

# 金银花离体快繁技术的初步研究

方华舟 易庆平 沈 超

(荆楚理工学院生物工程学院 湖北荆门 448000)

**摘要:**研究了忍冬诱导生芽、增殖培养、诱导生根的培养基及配方,结果表明 MS + 6-BA1.0mg/L + NAA0.1mg/L 是适宜的生芽诱导培养基,MS + 6-BA1.5mg/L + NAA0.01mg/L、MS + 6-BA1.5mg/L + NAA0.05mg/L 是适宜的增殖培养基,1/2MS + NAA2.5mg/L + 活性炭 200mg/L 是较适宜的生根培养基。并为其它金银花组培快繁提供技术借鉴参数。

**关键词:**金银花;组培快繁;培养基及配方

Study on the Technology of Rapid Propagation via Tissue Culture for  
*Lonicera japonica* Thunb.

Fang Hua-zhou, YI Qing-ping, Shen Chao

(Department of Bio-Engineering, JingChu College of Technology, Jingmen, Hubei 448000)

**Abstract** the Rapid Propagation Technology of Tissue Culture for *Lonicera japonica* Thunb. were studied by adopting different culture mediums and formulae of shoot induction, proliferation and rooting .The results showed that the optimum culture medium for shoot induction was MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.1 mg/L; MS+6-BA1.5mg/L+NAA0.01 mg/L, MS+6-BA1.5mg/L+NAA0.05 mg/L was proliferation medium. It could still form a good root system in a 1/2MS+ NAA2.5 mg/L+ active carbon 200mg/L medium. This would provide some useful parameters for reference in other *Lonicera japonica*.

**Keywords** *Lonicera japonica* Thunb; Rapid propagation via tissue culture; mediums and formulae

金银花,又名二花、银花,是忍冬科忍冬属植物。金银花对环境适应性强,全国各地均有广泛分布,现已大规模人工栽培种植。据研究,金银花的主要化学成分含有绿原酸、异绿原酸、黄酮类、挥发油等化合物,具有抑菌消炎、清热解毒、保肝利胆、增强人体免疫力等多种功效,既是人们喜爱的传统保健饮品,更是祖国医学宝库中珍贵、重要的大宗常用中药<sup>[1]</sup>。尤其是近年来对其有效化学成分

的深度研发及应用正方兴未艾<sup>[1]</sup>,需要大规模工业化种植。同时,金银花花期时间长,花形花色独特,黄白相间,清香扑鼻,花数多,是人们十分喜爱的观赏及绿化的极好材料<sup>[4]</sup>。扦插繁殖和播种繁殖是金银花的一般常用繁殖方式,然而这些常规的繁殖方式容易使金银花植株携带病毒细菌等,造成金银花生产性能下降,植株生长不良,有效成分积累减少,植株及产品品质降低<sup>[4]</sup>。通过以组织培养

的贮藏期 8 天延长 4 天,喷施 0.8%氯化钙溶液的比对照延长 2 天。

## 4 小结与讨论

通过对桂热芒 120 号果实采前进行叶面喷施氯化钙溶液试验,结果表明,采前叶面喷钙明显提高果实钙和硼的含量,同时,也明显提高果实的贮藏性,其中,采前叶面喷施 0.4%氯化钙溶液、0.6%氯化钙溶液

对提高果实贮藏性的效果较好,能延长芒果贮藏期 4~6 天。至于采前叶面喷施 0.8%氯化钙溶液的果实的贮藏期较短,也许是由于氯化钙溶液的浓度太高,影响果实表皮吸收,使果实中钙含量相对较低的缘故。但是,因为各处理果实的钙含量测定没有分别进行,而缺乏直接的数据支持,需要进一步进行试验证明。

