

红金银花组织培养试验研究

赵 贤 慧

(青岛农业大学 山东 青岛 266109)

摘 要:以红金银花的顶芽为外植体,采用正交试验设计,对红金银花顶芽的初代培养、继代培养、生根培养进行了研究。结果表明:初代培养的最适培养基为:MS+6-BA (1.0 mg/L)+NAA (0.1~0.2 mg/L),最适蔗糖浓度为 20.0 g/L;继代培养的最适培养基为 MS+6-BA (1.5 mg/L)+NAA (0.2 mg/L)+GA₃ (0.5 mg/L);生根培养以 1/2MS+6-BA 0.25 mg/L+NAA 1.0 mg/L+活性炭 1.0 g/L,即可得到理想的生根苗。

关键词: 正交试验;红金银花;组织培养

中图分类号: S 567.23⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)09-0071-03

世界上忍冬属植物有 200 多种,我国有 98 种,约占世界总数的 50%,其中以西南部为主产区^[1]。金银花生长快,寿命长,其生理特点是更新性强,老枝衰退新枝很快形成。红金银花是金银花的变种,花蕾、叶、茎均为红色,花蕾为红色,花开后变成红、黄、白相间,赏心悦目,花色艳丽,香味浓郁。该试验对红金银花的组织培养试验进行了研究,为红金银花在山东地区乃至全国快速推广应用,发挥其园林绿化功能,提供了基础性和技术性支持。

1 材料和方法

1.1 材料

试验所用材料为当年生红金银花中、上部的枝条,采集时间是春季,取自青岛平度地区。

将取回的红金银花枝条放入水槽中,用软毛刷刷洗枝条的表面,自来水冲洗,将尘土冲洗干净。剪取顶芽部位 1.0~2.0 cm,放入洗涤液或洗衣粉溶液中浸泡 15~20 min,再用自来水将洗涤液冲洗干净。在超净工作台下,先用 75%的酒精浸泡 30 s,用无菌水冲洗 1~2 次,再用 0.2%的升汞溶液灭菌 3~5 min,用无菌水冲洗 5~6 次。备用。

1.2 方法

切取已经灭菌的红金银花顶芽部位 1.0~2.0 cm 作为外植体,接种到以 MS 为基本培养基,添加 0.5、1.0、2.0、4.0 mg/L 的 6-BA 和 0.0、0.1、0.2、0.4 mg/L 的 NAA 以及 10、20、30、40 g/L 的蔗糖的初代培养基上。

当初代培养的芽长到 3.0~4.0 cm 时,将其转接到以 MS 为基本培养基,同时添加 1.0、1.5、2.0 mg/L 的 6-BA 和 0.1、0.2、0.4 mg/L 的 NAA 以及 0.0、0.5、1.0

mg/L 的 GA₃ 的继代培养基上。另添加 LH 0.2 g/L,蔗糖 20.0 g/L。

当继代培养的芽生长较健壮(高 4.0~5.0 cm)后,先将其从基部切下转接到只含 MS 的空白培养基上,培养 1 周后再接到生根培养基上,生根培养基以 1/2MS 为基本培养基,同时添加 0.0、0.25、0.5 mg/L 的 6-BA 和 0.5、1.0、2.0 mg/L 的 NAA 以及 0.1、0.2、0.4 g/L 的活性炭。另添加蔗糖 20.0 g/L。

以上试验均采用正交试验设计^[2]。琼脂 7.0 g/L, pH 5.8~6.2。每处理 30 个外植体,重复 3 次。培养期间光照强度保持 1 500~2 000 lx,光照时间为 12~14 h/d,控制温度 23~25℃。

2 结果与分析

2.1 不同因素对初代培养的影响

观察试验,发现各个处理的出现顶芽萌发现象均较慢,并且发现蔗糖浓度对试验也有较大影响。蔗糖浓度较高的处理,芽萌动后生长速度较快,但培养 10 d 左右,从顶芽基部切口处出现大量愈伤组织,影响上部吸收营养及正常生长。蔗糖浓度较低的处理,芽的萌动和生长速度较慢,但愈伤组织的生成量很少,不影响芽吸收营养及正常生长。此试验结果与仇键等^[3]对蒙花 1、2 号金银花组培试验结果相似。

