

库拉索芦荟的多倍体诱导及其变异初报

王 俐¹, 郑思乡¹, 李枝林¹, 顾志建^{2*}

(1 云南农业大学花卉研究所, 云南 昆明 650201; 2 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204)

摘要: 在组织培养条件下, 对库拉索芦荟 (*Aloe vera* L.) 用秋水仙素进行染色体加倍的诱导处理, 结果表明: 用含 0.06% 秋水仙素处理 12 h 后诱变频率可达 50%, 其效果最佳。经秋水仙素诱导的加倍群体与正常二倍体植株比较, 植株的大多数叶片变厚, 叶色变深, 叶片变大, 气孔增大而单位叶面积气孔数减少。对变异材料进行细胞学研究后发现, 体细胞中期染色体为 $2n = 4x = 28$, 为 4 倍体。未加倍前的二倍体为 $2n = 2x = 14$ 。检测中也发现有少数植株有 $2n = 14$ 和 $2n = 28$ 两种细胞型的情况。

关键词: 库拉索芦荟; 多倍体; 诱导; 形态学; 细胞学

中图分类号: Q 945 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2700(2001)04-0493-04

A Preliminary Study on the Polyloid Induction and Variation of *Aloe vera*

WANG Li¹, ZHENG Si-Xiang¹, LI Zhi-Lin¹, GU Zhi-Jian^{2*}

(1 Research Institute of Ornamental Plants, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2 Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: Tube seedlings of *Aloe vera* L. were treated with colchicine to form polyploid plants. The results show that the best induction rate could reach 50% after treatment with 0.06% colchicine in 12 hours. By comparing the polyploid plants with normal diploid ones, leaves of polyploid plants were thicker, larger, darker in color, and with larger stomata and less in number. Cytological studies show that the chromosome number of the variant is 28, while the normal diploid plant is 14. It was found that a few induced plants were chimera with diploid cells ($2n = 4x = 14$) and tetraploid cells ($2n = 4x = 28$) simultaneously.

Key words: *Aloe vera*; Polyploid; Induction; Morphology; Cytology

芦荟 (*Aloe*) 是百合科多年生草本植物, 叶片厚实多肉, 富含多种活性物质, 具有医疗、美容、保健、食用等多种功能, 素有“多用良药”、“天然美容师”、“家庭医生”等美称, 以致风靡全球 (顾文祥等, 1999)。库拉索芦荟 (*Aloe vera* L.) 是芦荟属中具有产业发展前景的一个种, 由于其有效成分含量高、适应性强、单位面积产量高而被人们广泛种植 (顾文祥等, 1999; 熊倬清, 1999)。人们对芦荟的研究侧重于对有效成分的利用和栽培育

* 通讯联系人 Author for correspondence

收稿日期: 2000-10-09, 2000-12-28 接受发表

作者简介: 王俐 (1971-) 女, 重庆人, 讲师, 在职硕士, 主要从事花卉的研究。

种(熊倬清, 1999; 赵永新等, 1998), 芦荟的组织培养也较为成熟(林建等, 1997), 但对芦荟的多倍体研究尚未见报道。植物多倍体的诱变一般分为以下二类: (1) 化学诱变: 秋水仙素、富民隆等化学诱变产生多倍体; (2) 物理诱变: 如温度骤变、x 射线、激光、嫁接、切割等刺激产生多倍体(郑思乡, 1996)。我们于 1999~2000 年对库拉索芦荟用秋水仙素对试管苗进行多倍体诱导, 获得了诱变植株。本文报道芦荟多倍体的诱导方法以及对变异株形态特征和细胞学特性的观察结果, 以期对芦荟多倍体育种奠定基础。

1 材料与方法

供试材料为二倍体库拉索芦荟的试管苗, 对照材料为库拉索芦荟二倍体的试管苗。

多倍体诱导: 将库拉索芦荟试管苗用秋水仙素浸泡处理, 浓度分别为 0.06%、0.1%, 处理时间分别为 6 h、12 h、24 h, 温度为 25℃, 处理后用无菌水漂洗, 接种到 MS + 6-BA 2.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 培养基培养。

