

芦荟的组织培养和快速繁殖

杨 伟

(山西农业大学,山西太谷,030801)

摘 要:以芦荟(Aloe)为试验材料,进行组培快繁实验,研究了激素对不定芽诱导、试管苗繁殖、试管苗生根等的影响,同时对不同栽培基质进行了筛选。根据研究结果,指出对芦荟不定芽诱导效果最佳,对试管苗增殖率最高的培养基一致,均为MS+6-BA 4 mg/L+NAA 0.5 mg/L(pH 5.8~6.0,含糖3%,琼脂0.8%),芦荟试管苗月增殖率为19.60倍,年增殖率可达6400万倍,在芦荟生根培养中,1/2MS+IBA 1.5 mg/L+活性炭0.3 g/L+蔗糖30 g/L+琼脂7 g/L的培养基较好,最佳栽培基质为河沙。

关键词:芦荟;组培快繁;培养基;栽培基质

中图分类号:S68

文献标识码:A

芦荟是百合科芦荟属多年生常绿多肉类草本植物,原产于非洲热带沙漠、干旱地区,我国云南、福建、广东、海南和台湾等地均有栽培。芦荟的有效成分大致分为植物酚类、单糖、多糖类,此外还含有糖蛋白、维生素、矿物质、酵素、氨基酸、植物荷尔蒙和黏液素等多种成分,具有杀菌、消炎、镇痛等作用。因此,对于多种疾病有预防或辅助性治疗效果。另外,芦荟作为优良的保湿剂和柔软剂可用作化妆品;芦荟外形美观,株形奇特,能够吸收空气中大量的CO₂,可作为观赏和净化空气的常绿植物。

由于芦荟雌雄花开放时间不一致,种子很少,生产上主要靠吸芽繁殖,而苗期生长极慢,吸芽不会萌动,成苗后吸芽才会伸出土面,故繁殖率极低。而组织培养技术具有研究材料来源单一、无性系遗传背景一致、培养条件可控、可周年试验或生产且不受季节影响、生长快、周期短、重复性强等优点,从而成为当今世界研究领域一大热点。组织培养作为现代生物工程技术中一个重要环节,已在品种选育以及优良树种快速繁殖等许多领域得到了广泛的应用。本试验正是利用组培技术对芦荟进行了较全面的研究和探讨。

1 材料与方法

1.1 试验材料

芦荟由山西农业大学苗圃地提供,外植体为有芽点的基段。

1.2 试验方法

1.2.1 材料准备

将带有地下茎及根系的芦荟幼苗用自来水冲洗干净,剥除外层较大的叶片,切除根系及长叶片的先端,作为外植体,然后在超净工作台内用75%酒精溶液浸外植体30 s,无菌水冲洗3次~5次,再用0.1%升汞溶液消毒8 min~10 min。为了使灭菌剂更有效地发挥作用,可在灭菌液中加入0.1%的适量吐温,灭菌后,用无菌水冲洗5次~6次,放在无菌滤纸上吸干水分,将地下茎切留1 cm~1.5 cm长,保留2个以上的芽点,上部保留叶片,整理后的材料接种于诱导不定芽点的培养基中。

1.2.2 诱导不定芽的激素配方的设计

诱导不定芽的培养基采用了细胞分裂素6-BA和KT,生长素NAA,根据激素种类及配比不同共设计了10个试验组(见表1)。

每个试验组接种12瓶,每瓶接种1个规格相同且地下茎上具芽点的试材;培养条件一致,温度(26±2)℃,光照强度2300 Lx,光照时间12 h/d,空气相对湿度70%左右,定期观测不定芽的发生及生长情况。

1.2.3 继代增殖培养基的设计及筛选

在芽诱导培养基中初选出B、D、E、G、J、K等6组诱导效果较好的培养基,再利用这6种培养基进行芦荟试管幼苗继代增殖培养。每组培养基10瓶,每瓶接种3株大小一致、苗高约1.2 cm~1.5 cm的试管苗。培养条件与诱导培养一致。每天观测记录芦荟的不定芽的发生情况,最后统

