

## 植物组织培养简报 Brief Communications of Plant Tissue Culture

## 藓羽藻的组织培养和快速繁殖

叶乃好 王发左 王广策\* 曾呈奎

中国科学院海洋研究所实验海洋生物学重点实验室, 青岛 266071

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Bryopsis hypnoides*

YE Nai-Hao, WANG Fa-Zuo, WANG Guang-Ce\*, ZENG Cheng-Kui

Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071

**1 植物名称** 藓羽藻 (*Bryopsis hypnoides*)。**2 材料类别** 叶状体片段。**3 培养条件** 培养基均为高压灭菌的天然海水, 内含  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NaNO}_3$  和  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NH}_3\text{H}_2\text{PO}_4$ 。诱导分化的条件为: 温度  $18^\circ\text{C}$ , 光照度  $15 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 光照时间  $12 \text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。移植后的培养条件为: 温度  $18^\circ\text{C}$ , 光照强度  $20\sim 50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 光照时间  $8 \text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。**4 生长与分化情况****4.1 无菌材料的获得** 选择完整、生物量大、洁净的藓羽藻新鲜个体, 解剖镜下去除表面杂藻, 用无菌海水冲洗 10 min 后再以  $0.3\% \text{ KMnO}_4$  (以无菌海水为溶剂) 浸泡 5 min, 最后以无菌海水冲洗 5 次。在超净工作台上用  $75\%$  的酒精迅速冲洗 1 遍, 立即转入  $0.05\% \text{ HgCl}_2$  (以无菌海水为溶剂) 消毒 8 min, 后以无菌海水冲洗 6 次。将叶状体剪成  $3\sim 4 \text{ mm}$  的片段后, 置入含有培养基的培养皿中, 培养基厚度为  $2 \text{ mm}$ 。然后把培养皿放入光照培养箱中培养。8 h 后, 片段两端完全愈合; 4 d 后, 片段两端分别长出新的叶状体和少许假根。4 d 后每天更换新的培养基, 培养基厚度每天增加  $2 \text{ mm}$ 。**4.2 移植培养** 叶状体片段的存活率为  $100\%$ 。10 d 后, 假根大量产生, 并开始萌发出大量新的叶状体。将培养皿放入大的培养缸 ( $r=20 \text{ mm}$ ,  $h=40 \text{ mm}$ ) 中进行通气培养 (图 1), 光照度逐渐增强至  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (每天增大  $5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )。培养基每天更换 1 次。**5 意义与进展** 藓羽藻属羽藻科羽藻属, 是多核单细胞的大型绿藻。目前人们以其为材料进行着许多有重要意义的研究, 如: (1) 原生质体的再生过程, (2) 细胞膜、细胞壁和细胞骨架的再生机制和过程, (3) 次生代谢活性物质的提取与鉴定。野生藓羽藻的季节性非常强, 温度太高或太低都不能存活。渤海沿岸只有  $8\sim 11$  月份才能采集到野生的藓羽藻。组织培养可以快繁, 在实验室条件下常年可以拥有一定生物量的植物材料, 以满足实验和生产需要。藓羽藻的组培快繁尚未见报道。

图1 培养缸中的再生藓羽藻

收稿 2004-04-16 修定 2004-07-22

资助 自然科学基金(30170499、40476059、30250003、39890390)、中国科学院海洋研究所知识创新工程(2002-2005)、中国科学院知识创新方向性项目(KZCX2-211)、“863”计划(2004AA60322)。

\* 通讯作者(E-mail: gchwang@ms.qdio.ac.cn, Tel: 0532-2898574)。