

皂质芦荟的组织培养研究

张进, 滕云 (信阳农业高等专科学校, 河南信阳 464000)

摘要 以皂质芦荟的叶尖、幼苗、腋芽作为外植体进行了离体培养研究。结果发现: 叶尖切口处 25 d 左右可产生愈伤组织, 再经 15 d 诱导可萌发再生芽; 幼苗、腋芽基部 30 d 左右则直接分化再生芽。经试验筛选出各培养阶段最适宜的培养基为: ①愈伤组织诱导培养基, MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L; ②芽分化培养基, MS+6-BA 3.00 mg/L+NAA 0.15 mg/L; ③芽增殖培养基, MS+6-BA 3.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L; ④生根培养基, 1/2 MS+NAA 0.5 mg/L。上述培养基均添加浓度 2.5 % 蔗糖, 浓度 0.8 % 琼脂, pH 值为 6.0。

关键词 皂质芦荟; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)14-04115-02

Study on Tissue Culture of *Aloe saponaria*

ZHANG Jin et al (Department of Horticulture and Forestry, Xinyang Agricultural College, Xinyang, Henan 464000)

Abstract Blade tip, seedling and axillary bud of *Aloe saponaria* as explants were studied by in vitro culture. Result showed that callus could be generated on the cuts of blade tip at about 25 d. And after 15 d, regeneration buds germinated. Seedling base could directly differentiate into regeneration buds. The optimal culture mediums were selected, which were callus induction medium MS + 6-BA 2.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L, bud differentiation medium MS+6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.15 mg/L, bud proliferation medium MS+6-BA 3.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L and root formation medium 1/2 MS + NAA 0.5 mg/L. The culture mediums above contained 2.5 % sucrose and 0.8 % agar with pH value 6.0.

Key words *Aloe saponaria* (Ait.) Haw.; Tissue culture; Rapid propagation

皂质芦荟(*Aloe saponaria*)又称斑纹芦荟,系百合科芦荟属多年生常绿肉质草本植物。世界野生芦荟大约有 300 多个品种,有 200 多个自然变异和人工杂交的变种,但是具有食用和药用价值的芦荟仅有极少数几个品种,皂质芦荟是其中之一,是集美容、观赏、医药、保健为一体的植物^[1]。由于皂质芦荟不能自花授粉结实,因此,一般采用扦插和分株繁殖,繁殖系数低,且容易积累病菌,造成品质退化。为了保存皂质芦荟的遗传性,以便快速有效地进行皂质芦荟的工厂化生产,笔者对皂质芦荟进行组织培养研究,以期通过试管繁殖途径达到复壮、快繁的目的^[2]。

1 材料与方法

1.1 材料 供试材料为皂质芦荟的嫩叶、幼苗、腋芽。

1.2 方法 试验于 2002~2005 年在信阳农专园林系组培室进行,用皂质芦荟的幼苗、腋芽、叶尖作为外植体。从田间取回皂质芦荟完整植株,去除外层老叶,先用流水冲洗数小时,然后在无菌条件下用浓度 75 % 乙醇浸泡 10~15 s,取出用无菌水冲洗 3 次,2 min/次,再用浓度 0.1 % 升汞溶液浸泡 10 min,取出后再用无菌水冲洗 5~6 次。无菌滤纸吸干材料表面的水分,切去幼苗或腋芽最基部 0.2 cm,将幼苗或腋芽基部 1~2 节叶片剪去,将其余过长的叶片剪短,剪下的嫩叶也可做外植体,取出叶尖,接种到 MS 基本培养基上,配以不同浓度的 6-BA、NAA,诱导愈伤组织、再生芽萌发。在无菌条件下将愈伤组织从三角瓶中取出,用无菌水洗净,切成小接种块,接种到装有分化培养基的三角瓶中进行分化培养,或重新转接到诱导愈伤组织相同的培养基(MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L)上进行增殖。分化培养基是由 MS 基本培养基配以不同浓度的 6-BA、NAA。每个组合设 3 次重复,每次重复接种 9 瓶。

增殖阶段,将上述得到的不定芽在无菌环境中从三角瓶中取出,用镊子和解剖刀剔除附着其上的培养基,并用无菌水冲洗数次,直至无残留培养基为止。用解剖刀将不定芽

切成数个,转入不同浓度 6-BA、NAA 的 MS 培养基上,每个组合设 3 次重复,每次重复接种 9 瓶,接种后每重复随机抽取 3 瓶进行观测,测量结果取平均值。

