼嫩叶片, 由刘雅婷教授引种至云南农业大学农学与生物技术学院温室栽培; 基本培养基为 MS (Murashige and Skoog, 1962) 固化培养基, 每升添加蔗糖 30 g、琼脂 7 g, pH 为 5.8, 添加不同浓度植物生长调节剂(NAA, KT, 6-BA); 培养基于 0.1~0.15 kPa 气压下, 121℃ 灭菌 20 min 备用; 无菌水(自来水高温高压灭菌), 75% 乙醇, 0.15% 升汞。

#### 3.2 维拉薰衣草(*L. vera*)叶片愈伤组织诱导

挑选生长健壮无病害的薰衣草嫩枝 4 cm 左右, 用自来水流水冲洗 0.5~1 h, 用 75% 乙醇灭菌 40 S, 用 0.15% 升汞灭菌 5~7 min, 再用无菌水冲洗 3~5 遍, 于灭菌的培养皿(垫无菌滤纸)将嫩叶切成 0.5~0.8 cm 大小的叶盘接种, 培养。温度(23±2)℃, 相对湿度 75~85%, 光照强度 2 500 Lx, 光照/黑暗时间为 12 h/12 h。从 5~7 d 开始观察并统计污染率和是否启动愈伤组织脱分化, 后每隔 10 d 左右观察

记录材料生长情况(表 1)。

### 3.3 维拉薰衣草(*L. vera*)不定芽诱导培养

当愈伤组织生长到完全失去叶片的形态结构, 并膨大至 1.5~2.5 cm<sup>2</sup> 时, 一部分在原配方培养基上对其进行继代增殖培养, 另一部分提高培养基中细胞分裂素类/生长素类的浓度比率, 诱导其再分化成不定芽, 7 d, 后每 10 d 观察记录结果(表 2)。除再分化频率外, 本研究还记录了不定芽再分化时的一些关键生长信息(表 2)。

### 3.4 维拉薰衣草(*L. vera*)不定芽的增殖培养

再分化形成的薰衣草不定芽还需增殖, 才能以几何级数增殖、达到快繁的目的。在此, 不能单一追求高的增殖频率, 还要注意观察增殖的芽是否都有主茎, 适于单芽分开用于再增殖或诱导生根。故, 除增殖频率, 本研究还记录了不定芽增殖的一些关键生长信息(表 3)。

### 3.5 维拉薰衣草(*L. vera*)不定芽生根培养及完整植株形成

当芽增殖到一定数量时, 即可进行生根诱导。在培养皿中切分芽丛, 选取长度为 2~5 cm 的单芽进行生根培养。15 d 后观察生根结果。有的芽不能生根, 有的芽能生较而粗短的根, 且在根部和茎基部连接处有愈伤组织, 有的则无愈伤组织, 并可清晰看见根和茎连通生长(表 4, 图 3)。当根生长到 5±2 条、长度为 3~6 cm 时, 即可揭开瓶盖或封口膜, 先加入浅层的自来水以保证瓶内相对湿度, 置于培养室中。5~7 d 后, 将植株取出, 洗净根部的培养基, 用镊子稍用力拉扯小植株再生根, 少部分根易脱落, 多数根与茎连接紧密不易脱落, 选择根未脱落的小植株移栽入基质, 1/10MS (有机物除外)作为营养液浇灌植株后, 用塑料膜保湿 5~7 d 后完全置于自然环境中, 可大大提高薰衣草组培苗成活率。

表 4 不定芽生根培养基筛选

Table 4 Choice of medium used for rooting of buds

处理 Treatment	培养基配方 Medium formula	接种芽数 No. of buds	平均根数 Mean No. of root	平均根长(厘米) Mean length of root (cm)	根部愈伤组织情况 Callus between the root and bud (Yes or No)	生根率(%) Rooting rate (%)
1	1/2 MS	50	2.5	3.4	无 No	70
2	MS	50	3.8	4	无 No	82
3	MS+NAA 0.1 mg/L	50	3.5	3.5	少量 A little	75
4	MS+NAA 0.5 mg/L	50	4	3.3	少量 A little	73
5	MS+NAA 1 mg/L	50	4	2.5	较多 Much	79

注: 生根率=接种的不定芽数/长根的不定芽数×100%

Note: Rooting rate equals to percentage of that numbers of buds divide by numbers of plantlets

### 作者贡献

董玉梅和段如兰是本研究的方案设计和直接实施者, 共同完成实验数据整理分析及论文初稿。李正楠、王曼君和尹兴福共同参与了预备前期研究、后期资源保存和扩繁工作; 刘雅婷修改论文定稿。全体作者都阅读并同意最终文本。

### 致谢

本研究受云南省教育厅科学研究基金项目(项目编号: 2011Y441)、经济林木种质改良与资源综合利用湖北省重点实验室开放基金(项目编号: 20011BLKF244)共同资助。感谢云南农业大学农学院实验中心提供开放的实验平台。感谢匿

