

芦荟组织培养技术

刘 洋,李 斌,伍小兵

(西北农林科技大学 生命科学学院,陕西 杨陵 712100)

提 要:随着芦荟在食品、医药等方面的深入研发利用,芦荟组织培养已成为芦荟快速大量繁殖的重要手段。就芦荟组织培养的各个环节展开实验和探讨。

关键词:芦荟(*Aloe vera* L.);组织培养;诱导分化;快繁

芦荟(*Aloe vera* L.)为百合科(Liliaceae)芦荟属多年生常绿肉质草本植物,叶簇生,呈莲座状或生于茎顶,叶长披针形或叶短宽,边缘有尖齿状刺;花序有伞形、总状、穗状、圆锥形,花呈桔红色、黄色或具赤色斑点,花被的基部多连合成筒状;果实蒴果,种子多数^[1]。它含有许多对人体有益的物质,如芦荟素、多糖、蛋白质、氨基酸、维生素、活性酶及微量元素等 70 多种有效成分,它具有催泻、健胃、通便、消炎、抗菌、抗肿瘤等药理作用,对胃溃疡病、肝病、糖尿病、心脏病、高血压等都有不同程度的疗效,尤其对各种灼伤、烫伤、晒伤及皮肤病有明显疗效,并具有较高的观赏价值,是集药用、食用、美容及观赏等于一身的热带植物,所以芦荟是一种很有开发应用前景的经济作物^[2]。

芦荟植株要生长数年后才开花结实,加之雌雄花开放时间不一致,故种子很少。芦荟种子很细小,存放一年发芽率即降低,一般是采后及时播种。但是,用种子育苗手续繁杂,生产上多用插枝法或分株法繁殖,这些方法繁殖速度很慢,而且容易积累病菌,影响生长,甚至造成退化。利用组织培养技术,通过试管繁殖可达到复壮、快繁的目的。

1 材料与方 法

1.1 材 料

中华芦荟(10~15cm 高的芦荟幼苗)

1.2 培养基

愈伤组织诱导培养基、分化培养基、生根培养基

培养基的配制:

根据实验考察愈伤组织诱导培养基 MS+(1~6mg/l)BA+(0.1~0.5mg/l)NAA 进行梯度

配制,如表 1 所示。

表 1 培养基组成

组 号	6-BA (mg/l)	NAA (mg/l)
1 组	2	0.2
2 组	2	0.4
3 组	4	0.2
4 组	4	0.4
5 组	6	0.2
6 组	6	0.4

鉴于芦荟愈伤组织诱导易褐变,即在每组中加入 Ac 2g/l, Vc 5g/l, 每组另配制 6 瓶培养基作为对照实验。

分化培养基为 MS+(2~4mg/l)6-BA+(0.1~0.5mg/l)NAA;

继代培养基为 MS+3.0mg/l6-BA+0.2mg/l NAA;

生根培养基为 MS+0.3mg/lIBA+3mg/lPP33。

1.3 灭菌消毒

将芦荟幼苗经清水清洗后,减去叶片及大部分茎段,取其茎部分,在无菌条件下,先用 70%酒精浸泡 30s,再用升汞浸泡 5min。用无菌水清洗 2~3 次,取茎尖,茎段用解剖刀作生长点的组织切块,接种到愈伤组织诱导培养基上。

1.4 愈伤组织培养

将培养基分成 A、B 两组,分别培养。培养条件为:A 组:每天光照 10~12h,光照度为 1 000~2 000Lx,温度(25±2)℃;B 组:进行遮光培养,温度(25±2)℃。大约 10d 后,接种的外植体就可以膨大,形成愈伤组织。愈伤组织形成后,对 A、B 两组污染率,褐变率,死亡率,存活率分别进行统计记录,并加以分析。

1.5 继代培养

将愈伤组织在无菌条件下,从培养瓶中取出,

收稿日期:2007-03-28

作者简介:刘洋(1985-),男,山西省阳泉人,系国家生命科学与技术人才培养基地学生,生物工程专业。

用镊子和解剖刀剔除附着在愈伤块上的培养基,并用无菌水反复清洗数次,直至愈伤块上无残留培养基为止。用解剖刀将愈伤块切成数个小块,再接种到装有愈伤组织诱导培养基的三角瓶中,在与诱导愈伤组织相同的培养条件下继续培养。通过愈伤组织的继代培养,原来接种的一个芦荟茎尖组织可繁殖出大量的新接种材料来,用于分化培养。

1.6 分化培养

将愈伤组织在无菌条件下,从试管或三角瓶中取出,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,分化培养的条件同愈伤组织培养。大约 30d 后,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,将这些小幼苗在无菌条件下取出,进行生根培养或重新诱导分化。

1.7 生根培养

当三角瓶中的幼苗叶片长到 3cm 左右时,将幼苗在无菌条件下取出,放入装有生根培养基的三角瓶中培养,培养条件同分化培养。大约 15d 后,幼苗即可生根。

1.8 炼苗移栽

实验室消毒后将三角瓶的封口膜打开,向里面注入蒸馏水,以覆盖住培养基为宜。目的是用蒸馏水软化培养基,为下一步的移栽做准备。3d 后将芦荟苗小心从三角瓶中取出泡在蒸馏水中,注意保护好根系。将其栽种在沙土和砂石配比为 2:1 的培养器中,培养基中混有锯末,松针,腐殖土等。将幼苗置于自动控制气候箱内,控制温度,湿度和光照进行培养,每天早上喷释 1/2MS 培养液。

2 实验结果

2.1 愈伤组织培养实验统计

表 2 A 组愈伤组织形成状况

组 号	污 染	褐 变	白 化	正 常
1 组	2	23	0	1
2 组	0	20	3	1
3 组	4	18	0	2
4 组	1	19	0	4
5 组	0	22	1	1
6 组	0	21	2	1
总 计	7	103	6	10

表 3 B 组愈伤组织形成状况

组 号	污 染	褐 变	白 化	正 常
1 组	1	10	3	10
2 组	0	9	0	15
3 组	3	6	2	13
4 组	0	7	0	17
5 组	1	10	0	13
6 组	0	3	1	20
总 计	5	45	6	88

2.2 炼苗移栽实验统计

总移栽株数:42 株;成活移栽数:24 株。成活率:57%

3 结果与分析

3.1 愈伤组织培养

通过 A 组和 B 组愈伤组织的对比培养,不难看出污染率和白化率的数值相差不多,而褐变率相差很大。A 组褐变数为 103 株,B 组褐变数为 45 株(鉴于芦荟极易褐变,由于实验室培养条件有限,褐变在所难免),但前后褐变数的巨大变化只能说明一个原因:

A 组和 B 组其他条件因素均相同(排除随机原因),唯一不同的参考因素就是芦荟培养过程中的光照条件,A 组为 1 000~2 000Lx;B 组为遮光处理。由此可见,避免光照——是成功培养芦荟愈伤组织的重要限制条件。另外,Ac 和 Vc 在培养基中的含量对于实验成功也十分关键,而对于其在培养基中的最佳浓度,还需后续梯度浓度培养实验进行深一步研究。

3.2 继代、分化、生根培养

由于实验条件有限和人为对幼苗的损害影响,成活的幼苗总数随实验的后续进行略有减少。

3.3 炼苗移栽

57%的成活率虽基本符合实验预期,但也说明在移栽土的配比和培养条件的设置上还存在问题,有待后续探讨。

参 考 文 献:

[1]中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(第五册) [M]. 北京:科学出版社,1972.
[2]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.