

植物激素对珍珠芦荟愈伤组织诱导和芽分化增殖的影响

李晓玉¹, 罗纪军², 朱苏文¹ (1. 安徽农业大学生命科学学院, 安徽合肥 230036; 2. 安徽省蚌埠市出入境检验检疫局, 安徽蚌埠 233000)

摘要 为珍珠芦荟快繁体系的建立提供理论基础。以珍珠芦荟嫩茎嫩叶为外植体, 通过正交试验探讨不同浓度和比例的植物激素对其愈伤组织诱导和芽分化增殖的影响。2,4-D 为珍珠芦荟诱导愈伤组织的主要影响因素, 浓度为 1.5 mg/L 时诱导效果最好。珍珠芦荟愈伤组织形成的最佳激素组合为 1.5 mg/L 2,4-D + 0.6 mg/L 6-BA + 0.3 mg/L NAA + 0.1 mg/L KT, 愈伤组织呈黄绿色松散状, 且形成率达 100%; 芽分化的最佳激素组合为 1.2 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA, 适当增加 6-BA 浓度可提高愈伤组织出芽率。培养基的水分含量对愈伤组织形成及出芽有一定影响。该研究为珍珠芦荟的离体快繁及产业化生产提供了有效途径。

关键词 珍珠芦荟; 愈伤组织; 快繁; 正交试验

中图分类号 S644.6 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)30-09476-02

Effects of Plant Hormone on Callus Induction and Bud Differentiation and Proliferation of *Aloe aristata* Haw

LI Xiao-yu et al (College of Life Sciences, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036)

Abstract The research aimed to provide theoretical basis for the establishment of the rapid propagation system of *Aloe aristata* Haw. With tender stems and leaves of *A. aristata* as explants, the effects of different concentrations and proportions of plant hormone on its callus induction and bud differentiation and proliferation were discussed through orthogonal test. 2,4-D was a main influencing factor inducing the callus of *A. aristata* and the induction effect was best at its concentration of 1.5 mg/L. The optimum hormone combination for the formation of *A. aristata* callus was 1.5 mg/L 2,4-D + 0.6 mg/L 6-BA + 0.3 mg/L NAA + 0.1 mg/L KT and the callus presented flavovirens and loose with the formation rate reaching 100%. The optimum hormone combination for the bud differentiation was 1.2 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA. And properly adding the concentration of 6-BA could increase the germination rate of callus. The water content of medium had certain effects on callus formation and the germination. This research provided an effective approach for the rapid propagation in vitro and industrialization production of *Aloe aristata* Haw.

Key words *Aloe aristata* Haw; Callus; Rapid propagation; Orthogonal test

芦荟是百合科(Liliaceae)芦荟属(*Aloe* L.)多年生常绿多肉质草本植物, 品种繁多, 有药用和观赏之分, 是很有发展前景的经济植物。笔者研究的珍珠芦荟, 主要供观赏用, 叶片所含多聚糖类的粘胶汁十分丰富, 是自然美容护肤的佳品^[1]。芦荟雌、雄花开放时间不一致, 不能自花授粉结实, 且种子很少, 因此, 用种子繁殖非常困难。目前的繁殖方法主要是分枝和分蘖, 但难以快速、大量地繁殖种苗^[2]。目前对于芦荟的组织培养和快速繁殖有不少研究, 但珍珠芦荟的快繁技术少见报道。笔者介绍一种对珍珠芦荟茎尖进行组织培养快速繁殖试管苗的技术, 利用正交试验探讨不同浓度和比例的植物激素对其愈伤组织的诱导、芽的分化和增殖的影响, 为其快繁体系的建立提供理论基础。利用该技术在短期内繁殖上百万株种苗, 具有成本低、效益高的特点^[1,3-6]。

1 材料与方法

1.1 供试材料 取珍珠芦荟嫩茎嫩叶切段作为外植体, 试验在安徽农业大学生物物理实验室组培室进行。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的选取及消毒灭菌。从温室取出整棵芦荟植株, 剥去外层较老的叶片, 并切去较长的叶片, 保留基部 5 cm 左右, 用饱和洗衣粉水浸泡, 再用自来水冲洗干净, 在无菌条件下, 将芦荟用 70% 的消毒酒精消毒 45 s, 再用 0.15% 升汞溶液浸泡消毒 10 min, 无菌水冲洗 4~5 次。

1.2.2 愈伤组织的诱导。材料在无菌条件下切分, 嫩叶切成 0.5~1.0 cm 宽的条状, 嫩茎切成 1.0 cm 左右的小段然后接种在添加了不同激素的 MS 培养基上进行愈伤组织的诱导, 在适合芦荟去分化形成愈伤组织的 MS 培养基上添加不同配比水平的激素, 选用了 2,4-D、6-BA、NAA、KT 4 种激素, 按照 4 因素 3 水平的正交处理设计了激素不同水平对