表1 芦荟诱导不定芽培养基的激素及其配比

处理组	基本培养基	植物激素		
		6-BA	KT	NAA
A	MS	1	—	0.5
B	MS	2	—	0.5
C	MS	3	—	0.5
D	MS	4	—	0.5
E	MS	2	—	0.2
F	MS	3	—	—
G	MS	5	—	—
H	MS	—	2	0.5
I	MS	—	3	0.2
J	MS	—	4	0.5
K	MS	—	2	0.2

计其生长势。

1.2.4 试管苗生根培养

生根培养基:1/2 MS+IBA 10 mg/L; 1/2 MS+IBA 2.0 mg/L; 1/2 MS+IBA 3.0 mg/L; MS+IBA 1.0 mg/L; MS+IBA 2.0 mg/L; MS+IBA 3.0 mg/L; 1/2 MS+IBA 1.5 mg/L; 1/2 MS+IBA 2.5 mg/L。以上培养基pH值均调至5.8,在生根培养基中,均加入蔗糖30 g/L,琼脂7 g/L,活性炭0.3 g/L。

将培养后的较粗壮、高2.0 cm~3.0 cm的单个芽切下接种于生根培养基上培养,培养条件与前相同,每天定时记录试管苗生根状态。

1.2.5 生根试管苗驯化栽培基质的选择

将生根状态相同,根长1.5 cm~2.5 cm的芦荟试管苗进行出瓶驯化栽培试验,提前3天打开瓶盖室内炼苗,之后取出生根试管苗,用自来水轻轻冲洗根部附着的培养基,再将幼苗置于报纸上稍晾干,植于几种不同的栽培基质中。其中包含5个不同的处理:①细河沙;②珍珠岩+蛭石(1:1);③田土;④泥炭土;⑤泥炭土+珍珠岩(1:1);其中处理②、⑤是目前生产中应用较多的两种基质,处理①取材方便,价格便宜,处理④相对于处理②和⑤具有价格低、操作易的特点。以70孔育苗盘为1个小区,3个重复;瓶苗炼苗14天,并于栽植14天后开始施肥,每周浇施2000倍三元复合肥(N:P₂O₅:K₂O=16:16:16)1次。灌水量次数依栽培基质而定。生长90天后测其成活率、株高,每处理每重复测定连续生长的20株的单株重及地下部重(均为洗净根部所附基质、吸干水后所得的单株重量和地下部重量)。

2 结果与分析

2.1 植物激素对芦荟不定芽诱导效果的影响

外植体接种到芽诱导培养基中后,经2周的培养,B、D、J、K试验组

的芽点开始萌动并生长,4周左右芽点发育为0.1 cm~1.0 cm的从芽6个~9个;3周左右A、E、F、G、I组培养基中的芽点开始萌动,6周左右由芽点发育成0.2 cm~0.8 cm从芽3个~4个,且E、G培养基中不定芽较粗壮。由调查结果可见B、D、J、K、E、G组培养基中的激素对诱导不定芽效果明显。其中,B、D、J、K组培养基对不定芽诱导速度最快,E、G组培养基中的不定芽较粗壮。为了进一步探讨激素对芦荟试管苗增殖的效果,又将初代培养获得的试管苗作为试材,接种于这6种培养基中,观测其增殖效果。

2.2 不同激素对芦荟试管苗继代增殖的影响

2.2.1 对芦荟侧芽产生的影响

将初代培养的试管苗转接到B、D、E、G、J、K等6组培养基中培养,发现不同激素对芦荟侧芽发生快慢的影响较大(见表2)。D组侧芽发生最快,为3天;B、G组较快,为5天和6天;而K组最慢,经9天培养才开始出现侧芽,侧芽发生所需时间是D组的3倍。

