

芦荟组织培养研究进展(综述)

龙文兴, 杨小波, 戚美英, 李东海, 郭 涛

(海南大学 热带生物研究中心, 海南 海口 570228)

摘 要: 从外植体和培养基的选择、植物生长调节剂和添加物的使用、组培条件、褐化和玻璃化的控制等方面, 综述近几年芦荟组织培养研究的进展, 并对今后工作提出建议。

关键词: 芦荟; 组织培养; 研究进展

中图分类号: Q943.1

文献标识码: A

文章编号: 1009-7791(2007)01-0070-05

A Review of Research in Tissue Culture of *Aloe*

LONG Wen-xing, YANG Xiao-bo, QI Mei-ying, LI Dong-hai, GUO Tao

(Tropical Biology Research Center, Hainan University, Haikou 570228, Hainan China)

Abstract: A review was made of the achievements in recent years in tissue culture of *Aloe* spp. in selection of explants and medium, uses of plant growth regulators and additives, control of growth conditions, browning and vetrification. Some suggestions about tissue culture of *Aloe* spp. were put forward.

Key words: *Aloe* spp.; tissue culture; research progress

芦荟(*Aloe* spp.)系百合科(Liliaceae)芦荟属(*Aloe*)多年生肉质草本植物, 别名油葱、草芦荟、象胆、番蜡等。据文献记载, 世界野生芦荟种类(包括品种)有 300 多个, 原产非洲大陆的有 250 个以上, 另外还有自然变异和人工杂交 200 多个品种。我国海南、广西、广东、福建、云南、四川等地都有栽培。芦荟有食用、美容、保健、医药以及观赏等多种用途。近年来随着科技进步与发展, 芦荟越来越成为一种有开发前景的经济植物。从芦荟的种植、研究到芦荟制品的生产, 芦荟产业化已经形成, 据国际芦荟科学委员会(IASC)资料显示, 2001 年和 2002 年全球的芦荟产品销售额已超过 2 000 亿美元^[1]。美国、日本和韩国等国家在这方面发展较快, 我国则相对落后。

种苗繁殖是芦荟产业的重要组成部分。芦荟的自然繁殖周期长, 雌雄花开不同步, 种子小而少, 种子育苗困难。传统上芦荟均采用吸芽分生繁殖和根、茎扦插繁殖^[2,3], 这些方法繁殖速度较慢, 每株一年最多只能繁殖十几株^[4], 且易积累病苗, 造成芦荟的退化, 难以满足规模种植对种苗的需求。而采用组织培养快繁技术不仅能保持品种的优良特性, 还可不受外界条件的影响, 周年繁殖, 在较短时间内, 繁育出大批种苗^[5]。因此, 组织培养技术对芦荟的繁殖具有很高的经济价值和广阔的市场前景。本文从外植体选择、培养基选择、组培添加物和培养条件对芦荟组培的影响及褐化和玻璃化的控制等方面, 对近几年的研究概况进行综述, 并就今后相关研究提出一些建议。

1 外植体的选择

外植体是指从植物组织或器官上切割下来并用于组织培养的原始体小块, 目前组织培养已经获得成功的植物, 外植体几乎包括了植物体的各个部位。但是不同种类的植物以及同种植物不同的器

