

剑麻的组织培养和快速繁殖^①

陈 伟^② 徐 立 李志英 李克烈

(中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所 海南儋州 571737)

摘 要 以剑麻的嫩芽为外植体, 在 $N_6+2, 4-D$ 2 mg/L+6-BA 2 mg/L+NAA 0.5 mg/L 培养基上诱导出愈伤组织, 再在 MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.05 mg/L 培养基上诱导不定芽和增殖培养, 不定芽在 MS 培养基上诱导生根形成完整植株, 生根率达 100%。将小苗移栽至基质配比为椰糠: 河沙等于 1:1 的育苗盆中, 成活率达 100%。

关键词 剑麻; 组织培养; 快速繁殖

分类号 Q813.1

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Agave sisalana*

CHEN Wei XU Li LI ZhiYing LI KeLie

(Tropical Crops Genetic Resources Institute, CATAS, Danzhou 571737, Hainan)

Abstract Calli were induced on N_6 medium supplemented with 2,4-D 2.0 mg/L, 6-BA 2.0 mg/L and NAA 0.5 mg/L by using auxiliary buds of *Agave sisalana* Perrine ex Engelmann as explants. Adventitious buds were induced and proliferated on the MS at the presence of 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L. The adventitious buds cultured on the MS medium were induced to root to form rooted plantlets with the rooting rate being 100%. The rooted plantlets survived by 100% when transplanted onto containers for culture on the medium containing coir and sand at a ratio of 1:1.

Keywords *Agave sisalana* Perr. ex Engelm.; tissue culture; rapid propagation

剑麻 (*Agave sisalana* Perrine ex Engelmann) 是一种多年生、肉质、旱生、草本热带经济作物, 原产于中美洲墨西哥的约克母半岛。在世界硬质纤维生产中, 以剑麻种植面积最大。剑麻叶片中含有丰富的蛋白水解酶, 它与菠萝蛋白酶和木瓜蛋白酶一样, 在食品、轻工和医药等领域具有广泛的应用价值。李斌等通过剑麻组织培养对蛋白酶诱导进行了研究^[1, 2]。李勇等对狐尾龙舌兰 (*Agave attenuata* Salm-Dyck) 的组织培养和快速繁殖进行了研究^[3]。剑麻的常规繁殖方法, 有吸芽繁殖、地下走茎繁殖等。由于合成纤维的大量生产应用, 以及剑麻作为一种热带作物受种植区域的限制, 剑麻常规繁殖难以满足需求。对剑麻的组织培养和快速繁殖进行研究, 旨在短期内获得大批种苗, 供规模化生产之用。

1 材料和方法

1.1 材料

采自华南热带农业大学农学院苗圃, 取其嫩芽作外植体。

培养基的种类与配方见表 1。各培养基中均附加 30 g/L 蔗糖、

6.5 g/L 琼脂, pH 5.8~6.0。

1.2 方法

1.2.1 表面消毒和愈伤组织、不定芽诱导培养

将取回的剑麻嫩芽先用流水洗净, 然后逐一剥去外层叶片, 置于烧杯中; 用洗涤剂漂洗 10 min,

表 1 培养基种类及配方

培养基 种 类	基本 成分	附加成分/(mg·L ⁻¹)			
		6-BA	NAA	2,4-D	
培养基①	MS	2.0	0.5	2	
培养基②	MS	1.0	0.5	3	
培养基③	N_6	2.0	0.5	2	
培养基④	N_6	1.0	0.5	3	
培养基⑤	MS	2.0	0.05	0	
生根培养基	MS				

① 收稿日期: 2005-10-13

责任编辑/曾莉娟

<http://rdnk.chinajournal.net.cn/>

E-mail: rdnk@chinajournal.net.cn

② 联系电话: (0898) 2330 6945(办); E-mail: lxtzz@126.com。

然后用流水冲洗 20 min，吸干水分；无菌条件下，用 75%(体积分数)的酒精浸泡 10 s，倒出酒精，再用 1 g/L 的升汞(HgCl₂)加 1~2 滴吐温杀菌 15 min；无菌水冲洗 3~5 次。经消毒后的侧芽，用无菌滤纸吸干水分，纵切为 2 块，切成 1~2 cm 的小段，竖直插入，接种于①~④号培养基上，在温度 25~28℃，光照强度 1 000~1 500 lx，光照 12 h/d 条件下培养。