芦荟形成愈伤的影响处理水平(表 1), 3 次重复。

1.2.3 愈伤组织继代培养。待愈伤组织长到一定程度后, 若发现培养基发干或体积大幅下降时应及时继代, 继代培养基配方同愈伤组织诱导培养基。

1.2.4 芽的分化与增殖。芽的分化与增殖选用 MS 培养基添加 6-BA、NAA 2 种激素, 按照 2 因素 3 水平全交处理理念设计了激素不同水平对芦荟芽的分化的影响处理水平(表 2), 3 次重复。

1.3 培养条件。愈伤组织形成及芽诱导的条件: 培养温度 (24±1)℃, 光照时间 12 h/d, 光照强度 2 000 lx。

2 结果与分析

2.1 激素水平对愈伤组织形成的影响 由表 1 可见, 2,4-D 浓度为 1.5 mg/L 时诱导效果最好, 愈伤组织形成率达 100%, 状态松散, 颜色呈黄绿色或淡黄色(图 1b、1c); 2,4-D 浓度为

表 1 不同激素水平对愈伤组织形成影响的直观分析

处理号	处理浓度//mg/L				出愈率//%
	6-BA	NAA	2,4-D	KT	
①	0.2	0.1	1.0	0.1	80
②	0.2	0.2	1.5	0.2	100
③	0.2	0.3	2.0	0.3	85
④	0.4	0.1	1.5	0.1	100
⑤	0.4	0.2	2.0	0.2	100
⑥	0.4	0.3	1.0	0.2	70
⑦	0.6	0.1	2.0	0.3	100
⑧	0.6	0.2	1.0	0.1	60
⑨	0.6	0.3	1.5	1.0	100
均值 1	83.333	93.333	70.000	93.333	
均值 2	90.000	86.667	100.000	90.000	
均值 3	86.667	85.000	95.000	81.667	
极差	3.333	8.333	30.000	11.666	

2.0 mg/L 时, 虽然愈伤组织形成率较高, 但状态呈白色水渍状(图 1a), 很难进行继代培养, 随 6-BA 浓度增加, 愈伤组织

作者简介 李晓玉(1984-), 女, 安徽蚌埠人, 硕士研究生, 研究方向: 遗传学。

收稿日期 2007-08-18

形成率有所下降,但愈伤颜色由淡变深。综合分析表明,处理⑨为最佳组合,在此激素浓度下,愈伤组织形成率达100%,且愈伤组织呈黄绿色松散状(图1c),为适宜的愈伤组织状态。方差分析表明(表略),2,4-D 为诱导愈伤组织的主要影响因素,因此在对芦荟的愈伤形成和继代中要严格注意2,4-D 的用量,极小的用量差异就可能对结果造成极大的影响。

2.2 激素水平对芽分化与增殖的影响 由表2可知,处理④愈伤组织出芽率最高,最佳诱导出芽配方为6-BA 1.2 mg/L + NAA 0.1 mg/L。适当提高6-BA 浓度在一定程度上可以提高愈伤组织出芽率,但过高的6-BA 用量也会造成出芽率下降,6-BA、NAA 之间的浓度比值存在一个适宜的范围,过高或过低都会造成出芽率下降。方差分析表明(表略):在 $F_{0.01}$ 水平上因素6-BA 之间差异显著,因素NAA 之间差异显著,6-BA、NAA 之间交互作用差异明显。

表2 激素水平对芽分化与增殖的影响

培养基	激素		分化频率//%			
	6-BA	N-AA	I	II	III	平均
①	0.8	0.1	50.5	49.7	49.5	49.9
②	0.8	0.2	45.4	44.6	43.5	44.5
③	0.8	0.3	30.3	30.8	29.4	30.17
④	1.2	0.1	80.0	79.5	78.6	79.37
⑤	1.2	0.2	76.5	77.8	75.7	76.67
⑥	1.2	0.3	70.0	69.2	68.5	69.23
⑦	1.5	0.1	69.8	70.0	68.9	69.57
⑧	1.5	0.2	77.0	77.5	76.4	76.97
⑨	1.5	0.3	72.5	71.6	71.3	71.80

注:愈伤组织块均为30块。

2.3 珍珠芦荟愈伤组织诱导及分化过程 见图1。

3 讨论

(1)接入培养基的外植体在7 d之内无变化,15 d后可知切口处膨大,愈伤组织形成迅速,相对其他植物诱导率较高,光照条件对愈伤组织诱导率及愈伤组织状态影响不大。一般来讲,较嫩的外植体诱导率更高,但外植体处理时灭菌时间不宜过长,强度不可太大。这些现象可能与芦荟本身的基因型及生理生化状态相关。