收稿日期: 2006-07-19

基金项目: 教育部热带海洋与陆生生物资源研究及利用重点实验室基金资助

作者简介: 龙文兴(1974-), 男, 湖北咸宁人, 硕士, 从事作物遗传育种研究。

注: 杨小波为通讯作者。

官对诱导条件的反应是有差异的,有的部位诱导成功率高,而有的部位很难脱分化;有时,即使脱分化,再分化频率也很低,或者只分化出芽而不长根,或者只长根不长芽^[5]。因此,外植体的选择是组织培养中非常重要的一环。很多学者对芦荟不同外植体进行比较试验,苏海等^[6]认为,二年生的库拉索芦荟(*A. barbadensis*)茎尖比茎段更容易诱导出不定芽,而且芦荟快速繁殖宜通过茎尖诱导出不定芽而获得无菌苗,这样省去了诱导愈伤组织步骤,缩短了诱导时间,而且可以减少种苗变异率。罗静等^[7]比较了好望角芦荟(*A. ferox*)茎段、叶片和根段的再生能力,发现在同一培养基中培养10d后,茎段上开始出现不定芽,25d后每块幼嫩茎组织中可形成4~5个芽,而接种的叶片和根段无一例产生不定芽,说明茎段是芦荟组织培养中最佳的外植体材料。唐玉明等^[8]、袁海英等^[9]进行了中国芦荟(*A. vera* var. *chinensis*)、木立芦荟(*A. arborescens*)和库拉索芦荟茎、叶作外植体的比较试验,发现以中国芦荟和木立芦荟的叶作为外植体,15d后外植体切口均变黑,30d后切口干缩,不能产生芽;而以茎段作为外植体,无论是中国芦荟还是木立芦荟,培养15d后各培养基均能产生一定数量的不定芽,库拉索芦荟茎的平均诱导分化率在90%以上,而叶片基本保持不分化状态。综上所述,芦荟茎尖和茎段有较强的再生能力,是较理想的外植体材料,而叶片和根段分化能力弱,作外植体一般难以诱导出不定芽的形成。另外, Richwine从库拉索芦荟未成熟花序中也诱导出芽^[10]。

对于芦荟叶片、叶鞘是否可以诱导愈伤组织,不同学者持不同观点。纪萍等^[11]以木立芦荟、中国芦荟和木锉芦荟(*A. humilis*)的叶片、叶鞘为外植体进行组织培养,结果表明,木锉芦荟的叶片、叶鞘可以诱导形成愈伤组织,建立再生系统。吴红芝等^[12]以木立芦荟的叶片、叶鞘及带腋芽的茎段为外植体进行试管培养,结果显示,叶鞘和茎段可诱导形成愈伤组织,腋芽直接萌生;叶片虽然能长时间保持鲜绿,却始终未分化。李琳等^[13]对库拉索芦荟茎段和叶鞘进行再生能力比较试验,发现茎段生长分化明显,大部分能诱导出芽,并且在添加活性炭的条件下容易诱导生根;而叶鞘组织的出芽率几乎为零,且在添加活性炭的培养基中几乎不生根,一段时间后,外植体切口因褐化而逐渐死亡,表明库拉索芦荟叶鞘组织基本不具分生能力。另外,吴红芝等^[12]、杜勇军等^[14]分别以木立芦荟和中华斑纹芦荟(*A. vera* var. *chinensis*)为材料,证明叶基部也可以诱导出愈伤组织,但中华斑纹芦荟叶片中部及顶端均不能诱导愈伤组织。这说明叶片和叶鞘能否作外植体,一方面可能与培养条件有关,另一方面也与品种有关,其真正原因有待探讨。

2 培养基的选择

培养基是活体植物组织体外保存、生长发育的营养来源。不同的植物都有自己最适合的组培培养基。多数学者认为,MS培养基适宜芦荟芽的分化和增殖培养。潘学峰等^[15]筛选古巴芦荟(*A. cubana*)侧芽分化的最佳培养基时发现,MS培养基诱导出的侧芽数最多,是芦荟外植体侧芽分化最理想的培养基;其次是H培养基,较差的是KC培养基。柳建军等^[16]、徐启红等^[17]以MS培养基对不同芦荟材料进行芽的分化和增殖试验都获得成功。但那宁馨等^[18]在木立芦荟继代培养过程中发现芽苗、叶尖出现干枯似脱水状,认为是由于培养基中离子浓度过高引起,改MS为1/2MS基本培养基后,芽苗生长旺盛,干枯率明显降低,增殖率略增加,因而认为1/2MS培养基为木立芦荟较好的增殖培养基。