多倍体鉴定: 采用气孔鉴定法, 撕取变异株叶表皮制片, 在单位面积内观察气孔的大小及数量的变异, 染色体检查用 F-BSG 法制片, 观察染色体是否发生了倍性变异。

2 结果与分析

2.1 组织培养条件下, 秋水仙素对库拉索芦荟的诱变效果

研究结果见表 1。其变异指标以气孔增大为标准。从表中可看出, 芦荟试管苗对秋水仙素很敏感, 药剂浓度为 0.1%, 处理时间为 24 h, 死亡率将近 50%。这里所指的死亡是指培养 1 个月后仍不能发芽的畸形体, 呈透明状, 特别粗大, 以后逐渐死亡。本研究发现秋水仙素浓度为 0.06%, 处理时间为 12 h 的效果最佳, 变异率可达 50%。

表 1 秋水仙素对库拉索芦荟的诱变效应
Table 1 The inducing effect of colchicine on *Aloe vera*

秋水仙素浓度 colchicine concentration	时间 (h) time	处理苗数 number of treated plant	死亡数 death number	死亡率 (%) death rate	变异苗数 number of variant	变异率 (%) variation rate
0.06%	6	50	5	10	10	20
	12	50	7	14	25	50
	24	50	10	20	5	10
0.1%	6	50	7	14	6	12
	12	50	14	28	2	4
	24	50	24	48	0	0

2.2 变异植株的形态学观察

与对照比较, 经秋水仙素处理的植株中, 有一部份叶片肥厚, 叶色深绿, 植株较大, 以这些出现外形变异的植株为材料作气孔观察, 发现叶上表皮细胞及气孔明显增大, 而单位面积上表皮细胞及气孔数目减少, 由此可以认为, 气孔显著增大是芦荟多倍体的形态特征, 可作为其形态学上的标志(表 2)。

表 2 变异株与二倍体植株的外部形态比较

Table 2 A comparison of morphological characteristics between variants and diploids

形态值 morphological data	株高 (平均值) (cm) plant height (mean)	叶长/叶宽 (平均值) (cm) leaf length/width (mean)	叶厚 (平均值) (cm) leaf thickness (mean)	气孔长直径/短直径 (平均值) (μm) stoma long - diameter/short - diameter (mean)	气孔面积 (平 均值) (μm^2) stoma area (mean)
变异株 variant	7.83	6.58/0.92	0.29	60.25/59.50	2814.13
对照株 diploid	6.17	5.08/0.47	0.16	34.75/31.50	859.28

均取基部第 2 片叶, 气孔面积 S (平均值) = $\pi \times$ 长径 (平均值) $\times$ 短径 (平均值), 样本数均为 20。

2.3 多倍体的细胞学鉴定

经细胞学观察, 库拉索芦荟 (*Aloe vera* L.) 为二倍体, 其特征由 8 条大染色体和 6 条小染色组成, 按同源染色体组合大染色体为 4 组, 小染色体为 3 组, 每组由两条同源染色体组成, 该种的核型为典型的二型性构成。经加倍诱导后形成的四倍体其大染色体为 16 条, 小染色体为 12 条, 按同源染色体组合大染色体仍为 4 组, 小染色体为 3 组, 每组由 4 条同源染色体组成, 是原二倍体的两倍。没有观察到异形染色体的变化, 也没有大小染色体发生交错的现象, 诱导后四倍体除倍性发生变化外, 染色体结构特征与二倍体一致。(图 1)

3 小结与讨论

3.1 组织培养过程中用秋水仙素诱导库拉索芦荟多倍体有 3 个特点: (1) 以试管苗为材料, 经秋水仙素处理后, 变异十分明显, 变异芽异常粗壮, 多数易产生畸形, 不再生长, 故以低浓度、适宜的处理时间可获得较好的效果。(2) 采用不定芽技术结合组织培养可以稳定四倍体芦荟。秋水仙素诱导后多数形成嵌合体, 变异细胞往往发生在 L-I 层或 L-II 层, 或呈扇形突变。产生的变异细胞往往生活力弱, 分裂速度慢; 而正常二倍体细胞生活力强, 分裂快, 从而淹没变异细胞, 产生二倍体竞争, 表现为回复突变。将变异的器官或组织诱导产生不定芽, 由于不定芽一般由 1 个或几个表皮细胞发育而来, 若这部份细胞是多倍体, 则形成的不定芽为完全多倍体, 从而达到稳定的目的。(3) 组织培养能加快变异株的繁殖速度, 从而加速芦荟多倍体育种的进程。