诱导率=诱导数/(接种总数-污染数-死亡数)×100%。

从表 1 可以看出,6-BA、NAA 和蔗糖对红金银花顶芽的初代培养均有影响,但各因素之间的影响有差异。试验发现,不添加 NAA 的培养基,对诱导红金银花顶芽的培养效果较添加 NAA 培养基的效果差,芽的诱导缓慢,生长势较弱,甚至有枯死现象。而添加 NAA 的培养基,明显促进芽的诱导,提高了芽的诱导率。

作者简介: 赵贤慧(1981-),女,山东烟台人,硕士,研究方向为园林植物与观赏园艺。E-mail: zxlrdlf@163.com。

收稿日期: 2009-04-20

表 1 不同因素对初代培养的影响

处理号	因素				诱导率		
	6 BA	NAA	蔗糖	重复	重复II	重复III	平均值
1	a(0. 5 mg/ L)	a(0.0 mg/ L)	a(10 g/ L)	55. 56	54. 39	56. 68	55. 54
2	a	b(0. 1 mg/ L)	b(20 g/ L)	78. 57	77. 84	79. 32	78. 58
3	a	c(0. 2 mg/ L)	c(30 g/ L)	74. 07	75. 05	73. 18	74. 10
4	a	d(0. 4 mg/ L)	d(40 g/ L)	40. 74	41. 35	40. 13	40. 74
5	b(1. 0 mg/ L)	a	b	73. 08	72. 36	74. 02	73. 15
6	b	b	a	82. 14	82. 88	82. 01	82. 34
7	b	c	d	88. 89	87. 15	89. 37	88. 47
8	b	d	c	92. 59	91. 25	93. 46	92. 43
9	c(2. 0 mg/ L)	a	c	65. 38	66. 24	64. 82	65. 48
10	c	b	d	87. 5	86. 29	88. 01	87. 27
11	c	c	a	85. 19	84. 65	86. 03	85. 29
12	c	d	b	85. 71	86. 46	84. 57	85. 58
13	d(4. 0 mg/ L)	a	d	55. 56	54. 69	56. 48	55. 58
14	d	b	c	88. 89	87. 23	89. 45	88. 52
15	d	c	b	92. 31	91. 35	93. 26	92. 31
16	d	d	a	59. 26	58. 62	57. 41	58. 43
a 平均值	62. 24 d D	62. 44 d C	70. 40 c C				
b 平均值	84. 10 a A	84. 18 b A	82. 40 a A				
c 平均值	80. 90 b B	85. 04 a A	80. 13 b B				
d 平均值	73. 71 c C	69. 30 c B	68. 01 d D				
R	21. 86	22. 60	14. 39				

不同浓度蔗糖对顶芽诱导率的影响(极差值为 14. 39)小于不同浓度 6-BA 的影响(极差值为 21. 86),同时小于不同浓度 NAA 的影响(极差值为 22. 60),即 NAA 为最大影响因素。当 6-BA 浓度为 1. 0 mg/ L 时诱导率达到最大为 84. 10%;当 NAA 的浓度为 0. 1 mg/ L 和 0. 2 mg/ L 时诱导率分别达到 84. 18%和 85. 04%;当蔗糖浓度为 20. 0 g/ L 时诱导率达到最大为 82. 40%。