芦荟生根培养一般采用1/2MS培养基。斯琴巴特尔等^[19]、蒋林等^[20]、铁军等^[21]分别以1/2MS培养基对皂质芦荟(*A. saponaria*)、库拉索芦荟和不夜城芦荟(*A. nobilis*)进行生根培养,并获得成功。纪萍等^[11]认为,木立芦荟、中国芦荟和木锉芦荟的丛生芽生根最佳培养基为1/2MS培养基。此外,一些学者对其他生根培养基也进行了探索,有人认为KC培养基对古巴芦荟根的分化有利^[15]。刘永提等^[22]通过试验证明改良的MS培养基对普拉索芦荟(*A. vera*)生根效果最好,生根率达100%。

3 植物生长调节剂的使用

在芦荟组织培养中,使用的生长素类有IBA和NAA,细胞分裂素类使用较多的是6-BA, ZT和

KT使用较少。从表1可以看出, 芦荟组培中生长调节物质的使用特点较复杂。当选择相同的外植体时, 所使用的生长调节物质组合和浓度可能不同, 如刚健芦荟和好望角芦荟都能以茎段做外植体, 但刚健芦荟芽的分化和增殖分别使用ZT 0.5mg/L(单位下同) + NAA 0.05和KT 1.0 + NAA 0.2, 而好望角芦荟芽的分化和增殖使用的都是6-BA 2.0 + IBA 0.1; 同时, 即使使用的是相同的生长调节物质组合, 各物质的浓度也往往不相同, 如不夜城芦荟在芽的分化和增殖时使用的生长调节物质分别是6-BA 2.0 + NAA 0.2和6-BA 1.0 + NAA 0.2, 而库拉索芦荟分别是6-BA 4.0 + NAA 0.2和6-BA 3.0 + NAA 0.2; 当然, 有时同一生长调节物质组合和相同浓度可用于芽的分化和增殖, 如好望角芦荟使用6-BA 2.0 + IBA 0.1, 库拉索芦荟使用6-BA 4.0 + IBA 0.04。

表 1 不同品种芦荟所用植物生长调节剂比较(mg/L)

品 种 名 称	外植体	芽发生	芽增殖	生根
不夜城芦荟 <i>A. nobilis</i> ^[21]	顶芽	6-BA 2.0 + NAA 0.2	6-BA 1.0 + NAA 0.2	NAA 0.6
刚健芦荟 <i>A. nobilis</i> ^[23]	茎段	ZT 0.5 + NAA 0.05	KT 1.0 + NAA 0.2	NAA 0.5
好望角芦荟 <i>A. ferox</i> ^[7]	茎段	6-BA 2.0 + IBA 0.1	6-BA 2.0 + IBA 0.1	IBA 1.5 + KT 0.2
中华芦荟 <i>A. vera</i> var. <i>chinensis</i> ^[24]	茎段	6-BA 3.0 + NAA 0.1	6-BA 1.0 + NAA 0.2	IBA 2.0
库拉索芦荟 <i>A. vera</i> ^[25]	茎段	6-BA 4.0 + IBA 0.04	6-BA 4.0 + IBA 0.04	IBA 2.0~3.0
库拉索芦荟 <i>A. vera</i> ^[20]	茎段	6-BA 4.0 + NAA 0.2	6-BA 3.0 + NAA 0.2	NAA 0.5
木立芦荟 <i>A. arborescens</i> ^[26]	茎段	6-BA 1.0 + NAA 0.2	6-BA 2.5 + NAA 0.1	IBA 3.5

虽然生长调节物质的使用情况复杂, 但也有规律可寻。生长素类物质与细胞分裂素类物质搭配使用对芽的分化和增殖效果较好, 而生根培养多数单独使用IBA或NAA。在促进侧芽产生时往往使用较高浓度的细胞分裂素, 在一定浓度范围内, 如使用高浓度6-BA可明显促进侧芽产生, 随着6-BA浓度的升高, 分化的芽也随之增加^[15,18,25,27]。但是, 6-BA在培养过程中存在一定程度的累积效应, 过高浓度的细胞分裂素会抑制新芽的发生和生长, 且导致培养材料变异的机率增大。适宜浓度的IBA比NAA更有利于芽的分化和增殖, 有实验表明, 在相同的6-BA浓度下, IBA作用比NAA更有效, 增殖率较高, 苗生长粗壮, 黄叶、畸形叶很少出现, 若培养基中不加IBA或其浓度过低, 则芽变纤细, 不利移栽成活; 但高浓度IBA明显抑制了芽的分化^[7,25]。