(2)在诱导愈伤组织形成过程中应注意2,4-D 用量,不可过分追求愈伤组织诱导率而放弃对愈伤组织状态的选择,因为较高的2,4-D 用量虽然可以提高愈伤形成率,但形成的愈伤多为白色水渍状,在以后的继代过程中会无限量迅速增殖,很少可以诱导出芽。淡黄色的愈伤形成率较黄绿色的高,但最终的出芽率较低。愈伤组织要及时继代,否则会因养分消耗过快而造成褐变、死亡。

(3)培养基水分含量也会对愈伤组织形成及出芽造成一定影响,试验过程发现,在较松软的培养基上较易形成愈伤,在诱导出芽时强度较高的愈伤组织会先出芽,并且统计发现,在松软的培养基上出芽率较高,这与传统的“早长根,涝长芽”理论有一定相似之处。

(4)该试验利用的正交处理选择出来的激素组合不仅与其他组合达到极显著差异,且可反映出不同的单因子影响状况。因此,正交法可较好地用于芦荟组织培养培养基有效成分组合的快速筛选,所得到的良好的愈伤组织完全可以用于下一步的研究。

该试验研究的结果在愈伤组织形成率,诱导分化率上基本达到工厂化生产需求,可为芦荟工业化育苗提供技术参考。

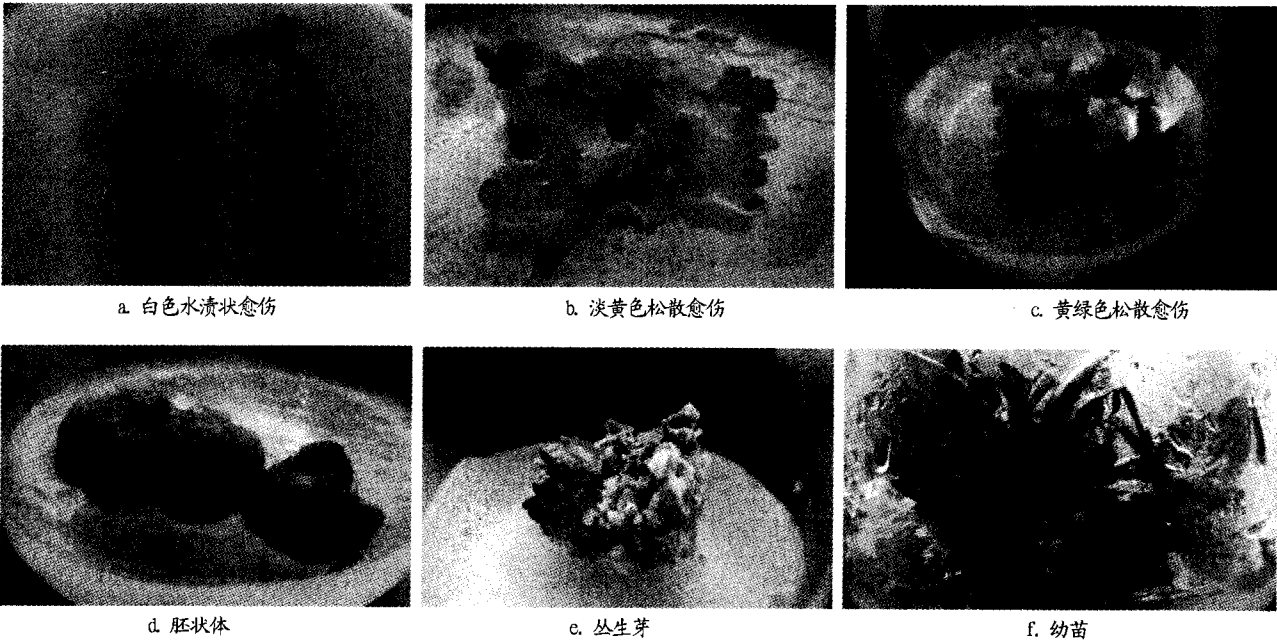


图1 芦荟愈伤组织诱导及分化过程

参考文献

[1] 崔德才,徐培文.植物组织培养与工厂化育苗[M].北京:化学工业出版社,2003.
[2] 张军云,杨向红.芦荟的组织培养和快速繁殖[J].云南农业科技,2002(增刊):230.

[3] 张瑛,林贵美,莫磊兴,等.芦荟的组织培养和快速繁殖[J].广西农业科学,1999(2):27-28.
[4] 丰峰.芦荟的组织培养[J].北方园艺,2001(1):38-39.
[5] 杨国会.芦荟茎段的组织培养[J].农业与技术,2000,20(3):22-24.
[6] 谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1999:61-63.