

# 日本木立芦荟离体快繁体系研究\*

徐重益, 傅术琳, 程智慧

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

**[摘要]** 以日本木立芦荟(*A. arborescens* Mill) 茎尖和幼嫩茎段为外植体进行离体快繁。结果表明, 茎尖在 MS+ 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 培养基上形成的不定芽数最多, 达 21 个; 而茎段在 MS+ 6-BA 4.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 培养基上诱导的不定芽数最多, 为 8 1 个。MS+ 6-BA 3.0 mg/L + B9 100 mg/L 培养基对不定芽的增殖效果最好, 平均每个芽可增殖不定芽 11.5 个。1.0 mg/L NAA 和 2.0 mg/L BA 能显著促进不定芽生根, 生长延缓剂 CCC 也具有促进生根作用。将组培苗移栽到体积比组成为 2 份有机廐肥+ 1 份园田土或 2 份蛭石+ 1 份园田土的基质中, 成活率可达 90% 以上。

**[关键词]** 木立芦荟; 离体快繁; 器官发生; 组织培养

**[中图分类号]** Q 813.1+2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2004)06-0083-04

木立芦荟(*Aloe arborescens* Mill) 是百合科芦荟属多年生常绿草本植物, 含有芦荟素、芦荟大黄素等 70 多种对人体有益的物质, 可加工成绿色保健品和美容化妆品<sup>[1-4]</sup>。但芦荟受粉后结籽很少, 虽可以进行侧枝扦插繁殖, 但繁殖率低<sup>[1,5]</sup>。目前, 有关木立芦荟组织培养研究方面的报道较多, 提出了一些芦荟快速繁殖体系, 并且获得了较高的繁殖系数, 但都采用细胞分裂素和生长素, 没有采用其他常见的生长调节物质<sup>[6-9]</sup>。本研究以茎尖和茎段为外植体, 除使用细胞分裂素和生长素外, 还使用了 B9 和 CCC 2 种植物生长调节物质, 以观察其对芦荟繁殖和生根的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

2 年生日本木立芦荟。

### 1.2 方法

选取茎尖和幼嫩的茎段部分, 用洗洁精和自来水冲洗干净, 用体积分数 70% 的酒精消毒 30 s, 再用质量分数 0.1% 的升汞浸泡 10 min, 无菌水冲洗 4~5 次。将消毒后的茎尖切成 3~5 mm 大小, 茎段切成 5 mm 大小, 分别接入不定芽诱导培养基上。将产生的大小一致的单个不定芽完整地切下, 转入增殖培养基中增殖。最后将产生的芽转入生根培养基中生根, 生根后进行驯化和移栽。每个处理观察 15

个外植体的生长分化情况, 取其平均值。

不定芽诱导培养基: MS+ 6-BA (0, 1, 2, 3, 4, 5) mg/L + NAA 0.1 mg/L; MS+ 6-BA 3 mg/L + NAA (0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4) mg/L。

不定芽增殖培养基: MS+ 6-BA (0, 1, 2, 3, 4) mg/L + NAA 0.2 mg/L; MS+ B9 (0, 100, 1 000, 2 000) mg/L + NAA 0.2 mg/L + 6-BA 3.0 mg/L。

生根培养基: MS; MS+ NAA (0.5, 1.0) mg/L; MS+ BA (0.5, 1.0, 2.0) mg/L; MS+ CCC (20.0, 100.0) mg/L。

驯化移栽基质配方为: 2 份有机廐肥+ 1 份园田土; 2 份蛭石+ 1 份园田土; 2 份有机廐肥+ 1 份沙子; 2 份园田土+ 1 份沙子。以上有机廐肥、蛭石和园田土按体积比混合, 且均经高温灭菌。组培苗移栽后的培养温度为 23~27 ℃, 光照强度 1 500~1 700 lx, 光照时间 14 h/d。