对于生根培养基中IBA和NAA的作用效果, 不同学者有不同观点。唐玉明等^[8]和任巧燕等^[28]认为, 适当浓度的NAA对芦荟苗生根有明显的促进作用, 而浓度过高则抑制出芽和根的分化。用KC培养基进行古巴芦荟生根培养时, IBA、NAA都能诱导生根, 但IBA比NAA好, IBA最佳浓度2.0~3.0mg/L, NAA为1.0mg/L^[15]; 杜文平等^[29]试验表明, NAA诱导的根多数生长不正常, 外观肥厚成团、粗壮且较短, 不伸入培养基, 并有把芦荟苗抬离培养基的趋势; 而IBA诱导的根为正常根, 根与根之间分离, 且伸入培养基。由此可见IBA生根效果优于NAA。

4 组培添加物的影响

活性炭对多数芦荟种类组培有促进生根作用。在加有活性炭的培养基中根细而长, 露出于培养基外的根粗短且有根毛; 而不加活性炭的培养基中基本不生根或仅有少量的根, 其原因可能是活性炭吸收根际有害物质, 或活性炭黑化培养基^[13,15]。不过, 任巧燕等^[28]发现, 在加活性炭的培养基中生长的根较细, 不利于组培苗成活, 他们认为活性炭对芦荟生根没有促进, 反而有抑制作用, 其原因有待进一步研究。活性炭在生根培养基中的用量, 以0.3%为宜, 不宜超过0.5%, 否则根的生长速度反而下降, 因为活性炭浓度过高, 其较强的吸附作用使植株可利用的外源生长素明显减少, 进而影响根系生长^[25,27]。对于活性炭对培养基中植物生长调节物质吸附作用的大小, 卜学贤等^[30]认为, 在MS液体培养中, 1mg活性炭大约能吸附100μg生长调节物质; 但也有研究认为, 在MS固体培养基中, 活性炭对生长调节物的吸附量不能简单的套用MS液体培养基中的吸附量, 活性炭的吸附作用情况较复杂, 还有待进一步研究^[13]。

腐植酸、香蕉汁和苹果汁等添加物对芦荟组织培养均有促进作用。杨应华^[31]用库拉索芦荟的茎顶端为外植体进行试管培养,结果表明,30mg/L腐植酸能使腋芽提早萌动,使腋芽的出芽率和增殖系数提高50%,促进组培苗的根系发育和叶片生长,这表明腐植酸在植物组织培养和快速繁殖上有良好的应用前景。在其它试验中也发现香蕉汁和苹果汁作为添加物,对日本木立芦荟的芽增殖和生根都有促进作用,其中,芽增殖数分别提高6.2个和5.1个,生根率分别增加132%和104%,而且芽苗植株生长粗壮,叶色增绿^[26]。

5 培养条件的影响

培养基的理化条件对芦荟组培存在一定影响。吴红芝等^[12]证实培养基酸碱度对木立芦荟组织培养分化效果的影响非常显著,认为在无菌苗建立和增殖阶段,培养基调为酸性(pH6.2)较合适;在增殖末代和生根阶段,培养基宜调为中性(pH7.0)。自然光照和人工光照的增殖倍数几乎没有差异,说明芦荟组培对光照条件要求不高^[20]。