的方式繁育金银花种苗,不仅可以使金银花植株脱毒(植物体内不含病毒细菌等有害微生物等),提高植株性能,而且繁殖速度快、繁殖系数高,可更好地保持亲本品质。

目前,国内外关于金银花组织培养的报道比较少,本实验以湖北大洪山地区有着良好保健药用性能的野生金银花为实验材料,对金银花进行组织培养研究,旨在对金银花组培脱毒快繁技术进行有益探讨,并对该金银花品种驯化开发提供技术参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

实验材料为野生金银花,经鉴定为忍冬科忍冬属植物忍冬(*Lonicera Japonica Thunb.*)。采摘于湖北省荆门市钟祥境内大洪山山脉地区张集镇(江汉平原地区)。

### 1.2 材料处理

选取生长健壮的当年生幼茎,置于流水中,用软毛刷刷去表面的灰尘和泥土。将幼茎剪成1.5~2cm长带有腋芽的茎段,在75%乙醇溶液中浸泡30s,转入已加入2~3滴吐温的升汞溶液中灭菌8min;取出用无菌水漂洗5~6次,备用<sup>[9]</sup>。

### 1.3 培养基及配方

以MS为基本培养基,以不同浓度的6-BA和不同浓度的NAA进行组合,配制诱导生芽培养基,调整其pH值为5.6~5.8<sup>[2,3,5]</sup>。

以MS为基本培养基,蔗糖20g/L,琼脂7g/L,以不同浓度的6-BA和不同浓度的NAA进行组合,配制增殖培养基。调整其pH值为5.6~5.8<sup>[2,3,5]</sup>。

以1/2MS为基本培养基,添加活性炭200mg/L,蔗糖15g/L,以不同浓度的NAA配制生根培养基。调整其pH值为5.6~5.8<sup>[2,3,5]</sup>。

### 1.4 实验方法

表1 不同浓度激素组合对诱导生芽的影响

Table1. Effect of hormone combinations at different concentrations on shoot induction

实验号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
6-BA mg/L	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.5	1.5	1.5	1.5	2.0	2.0	2.0	2.0
NAA mg/l	0.05	0.1	0.5	1.0	0.05	0.1	0.5	1.0	0.05	0.1	0.5	1.0	0.05	0.1	0.5	1.0
外植体数(个)	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
出芽数(个)	14	13	14	12	13	16	12	9	10	7	8	4	5	4	3	3
诱导率%	70	65	70	60	65	80	60	45	50	35	40	20	25	20	15	15
生长状况	较好	较好	较好	较好	好	好	好	一般	一般	一般	一般	一般	一般	一般	一般	一般

表2 不同浓度激素组合对增殖培养效果的影响

Table2. Effect of hormone combinations at different concentrations on proliferation culture

实验号	激素组合		接种数(个)	诱导率%	平均丛芽数(个)	丛芽高度 cm	生长状况
	6-BA	NAA					
1	1.0	0.01	20	60	2.5	1~2	较好
2	1.0	0.05	20	55	2.7	1~2	较好
3	1.0	0.10	20	50	2.1	0.5~1	较差
4	1.5	0.01	20	65	3.2	1~4	好
5	1.5	0.05	20	80	4.3	1~5	较好
6	1.5	0.10	20	30	1.6	1~2	良好
7	2.0	0.01	20	50	3.0	1~2	较好
8	2.0	0.05	20	65	2.2	1~3	较好
9	2.0	0.10	20	35	1.9	1~2	较好

各培养基均经高压灭菌处理。灭菌消毒处理后的外植体,首先接入诱导生芽培养基,在适宜条件下诱导生芽。当芽体生长至适当大小即转入增殖培养基,进行增殖培养。将经适当增殖培养的丛生芽分割为单株,移入生根培养基中,诱导生根,完成试管苗生长。

### 1.5 培养条件

光照强度 1500lx,光照时间 12h/d,培养温度  $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  [2,3,5]。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度激素组合对诱导生芽的影响