## 2 结果与分析

### 2.1 6-BA 和 NAA 对不定芽诱导的影响

2.1.1 6-BA 对茎尖不定芽诱导的影响 由表 1 可以看出, 6-BA 能显著促进木立芦荟茎尖不定芽的诱导, 以 3.0 mg/L 浓度诱导效果最好, 平均每个外植体产生 19 个芽, 是对照的 2 倍。在 1.0~3.0 mg/L 时, 随着 6-BA 质量浓度的升高, 不定芽诱导数增多; 当 6-BA 浓度高于 3.0 mg/L 后, 不定芽诱导数

\* [收稿日期] 2003-12-22

[作者简介] 徐重益(1979-), 女, 陕西凤翔人, 在读硕士, 主要从事蔬菜生理与生物技术研究。

[通讯作者] 程智慧(1958-), 男, 陕西兴平人, 教授, 博士生导师, 博士, 主要从事蔬菜生理与生物技术研究。

反而下降。顶芽分化所需的 6-BA 最适质量浓度为 2.0 mg/L, 而腋芽分化所需的 6-BA 最适质量浓度为 3.0 mg/L, 略高于顶芽, 这是因为在植物体内顶芽可以合成细胞分裂素, 并输送给腋芽。从不定芽的

生长情况看, 随着 6-BA 质量浓度的升高, 诱导的不定芽越来越细短, 这说明高质量浓度 6-BA 有抑制不定芽生长的作用。另外, 从顶芽和腋芽的数目可以看出, 6-BA 可以有效抑制顶芽优势, 促进腋芽分化。

表 1 6-BA 和 NAA 对日本木立芦荟茎尖不定芽诱导的影响

Table 1 Effects of 6-BA and NAA on the induction of adventitious buds from meristem

6-BA/ (mg · L <sup>-1</sup> )	NAA/ (mg · L <sup>-1</sup> )	外植体膨大情况 Explant swell or not	诱导芽数 Number of buds		不定芽长度/cm Length of adventitious bud	
			顶芽数 Apical bud number	腋芽数 Axillary bud number	顶芽长 Apical bud length	腋芽长 Axillary bud length
0.0	0.1	未膨大 Not	2.0	7.5	2.4	0.2
1.0	0.1	未膨大 Not	3.2	10.3	1.2	1.0
2.0	0.1	未膨大 Not	5.5	13.0	1.4	0.8
3.0	0.1	膨大 Swell	3.5	15.5	1.1	0.6
4.0	0.1	膨大 Swell	2.1	10.2	0.7	0.4
3.0	0.0	膨大 Swell	3.2	12.3	0.8	0.7
3.0	0.1	膨大 Swell	3.6	15.2	1.1	0.7
3.0	0.2	膨大 Swell	3.8	17.1	1.2	0.8
3.0	0.3	膨大 Swell	2.8	12.2	1.5	0.9
3.0	0.4	膨大 Swell	2.1	6.6	2.0	1.4

2.1.2 6-BA 对茎段不定芽诱导的影响 从表 2 可以看出, 6-BA 能够有效地诱导木立芦荟的茎段产生不定芽。在质量浓度为 4.0 mg/L 时, 诱导的不定芽数最多; 当 6-BA 质量浓度再升高时, 不定芽诱导率和不定芽数均下降。总体上看, 6-BA 诱导的不定芽数越多, 不定芽的长度越短, 芽越细弱。对比茎尖和茎段不定芽的诱导效果可以看出, 诱导茎段的 6-BA 适宜浓度要高于茎尖, 通过茎尖诱导的不定芽数也明显多于茎段, 这主要是因为茎尖组织分裂旺盛, 易于脱分化, 且茎尖本身含有细胞分裂素。

表 2 6-BA 对日本木立芦荟茎段不定芽诱导的影响

Table 2 Effects of 6-BA on the induction of adventitious buds from stem segments

6-BA/ (mg · L <sup>-1</sup> )	不定芽数 Number of adventi- tious buds	不定芽长度/cm Length of adventi- tious bud	不定芽诱导率/% Induction rate of adventi- tious bud
0.0	2.0	0.3	36
1.0	3.5	1.5	62
2.0	4.4	1.6	80
3.0	6.5	1.1	93
4.0	8.1	0.8	95
5.0	7.6	0.4	87

注: 以上所有处理的 NAA 浓度均为 0.1 mg/L。

Note: The concentration of NAA in all treatments above are 0.1 mg/L.