生根阶段,将在继代培养基中生长健壮的小苗(苗高 3 cm 以上),分离成单株后接在表 1 所示的培养基中进行根系的诱导。每 100 ml 的三角瓶内接种 4 个单株,每个处理设 3 次重复,每次重复 10 瓶,接种后每重复随机选取 8 株进行观测,测量结果取算术平均值。基本培养基为 MS 和 1/2 MS,配以不同浓度的 6-BA、NAA 等。培养温度为(28±2)℃,光照 10~12 h/d,光照强度为 1 500~2 000 lx。

表 1 不同培养基和 NAA 对皂质芦荟生根的影响

培养基 编号	基本 培养基	NAA 质 量浓度 mg/L	接种数 瓶	平均根 数//条	平均根 长//cm	平均根 粗//cm	生根率 %
A1	MS	0.1	30	3	2.4	0.03	60
A2	MS	0.2	30	4	2.3	0.03	70
A3	MS	0.5	30	5	2.2	0.04	75
A4	MS	1.0	30	4	2.2	0.03	70
A5	1/2 MS	0.1	30	7	2.0	0.04	80
A6	1/2 MS	0.2	30	9	1.6	0.05	90
A7	1/2 MS	0.5	30	12	1.4	0.07	100
A8	1/2 MS	1.0	30	8	1.2	0.05	85

注:培养到 25 d 时的统计结果。

炼苗和移栽,当试管苗长至 4~5 cm,根长约 1.5~2.0 cm 时,先将瓶苗进行炼苗培养。首先,将瓶苗放置于要培养的环境 3~5 d,幼苗取出前 1~2 d 打开瓶盖炼苗,在清水中洗除附着在根上的培养基,但不得伤及根和叶片。然后移植于用肥沃土壤和草炭土或蛭石(1:1)配成的基质中。保湿保温(基质相对含水量 80 %~85 %,环境温度 25℃左右)进行假植。移好后,用喷雾浇透水。小苗移栽的前期,要保持 80 % 以上空气湿度,可用喷雾加湿。成活以后可结合浇水进行叶面追肥,但浓度不可太高。30 d 后视幼苗长势,即可移栽到苗圃中。

2 结果与分析

2.1 不同外植体对愈伤组织的诱导和再生芽萌发的影响 分别将皂质芦荟的幼苗、叶尖、腋芽 3 种不同的外植体接种于相同的诱导愈伤组织培养基 MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L

上进行培养,结果表明:20 d 后幼苗、腋芽的基部开始出现不定芽,30 d 后每块茎基组织中可形成 4~6 个芽;而接种的叶尖无一例直接产生不定芽,但叶尖经 25 d 左右诱导,切口处有浅绿色的愈伤组织形成,再经 15 d 培养可萌发再生芽(表 2)。

表 2 不同外植体对愈伤组织的诱导和再生芽萌发的影响

外植体类型	接种外植体		产生愈伤组织的 外植体数//个	出芽外植体数 个	分化率 %
	数//个				
幼苗	20		0	14	70
叶尖	20		17	0	85
吸芽	20		0	13	65

2.2 不同浓度的 6-BA 和 NAA 对愈伤组织形成的影响 表 3 表明,最适宜愈伤组织形成的培养基是 MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L,对不定芽的萌发也适宜。6-BA 是产生愈伤组织所必需的,但其浓度的变化对愈伤组织诱导率影响不大。NAA 浓度在 0.1~0.2 mg/L 范围内,随 NAA 浓度的增大,诱导率也在增大,但浓度超过 0.2 mg/L 时,诱导率降低。

表 3 不同浓度 6-BA 和 NAA 对愈伤组织形成的影响

质量浓度//mg/L		接种数 瓶	愈伤组织 瓶	诱导率 %
6-BA	NAA			
0	0	27	0	0
1	0	27	8	29.6
2	0	27	9	33.3
2.5	0	27	10	37.0
3	0	27	12	44.4
1	0.1	27	14	51.9
2	0.1	27	15	55.6
2.5	0.1	27	16	59.3
3	0.1	27	18	66.7
1	0.15	27	19	70.4
2	0.15	27	20	74.1
2.5	0.15	27	21	77.8
3	0.15	27	22	81.5
1	0.2	27	24	88.9
2	0.2	27	25	92.6
2.5	0.2	27	27	100.0
3	0.2	27	26	96.3
1	0.25	27	20	74.1
2	0.25	27	21	77.8
2.5	0.25	27	23	85.2
3	0.25	27	24	88.9