表2 不同激素对侧芽发生的影响

处理号	培养基激素(mg/L)			侧芽发生日 (接种后第n天)
	6-BA	KT	NAA	
B	2	—	0.5	5
D	4	—	0.5	3
E	2	—	0.2	7
G	5	—	—	6
J	—	4	0.5	8
K	—	2	0.2	9

由表2还看出,6-BA与NAA的组合明显优于KT和NAA的组合;而且6-BA4 mg/L+NAA0.5 mg/L的激素配比,对促进芦荟侧芽发生的效果最明显。其次是6-BA2 mg/L+NAA0.5 mg/L的配比。而KT2 mg/L+NAA0.2 mg/L的激素配比效果最差,不宜采用。

2.2.2 激素对芦荟试管苗增殖率的影响

芦荟在上述6种配方的培养基中培养,且增殖率差异显著(见表3)。

表3 不同激素对试管苗增殖的影响

处理组	接种芽数 /个	新芽个数/个		增殖率/%	
		12天	30天	12天	30天
B	30	127	306	4.23	10.20
D	30	124	588	4.13	19.60
E	30	13	258	0.43	9.50
G	30	107	143	3.57	4.77
J	30	41	65	1.37	2.17
K	30	29	30	0.97	1.00

由表3可知,在继代增殖培养前期(第12天时)B、D两组增殖率较高,分别为4.23倍和4.13倍;G组其次,为3.57倍;最低的是E组,几乎未增殖。而培养1个月后D组的增殖率最高,达19.60倍,明显高于其他几组;其次B组和E组增殖率分别为10.20倍和9.50倍;最差的为K组,几乎未增殖。芦荟组培快繁时,采用D组培养基配方进行继代培养,年增殖率可达4400万倍,远远高于普通分株繁殖的增殖系数。调查结果显示,6-BA与NAA的组合对芦荟试管苗增殖效果明显优于KT和NAA的组合。因此,在批量组培繁殖芦荟种苗时最宜采用6-BA与NAA的组合,而不宜采用KT和NAA的组合。而且6-BA浓度为4 mg/L,且与NAA的配比以8倍为适宜,增殖率最高;当其与NAA的浓度配比低于8倍或高于8倍时,对试管苗增殖的效果均呈减弱的趋势。

2.2.3 方差分析

对芦荟增殖培养30天时侧芽增殖情况进行方差分析、显著性测验。结果见表4。

由表4可知,芦荟增殖的最佳培养基配方是D组(即MS+BA4+NAA0.5),其增殖效果极显著。

2.3 影响芦荟生根的因素

2.3.1 无机盐对芦荟苗生根的影响

实验结果表明,以低浓度的无机盐对促进生根效果较好,其生根率

表4 激素对试管苗增殖效果方差分析

处理	平均数	显著	极显著
		5%	1%
D	58.8	a	A
B	30.6	b	B
E	25.8	b	B
G	14.3	c	C
J	6.5	d	CD
K	3.0	d	D

明显比高浓度的无机盐高,平均生根条数也较高,但根平均长和根最长等性状却较差,可见1/2MS对促进生根有效,但却缺少营养供根生长。从实验中还可看出,无机盐浓度为MS时,苗木出现徒长现象,这样就会降低对外界环境的适应能力,不利于组培苗移栽的成活。因此,在生根培养时,较低浓度的无机盐对生根诱导培养效果较好(见表5)。

表5 不同无机盐对芦荟苗生根的影响

培养基	无机盐浓度	试验株数/株	成活株数/株	生根率/%	平均生根/条	根最长/cm	根平均长/cm
(1)	1/2MS	24	24	9	38	1.2	5.0
(2)	1/2MS	24	24	15	63	1.8	5.5
(3)	1/2MS	24	24	13	54	1.8	6.0
(4)	MS	24	18	6	33	1.5	6.0
(5)	MS	24	24	8	33	1.2	7.5
(6)	MS	24	21	11	52	1.6	8.1