将外植体茎段接入诱导生芽培养基中,培养约 5~10d 左右,可见茎节上潜伏的腋芽开始萌动生长,20d 左右可逐渐形成主芽及芽丛。具体情况见表 1。

从表 1 可以看出,随着 6-BA 浓度的升高,腋芽的诱导率明显下降,说明高浓度的 6-BA 不利于诱导生芽;随着 NAA 浓度的升高,腋芽诱导效果有一定程度的下降,说明高浓度的 NAA 对腋芽有一定的抑制作用。实验表明,6 号培养基 MS + 6-BA1.0mg/L + NAA0.1mg/L 对腋芽的诱导率较高,达 80%,且芽生长健壮,是较理想的生芽培养基配方。

### 2.2 不同浓度激素组合对增殖培养的影响

当腋芽长至 0.5cm 左右,将其从基部切下(均分割为单株),接入不同浓度的 6-BA、NAA 激素组合配制的增殖培养基,约 5~10d 左右可见幼苗基部产生愈伤组织,逐渐从中产生出新芽。约 30d 左右,丛生芽情况见表 2。

从表 2 可以看出,6-BA 浓度对丛生芽的增殖和分化效果影响不大,而高浓度的 NAA 则对增殖培养有明显的抑制作用。4 号培养基 MS + 6-BA1.5mg/L + NAA0.01mg/L 和 5 号培养基 MS + 6-BA1.5mg/L + NAA0.05mg/L,分化增殖的新生芽数多,幼苗生长健壮,植株高大,是比较适宜的增殖培养基。

### 2.3 诱导组培苗生根实验结果

当试管苗生长至约 2cm 高、植株较健壮时,将其接入生根培养基进行生根诱导培养。结果见表 3。

从表 3 可以看出,随着 NAA 浓度的升高,有利于促进试管苗生根,且根生长较粗壮,但浓度过

表 3 不同浓度激素对试管苗生根的影响

Table3. Effect of different hormone concentrations on rooting of tube seedling

NAA (mg/L)	试管苗数(株)	生根苗数(株)	生根率%	生根状况
1.0	20	8	40	生根较少且较短
2.0	20	13	55	生根较多但较短
2.5	20	14	70	生根较多且较长
3.0	20	10	50	生根较少、短,略粗壮

高则又抑制根的生长。其中 1/2MS + NAA2.5mg/L + 活性炭 200mg/L + 蔗糖 15g/L 是较适宜的生根培养基。其所诱导的根数较多且健壮。

## 3 结论与讨论

3.1 本实验以金银花带腋芽茎段为实验材料,进行组培脱毒快繁,属于无性繁殖。由于茎段取材方便,因此以带腋芽茎段为外植体,通过组织培养进行脱毒快速繁殖金银花种苗,是一项可行的技术。

3.2 本实验说明,较低浓度 6-BA 和 NAA 有利于腋芽的诱导和增殖,适宜浓度的 NAA 可诱导生根,这与仇键、谭晓风等 [2] 的研究一致。其中 MS + 6-BA1.0mg/L + NAA0.1mg/L 是适宜的诱导生芽培养基,MS + 6-BA1.5mg/L + NAA0.01mg/L、MS + 6-BA1.5mg/L + NAA0.05mg/L 是适宜的增殖培养基,1/2MS + NAA2.5mg/L + 活性炭 200mg/L + 蔗糖 15g/L 是较适宜的生根培养基。

3.3 本实验属于初步研究,试管苗的移栽以及如何进一步提高增殖系数、提高诱导生根效率,有待于后续进一步研究。

### 参考文献

- [1]董克满.金银花的化学成分及生物活性[J].齐齐哈尔医学院学报,2003,(6):692~694.
- [2]仇键,谭晓风.蒙花 1、2 号金银花组织培养与快速繁殖[J].2005,25(4):53~56.
- [3]黄守印,张福,邢路军.北京忍冬组织培养实验[J].河北林业科技,2005,(4):3~4.
- [4]恒波.金银花繁育栽培技术[J].河北林业科技,2003,(3):38~39.
- [5]王光全.凤爪金银花的组织培养技术[J].河南林业科技,2002,(5):25~26.