

## 金银花组织培养初报

刘伟<sup>1</sup>, 和兆荣<sup>1</sup>, 周厚高<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 云南大学生命科学学院, 昆明 650091; <sup>2</sup> 仲恺农业技术学院, 广州 510225)

**摘要:** 为了加快金银花产业的发展, 提高金银花的繁殖系数, 避免生态环境被破坏。以野生金银花带芽茎段为外植体, 采用不同激素及浓度配比成多种培养基, 成功诱导出腋芽, 筛选出诱导腋芽培养基 MS+BA0.1mg/L+NAA0.1mg/L, 壮苗的最佳激素组合为 BA0.05+NAA0.1mg/L, 其中 6-BA 在芽的产生过程中起主导作用。

**关键词:** 金银花; 腋芽; 组织培养

**中图分类号:** Q945.52 **文献标识码:** B

### Tissue Culture of Honeysuckle

Liu Wei<sup>1</sup>, He Zhaorong<sup>1</sup>, Zhou Hougao<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> School of Life Science, Yunnan University, Kunming 650091;

<sup>2</sup> Zhongkai University of Agriculture and Technology, Guangzhou 510225)

**Abstract:** In order to accelerate development of honeysuckle industry, increase the number of honeysuckle young seedling and protect the ecological environment, the lateral bud of honeysuckle was developed. PLB was obtained through culture of stem with bud of wild honeysuckle on MS with BA0.1mg/L and NAA0.1mg/L. The best combination of hormone for proliferation of honeysuckle was MS with BA0.05mg/L and NAA0.1mg/L. 6-BA played a key role in the lateral bud formation and differentiation.

**Key words:** Honeysuckle, Lateral bud, Tissue culture

金银花 (*Lonicera japonica* Thunb.) 又叫双花、过冬藤, 是忍冬科攀援灌木, 幼枝密生柔毛和腺毛, 野生种分布广泛, 常见生于路旁、山坡灌丛或疏林中<sup>[1]</sup>。金银花是一种珍贵的观赏植物, 花清香而引人, 可作盆景, 又是垂直绿化极好的材料<sup>[2]</sup>; 同时金银花是一种重要的中药, 含有绿原酸、异绿原酸、黄酮化合物、芳樟醇、花醇等化合物, 其中绿原酸和异绿原酸为主要有效成分<sup>[3]</sup>, 这些成分有抑菌、解热、抗炎、抗生育、增强人体免疫等多种功能<sup>[4]</sup>。另外, 金银花中的水溶性化合物三萜皂甙和绿原酸四乙酸化物具有保肝利胆的功效<sup>[5]</sup>。金银花集观赏药用于一身经济价值高, 正逐渐被人类所重视。但野生种繁殖速度慢, 难以获得大量栽培种苗, 从野外取材则容易破坏生物资源及生态环境。金银花的繁殖方式很多<sup>[6]</sup>, 而组织培养不仅具有繁殖速度快、培育出来的苗不易变异等特点, 还能

在避免生物资源和生态环境遭受破坏的前提下快速得到再生植株, 不失为一种解决金银花栽培种苗的好方法。虽然国内外有一些关于金银花组织培养的报道<sup>[7-11]</sup>, 但是比较少, 而且品种不同, 地域性较强。因此, 有必要对其进行组织培养的研究, 以期提高其繁殖系数, 满足生产的需要。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

实验在湖南吉首大学生物系组培实验室进行, 以 2001 年 3 月采自湖南武陵山区海拔 204m 的吉首市郊区的野生金银花为材料。

#### 1.2 无菌材料的获得

于野外采取生长旺盛的壮苗当年生幼茎。置于清水中, 用毛刷小心清刷表面灰尘和泥土, 再用清水加少量吐温清洗, 用剪刀剪去叶片, 将幼茎剪成 4~5cm 长

**第一作者简介:** 刘伟, 男, 1977 年出生, 湖南祁东人, 在读硕士研究生, 主要从事园艺植物生理及育种方面的研究。通信地址: 510225 广东省广州市海珠区仲恺路 501 号广东仲恺农业技术学院花卉研究中心。E-mail: liuwei771211@126.com。