2.3.2 激素IBA浓度对芦荟生根的影响

将20 cm~30 cm的无根组培苗接种到以1/2MS为基本培养基、附加IBA浓度为1.0 mg/L~3.0 mg/L的生根培养基中。培养35天后可观察到当IBA浓度为1.5 mg/L时生根率最高,根最长为7.0 cm,而在IBA2.0 mg/L和3.0 mg/L时根的平均条数最多为1.8条,IBA为3.0时根的平均长度最长为3.75 cm。单从生根率方面考虑,则以1/2MS+IBA1.5 mg/L为最好。当IBA浓度超过1.5 mg/L时,随着IBA浓度的升高,生根率反而降低,可见当IBA太高时,反而会抑制发根,而太低则没有起到很好的作用。从苗木的生长状况来看,IBA浓度越高,苗木长得也越高,而且特别壮,尤其是IBA浓度为3.0 mg/L时最为显著(见表6)。

表6 IBA浓度对芦荟生根的影响

培养基	无机盐浓度	试验株数/株	成活株数/株	生根率/%	平均生根/条	根最长/cm	根平均长/cm
(1)	1.0	24	24	9	38	11	5.0
(2)	1.5	24	24	19	79	31	7.0
(3)	2.0	24	24	19	63	27	5.5
(4)	2.5	24	24	15	63	25	7.0
(5)	3.0	24	24	13	54	23	6.0

2.3.3 活性炭对芦荟生根的影响

活性炭具有强大的吸附能力,它主要吸附非极性物质和色素等大分子,可以减少一些有害物质的影响。张英等研究认为加入活性炭对诱导芽生根成苗作用较大,还能促进芽生长粗壮。在生根成苗培养阶段加入0.3 g/L的活性炭,非常必要。本次生根实验,在各处理中都加入了0.3 g/L的活性炭,从实验结果可看出,活性炭的确对生根培养起到一定的促进作用。

2.4 不同栽培基质对芦荟组培苗生长的影响

试验结果(见表7)表明,在不同栽培基质处理中,处理②(蛭石+珍珠岩)、处理⑤(珍珠岩+泥炭土)的成活率最高,与其他几个处理呈显著差异;处理③的成活率最低,与其他几个处理呈显著差异;处理①与处理④的成活率居中。在株高、单株重、地下部重3个测量指标上,处理①与处理②、处理⑤差异显著;处理④与处理②、处理⑤无显著差异;处理③始终与其他处理呈显著差异。

3 讨论

(1) 对芦荟进行不定芽诱导的最佳培养基配方为MS+6-BA4 mg/L+

表7 不同栽培基质对芦荟组培苗生长的影响

处理	成活率/%	株高/cm	单株重/g	地下部重/g
①	94.6	6.6	6.41	0.14
②	98.6	7.3	7.97	0.19
③	48.9	5.9	5.76	0.08
④	94.9	7.1	7.91	0.17
⑤	97.3	7.2	7.94	0.19

NAA0.5 mg/L,其诱导不定芽发生最快

(2)促进芦荟试管苗增殖效果最好的培养基,同于不定芽诱导的最佳培养基,其月增殖率为19.60倍,年增殖率可达6400万倍,远高于普通分株繁殖的增殖率(据调查每年分株繁殖系数约为500倍)。芦荟组培快繁时,由不定芽诱导至继代增殖培养均宜采用MS+6-BA4 mg/L+NAA0.5 mg/L培养基。

(3)在生根诱导实验中,采用1/2MS为基本培养基,分别附加IBA 1.5 mg/L和NAA0.5 mg/L与活性炭0.3 g/L的培养基,取得很好的培养效果,但是IBA对诱导芦荟苗生根效果较好,因此建议在以后的芦荟生根培养实验中,采用1/2MS+IBA 1.5 mg/L+活性炭0.3 g/L+蔗糖30 g/L+琼脂7 g/L的培养基较好。在生根培养时要注意,激素浓度不宜太高,否则对生根有抑制作用。