1.2.2 不定芽的增殖培养

将诱导出的丛生不定芽切块，转接在增殖培养基中，每瓶接 3~4 块，每 30 d 转瓶 1 次。

1.2.3 生根培养

将长约 3~5 cm 的不定芽接种到生根培养基上，进行诱导生根。

1.2.4 组培苗的移栽

根长约 4~6 cm 时，将生根瓶苗打开瓶盖，用自来水冲洗，洗净根部琼脂，移栽至育苗盆中，基质配比为椰糠：河沙等于 1：1。移栽前浇透水，移栽后遮阴保湿 15 d，然后去掉设施并及时浇水。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导

培养基①、②、③和④诱导愈伤组织产生的时间为 9~12 d，诱导率为 83%~96%(详见表 2)；N₆培养基诱导剑麻愈伤组织的效果比 MS 培养基的效果好，诱导时间短，愈伤组织的诱导率高。在同一种基本培养基中，2,4-D 的浓度为 2.0 mg/L 时的诱导率比 3.0 mg/L 时的高，即 2,4-D 过高时可能会起抑制作用。这说明，培养基③是诱导剑麻愈伤组织效果最佳的培养基。

表 2 4 种培养基对愈伤组织的诱导效果

培养基 编 号	接种外植体 数量/个	诱导愈伤组 织时间/d	愈伤组织 诱导率/%
培养基①	30	12	86
培养基②	30	14	83
培养基③	30	9	96
培养基④	30	10	93

2.2 不定芽的诱导及增殖培养

将诱导出的愈伤组织切成 3~4 块，置于培养基⑤中进行不定芽的诱导培养，来源于培养基①~

④的愈伤组织在培养基⑤中诱导不定芽的效果略有差异(表 3)。此后，经过 3 次重复培养，约 2 个月后开始出现大量丛生芽(见图 1)。每 30 d 转瓶 1 次，繁殖系数达到 3。

表 3 不定芽的诱导效果

培养基 编 号	出芽时 间/d	出芽率 /%
培养基①	38	90
培养基②	48	83
培养基③	40	100
培养基④	45	86

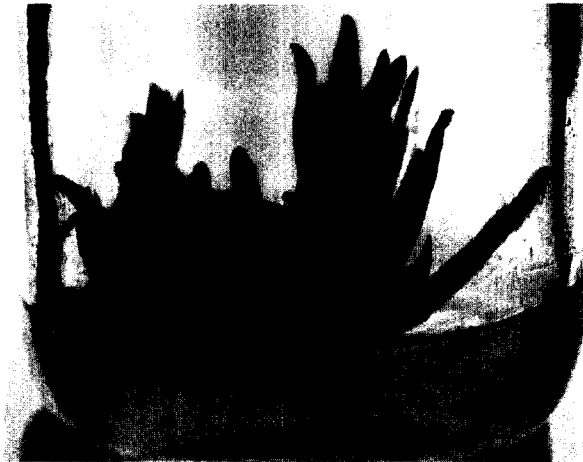


图 1 剑麻的丛生芽

2.3 生根培养和移栽

将 3 cm 左右的丛生芽切成单株，转入生根培养基中，10 d 后开始生根；1 个月后生根率达 100%，平均每株苗有 9~10 条根，根长 4~6 cm，根粗壮无侧根(见图 2)。将生根瓶苗打开瓶盖，室