综合分析不同因素、不同浓度的处理组合,总结出

表 2 不同因素对继代培养的影响

处理号	因素				诱导率			
	6-BA	NAA	GA ₃	空列	重复	重复Ⅱ	重复Ⅲ	平均值
1	a(1.0 mg/ L)	a(0. 1 mg/ L)	a(0.0 mg/ L)	a	62.96	61.34	63.51	62.60
2	a	b(0.2 mg/L)	b(0.5 mg/ L)	b	90.01	91.04	89.97	90.34
3	a	c(0.4 mg/ L)	c(1.0 mg/ L)	c	82.76	81.23	83.66	82.55
4	b(1.5 mg/ L)	a	b	c	96.55	95.67	97.43	96.55
5	b	b	c	a	99.23	98.85	99.56	99.21
6	b	c	a	b	69.23	68.65	70.14	69.34
7	c(2.0 mg/ L)	a	c	b	89.66	88.77	90.71	89.71
8	c	b	a	c	72.41	73.42	71.83	72.55
9	c	c	b	a	86.21	85.46	87.27	86.31
a均值	78.50 c C	82.96 b B	68.17 b B					
b均值	88.37 a A	87.37 a A	91.07 a A					
c均值	82.86 b B	79.40 c C	90.49 a A					
R	9.87	7.97	22.90					

诱导率=诱导数/(接种总数—污染数—死亡数)×100%。

由表 2 看出, 6-BA 对继代培养的影响(极差值为 9. 87)大于 NAA 的影响(极差值为 7. 97)。并且较高浓度的 6-BA 诱导效果优于较低浓度的 6-BA, 以 1. 5 mg/ L 的效果最好, 诱导率达到 88. 37%; 较低浓度的 NAA 诱导效果优于较高浓度的 NAA, 以 0. 2 mg/ L 的效果最好, 诱导率达到 87. 37%。

另外试验发现, GA₃对促进芽的增殖和伸长生长有

对芽的初代培养的最佳培养组合为: MS+ 6-BA (1. 0 mg/ L)+NAA (0. 1~ 0. 2 mg/ L)+蔗糖(20 g/ L)。

2. 2 不同因素对继代培养的影响

观察试验, 发现继代培养过程中, 诱导的芽有丛生芽和单生芽 2 种形式。丛生芽生长缓慢, 高度 2. 0 cm 左右, 茎和叶细弱, 容易产生玻璃化现象; 单生芽徒长, 节间较长, 高度 3. 0~ 4. 0 cm, 叶片较大, 茎较细弱。

较明显的作用。当不添加 GA₃ 时, 芽的诱导率明显较低, 且芽的诱导缓慢, 生长势较弱, 丛生芽较少, 伸长量少; 添加 GA₃ 时, 芽的诱导率显著提高, 芽的诱导较快, 明显促进了增殖和伸长生长。当 GA₃ 浓度为 1. 0 mg/ L 时, 主要诱导了丛生芽, 生长势较弱, 且易玻璃化。因此, 综合分析得出, 以添加 0. 5 mg/ L 的 GA₃ 为宜。综合分析不同因素、不同浓度的处理组合, 对芽的继代培养的最佳培养组合为: MS+ 6-BA (1. 5 mg/ L)+NAA (0. 2 mg/ L)+GA₃ (0. 5 mg/ L)。

2.3 不同因素对生根培养的影响

在初代和继代培养过程中, 植株体内会残留部分外源激素, 干扰生根试验的结果。因此将继代培养的芽转接到只含 MS 的培养基上培养 1 周左右, 以减轻外源激素的干扰。1 周后观察发现, 植株生长健壮, 叶片和茎生长势均较强。

试验观察生根情况, 发现红金银花试管苗易生根, 所有生根培养试验处理组合均生根, 且为多条。并且在不添加活性炭培养瓶中观察发现, 植株先从其基部出现膨大现象, 再由膨大部位诱导出根, 而无愈伤组织产生。生根试验期间, 试管苗生长势继续增强。

表 3 不同因素对生根的影响

处理号	平均根数 / 条	平均根长 / cm	生根率 / %	生根情况
1	6.2	2.3	98.3	根粗 生长缓慢, 植株较健壮, 叶色较绿
2	8.6	5.2	100	根较细, 生长快, 植株健壮, 叶色绿
3	8.4	4.5	100	根细 生长快, 植株健壮, 叶色绿
4	10.3	5.3	100	根较细, 生长快, 植株健壮, 叶色绿
5	11.1	5.5	100	根细 生长快, 植株健壮, 叶色绿
6	8.4	1.5	100	根粗 生长缓慢, 植株较健壮, 叶色较绿
7	9.0	5.6	100	根细 生长快, 植株健壮, 叶色绿
8	7.5	2.1	98.5	根粗 生长缓慢, 植株较健壮, 叶色较绿
9	10.2	4.5	100	根较细, 生长快, 植株健壮, 叶色绿

