

假鞭叶铁线蕨孢子的组织培养

罗顺元, 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 *Adiantum malesianum* Ghatak

LUO Shun-Yuan, WANG Ren-Xiang*

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

1 植物名称 假鞭叶铁线蕨 (*Adiantum malesianum* Ghatak)。

2 材料类别 成熟孢子。

3 培养条件 孢子萌发培养基: 1/2MS+30 g·L⁻¹蔗糖。原叶体增殖培养基: (1) 1/2MS+30 g·L⁻¹蔗糖; (2) MS+30 g·L⁻¹蔗糖; (3) 1/4MS+30 g·L⁻¹蔗糖; (4) 1/8MS+30 g·L⁻¹蔗糖; (5) MS; (6) MS+10 g·L⁻¹蔗糖; (7) MS+60 g·L⁻¹蔗糖; (8) MS+100 g·L⁻¹蔗糖; (9) MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹ (单位下同); (10) MS+6-BA 2; (11) MS+6-BA 6; (12) MS+NAA 0.5; (13) MS+NAA 2; (14) MS+NAA 6; (15) MS+6-BA 2+NAA 2。所用培养基均添加 7 g·L⁻¹琼脂, pH 6.0。培养温度为(25±2) °C, 日光灯光源, 光照强度为 30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间 12 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 无菌材料的获得 将假鞭叶铁线蕨叶顶端的孢子刮下, 收集在白纸上, 除去杂质。把孢子用滤纸包好, 蒸馏水浸泡 2 h, 75% 酒精灭菌 30 s, 无菌水漂洗 1 次, 再用 5% NaClO 溶液消毒 15 min, 无菌水漂洗 3 次(每次十几秒钟)。然后将消毒过的孢子接种于孢子萌发培养基上。

4.2 孢子萌发 6 d 左右, 培养基上可见到零星的绿色小点, 显微镜检验结果为孢子萌发。50 d 左右可见原叶体形成。假鞭叶铁线蕨的配子体在孢子萌发培养基上生长良好, 到原叶体阶段后, 原叶体彼此相联, 簇状, 几乎没有单个原叶体。

4.3 原叶体的增殖 将原叶体接种到原叶体增殖培养基(1)~(4)上, 发现随着盐浓度的降低, 原叶体长势依次变弱, 其中以(2)最好。说明 MS 大量元素对原叶体的增殖有影响, 增殖培养基应以全量 MS 大量元素为宜。在此基础上, 再测试蔗糖和

生长调节物质的影响。在培养基(2)、(5)、(6)、(7)、(8)上, 以(6)增殖速度最快, 长势最好, 60 d 后可增殖 80 多倍; 培养基(5)上生长缓慢; 培养基(2)、(7)、(8)上长势依次变差, 其中(8)上停止生长。说明适宜的蔗糖浓度可极大地促进增殖, 过高或过低都不利于生长。在培养基(9)~(15)上, 原叶体的生长与(5)相比没有显著的优势, 说明在蔗糖缺失的情况下, 生长调节物质对假鞭叶铁线蕨原叶体的增殖影响不大。综上所述, 影响增殖最主要的因素是合适的炭氮浓度比, 最合适的原叶体增殖培养基是(6)。

4.4 孢子体的诱导

4.4.1 组织培养无菌诱导 将原叶体接种于培养基(1)~(15)上, 5 个月后培养基干涸, 原叶体长满整个培养基表面, 所有培养基上均无孢子体长出。说明假鞭叶铁线蕨的配子体在试管内很难诱导出孢子体, 或者说明假鞭叶铁线蕨孢子体的形成与上述因素无关。

4.4.2 常规诱导 取玻璃培养皿, 内装河沙, 加河水润湿到倾斜能有水流出状态。取原叶体, 蒸馏水洗掉培养基后置于培养皿内, 加盖, 放于培养箱内培养。1 个月内就能见到幼孢子体长出, 诱导率相当高, 达 90% 以上, 几乎每一个原叶体都能长出 1 个幼孢子体。

4.5 移栽 培养皿内所有原叶体几乎都长出孢子体时, 打开培养皿盖, 炼苗, 注意加水保持沙盘湿润。幼苗长到 3~4 cm 高, 根系 2~3 cm 长时,

收稿 2006-10-30 修定 2007-01-15

*通讯作者(E-mail: WRX05@126.com; Tel: 0773-5846391)。

移栽入由稻田土和河沙(1:1)混合成的基质中,注意洒水、遮荫、保温,成活率可达90%以上。

5 意义与进展 假鞭叶铁线蕨属于铁线蕨科铁线蕨属,分布于广东、海南、广西、湖南和贵州等地,缅甸、越南、泰国和印度等国也有分布。蕨类植物以奇特的叶形、叶姿和青翠碧绿的色彩,在园林中显示出令人赏心悦目的景观。铁线蕨属中的大部分种都具有较高的观赏价值,如著名的铁线蕨、楔叶铁线蕨等;它们的组织培养和快速繁殖研究已有报道(彭晓明和曾宋君2004;曾

宋君等2005)。假鞭叶铁线蕨造型优美,具有很高的商业观赏潜质。本文用组织培养手段得到的结果,对未来假鞭叶铁线蕨的商业化生产应用可能有一定的参考价值。假鞭叶铁线蕨的组织培养未见报道。

参考文献

- 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
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