6 褐化与玻璃化控制

6.1 褐化对芦荟组培的影响及控制

在芦荟的组织培养过程中,常出现褐化现象,影响培养物的生长发育,导致培养物部分组织死亡,甚至整个培养物死亡。褐化一般是外植体向外分泌的酚类与萘醌类等化合物被氧化所致^[32]。肖志艳等^[33]分析库拉索芦荟化学成分,表明叶片组织中含有大量的酚类及萘醌类物质。克服或减轻褐化的方法很多,如选择生长发育旺盛的培养物,其褐化程度明显小于生长发育弱的;在培养基中加抗氧化剂,如聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、抗坏血酸和活性炭、复合氨基酸、水解酶蛋白等;适时切除培养物的褐化部分;适时转接,提高转接次数,随继代次数增多,使褐化逐渐减轻以至不影响组织生长和芽分化^[25]。还有人认为,可以通过降低培养温度和光照强度加以解决^[18]。

6.2 玻璃化对芦荟组培的影响及控制

玻璃化现象是组织培养中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^[34,35]。芦荟组织培养中玻璃化现象也较为严重,尤其是在初代培养和继代次数较高时。导致芦荟组织培养玻璃化的因素很多,包括升汞消毒时间、BA浓度、蔗糖浓度、琼脂浓度、活性炭浓度、光照、培养时间和继代次数等。王爱勤等^[36]研究组培条件对不同品种芦荟试管苗玻璃化的影响时发现,如果芦荟茎尖消毒时间长于10~25min,第1代苗玻璃化程度逐渐增加;芦荟玻璃化苗数随继代次数的增加而增加;光照条件对试管苗玻璃化有一定影响,但不是很大,不是主要因素。丰锋等^[37]以美国“翠叶”芦荟(*Aloe barbadensis*)为试材,发现密封瓶口、高温、高浓度6-BA、高Ca²⁺、K⁺离子浓度会提高玻璃化率。

很多学者从不同的角度探索了控制玻璃化的方法,如适当降低培养基中细胞分裂素(BA)浓度、增加培养基中的糖含量和琼脂含量、向培养基中加入0.3%活性炭等^[36]。除此之外,高浓度的琼脂(11g/L)、50mg/L根皮苷、强光照(3 000 lx)都有利于降低玻璃化率^[37];还有学者认为可以降低细胞分裂素浓度来控制玻璃化现象^[11]。

7 小结与展望

芦荟的组织培养是解决芦荟种苗来源的一个重要途径,是实现芦荟产业化生产的基础。虽然目前有少数芦荟品种的组织培养获得成功,但对这些品种的外植体选择、培养基的设计、植物生长调节物质和培养条件的控制等方面,还有待进一步研究,以提高芦荟的繁殖率和存活率;同时要对其它品种进行研究,摸索合适的组培方法。另一方面,芦荟的组培还仅限于试验研究和小规模生产,需要探索组培条件的控制,实现芦荟种苗生产工厂化、自动化,才能满足产业化需求。最后,还应把芦荟的组织培养与基因工程、细胞工程结合起来,以创造新的芦荟品种,改善芦荟产品品质。

参考文献:

- [1] 周治德. 国内外芦荟提取物的市场现状及发展趋势[EB/OL]. <http://www.aisc.com.cn/allfile/2006-4-21/news2006421135853.asp>, 2006-4-21.
- [2] 朴泰浩. 芦荟组织培养快速繁殖技术的研究[J]. 中国野生植物资源, 1994(4): 44-46.
- [3] 丰锋,等. 芦荟的组织培养[J]. 北方园艺, 2000(1): 38-39.
- [4] 华春,等. 芦荟组织培养和快速繁殖技术[J]. 生物学通报, 2001,36(7): 47.
- [5] 曹孜义,等. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2002.
- [6] 苏海,等. 库拉索芦荟组织培养技术研究[J]. 广东农业科学, 2003(3): 27-28.
- [7] 罗静,等. 好望角芦荟的组织培养与快速繁殖[J]. 安徽农业科学, 2005,33(7): 1213, 1231.
- [8] 唐玉明,等. 两种芦荟的组织培养研究[J]. 西南农业大学学报, 2002,24(5): 439-441.
- [9] 袁海英,等. 芦荟的组织培养快速繁殖技术研究[J]. 新疆农业大学学报, 2001,24(2): 54-57.
- [10] Richwine A M, et al. Establishment of *Aloe*, *Gasteria*, and *Haworthia* shoot cultures from inflorescence explants[J]. Hortiscience, 1995(7): 1443-1444.
- [11] 纪萍,等. 三种芦荟的组织培养及快速繁殖的研究[J]. 中国林副特产, 2002(2): 9-10.
- [12] 吴红芝,等. 木立芦荟组织培养 pH 分化特性及快速繁殖的研究[J]. 中国野生植物资源, 2000,19(4): 50-52.
- [13] 李琳,等. 活性炭在库拉索芦荟(*Aloe vera*)的组织培养中的应用[J]. 西南农业学报, 2005,18(1): 105-107.
- [14] 杜勇军,等. 芦荟芽苗快繁及试管苗栽培驯化研究[J]. 西北农业学报, 2003,12(1): 72-75.
- [15] 潘学峰,等. 古巴芦荟的组织培养[J]. 海南大学学报(自然科学版), 1995,13(1): 30-35.
- [16] 柳建军,等. 芦荟组织培养及快速繁殖的研究[J]. 山东农业科学, 2003(6): 19.
- [17] 徐启红,等. 中华芦荟的组织培养[J]. 荆门职业技术学院学报, 2005,20(6): 8-9.
- [18] 那宁馨,等. 木立芦荟和三角芦荟的组织培养和低成本快繁[J]. 沈阳农业大学学报, 2001,32(2): 107-109.
- [19] 斯琴巴特尔,等. 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.
- [20] 蒋林,等. 库拉索芦荟的组织培养和快速繁殖[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2002,15(4): 39-42.
- [21] 铁军,等. 不夜城芦荟的组织培养与植株再生研究[J]. 内蒙古师范大学学报(自然科学版), 2003,32(2): 165-167.
- [22] 刘永提,等. 普拉索芦荟组织培养技术研究[J]. 湖北林业科技, 2002(1): 4-6.
- [23] 陈丽静,等. 刚健芦荟的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2000,36(4): 339.
- [24] 铁军,等. 华芦荟的组织培养与快速繁殖[J]. 长治学院学报, 2005,22(5): 6-7.
- [25] 雷呈,等. 库拉索芦荟的组织培养和快速繁殖[J]. 长江蔬菜, 2002(s1): 105-106.
- [26] 叶秀妹,等. 芦荟组织培养快速繁殖技术[J]. 福建热作科技, 2005,30(3): 24-25, 28.
- [27] 孙德权,等. 芦荟的组织培养和快速繁殖[J]. 广西热带农业, 2001(1): 8-9.
- [28] 任巧燕,等. 芦荟组织培养技术试验[J]. 榆林学院学报, 2005,15(3): 58-59.
- [29] 杜文平,等. 芦荟组织培养快速繁殖技术研究[J]. 四川林业科技, 2000,21(4): 68-70.
- [30] 卜学贤,等. 活性炭对培养基中植物生长调节物质的吸附作用[J]. 植物生理学, 1988,14(4): 401-405.
- [31] 杨应华. 腐植酸在芦荟组培和快繁上的应用[J]. 生物技术, 2002,12(3): 37-38.
- [32] 颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海: 上海科学技术出版, 1990.
- [33] 肖志艳,等. 库拉索芦荟化学成分的研究[J]. 药学报, 2000,35(2): 120-123.
- [34] 张燕玲,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.
- [35] 郭达初,等. 控制重瓣丝石竹试管苗玻璃化的研究[J]. 杭州植物园通讯, 1991(2): 513-518.
- [36] 王爱勤,等. 组培条件对不同品种芦荟试管苗玻璃化的影响[J]. 中国农学通报, 2002,18(5): 46-48, 52.
- [37] 丰锋,等. 芦荟组织培养中试管苗玻璃化的发生与防止[J]. 西南农业大学学报, 2001,23(5): 449-451.