3.2 气孔鉴定可作为多倍体的间接方法, 试验表明, 芦荟叶片下表皮容易撕下制片, 观察简便快捷。另一方面, 芦荟多倍体 (即四倍体) 气孔明显大于二倍体, 鉴定结果较可靠。不过, 气孔鉴定只是间接证据, 要最终确定多倍体还是要通过染色体鉴定。

3.3 芦荟是以营养体 (叶片) 为收获对象。初步研究表明, 芦荟多倍体叶片较二倍体大而肥厚、叶色深绿、生长速度快、并能无性繁殖, 所以芦荟多倍体育种潜力很大。其生物活性物质含量是否较二倍体显著提高还有待进一步研究。

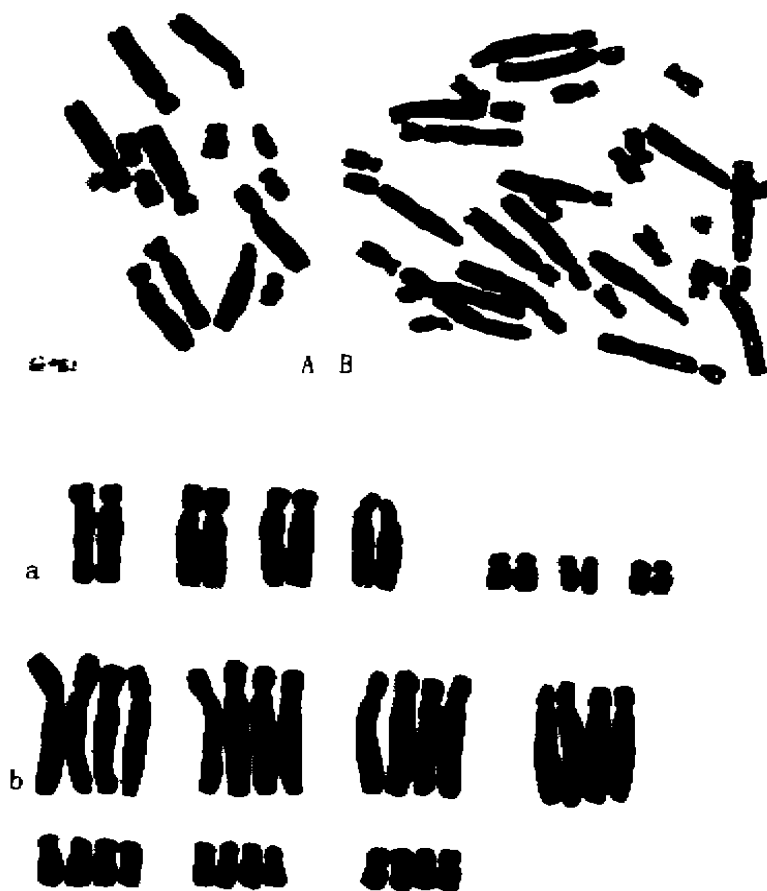


图1 芦荟体细胞中期染色体及核型

(A) 库拉索芦荟二倍体体细胞中期染色体及 (a) 核型;

(B) 库拉索芦荟四倍体体细胞中期染色体及 (b) 核型

Fig.1 The somatic karyotypes of (A) (a) diploids of *Aloe vera* L.; (B) (b) tetraploids of *Aloe vera* L.

〔参考文献〕

- 林建, 陈绍潘, 1997. 芦荟组织培养快速繁殖试验研究 [J]. 广西热作科技 (2): 22—24
 郑思乡, 1996. 芦荟多倍体诱导及离体培养的研究 [J]. 湖南农业科学 (1): 22—23
 赵永新, 顾文祥著, 1998. 芦荟的妙用 [M]. 上海: 上海科技普及出版社
 顾文祥, 诸淑琴主编, 1999. 芦荟栽培与加工利用 [M]. 上海: 上海科学普及出版社
 熊德清著, 1999. 芦荟 [M]. 北京: 中国农业大学出版社