2.1.3 NAA 对不定芽的诱导作用 从表 1 可以看出, 日本木立芦荟的茎尖诱导不定芽所需的 NAA 浓度比较低, 最适宜的 NAA 浓度为 0.2 mg/L, 此时每个茎尖外植体平均可产生 20.9 个不定芽(图

1)。NAA 浓度高于或低于 0.2 mg/L, 均不能达到最佳诱导效果, 而且高浓度的 NAA 不利于不定芽的诱导, 但有利于不定芽的生长, 并且随着 NAA 质量浓度的升高, 不定芽长度增加。

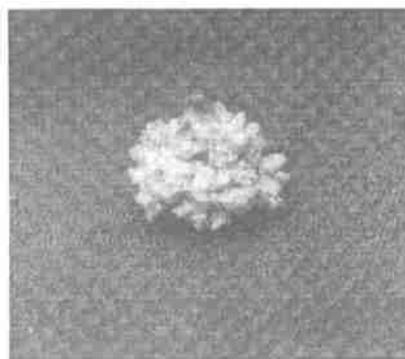


图 1 芦荟茎在 MS+ 6-BA 3 mg/L + NAA 0.2 mg/L 培养基中产生的不定芽

Fig 1 Buds were induced from meristem in MS+ 6-BA 3 mg/L + NAA 0.2 mg/L

## 2.2 6-BA 和 B9 对不定芽增殖的影响

2.2.1 6-BA 对不定芽增殖的影响 由表 3 可以看出, 6-BA 对木立芦荟不定芽增殖的促进作用很明显。在 6-BA 浓度较低时, 每个母芽的平均增殖不定芽数偏低, 随着 6-BA 浓度的升高, 增殖的不定芽数也相应增加。当 6-BA 浓度达到 3.0 mg/L 时, 不定芽的增殖数达到最大, 为 7.6 个; 当浓度再升高时, 不定芽的增殖数反而下降。这表明 6-BA 对母芽的生长发育有很大的影响, 表现为低浓度时促进其生长发育, 而高浓度时则具有抑制作用。

表 3 不同浓度的 6-BA 对不定芽增殖和母芽生长的影响

Table 3 Effects of different concentration of 6-BA on the propagation of adventitious buds and parental shoots

6-BA / (mg · L <sup>-1</sup> )	增殖的不定芽数 Number of adventitious bud	母芽 Parental shoots		
		芽长/cm Length of shoot	叶宽/cm The width of leaves	叶片数 Number of leaves
0.0	1.5	2.9	0.4	4.5
1.0	3.5	3.2	0.4	5.0
2.0	4.9	3.0	0.3	4.6
3.0	7.6	2.7	0.3	4.2
4.0	6.3	2.2	0.3	3.5

注: 以上所有处理的 NAA 浓度均为 0.2 mg/L。

Note: The concentration of NAA in all treatments above are 0.2 mg/L.