名的同行评审人的评审建议和修改建议。

### 参考文献

- Al-Amier H., Mansour B.M., Toaima N., Korus R.A., and Shetty K., 1999, Tissue culture based screening for selection of high biomass and phenolic producing clonal lines of lavender using *pseudomonas* and azetidine-2-carboxylate, *J. Agric. Food Chem.*, 47(7): 2937-2943 <http://dx.doi.org/10.1021/jf9813889> PMID:10552590
- Altaei D.T., 2012, Topical lavender oil for the treatment of recurrent aphthous ulceration, *Am. J. Dent.*, 25(1): 39-43

- PMid:22558691
- Cavanagh H.M., and Wilkinson J.M., 2002, Biological activities of lavender essential oil, *Phytother. Res.*, 16(4): 301-308 <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.1103> PMid:12112282
- Denner S.S., 2009, *Lavandula angustifolia* Miller: English lavender, *Holist. Nurs. Pract.*, 23(1): 57-64 PMid:19104276
- Georgiev M., Kuzeva S., Pavlov A., Kovacheva E., and Ilieva M., 2006, Enhanced rosmarinic acid production by *Lavandula vera* MM cell suspension culture through elicitation with vanadyl sulfate, *Z. Naturforsch. C.*, 61(3-4): 241-244 PMid:16729583
- Georgiev M., Abrashev R., Krumova E., Demirevska K., Ilieva M., and Angelova M., 2009, Rosmarinic acid and antioxidant enzyme activities in *Lavandula vera* MM cell suspension culture: a comparative study, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 159(2): 415-425 <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-008-8437-3> PMid:19050834
- Jiang M., Xia K.G., and Yi Q.Y., 2009, The study on development of breeding of lavender, *Xiangliao Xiangjing Huazhuangpin (Flavour Fragrance Cosmetics)*, 4: 30-32 (江明, 夏凯国, 易清元, 2009, 薰衣草的育种研究进展, *香料香精化妆品*, 4: 30-32)
- Jones C., 2011, The efficacy of lavender oil on perineal trauma: a review of the evidence, *Complement. Ther. Clin. Pract.*, 17(4): 215-220 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctcp.2011.01.003> PMid:21982136
- Kovacheva E., Georgiev M., Pashova S., Angelova M., and Ilieva M., 2006, Radical quenching by rosmarinic acid from *Lavandula vera* MM cell culture, *Z. Naturforsch. C.*, 61(7-8): 517-520 PMid:16989310
- Lee H.J., Cho H.S., Park E., Kim S., Lee S.Y., Kim C.S., Kim do K., Kim S.J., and Chun H.S., 2008, Rosmarinic acid protects human dopaminergic neuronal cells against hydrogen peroxide-induced apoptosis, *Toxicology.*, 250(2-3): 109-115 <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2008.06.010> PMid:18644421
- Murashige T., and Skoog F., 1962, A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures, *Physiolgia Plantarum*, 15(3): 473-497 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Pavlov A.I., Georgiev M.I., Panchev I.N., and Ilieva M.P., 2005, Optimization of rosmarinic acid production by *Lavandula vera* MM plant cell suspension in a laboratory bioreactor, *Biotechnol. Prog.*, 21(2): 394-396 <http://dx.doi.org/10.1021/bp049678z> PMid:15801776
- Pavlov A.I., Ilieva M.P., and Panchev I.N., 2000, Nutrient medium optimization for rosmarinic acid production by *Lavandula vera* MM cell suspension, *Biotechnol. Prog.*, 16(4): 668-670 <http://dx.doi.org/10.1021/bp000041z> PMid:10933844
- Vakilian K., Atarha M., Bekhradi R., and Chaman R., 2011, Healing advantages of lavender essential oil during episiotomy recovery: a clinical trial, *Complement. Ther. Clin. Pract.*, 17(1): 50-53 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctcp.2010.05.006> PMid:21168115
- Wang J.J., Zheng F.Y., Wang K., Gao Q., and Liu Y., 2010, The technology of rapid propagation of New Zealand lavender, *Beifang Yuanyi (Northern Horticulture)*, 2: 161-163 (王佳佳, 郑凤英, 王康, 高清, 刘洋, 2010, 新西兰薰衣草快速繁殖技术的研究, *北方园艺*, 2: 161-163)
- Xu Y.Z., Wang X.J., Zhao M.A., Zhao H.Q., and Liu M., 2005, Establishment of a high frequency plantlet regeneration system for *lavandula angustifolia* cv. munstead, *Xi'nan Nongye Daxue Xuebao (Journal of Southwest Agricultural University (Nature Science))*, 27(3): 344-349 (许耀祖, 王晓军, 赵民安, 赵海清, 刘敏, 2005, 薰衣草高频植株再生系统的建立, *西南农业大学学报(自然科学版)*, 27(3): 344-349)