由表 3 看出, 各个处理组的生根率很高, 几乎均达到 100%, 且生根条数多。通过试验观察发现, 影响生根的主要因素为活性炭, 不添加活性炭的处理组中, 根生长速度缓慢, 根粗但较短, 且植株生长势略弱于添加活性炭的处理组, 分析原因为根的诱导和生长需要一定的暗环境, 而活性炭为其提供了这样的条件, 并且活性炭具有吸附培养基中有害物质, 增强植株的生长势。另外, 比较各处理组诱导根的粗细情况, 说明完全的暗环境不利于根的增粗生长, 培养期间应有一定的光照。试验总结出最适活性炭浓度为 1.0g/ L。

另外, 通过试验发现, 不同的激素浓度对生根也有不同的影响。比较可知, 当 6-BA 浓度为 0.25 mg/ L 时, 平均生根数和生根长度都要高于 0 和 0.5 mg/ L 的试验结果; 当 NAA 浓度为 1.0 mg/ L 时, 平均生根数和生根长度都要高于 0.5 和 2.0 mg/ L 的试验结果。综合分析可知, 最佳的生根培养基组合为 1/2MS+6-BA 0.25 mg/ L+NAA 1.0 mg/ L+活性炭 1.0 g/ L。

3 结论

在初代培养中, 不同因素的影响大小表现不同, 单独使用 6-BA 对红金银花的顶芽启动影响不明显, 应与一定浓度的 NAA 配合使用。蔗糖浓度对培养也有较大影响, 蔗糖浓度低时生长缓慢; 浓度太高, 能产生大量的愈伤组织, 不利于顶芽的生长。试验得出最适初代培养基组合 MS+6-BA 1.0 mg/ L+NAA 0.1~0.2 mg/ L+蔗糖 20.0 g/ L。

对芽的继代培养, 不同因素的影响大小表现为: GA₃>6-BA>NAA, 使用 MS+6-BA 1.5 mg/ L+NAA 0.2 mg/ L+GA₃ 0.5 mg/ L 的培养基组合, 能得到较理想的诱导效果。红金银花的组培苗易生根, 以 1/2MS 为基本培养基添加 0.25 mg/ L 6-BA、1.0 mg/ L NAA 和活性炭 1.0 g/ L 即可得到生长健壮的试管苗。其中以活性炭对生根影响最大, 添加适量的活性炭, 试管苗的生根率、生根长度以及苗的生长势均为最高。

参考文献

[1] 杜佳明, 张友民, 王豫. 忍冬属植物的研究进展[J]. 北方园艺, 2005 (4): 11-13.
[2] 辛淑亮, 蔡秋芳. 现代农业试验统计[M]. 北京: 中国计量出版社, 1999: 505.
[3] 仇键, 谭晓风. 蒙花 1、2 号金银花的组织培养与快速繁殖[J]. 中南林学院学报, 2005 25(4): 53-56.

Studies on Tissue Culture of *Lonicera japonica* var. *chinensis*

ZHAO Xian-hui

(Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China)

Abstract: In this paper, terminal buds of *Lonicera japonica* var. *chinensis* were studied as the explants through the orthogonal design. And this paper researched the preliminary culture、the subculture and the inducing root. The results showed that the best medium for the preliminary culture was MS+6-BA (1.0 mg/ L)+NAA (0.1~0.2 mg/ L), the best concentration of sucrose was 20.0 g/ L; the best medium for the subculture was MS+6-BA (1.5 mg/ L)+NAA (0.2 mg/ L)+GA₃ (0.5 mg/ L); the best medium for the root cultivated was 1/2MS+6-BA 0.25 mg/ L+NAA 1.0 mg/ L+AC 1.0 g/ L.

Key words: Orthogonal design; *Lonicera japonica* var. *chinensis*; Tissue culture