

金钱树的组织培养^①

顾丽红 杨本鹏^② 张树珍 杨学

(中国热带农业科学院热带生物技术研究所 海口市 571101)
热带作物生物技术国家重点实验室

摘要 以金钱树 [*Zamioculcas zamiifolia* (Loddiges) Engler] 的幼嫩小叶为外植体, 采用幼叶 → 愈伤组织 → 丛生芽 → 完整植株的途径进行繁殖。结果表明: 叶片在 MS+BA 2 mg/L+2, 4-D 1.0 mg/L+PVP 0.5 mg/L+活性炭 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L 培养基上暗培养 30 d, 可诱导形成愈伤组织; 愈伤组织在 MS+BA 4 mg/L+KT 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L 培养基上光照培养 25 d, 可诱导形成丛生芽(丛生芽在继代培养过程中每 20~25 d 可增殖 3~5 倍); 丛生芽接种于 MS+BA 3 mg/L+NAA 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L 培养基上壮苗培养 4 周后, 再转入 1/2 MS+BA 2 mg/L+NAA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L 培养基上培养 30 d, 可诱导形成完整的根系。

关键词 金钱树; 观赏植物; 组织培养; 愈伤组织; 丛生芽
分类号 S813.1

Tissue Culture of *Zamioculcas zamiifolia* (Loddiges) Engler

GU Lihong YANG Benpeng ZHANG Shuzhen YANG Xue

(State Key Biotechnology Laboratory for Tropical Crops/Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, CATAS, Haikou 571101)

Abstract Leaf explants of *Zamioculcas zamiifolia* (Loddiges) Engler were inoculated on MS medium containing 2 mg/L BA (6-benzylaminopurine), 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) 1.0 mg/L, PVP (Polyvinylpyrrolidone) 0.5 mg/L, AC (Active carbon) 0.5 mg/L, 30 g/L Suc for inducing callus. After being cultured in darkness for 25 days, calli were formed. They were then transferred onto the MS medium supplemented with 4 mg/L BA, 0.5 mg/L KT and 30 g/L Suc for inducing clustered buds. The clustered buds were formed after being cultured for 25 days (they were multiplied 3-5 times every 20-25 days of subculture). After cultured on the MS medium containing 0.2 mg/L NAA, 3 mg/L BA and 20 g/L Suc for about 4 weeks, the clustered buds were transferred onto the 1/2 MS medium containing 0.5 mg/L NAA, 2 mg/L BA and 30 g/L Suc for rooting. This cultural system is very useful for commercial proliferation of *Z. zamiifolia*.

Keywords *Zamioculcas zamiifolia* (Loddiges) Engler; tissue culture

金钱树 [*Zamioculcas zamiifolia* (Loddiges) Engler] 原产于热带非洲, 是我国新引进的天南星科 (Araceae) 观赏植物。因其叶片形似国槐, 秋冬远眺犹如个个铜钱挂于枝条之上, 因此得名金钱树; 又因其极耐荫, 故俗称“耐荫王”。金钱树的常规繁殖方法主要为分株繁殖和叶插繁殖。分株繁殖时, 分株系数很低, 每株每年只能分出 2~5 株;

叶插繁殖受叶片数量的限制, 且繁殖速度慢。因此, 建立金钱树组织培养快速繁殖体系, 对金钱树的开发和利用具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料

从金钱树盆栽母株上, 剪取刚抽出不久、尚未

① 收稿日期: 2005-11-16

责任编辑/曾莉娟

<http://rdnk.chinajournal.net.cn/>

E-mail: rdnk@chinajournal.net.cn

② 通信作者。E-mail: y-bp@163.com。单位地址: 海口市龙华区学院路 4 号。

展开复叶的幼嫩叶片。

1.2 方法

1.2.1 愈伤组织的诱导

在超净工作台上,用75%酒精浸泡叶片30s;1g/L升汞(HgCl₂)浸泡10min;无菌水清洗3次;切成1cm²的小块,接种于诱导培养基上(成分见表1);置于26℃,分别在黑暗和光强1200lx、光周期12h/d条件下进行培养。

表1 愈伤组织诱导所用培养基的成分

培养基 编号	基本 成分 / (g·L ⁻¹)	蔗糖	附加成分 / (mg·L ⁻¹)				
			BA	2,4-D	NAA	PVP	AC
S ₁₀	MS	30	2	—	—	—	—
S ₁₁	MS	30	2	—	—	500	500
S ₂₀	MS	30	2	1	—	—	—
S ₂₁	MS	30	2	1	—	500	500
S ₃₀	MS	30	2	2	—	—	—
S ₃₁	MS	30	2	2	—	500	500
S ₄₀	MS	30	2	—	1	—	—
S ₄₁	MS	30	2	—	1	500	500
S ₅₀	MS	30	2	—	2	—	—
S ₅₁	MS	30	2	—	2	500	500

