

提高芦荟繁殖系数的四种方法

任如意¹, 司徒琳莉¹, 纪萍²

(1. 牡丹江师范学院, 黑龙江 牡丹江 157012; 2. 中国林副特产, 黑龙江 牡丹江 157011)

中图分类号: S 682.33 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2008)02-0208-02

芦荟 (Aloe) 为百合科芦荟属多年生肉质常绿草本植物, 原产于非洲东南和阿拉伯半岛等热带地区^[1], 全世界约 450 种, 芦荟在医药和化妆品工业中倍受国内外欢迎, 芦荟产业发展很快, 其中又以种植业发展势头迅猛, 芦荟的自然繁殖周期长, 雌雄花开的时间不同, 形成的种子小而少。因此, 用种子育苗很困难。传统上多用分株法繁殖, 但是繁殖系数较低, 为了满足大规模生产育苗的需要, 以及加快优良品种的推广, 组织培养方法已经成为快速生产种苗的有力手段。在芦荟的组织培养中, 芦荟的繁殖率直接影响芦荟组培苗的产量, 因此, 在芦荟的组织培养中, 培养基的成分、培养基中琼脂的含量、光照和培养器皿的选择均影响芦荟苗的繁殖率, 研究将从四方面阐述。

1 材料与方 法

1.1 材 料

品种: 木立芦荟, 中国芦荟, 木锉芦荟。

材料类别: 植株的幼嫩叶片、叶鞘, 带腋芽茎段。

1.2 方 法

取木立芦荟, 中国芦荟, 木锉芦荟幼苗, 除去多余的叶和根, 浸泡于适当浓度的洗衣粉水中 15 min, 然后用清水冲洗 1 h 以上, 在超净工作台上用 75% 酒精浸泡 30 s 左右, 再用 0.2% HgCl₂ 溶液消毒 15~20 min, 并用无菌水冲洗 5~6 次, 冲洗 5 次左右, 洗去植物表面的 HgCl₂

残液。将消毒后材料的茎、叶鞘分别接种于不同的培养基中, 培养温度 25℃, 光照强度为 1 800~2 000 lx, 光照时间为 12 h/d。以 MS 培养基添加琼脂, 蔗糖 30%, pH 5.6~5.8 为基本培养基, 附加各种不同浓度的生长调节物质, 高压灭菌。

1.3 培养条件

(1) 培养基的编号及激素组成和浓度: ①KT 3 mg/L (单位下同)+IBA 1; ②KT 2+IBA 2; ③ZT 0.1~0.7+IBA 1; (2) 培养基中琼脂的含量 0.7%~0.9%; (3) 光照条件 1 800~2 000 lx; (4) 三角瓶培养, 罐头瓶培养。

2 结果与分析

2.1 培养基成分对 3 种芦荟组培苗繁殖系数的影响

木锉芦荟组培苗的诱导: 灭菌后的木锉芦荟的叶片、叶鞘, 接种在愈伤组织诱导与分化培养基上①、②, 植物组织在第 1 次分化时, 时间较长, 约经 2 个月的表面停滞期, 才开始出现淡黄色或透明的愈伤组织。用分化过的材料再进行诱导则快得多, 10~20 d 即开始出现愈伤组织。继代到新鲜的培养基后, 愈伤组织即开始长出绿色的芽点, 芽点继续长大, 形成众多的丛生小芽。形成丛生芽的数目与外植体的来源有关, 概因其遗传特性的差异造成的。②号培养基中的出芽率高于①号培养基^[2]。

3 种芦荟腋芽的诱导: 中国芦荟、木立芦荟和木锉芦荟的茎段, 灭菌后接种在③号培养基上。15~20 d, 腋芽开始萌动。细胞分裂素的浓度在 0.4~0.7 mg/L 的范围内^[3]。

随着细胞分裂素浓度的升高, 芽的繁殖率也不断升

第一作者简介: 任如意(1968-), 女, 副教授, 主要从事植物基因工程方面的研究工作。

收稿日期: 2007-09-25

有在各因子处于最佳状态时, 才有利于薇菜试管苗的快速分化和生长。试验结果表明: 孢子萌发较适宜的培养基为 1/4 MS; 原叶体增殖较适宜的培养基为 1/2 MS+KT 5.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+KH₂PO₄ 200 mg/L+活性碳 0.5%, 经过 2 个月的培养原叶体直径由 0.5 cm 增至 1.32 cm, 体积增大近 7 倍; 直径 1.0 cm 大小、质地疏松、片状体块大且肉质厚的原叶体上分化出孢子苗数平均可达 10 株; 壮苗培养较适宜的培养基为 1/2 MS+IBA

0.5 mg/L; 选取椰茸基质练苗, 散射光照, 空气湿度 90% 以上, 温度 20~30℃ 练苗成活率达 94%, 练苗成活的试管苗经约 1 个月生长即可移入苗床进行大苗培养, 约 1 a 后即可移入大田种植。

参考文献

- [1] 南京农学院, 华南农学院. 植物学[M]. 上海: 科学技术出版社, 1980: 211-232.
- [2] 苏建宁, 王俊. 蕨的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 1996(5): 361.
- [3] 赵玉芬. 大叶凤尾蕨的离体培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2001(8): 308.

