

迷迭香之組織培養

文 / 圖 黃柄龍*

前言

迷迭香 (*Rosmarinus officinalis*)，屬唇形花科，常綠多年生灌木，具有特殊的香氣，通常可由其花、枝葉以水蒸氣蒸餾得到具揮發性的精油。迷迭香抽出物中的 rosmarinic acid 具有抗氧化的特性，並可提高過氧化酵素活性，增加對病原菌的防禦反應，減少酚類化合物產生，避免危害寄主植物，為一種天然的醫藥及香料作物。在台灣，迷迭香的用途主要作為烹調食物的香料及香草茶飲的材料；而歐美地區，已被廣泛研究並應用在各種食物及肉品熱消毒後的保存上。

迷迭香繁殖方法一般用播種或扦插。不過，優良迷迭香栽培品種中其內容物含量主要決定在季節、環境因子及其個別的遺傳來源，因此，為保有優良的特性，可利用組織培養方法培養迷迭香幼枝或誘導癒合組織進行細胞懸浮培養來取得 rosmarinic acid，而且其乾物重及鮮重之生產速率又比傳統繁殖法快。

由於台灣南部地區夏季常因高溫多雨，致使迷迭香生長變緩，因此若要發展香精產業，可利用組織培養及細胞培養方法所具有的產量大、速率快、不受環境因子影響的優點，作為生產的工具。

組織培養

一、培植體的滅菌：

迷迭香葉面具有許多絨毛，葉背呈凹陷狀，內藏許多油胞，造成滅菌不易。可

先行將盆植迷迭香移至室內二週，每三天噴灑億力 (Benlate) 1000 倍稀釋液，進行初步之淨化；再取枝條上端新長出之細嫩部分，利用 70 % 酒精浸泡 10 秒，0.5 % 次氯酸鈉 (NaOCl) 表面消毒 10 分鐘，最後以無菌水沖洗數次後備用。須注意，酒精對植物組織的傷害敏感，浸泡時間不宜過長，否則培植體容易受傷過度，呈“燒焦狀”，導致死亡。

二、癒合組織的誘導：

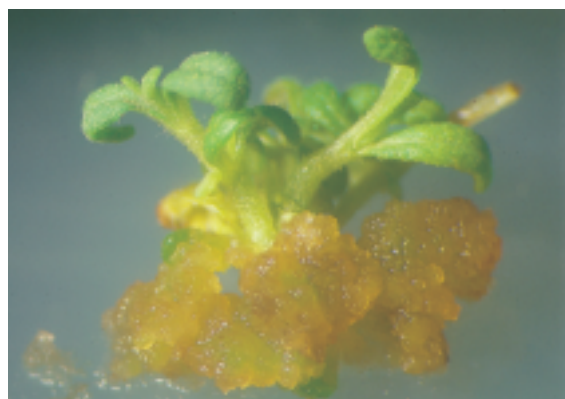
滅菌過的葉片材料，切成長 0.6cm 大小，作為誘導癒合組織之培植體。在 VW (Vacin & Went, 1949) 基礎培養基中加入適當的植物生長調節劑 2,4-D、BA，對葉片具有良好的癒合組織誘導能力，所形成的癒合組織團大 (圖 1)。同時，癒合組織的增殖以 MS (Murashige & Skoog, 1962) 全量鹽類，添加 BA 2mg/l、NAA 0.2mg/l 的效果最好，過高的 BA 濃度反而使癒合組織增殖率減低；而無 auxin 存在時，癒合組織的褐化嚴重，甚至死亡。



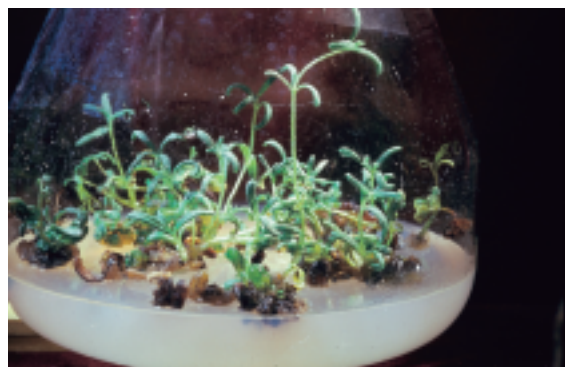
▲圖 1. 迷迭香葉片誘導之癒合組織

三、植株再生：

增殖的癒合組織，極容易由其上直接發生器官形成（organogenesis），產生迷迭香芽體。不過，所形成的芽體大多呈水浸狀、玻璃質化現象，無法繼續發育成植株。添加PVP（polyvinylpyrrolidone）能有效地降低癒合組織增殖時的褐化率，或從已褐化的癒合組織上再增殖出少量的癒合組織及大量的芽體分化（圖2），同時分化產生的芽體玻璃質化現象獲得明顯的改善，均能夠發育形成外觀正常的植株，達到大量繁殖的目的（圖3），而其中又以PVP 500mg/l的效果最佳。反觀滲透壓調節劑山梨糖醇（sorbitol），雖然可以降低癒合組織誘導過程中組織內的水分含量，進而影響癒合組織的生長及細胞分



▲圖2. 迷迭香癒合組織產生之芽體分化



▲圖3. 迷迭香組織培養大量繁殖

化，有效提高植株的再生能力；不過，迷迭香癒合組織經山梨糖醇處理後，仍無法改善水浸狀、玻璃質化現象，癒合組織存活率隨山梨糖醇濃度的增加而減少，所分化產生的芽體團小，芽體外觀不正常。

細胞懸浮培養

切碎癒合組織，利用0.5mm、0.71mm、1.0mm大小篩網濾過後，分別培養於具側管三角瓶中，以100rpm轉速之迴旋振盪器振盪培養，每日測量一次體積，每隔18天作一次繼代培養，繼代培養時須注意混勻細胞及培養液，以便測量懸浮培養之生長曲線圖。結果發現，經1.0mm大小篩網過濾培養，由於細胞團大，培養液不易浸潤至組織內部，因此在第4次生長曲線測定之生長循環中，大部分細胞均已呈褐化死亡；經0.5mm篩網培養者，在第6次生長曲線測定之生長循環時也都變褐；只有經0.71mm篩網培養的，生長快速，致使無足夠的培養液可供繼續生長、增殖，且不論其在生長曲線的穩定性，及懸浮培養的品質、色澤等亦均保持最佳狀態。所以迷迭香懸浮培養時，以通過0.71mm大小篩網的細胞組織最適當，太大或太小孔目的篩網均會影響其生長。

結語

利用組織培養方法培養迷迭香，不僅可以克服土地、氣候、環境因素的限制，達到短時間內大量繁殖的目的，更可避免因生產地的改變而影響迷迭香之生長與香氣。同時，細胞懸浮培養的應用，可在最長繼代培養時間及最大生產量上尋得一平衡點，降低商業生產上的成本及人力支出，提高最大的產量收益。因此，利用生物技術開發出一條嶄新、穩定的香精原料供應途徑，這或許可提供作為香精產業發展的新方向。🌱