图 2 剑麻生根

内炼苗3 d, 洗干净根部培养基后移栽至育苗盆中(见图3), 小苗成活率为95%。

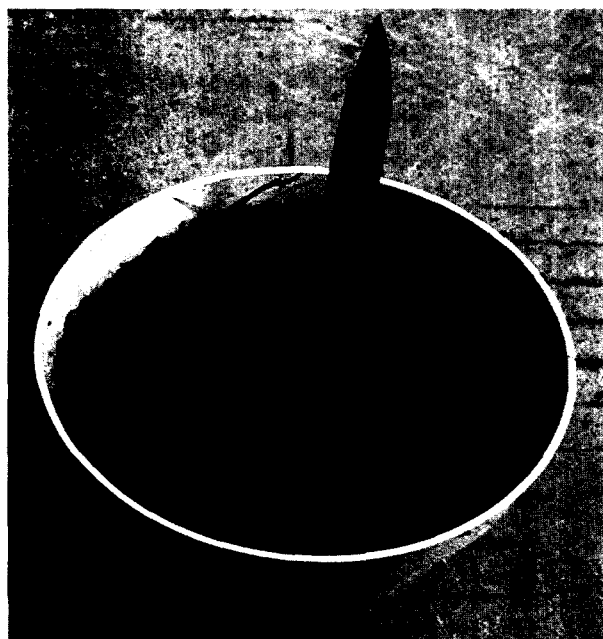


图3 剑麻移栽成活

3 讨论

以剑麻的嫩芽为外植体, 用4种不同的培养基

诱导愈伤组织, 筛选出诱导剑麻愈伤组织的最适培养基为 $N_6 + 2, 4-D \ 2 \text{ mg/L} + 6-BA \ 2.0 \text{ mg/L} + NAA \ 0.5 \text{ mg/L}$, 诱导率为96%; 增殖培养的系数为3。这比常规繁殖方法大大缩短了成苗时间, 并且增大了繁殖系数。剑麻培养过程中, 添加2, 4-D可以促进诱导愈伤组织, 但当2, 4-D浓度过高($\geq 3.0 \text{ mg/L}$)时, 诱导形成的愈伤组织块较大, 丛生芽出芽时间长, 出芽率较低, 不利于成苗。在不添加任何激素的MS培养基上进行生根培养, 其生根率高, 且根粗壮, 移栽成活率高。剑麻离体培养体系的建立, 对剑麻品种的迅速扩繁、节约成本、提高劳动生产率以及大规模的工厂化育苗, 有着积极的意义。

参考文献

- 1 李 斌, 彭志英, 何琼英. 剑麻组织培养诱导产蛋白酶的研究. 华南理工大学学报(自然科学版), 1998, 26(8): 58~62
- 2 李 斌, 彭志英, 何琼英. 氮素与剑麻蛋白酶组培诱导的研究. 华南农业大学学报, 1998, 19(2): 45~49
- 3 李 勇, 杨建芬, 张朝成. 狐尾龙舌兰的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 2003, 29(5): 474

(上接第10页)

提供更可靠的理论依据。

华南热带农业大学韩汉鹏老师对聚类分析提供指导。特此感谢!

参考文献

- 1 吴建明, 谢正荣, 沈小妹. 灰色关联度分析应用于水稻品种综合评价的探索. 种子, 1990, 47(3): 33~35
- 2 禹玉华, 梁承邨, 段 俊, 等. 超甜玉米新品种灰色关联综合评估初探. 热带亚热带植物学报, 2001, 9(1): 75~80
- 3 邓穗生. 灰色关联度对腰果新品种的综合评估. 热带作

物学报, 2004, 25(2): 10~14

- 4 郭存芝, 郑垂勇, 陈传美. 灰关联分析法在农作物品种综合评判中的应用. 河海大学学报, 1999, 27(2): 96~99
- 5 张 强, 张霜红, 钱建明, 等. 用灰关联聚类法评价中国少数民族人口素质. 现代预防医学, 2003, 30(5): 656~659
- 6 王晓光. 灰色模糊聚类分析与水质评价. 辽宁大学学报(自然科学版), 1997, 24(2): 69~75
- 7 王宜静, 魏立力. 基于聚类分析的多级综合评判. 宁夏大学学报(自然科学版), 2005, 26(1): 30~33
- 8 高惠璇. 实用统计方法与SAS系统. 北京: 北京大学出版社, 2001. 218