

对马耳蕨的组织培养与快速繁殖

敖金成, 苏文华, 张光飞*, 姜维

云南大学生态学与地植物学研究所, 昆明 650091

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Polystichum tsus-simense* (Hook.) J. Smith

AO Jin-Cheng, SU Wen-Hua, ZHANG Guang-Fei*, JIANG Wei

Institute of Ecology and Geobotany, Yunnan University, Kunming 650091, China

1 植物名称 对马耳蕨 [*Polystichum tsus-simense* (Hook.) J. Smith], 又称小叶金鸡尾巴草。

2 材料类别 成熟孢子。

3 培养条件 孢子萌发培养基: (1) MS; (2) 1/2MS; (3) 1/4MS。原叶体继代增殖培养基: (4) MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹ (单位下同); (5) 1/2MS+6-BA 0.5; (6) 1/4MS+6-BA 0.5。幼孢子体形成和丛生芽增殖培养基: (7) MS+NAA 0.5; (8) 1/2MS+NAA 0.5; (9) 1/4MS+NAA 0.5。上述培养基均添加 7 g·L⁻¹ 的琼脂, 培养基(1)~(3)中不加糖, 培养基(4)~(9)中添加 2.0% 的蔗糖, pH 5.8。日光灯光源, 光照强度 20~30 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间 14 h·d⁻¹; 培养温度(25±2) °C。

4 生长与分化情况

4.1 无菌材料的获得 将完整无病虫害的带有成熟孢子的孢子叶(图1)采下装入硫酸纸袋中, 放置通风干燥处约 1 周, 然后将自然脱落的孢子去杂备用。取成熟的孢子 2 mg 置于离心管内, 加入 5% NaClO 水溶液 1.5 mL, 3 500 r·min⁻¹ 离心 8 min, 弃去上清液, 加入无菌水离心冲洗 4~5 次。然后将孢子依次接种到无糖培养基(1)~(3)上培养(图 2)。



图1 对马耳蕨成熟孢子

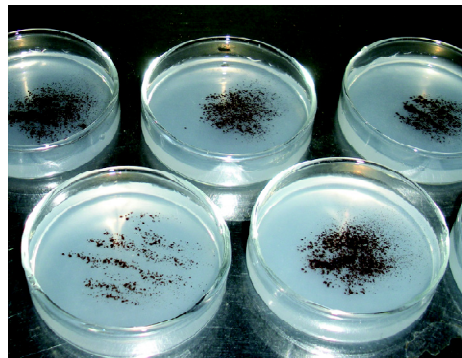


图2 对马耳蕨孢子萌发

4.2 孢子萌发 孢子接种后第 5 天可见孢子材料变绿, 显微镜观察结果表明孢子已经萌发, 有 8% 左右的已处于 2~3 个细胞的丝状体阶段, 说明 4~5 d 时对马耳蕨孢子就开始萌发。其中培养基(2)的萌发率较高, 约占 90% 以上。再经过 45~50 d, 形成绿色的心型原叶体(图 3)。



图3 对马耳蕨原叶体

收稿 2010-03-04 修定 2010-04-02

资助 国家自然科学基金项目(30760043)。

* 通讯作者(E-mail: gfzhang@ynu.edu.cn; Tel: 0871-5033535)。

4.3 原叶体的增殖 将孢子萌发形成的原叶体接种到原叶体增殖培养基(4)~(6)上,发现培养基(4)上原叶体增殖速度最快(图4), (5)、(6)次之,表明以全量的MS培养基作为对马耳蕨的原叶体增殖培养基较为适宜。这与郭治友等(2009)对海金沙的研究结果一致。培养50 d后可增殖3~4倍,并有极少量幼孢子体形成。

4.4 幼孢子体的形成和增殖 由原叶体向孢子体植株的转变,是对马耳蕨组织培养的关键时期。将原叶体接种在培养基(7)~(9)上,25 d后,培养基上均出现幼孢子体,以培养基(8)上的幼孢子体最多。为了便于受精,须保持培养基表面有少许水,否则幼孢子体植株很难在培养瓶内直接产生。培养30 d后可生根(图5),以培养基(8)上每丛生根数最多,为4~6根。说明对马耳蕨幼孢子体的形成并不需要专门的生根培养基。通过分株方式将孢子体进行扩增繁殖,可以得到大量的无菌壮苗(图6)。

4.5 移栽 当培养瓶中绝大部分幼孢子体长到2~3 cm高、根系长1~2 cm时进行分株移栽,2 cm以下转到新的培养瓶中继续培养。基质采用草炭和

腐殖土(1:1)(图7)。移栽后浇足定根水,并盖塑料膜保湿,保持环境温度在25℃左右。炼苗3~4周后可再分株上盆种植。移栽成活率可达90%以上。

5 意义与进展 对马耳蕨为鳞毛蕨科耳蕨属植物,主要分布于长江以南各省区,越南、朝鲜南部和日本也有分布,生于海拔1900~2500 m的半湿润常绿阔叶林下(成晓等2005)。对马耳蕨具有较高的经济价值。其形态优美,耐阴常绿,是室内理想的盆栽观赏植物;其叶片黄酮含量较高(宋磊等2008),是一种很好的药用植物。有关对马耳蕨的研究甚少,其组织培养和快速繁殖在国内外尚未见报道,本研究的开展对对马耳蕨的保护和利用有一定的参考价值。

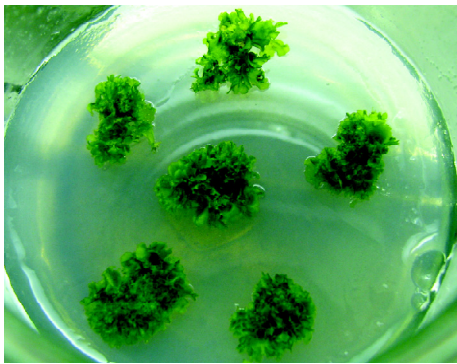


图4 增殖后的对马耳蕨原叶体

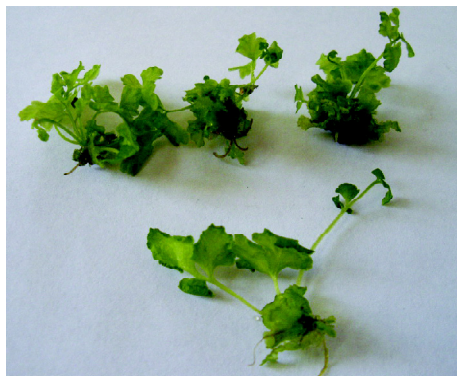


图5 对马耳蕨的生根培养



图6 对马耳蕨丛生芽壮苗



图7 对马耳蕨幼孢子体的移栽

参考文献

- 成晓, 武素功, 陆树刚(2005). 云南植物志(第二十一卷). 北京: 科学出版社, 128~129
- 郭治友, 钱绍方, 罗应(2009). 海金沙的组织培养和植株再生. 植物生理学通讯, 45 (10): 1005~1006
- 宋磊, 过晓艳, 吴世福, 李新国(2008). 7种鳞毛蕨科药用蕨类植物中黄酮类化合物的颜色鉴定和含量分析. 江苏农业科学, (4): 221~224