高,可从5增至11。随着BA浓度的增加,芦荟的增殖苗数增多。

2.2 光照条件对3种芦荟组培苗繁殖系数的影响

将试管苗分置于有光强1000~2000 lx和自然散射光的条件下培养,结果表明,光对其有一定的影响,室内自然散射光下生长的苗均为浅绿色的水浸状,叶片较脆易断,将其转代并置光照条件下培养芦荟苗恢复正常。苗玻璃化会降低芦荟苗的繁殖系数,玻璃化苗不伸长或不分化,并随着培养时间的延长,逐渐褐死或不断分化形成玻璃化苗。

2.3 琼脂浓度对组培苗增殖系数的影响

在培养过程中,较易出现的现象是苗和愈伤组织的玻璃化现象。克服玻璃化现象的办法:一是降低细胞分裂素的浓度,二是提高培养基中琼脂的比例。玻璃化现象在组织培养中是一种常见的生理病变,它在植物快速繁殖中可造成极大损失,是试管苗生产中亟待解决的一个难题^[4]在芦荟组织培养中,玻璃化现象也较为严重,尤其是在初代培养及继代次数较高时。对于产生玻璃化苗的原因,目前尚无肯定的看法和行之有效的解决方法,且不同芦荟品种产生玻璃化苗的随培养基中水分适宜,玻璃化苗数减少^[5]。

在培养基中的琼脂有支撑试管苗平衡的作用,又影响着试管苗的可利用水分琼脂浓度的增加,芦荟的玻璃化苗比率明显降低琼脂浓度,则培养基水分过多,新生的幼苗呈水浸状,苗叶缩短肥厚,植株呈莲花状,玻璃化现象严重,说明培养基体系的水分状况影响芦荟增殖和玻璃化苗的发生,因而在培养基中适当增加琼脂量,可减少玻璃化苗的数量。培养基中琼脂的含量0.7%时,玻璃化苗数量高于培养基中琼脂含量为0.9%时的数量,所以,选择添加较高的琼脂含量,可降低玻璃化苗数量,从而提高繁殖系数。

玻璃化的苗,不适宜移栽,移栽后的死亡率极高,但玻璃化的组织可以重新进行诱导与分化,其玻璃化特性会在新的再生系统的建成中消失。

2.4 培养器皿对芦荟繁殖系数的影响

在培养的后期,营养的含量和氧气成为影响芦荟繁殖系数的主要因素。芦荟的组培苗在适宜的光照、温度、培养基成分的条件下,养分和氧气含量越高,越有利于芦荟的繁殖。提高养分含量和氧气的含量是提高芦荟繁殖系数的有效途径。

选取瓶口无破损的罐头瓶,将其洗刷干净,倒入约1.5 cm厚的培养基,用不透气的塑料薄膜封口,其他步骤与三角瓶相同。将试管苗用三角瓶和罐头瓶培养,置于1800~2000 lx的光强下,罐头瓶中的芦荟繁殖系数可达12~14,高于三角瓶中芦荟繁殖的系数(5~8)。原

因是随着繁殖率的升高,三角培养瓶中后期营养不足,氧气不足,CO₂的含量增加,抑制了试管苗的生长和分化,使芦荟出现生长缓慢和停滞的现象。罐头瓶中的组培苗可以得到更多的养分和氧气,可以满足组培苗生长和分化的需要,而且,小苗的生物量较大。生物量大的小苗,能较快地进入商品化生产和销售。

3 讨论

不同的生长调节物质,影响苗的繁殖率。高BA刺激细胞快速分裂,导致新生小芽过多,营养供应跟不上有关。因为BA浓度高时,愈伤组织疏松极大,极显玻璃化;而BA浓度低,愈伤组织疏密或出现芽点状突起,可直接分化成芽。3种芦荟在生长素浓度为1 mg/L时,细胞分裂素在0.4~0.7 mg/L的范围内,随细胞分裂素浓度的提高,繁殖系数可从5提高到11。繁殖系数高的,小苗较弱,其叶绿素含量低,故取0.6 mg/L时,苗的繁殖系数较高且苗较壮,移栽成活率高。不同的生长调节物质,影响苗的繁殖率,而且影响芦荟的次生代谢产物的含量,这是因为离体培养基中添加的生长素种类和浓度对次生代谢有显著影响和细胞分裂素结合使用,对植物的次生代谢的合成有协同作用。

2000 lx左右的光照条件可增加芦荟组培苗繁殖系数。

选择添加较高的琼脂含量,可降低玻璃化苗数量,从而提高繁殖系数。琼脂浓度过高,培养基内水分少,不利于植物对营养和矿物质的吸收,芽分化力就弱,增殖率低,同时愈伤组织致密,可直接分化成芽,使玻璃化苗也降低;琼脂浓度低时,则培养基水分过多,不利于植物在培养基中保持平衡,使整棵苗浸在培养基中,影响苗的生长和分化,新生的幼苗呈水浸状,玻璃化现象严重,所以,琼脂浓度以0.9%为宜。

罐头瓶中的芦荟繁殖系数可达12~14,原因是随着繁殖率的升高,三角培养瓶中后期营养不足,氧气不足,CO₂的含量增加,抑制了试管苗的生长和分化,使芦荟出现生长缓慢和停滞的现象。罐头瓶中的组培苗可以得到更多的养分和氧气,可以满足组培苗生长和分化的需要。

参考文献

- [1] 熊佑清.芦荟“认识芦荟栽芦荟用芦荟”[M].北京:中国农业出版社,2002.
- [2] 司徒琳莉.木贼芦荟愈伤组织的诱导和植株再生[J].植物生理学通讯,2002,38(3):250.
- [3] 纪萍,司徒琳莉,赵伟东.3种芦荟的组织培养及快速繁殖的研究[J].中国林副特产,2002(1):9.
- [4] 张燕玲,姚军,王润珍,等.满天星组织培养中克服现象的初探[J].广西植物,1997,17(3):246-248.
- [5] 郭达初,刘非灰,刘克斌.控制重瓣丝石竹试管苗玻璃化的研究[J].杭州植物通讯,1991(2):13-18.