说明: PVP为聚乙烯吡咯烷酮(Polyvinylpyrrolidone); AC为活性炭(Active carbon)。

1.2.2 丛生芽的分化、增殖及成苗培养

将在诱导培养基上形成的愈伤组织转入培养基S₆(MS+BA 4mg/L+KT 0.5mg/L+蔗糖30g/L)中,在27℃,光强1200lx、光周期12h/d和光强1500lx、光周期15h/d的条件下,进行丛生芽增殖;4周后,将增殖芽转入培养基S₇(MS+NAA 0.2mg/L+6-BA 3mg/L)上,进行为期30d的壮苗培养;然后,转入培养基S₈(1/2MS+NAA 0.5mg/L+6-BA 2mg/L)上,于27℃、光强1200lx、光周期12h/d条件下,进行生根培养。

1.2.3 试管苗的移栽

生根的瓶苗于自然光照的室温下炼苗5~7d;打开瓶盖,再放置2~3d;取出小苗,用流水清洗干净;移栽于以下基质中:①m_{河砂}:m_{表土}=2:1;②m_{河砂}:m_{椰糠}=2:1;③m_{河砂}:m_{椰糠}:m_{表土}=2:1:1,比较3种移栽基质对移栽成活率的影响。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导

2.1.1 光照对愈伤组织诱导的影响

在光强1200lx、光周期12h/d的光培养条件下,外植体缓慢变大,且始终为绿色,没有愈伤组织形成;暗培养条件下,嫩叶先变为褐色,变褐后3~5d长出浅黄色的愈伤组织。

2.1.2 PVP和AC对防止愈伤褐化的效果

试验结果发现,培养基附加PVP和AC后,愈伤组织的诱导率均比没有附加的高(见表2)。这说明,PVP和AC可有效地防止金钱树愈伤组织的褐化。

表2 不同培养基对金钱树外植体愈伤组织诱导的影响

培养基 编号	接种数 /片	产生愈伤组织		褐化的愈伤组织	
		数量/块	愈伤率/%	数量/块	褐化率/%
S ₂₁	50	50	100	1	2
S ₂₀	50	48	96	35	70
S ₄₁	50	45	90	3	6
S ₄₀	50	38	76	38	76
S ₅₁	50	28	56	17	34
S ₅₀	50	24	48	46	92
S ₃₁	50	25	50	24	48
S ₃₀	50	23	46	43	86
S ₁₁	50	10	20	30	60
S ₁₀	50	8	16	50	100

2.1.2 愈伤组织的生长

暗培养25d后,陆续有愈伤组织被诱导出来;30d后,所有培养基上都有愈伤组织出现,但愈伤组织诱导率不同。其中S₂₁培养基最早诱导出愈伤组织,只需25d(见图1),且诱导率最高(100%)。培养基S₁₀上,嫩叶颜色变绿,但无增殖迹象,这是因为只有细胞分裂的缘故;培养基S₂₀和S₃₀上,外植体变白,有颗粒状愈伤组织,且叶表皮脱落,继代后颗粒状愈伤组织可分化形成小芽,但芽数很少。40d后,培养基S₃₁上的外植体有白色毛根出现,而S₂₁在50d后才出现白色毛根(见图1),且较S₃₁培养基上的少。将培养基S₂₁和S₃₁上的外植体切根继代在S₆上,发现在S₂₁上诱导形成的芽数(见图2)要比在S₃₁上诱导形成的多。

综合分析诱导出愈伤组织块的天数、质量以及愈伤组织块分化芽的数量,并结合褐化率,确定S₂₁为愈伤组织块诱导的最佳培养基。

2.2 丛生芽的分化、增殖及成苗培养

图1 在 S_{21} 培养基上 25 d 诱导出的愈伤组织块图2 愈伤组织块在 S_6 培养基上分化出的丛生芽

愈伤组织转入培养基 S_6 上, 于 27°C , 光强 1200 lx 、光周期 12 h/d 和光强 1500 lx 、光周期 15 h/d 二种光照条件下培养 30 d 后, 均能分化出丛生芽。但前者的丛生芽块为浅绿色, 后者的为暗绿色。组织解剖发现, 暗绿色的为老化组织, 其分化和增殖能力都较浅绿色的弱, 继代时应切除。因此, 在 27°C 培养温度下, 光强 1200 lx 、光周期 12 h/d 是金钱树丛生芽块增殖的适宜光照方式。