**通讯作者:** 和兆荣, 男, 1970 年出生, 副教授, 主要从事植物学和生态学方面的研究。通信地址: 650091 云南省昆明市翠湖北路 2 号云南大学生命科学学院。E-mail: zhrhe@ynu.edu.cn。

**收稿日期:** 2006-03-09, **修回日期:** 2006-04-07。

小段,每段带1~2个腋芽。用酒精棉球擦洗表面,放于超净工作台上的烧杯中,加入0.1%HgCl<sub>2</sub>溶液灭菌8min,再用无菌水漂洗3~5次,切取8~15mm长、带一个芽的茎段,接种至诱导培养基上。

### 1.3 培养基及激素组合

以MS为基本培养基,用BA、IBA、NAA、GA<sub>3</sub>、2,4-D 5种激素的不同组合配制成各种不同的培养基(表1~4)。

表1 不同激素不同浓度的实验组合

培养基号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
BA	0	0.1	0.5	1.0	2.0	0	0.1	0.5	1.0	2.0
NAA	0	0	0	0	0	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05

注:激素浓度均为mg/L

表2 不同激素不同浓度的实验组合

培养基号	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
BA	0	0.1	0.5	1.0	2.0	0	0.1	0.5	1.0	2.0
NAA	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

注:激素浓度均为mg/L

表3 不同激素不同浓度的实验组合

培养基号	21	22	23	24	25	培养基号	26	27	28	29	30	31
IBA	0	0.1	0.5	1.0	2.0	NAA	0.1	0.5	1.0	0.1	0.5	1.0
NAA	0	0	0	0	0	GA <sub>3</sub>	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2

注:激素浓度均为mg/L

表4 不同激素不同浓度的实验组合

培养基号	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43
BA	0.1	0.5	1.0	1.1	0.1	0.5	1.0	1.1	0.1	0.5	1.0	1.1
2,4-D	1.0	1.0	1.0	1.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.2	2.2	2.2	2.2

注:激素浓度均为mg/L

### 1.4 培养条件

光照强度1200lx,光照时间10~12h/d,温度25℃,pH5.8。

## 2 结果与讨论

### 2.1 观察结果

由于MS培养基营养物质全面,使用普遍而且效

果较好,所以实验以MS为基本培养基,通过多因素实验,得到如下结果(表5)。

将原材料接种于诱导培养基后,约6~7d可见腋芽开始萌发,到第9天,10号和12号材料同时长出芽。第9天以后,12号培养基上的腋芽,生长速度逐渐加快,并且芽较健壮。当诱导出来的芽长至1~2cm

表5 不同激素组合对腋芽诱导的影响

培养基号	激素组合	外植体数	出芽数	出芽率
12	MS+BA0.1mg/L+NAA0.1mg/L	33	25	78.1%
10	MS+BA2mg/L+NAA0.05mg/L	8	4	50%
2	MS+BA0.1mg/L	12	8	75%
11	MS+NAA0.1mg/L	12	1	8.3%
22	1/2MS+IBA0.2mg/L	8	1	12.5%

表6 不同激素组合对腋芽增殖的影响

增殖培养基号	激素组合	结果
L <sub>1</sub>	BA0.2mg/L+NAA0.1mg/L	7d 以后芽稍微增粗
L <sub>2</sub>	BA0.3mg/L+NAA0.1mg/L	7d 后芽稍微增粗,未见分化侧芽,14d后芽变脆,断裂
L <sub>3</sub>	BA0.05mg/L+NAA0.1mg/L	7d 后芽增粗,叶片扩大,并长出新叶
L <sub>4</sub>	BA0.4mg/L+NAA0.1mg/L	7d 后未见明显变化

长时转移到继代、增殖培养基上,得到结果见表6。接种后一个星期观察,其中L<sub>3</sub>培养基上的芽明显长粗,叶片扩大,其余3种培养基上的芽变化不明显。

### 2.2 分析与讨论

2.2.1 细胞分裂素对腋芽诱导的影响 从表5中可以看出,就某一种激素来说,由于单细胞分裂素培养基上的出芽率高达75%而单生长素的培养基出芽率只有8.3%,所以浓度为0.1mg/L的细胞分裂素6-BA在腋芽的诱导过程中起主要作用,而各浓度的生长素NAA的诱导效果均不好。对照表5和表6,在表5