2.2.2 B9 对不定芽增殖的影响 将大小一致的日本木立芦荟不定芽转接到含有不同浓度 B9 的增殖培养基上, 观察 B9 对不定芽增殖和生长的影响。从表 4 可以看出, 不同浓度的 B9 对不定芽的增殖和分化作用有明显差异。从增殖芽数看, 较低浓度的

B9 能够显著提高每个母芽的平均增殖不定芽数, 浓度过高, 则会严重阻碍不定芽的分化。从母芽的生长发育情况看, 较低浓度的 B9 不利于母芽的生长, 但浓度过高, 也会阻碍母芽的生长和发育。

表 4 B9 对日本木立芦荟不定芽增殖和母芽生长的影响

Table 4 Effects of duminozide (B9) on the propagation of adventitious buds and parental shoots

B9/ (mg · L <sup>-1</sup> )	增殖的不定芽数 Number of adventitious bud	母芽 Parental shoots			
		芽长/cm Length of shoot	叶宽/cm The width of leaf	叶片数 Number of leaves	叶片颜色 Leaves color
0	7.7	3.4	0.5	5.1	绿色 Green
100	11.5	3.0	1.0	6.0	浅绿 Light green
1000	3.0	2.5	0.8	4.2	淡绿色 Pale green
2000	2.2	2.0	0.5	3.9	乳白色 Milk white

注: 以上所有处理的 NAA 和 6-BA 浓度分别为 0.2 和 3.0 mg/L。

Note: The concentration of NAA and 6-BA in all treatments above are 0.2 and 3.0 mg/L respectively.

2.3 不同激素对组培苗根诱导的影响

从表 5 可以看出, 不同种类的生长调节物质均能诱导日本木立芦荟组培苗生根, 但由于其活性不同, 生根所需的最佳质量浓度也不相同。在所有处理

中, 以 1.0 mg/L NAA 诱导的效果最好, 不但根的诱导率最高, 而且生根时间短, 根数最多(平均每个芽产生 4 条根(图 2)), 根粗壮, 芽的生长也最快; 其次以 2.0 mg/L BA 的诱导效果为好。

表 5 NAA, IBA 和 CCC 对日本木立芦荟组培苗生根和生长的影响

Table 5 Effects of NAA, BA and CCC on production of root and growth of shoots

药剂 Chemicals	浓度/ (mg · L <sup>-1</sup> ) Concentration	生根时间/d Time to produce root	根数 Number of roots	根长/cm Length of root	根粗/cm Thickness of root	诱导率/% Induction rate	芽长/cm Length of shoot
NAA	0.0	30	1.0	0.2	0.1	10	4.0
NAA	0.5	10	2.0	0.5	0.3	71	4.5
NAA	1.0	7	4.0	1.6	0.4	92	5.6
IBA	0.5	21	1.5	0.6	0.1	11	4.0
IBA	1.0	15	3.0	1.0	0.1	35	4.8
IBA	2.0	9	4.0	1.8	0.2	75	5.2
CCC	20.0	29	1.1	0.3	0.1	20	3.8
CCC	100.0	18	2.3	1.1	0.2	66	3.3

2.4 组培苗的移栽

将已生根的组培苗置于室外炼苗 1 周, 再将瓶口上方的封口膜打开放置 3 d, 洗净琼脂后移入由不同成分混合而成的移栽基质中, 浇透水, 并用塑料薄膜覆盖保湿。移栽结果表明, 2 份有机厩肥+ 1 份园

田土或 2 份蛭石+ 1 份园田土组成的基质为较好的移栽基质, 组培苗成活率均可达 90% 以上; 而由 2 份有机厩肥+ 1 份沙子和 2 份园田土+ 1 份沙子组成的移栽基质, 其组培苗移栽成活率不足 70%。

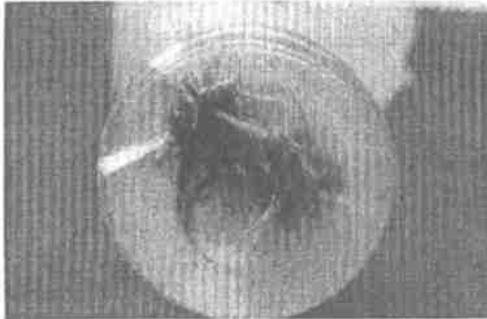


图 2 芦荟不定芽在MS+NAA 1.0 mg/L 培养基上形成的根

Fig. 2 A adventitious bud of aloë produced roots in MS+NAA 1.0 mg/L

### 3 小结与讨论

1) 6-BA 可明显促进日本木立芦荟的茎尖和茎段产生大量不定芽,并能促进不定芽的大量增殖<sup>[10]</sup>。本研究结果表明,6-BA 能够显著诱导芦荟产生不定芽,能够促进不定芽的增殖,但不同外植体对