丛生芽块 $20\sim 25\text{ d}$ 继代 1 次, 每次继代增殖 $3\sim 5$ 倍。值得注意的是, 继代时, 丛生芽块不能

分割得太小, 每块直径以 $1.5\sim 2.0\text{ cm}$ 为宜。芽块太小, 容易褐化, 增殖倍数也会减少, 且不利于植株生根。

将丛生芽块上生长较大的单株切割下来, 转入 S_7 培养基上, 进行壮苗培养, 此时芽增殖系数降低, 但植株生长健壮(见图 3); 4 周后, 转入 S_8 生根培养基上再培养 30 d 左右, 即形成根叶俱全的小苗(见图 4), 且生根率达 95% 以上。



图3 单株的壮苗培养



图4 生根的小苗

2.3 植株的移栽

移栽试验结果表明, $m_{\text{河砂}}:m_{\text{椰糠}}:m_{\text{表土}}=2:1:1$ 基质的移栽效果最好。在温度 $22\sim 27^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $85\%\sim 90\%$ 条件下, 根系完 (下转第 32 页)

之间的绝对误差均很小,说明试验结果与预测结果较吻合,所得回归模型科学、合理、可靠,可直接作为实际生产的参考。

参考文献

- 1 方开泰. 均匀设计——数论方法在试验设计的应用. 应用数学学报, 1980, 13(4): 363~372
- 2 方开泰. 均匀设计与均匀设计表. 北京: 科学出版社, 1994. 73~79

- 3 李晓东, 赵善欢. 印楝素对昆虫的毒理作用机制. 华南农业大学学报, 1995, 17(1): 118~122
- 4 彭黎旭, 冯信平, 吴莉宇. 印楝杀虫活性物质的结构分析和分离提取方法. 热带农业科学, 2001(6): 78~83
- 5 赵淑英. 印楝素的萃取、分离、改性及其生物活性研究. [博士学位论文]. 北京: 中国林业科学院, 2004
- 6 国家西部高技术产业化示范工程—印楝复合群落建造及产业化示范工程项目说明书. 2003

(上接第21页)

整、枝干嫩绿的组培苗移栽后成活率可达98%以上,移栽后小苗生长健壮(见图5)。

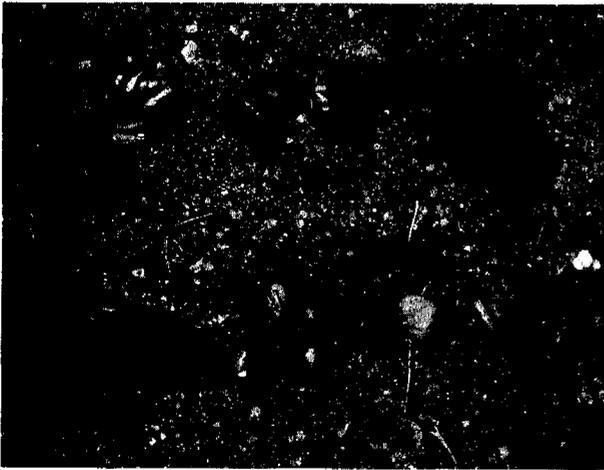


图5 小苗的移栽

3 结论与讨论

以金钱树叶片为外植体,诱导愈伤组织的最适宜培养基是MS+BA 2 mg/L+2,4-D 1 mg/L+PVP 0.5 mg/L+AC 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L。起始培养阶段金钱树的外植体切口处产生的酚类物质被氧化形成醌类物质,对外植体有毒害作用,容易产生褐

变,导致培养失败。在培养基中添加PVP和AC抗氧化剂,并进行避光培养,能够有效减轻外植体的褐化,从而获得较多的愈伤组织。

在继代增殖过程中,在27℃,光强1200 lx、光周期12 h/d的光照条件下,通过BA与KT配合使用,既能保持较高的增殖速度,又有利于保持健壮的长势,组织还不易老化。1/2 MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 2 mg/L培养基最适宜试管苗的生根培养。 $m_{\text{河砂}}:m_{\text{椰糠}}:m_{\text{表土}}=2:1:1$ 的基质的移栽效果最好。本试验所建立的金钱树的组织培养快繁体系,为金钱树的工厂化育苗奠定了一定的基础。

参考文献

- 1 王燕君, 黄子锋. 金钱树繁育与养护. 农业科技通讯, 2005(2): 23
- 2 杨本鹏, 管丽梅. 龙竹的组织培养. 热带作物学报, 2003, 24(3): 82~87
- 3 李永红, 谢利娟, 高俊平. NAA处理提高金钱树叶柄的扦插效果. 北方园艺, 2004(4): 40
- 4 徐忠东, 倪奎. 金钱树组织培养体系的建立及其影响因素的研究. 安徽农学通报, 2004, 10(6): 54
- 5 吕复兵, 朱根发, 廖飞雄, 等. 金钱树的组织培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 2003, 39(1): 35