中,BA为0.1mg/L时培养基上的芽萌发量最大,在表6中由于NAA浓度相同,而BA浓度不同。结果显示BA为0.05mg/L时生长量最大。由此可判断:低浓度BA有利于腋芽的生长。在表5中10号培养基的出芽率也有50%,而BA的浓度为2mg/L,而同BA浓度的其它培养基上结果不明显,相对于NAA较高的培养基来说,当BA浓度在不超出一定范围时,NAA浓度越低越有利于芽的诱导。比较10和12号可知有利于诱导芽的BA浓度应该低一点好,BA浓度过高或没有BA则达不到理想的目标。

2.2.2 其它激素对腋芽诱导的影响 由于NAA不是理想的诱导芽的激素,当NAA与GA<sub>3</sub>组合成诱导培养基时未见萌芽,可见GA<sub>3</sub>对芽的诱导作用不明显。同样IBA对芽的诱导作用也不明显。从BA与2,4-D组合的培养基来看,BA浓度不算特别高,但是结果并不理想,所以外源生长素2,4-D的诱导效果还不如NAA好。

2.2.3 激素组合对腋芽诱导的影响 诱导腋芽时,激素组合BA0.1mg/L+NAA0.1mg/L的出芽率高、生长出来的芽健壮、抽叶能力强,出芽以后芽生长快,所以是诱导金银花腋芽的最佳激素组合。其次为10号培养基、出芽率为50%,萌发所需时间与12号差不多,但后来的生长趋势没有12号好。对比10号和12号:12号中的BA浓度低而NAA浓度比10号中的高,由于细胞分裂素对芽的诱导起决定作用,且BA浓度低有利于芽的诱导,所以,只就BA这一因子来说,10号的出芽率应该很低,但是由于NAA的浓度低,所以出芽率较高。由此表示:低浓度的BA+低浓度的NAA激素组合是诱导芽的最佳组合。在金银花的叶芽诱导过程中,其它组合的诱导未见成效,不是理想的金银花诱导培养基。

### 3 结束语

实验得出诱导芽的最佳激素组合是BA0.1mg/L+NAA0.1mg/L,但出芽率不是很理想,而且在继代增殖时未得到理想的继代培养基,有待于进一步提高。在实验过程中,由于材料体表有绒毛和腺毛,因此,消毒这一关非常重要,直接影响再生植株的获得量。实验得出:在同等条件下接种于试管中的材料较接种于锥形瓶中的出芽高。原因是试管壁长、腔小,不

容易被细菌感染,但是有容量小的缺点。由于具有较高的观赏及药用价值,金银花已受到人们关注,成为忍冬科资源植物中的重点开发对象,有关不同激素及激素组合对其腋芽诱导及其继代增殖的影响和生根培养基的确定、组培苗的成功移栽等都是值得进一步研究的课题。

### 参考文献

- 1 中国科学院植物研究所.中国高等植物图鉴(第四册)[M].北京:科学出版社,1994.297
- 2 徐茂宏,范秀娟.金银花生态经济价值浅析[J].山西林业,2002,(5):19~20
- 3 黄丽瑛,吕植植,李继彪,等.中药金银花化学成分的研究[J].中草药,1996,27(11):645~647
- 4 高玉敏,王名洲,王建平,等.金银花化学成分的研究[J].中草药,1995,26(11):568~569
- 5 娄红祥,郎伟君,吕木坚,等.金银花中水溶性化合物的分离与结构确定[J].中草药,1996,27(4):195~199
- 6 孟庆杰,王光全.金银花繁育方法与技术[J].江苏农业科学,2004,(6):117~118
- 7 王光全,孟庆杰,孟庆军.凤爪金银花的组织培养技术[J].河北林业科技,2002,(10):25
- 8 李军,乔元伟.红河金银花的组培快繁技术[J].山东林业科技,2000(3):41~42
- 9 赵秀芳.红金银花离体快繁技术[J].林业科技,2005,30(4):60~61,64
- 10 覃拥灵.皱叶忍冬的组织培养与快速繁殖初步研究[J].河池学院学报,2004,24(4):32~34
- 11 杨培君,陈德经,赵桦,等.蒙花忍冬德组织培养与快速繁殖研究[J].西北植物学报,2003,23(7):1304~1307

(责任编辑:陶冶之)