

大半边旗孢子的组织培养

陆碧云, 王任翔*

广西师范大学生命科学学院, 广西桂林 541004

Tissue Culture of Spores of *Pteris dissitifolia* Bak.

LU Bi-Yun, WANG Ren-Xiang*

College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi 541004, China

1 植物名称 大半边旗(*Pteris dissitifolia* Bak.), 又名疏羽半边旗。

2 材料类别 成熟孢子。

3 培养条件 (1)孢子萌发培养基: 1/2MS大量元素+10 g·L⁻¹蔗糖; (2)原叶体增殖培养基: 1/2MS大量元素+NAA 0.5 mg·L⁻¹(单位下同)+6-BA 0.5+30 g·L⁻¹蔗糖; (3)愈伤组织诱导培养基: 1/2MS+2,4-D 1+6-BA 0.5+10 g·L⁻¹蔗糖; (4)孢子体诱导培养基: 1/2MS大量元素+GA₃ 0.1+30 g·L⁻¹蔗糖。所用培养基均添加7 g·L⁻¹琼脂, pH 6.5。培养温度为(25±2)℃, 日光灯光源, 光照强度为30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间为12 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 无菌材料的获得 取孢子用滤纸包成2 cm×2 cm大小, 置于无菌水泡2 h后放入75%酒精中30 s, 用无菌水洗1遍, 用5% NaClO溶液浸泡15 min, 再用无菌水冲洗3遍, 然后接种到培养基(1)上。

4.2 孢子萌发及发育 接种7 d取培养基(1)中材料制临时装片在显微镜下观察到孢子开始萌发, 11 d左右长成2~3个细胞的丝状体, 15 d左右开始出现片状体; 丝状体和片状体均有分支的现象。20 d左右把肉眼可看到的片状体一部分转移到培养基(2)中。

4.3 原叶体增殖和愈伤组织的诱导 在培养基(1)中接种后8周左右出现成熟原叶体, 成熟原叶体上有许多精子器和颈卵器形成。成熟原叶体在培养基(1)上继续生长, 并增殖成绣球状的绿色体原叶体(图1), 4个月也没有孢子体产生, 有些原叶体在基部形成淡黄色的愈伤组织。从培养基(1)中转移到培养基(2)的片状体最后也发育成绣球状的绿色原叶体。原叶体在外观看和培养(1)中发育的原叶体几乎无差别, 但镜检只有极少数的精子器和颈卵器形成。培养4个月也没发现有孢子体或愈伤

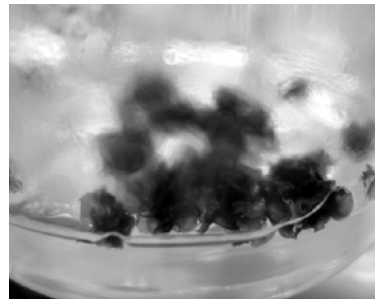


图1 大半边旗孢子萌发后增殖的绿色原叶体

组织产生。将培养基(1)中成熟的绿色原叶体切割并接种到培养基(3), 4周左右原叶体碎块逐渐变成黄绿色的愈伤组织(图2)。

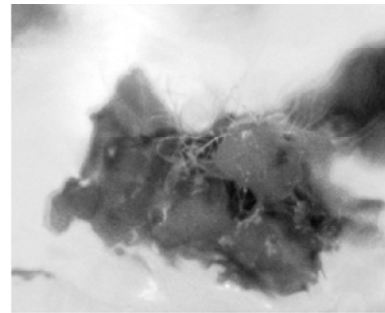


图2 大半边旗的愈伤组织

4.4 孢子体的诱导 将培养基(3)中形成的愈伤组织切割成小块接种到培养基(4)上, 约7 d即可看到每小块陆续有3~5个孢子体长出(图3)。

4.5 移栽 培养瓶里的孢子体长到4 cm左右高和根系长到3 cm左右长时, 打开瓶盖加入少许水, 2 d后取出苗, 洗净根上的琼脂, 移入事先喷洒过0.2%

收稿 2008-04-25 修定 2008-05-19

资助 广西师范大学博士启动基金和人才引进基金。

* 通讯作者(E-mail: wrx05@126.com; Tel: 0773-2122116)。



图3 大半边旗愈伤组织诱导的孢子体

农药达克宁的腐殖土:珍珠岩:园土(2:1:1)的苗床中, 浇透水, 适当遮荫保湿度。成活率可以达到70%以上。

5 意义与进展 大半边旗隶属凤尾蕨科凤尾蕨属, 产于云南南部、广东、海南等地。植株高1~1.5 m, 叶簇生, 羽状复叶, 叶柄栗色至深棕色, 叶面翠绿色, 叶形特别, 和许多凤尾蕨科植物一样, 姿态非常优美, 极显素雅, 为园林绿化优良品种; 其叶片亦可作插花用, 具有较高商业开发潜质。此外, 大半边旗还具有药用价值, 具有生肌、止血、止痢等功效, 用于外伤出血和防治痢疾等。尤其近年从凤尾蕨属半边旗(*P. semipinnata* L.)中发现高效低毒二

萜类化合物的抗肿瘤成分(李金华等1999), 更加引人注目。萜类成分在凤尾蕨科植物中普遍存在, 经粗略统计, 自20世纪中后期开始, 先后从本科近20种植物中分离得到了包括倍半萜和二萜在内的近百种萜类成分(秦波和朱大元2004)。按照“亲缘关系靠近的植物具有相似的化学成分”开发药用植物资源的原则, 研究大半边旗似乎有一定的意义。蕨类植物常用营养器官进行组织培养(彭晓明和曾宋君2004; 曾宋君等2005)或用孢子组织培养(罗顺元和王任翔2007)。但用大半边旗孢子进行组织培养获得原叶体愈伤组织再诱导孢子体的报道未见。

参考文献

- 李金华, 梁念慈, 莫丽儿, 何承伟, 张晓(1999). 半边旗中二萜类化合物6F对肝癌细胞SPC-A-1细胞周期及细胞DNA、RNA和蛋白质合成的影响. 中国药理学通报, 15 (1): 49~51
- 罗顺元, 王任翔(2007). 假鞭叶铁线蕨孢子的组织培养. 植物生理学通讯, 43 (1): 131
- 彭晓明, 曾宋君(2004). 铁线蕨的组织培养及植株再生. 植物生理学通讯, 40 (5): 575
- 秦波, 朱大元(2004). 凤尾蕨科植物中倍半萜类成分的研究进展. 化学研究, 15 (2): 72~76
- 曾宋君, 陈之林, 段俊(2005). 楔叶铁线蕨的离体快繁. 植物生理学通讯, 41 (4): 499