6-BA 的需求浓度不同,诱导效果也不一样。茎尖比茎段对 6-BA 更加敏感,需要的浓度低于茎段,而且诱导产生的不定芽数量远多于茎段。不定芽增殖要求的 6-BA 浓度要低于诱导浓度。6-BA 浓度过高对外植体和不定芽具有抑制作用,表现为不定芽诱导数下降,芽的生长受到抑制。

2) 较高浓度的 6-BA 和低浓度的 NAA 相配合较单独使用 6-BA 更能促进不定芽的诱导,但 NAA 浓度的最适值范围很小,超过该值,虽然有利于不定芽的生长,但诱导数下降<sup>[11]</sup>。本研究通过最佳组合使不定芽数达到 21 个,超过目前报道的 5~8 个<sup>[10]</sup>和 5 个<sup>[12]</sup>。

3) B9 可以部分代替 6-BA 促进不定芽增殖,而高浓度的 CCC 也具有明显的生根作用。B9 和 CCC 虽然在生产上作为生长延缓剂,但完全可以用在芦荟的离体快速繁殖中来代替昂贵的细胞分裂素和生长素,以节约成本和改善苗木质量,具有重要的生产实际意义。

#### [参考文献]

- [1] 高公泓,李宗芬,傅美琳,等. 大芦荟与保健美容[M]. 西安: 陕西人民教育出版社, 1999
- [2] 倪同汉. 神奇的芦荟(上)[J]. 中国野生植物, 1989, (1): 20- 25
- [3] 倪同汉. 神奇的芦荟(下)[J]. 中国野生植物, 1989, (2): 25- 30
- [4] 袁阿兴,康书华. 斑纹芦荟中芦荟苦素的分离鉴定[J]. 中国中药杂志, 1991, (5): 292- 293
- [5] 熊佑清. 芦荟[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1999
- [6] 周根余,丁洪峰,施望敏. 芦荟的无性快繁[J]. 园艺学报, 1999, 26(6): 410- 411
- [7] 吴红芝. 木立芦荟的组织培养及快速繁殖[J]. 园艺学报, 2000, 27(20): 151- 152
- [8] 傅木琳,徐重益,程智慧. 木立芦荟愈伤组织的诱导及快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(2): 139
- [9] 唐玉明,姚万春,任道群,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
- [10] 张英,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): 103- 105
- [11] 谭文澄,戴策刚. 观赏植物与植物组培技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991
- [12] 申峰,李洪波,吕庆芳,等. 芦荟的组织培养[J]. 北方园艺, 2001, (1): 38- 39

## Study on tissue culture of *A. arborescens* Mill

XU Chong-yi, FU Shu-lin, CHENG Zhi-hui

(College of Horticulture, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** Tissue culture of *A. arborescens* was studied with meristem and young stem segments as explants. The optimum media for induction of adventitious buds from meristem and stem segment were MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L and MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L respectively with the bud number reaching to 21 and 8. Shoots were propagated as much as 11.5 when they were placed at MS+6-BA 3.0 mg/L+B9(duminozide) 100 mg/L. 1.0 mg/L NAA and 2.0 mg/L BA were the best treatments for the induction of roots. Besides NAA and BA, CCC a kind of inhibitor for growth also was helpful to promote shoot to root differentiation. More than 90% of the shoots with roots survived after planted into mixture of 2 stable manure+1 soil or 2 vermiculite+1 soil.

**Key words:** *A. arborescens* Mill; rapid propagation *in vitro*; organogeny; tissue culture