(4)目前生产中常用的栽培介质蛭石+珍珠岩、泥炭土+珍珠岩在成活率、株高、株重及地下部重几方面都优于其他几个处理,但处理①(河沙)在栽培成活率这一最重要的指标上与处理④(泥炭土)差异不显著,在其他3个指标上表现也不错,为此,如果能有效解决生长期合理施肥的问题,河沙可能是一种经济有效的栽培基质,可以有效地降低生产成本。试验中以泥炭土为栽培基质除成活率与处理②、处理⑤呈显著差异外,其他指标则差异不显著,以泥炭土为基质同样具有成本低、省工的优点。以田土作为栽培基质虽然成本极低,但成活率偏低,试验表明是不可行的。

参考文献

- [1] 王俊美,孙燕.芦荟的组培快繁[J].植物杂志,2002(2):41.
- [2] 丰锋,李洪波,吕庆芳,等.芦荟的组织培养[J].北方园艺,2000(1):

38-39.

- [3] 傅玉兰,朱世东,朱海燕,等.芦荟的组培快繁[J].生产率系统,2001(2):1-3.
- [4] 陈锐亮,杨振德.芦荟的组织培养和快速繁殖[J].广西园艺,2002(4):5-8.
- [5] 刘景春,林荔琼.不同栽培条件对芦荟组培苗生长的影响[J].福建农业科技,2002(3):14-15.
- [6] 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.
- [7] 王爱勤,何飞龙.芦荟组培苗移栽前炼苗及其结构与生理变化的研究[J].中国农业通讯,2002(4):54-55.
- [8] 冯桂强.芦荟的栽培与繁殖[J].植物杂志,1999(1):27-28.
- [9] 谢宗万.中药材品种论述[M].2版.上海:上海科学技术出版社,1999:576-578.
- [10] 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.
- [11] 林建,陈绍潘.芦荟组织培养快速繁殖试验研究[J].广西热作科技,1997(2):22-24.
- [12] 冯奕玺.浅谈芦荟开发前途及栽培技术[J].广西热作科技,1999(3):28-29.
- [13] 陈雄庭.离体快繁芦荟种苗的研究[J].热带作物研究,1993(1):38.
- [14] 梅家训,丁习武.组培快繁技术及应用[M].北京:中国农业出版社,2003:6-8.

(本文其他参考文献因著录项目不全被删除)

(责任编辑:张红)

第一作者简介:杨伟,男,1988年7月生,现为山西农业大学2007级本科生,山西省太谷县,030801.



Tissue Culture and Rapid Propagation of Aloe

YANG Wei

ABSTRACT: Taking Aloe as the test material, this paper carries out the test on the tissue culture and rapid propagation, researches the influences of hormones on the inducement of adventitious bud, tube seedling propagation and tube seeding rooting, and filters the different culture substrates, and according to the research results, points out that that the culture medium for axillary bud emergence is same as test-tube seeding propagation, the best medium is MS+6-BA4 mg/L+NAA0.5 mg/L (pH5.8~6.0, sugar3%, agar 0.8%), the propagation rate of Aloe is 19.6 times a month and 6.4 million times a year, the suitable rooting culture medium is 1/2M S+ IBA 1.5 mg/L+ carbon0.3 g/L+ sugar30 g/L+ agar7 g/L, and the suitable domestication culture substrate is sand.

KEY WORDS: Aloe; tissue culture and rapid propagation; culture medium; culture substrate

(上接第18页)

Talking about the Integration of Network Information Resources of Library

WANG Bo

ABSTRACT: This paper expounds the connotations of the integration of network information resources, analyzes the necessity of the integration of network information resources, and advances some effective ways for the optimization, integration, utilization and development of information resources of library.

KEY WORDS: library; network information resource; resources integration