2.3 不同浓度的 6-BA 和 NAA 对再生芽分化的影响 大约培养 15 d 后,在分化培养基上,愈伤组织就可分化出芽,并继续长出小叶片。当分化出的幼苗长到一定高度或分化出一定数量后,将这些小幼苗进行生根培养或重新诱导幼苗增殖。表 4 表明,尽管诱导愈伤组织增殖的培养基上也能分化出不定芽,但分化率不高(74.1 %),产生芽很慢(30 d),故诱导芽分化最适宜的培养基为 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.15 mg/L。

2.4 不同浓度的 6-BA 和 NAA 对丛生芽增殖的影响 表 5 表明,比较繁殖系数,选择最佳配方(MS+6-BA 3.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L),如此反复操作,就可繁殖出大量的不定芽。

2.5 不同生长素及浓度对分化芽生根的影响 培养 10 d 后,在 A1~A5 培养基中,大部分小苗基部都有白色的根状突起,且伸长较快;培养 20 d 时,平均根长达 2.0~2.6 cm,根少(平均 3~6 条)而细。在 A6~A8 培养基上,根的产生较晚,到第 14 d 才有白色根状突起,但根的数目较多,诱导率高

表 4 6-BA 和 NAA 对再生芽分化的影响

质量浓度//mg/L		接种数 瓶	分化 丛芽	诱导率 %
6-BA	NAA			
2	0.1	27	15	55.6
2.5	0.1	27	17	63.0
3	0.1	27	18	66.7
4.0	0.1	27	21	77.8
2	0.15	27	23	85.2
2.5	0.15	27	24	88.9
3	0.15	27	27	100.0
4	0.15	27	24	88.9
2	0.2	27	19	70.4
2.5	0.2	27	20	74.1
3	0.2	27	22	81.5
4	0.2	27	23	85.2

(≥85 %),且比较粗壮;培养 20 d 后,平均根数分别为 8~12 条,根粗为 0.07 cm 和 0.05 cm(表 1)。试验证明,NAA 浓度从 0.1~0.5 mg/L,随浓度加大,平均根数相应增加,根形短,伸长渐慢;但 NAA 浓度过高(1.0 mg/L)抑制根的分化。因此,A7(1/2 MS+NAA 0.5 mg/L)是比较合适的生根培养基。

表 5 不同浓度的 6-BA 和 NAA 对丛生芽增殖的影响

质量浓度//mg/L		接种数 个	再生芽总数 个	平均数* 个
6-BA	NAA			
2.5	0.1	27	32	3.56
3.0	0.1	27	36	4.00
3.5	0.1	27	42	4.67
4.0	0.1	27	39	4.33
2.5	0.2	27	46	5.11
3.0	0.2	27	49	5.44
3.5	0.2	27	55	6.11
4.0	0.2	27	51	5.67
2.5	0.5	27	58	6.44
3.0	0.5	27	62	6.89
3.5	0.5	27	79	8.78
4.0	0.5	27	65	7.22
2.5	1.0	27	63	7.00
3.0	1.0	27	65	7.11
3.5	1.0	27	68	7.56
4.0	1.0	27	66	7.33

注:* 为平均每个苗诱导的不定芽数。

2.6 炼苗和移栽对成活率的影响 试管苗经炼苗成活率达 95 %以上,将成活幼苗移栽,其成活率达 98 %以上。

3 讨论

皂质芦荟外植体的诱导,主要有两种途径:一是通过叶尖诱导愈伤组织,再从愈伤组织诱导分化出不定芽,然后用不定芽增殖^[1];或愈伤组织增殖后,再分化出不定芽。二是通过幼苗或腋芽诱导不定芽而获得无菌苗增殖。从快速繁殖种苗的角度来看,以第二种诱导途径效果较好,因为皂质芦荟通过幼苗、腋芽诱导不定芽很容易,且诱导率较高,再将诱导出的不定芽转至分化培养基可快速获得增殖效果,省去了诱导愈伤组织步骤,缩短了诱导时间,且可以减少种苗变异率。

参考文献

[1] 赵渤,鲁新思.药用花卉栽培和利用[M].北京:中国农业出版社,2002.
[2] 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.
[3] 斯琴巴特尔,满都拉,侯占铭.皂质芦荟的组织培养和植株再生[J].植物生理学通讯,2001,37(5):425.