

## 多齿蹄盖蕨孢子的离体培养

王新华\* 赵恒田

中国科学院东北地理与农业生态研究所, 哈尔滨 150040

### *In vitro* Culture of Spores of *Athyrium multidentatum*

WANG Xin-Hua\*, ZHAO Heng-Tian

Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150040

**1 植物名称** 多齿蹄盖蕨(*Athyrium multidentatum*)别名猴腿儿、猴腿菜、紫茎菜、猴腿蹄盖蕨。

**2 材料类别** 成熟的多齿蹄盖蕨孢子。

**3 培养条件** (1)播种培养基: 1/2MS+6-BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>(单位下同)+NAA 0.1+0~3 g·L<sup>-1</sup> 活性炭 (2)原叶体增殖培养基: 1/2MS+6-BA 0.5+NAA 0.1~0.5; (3)孢子体诱导培养基: 1/2MS+GA<sub>3</sub> 10~20+NAA 0.1~0.5; (4)孢子体继代培养基: 1/2MS+NAA 0.1~1; (5)生根培养基 1/2MS+NAA 0~0.5。以上培养基均附加3%蔗糖、0.65%琼脂, pH 5.5~5.8。培养温度20~28℃, 光照时间8~10 h·d<sup>-1</sup>, 光照度1 500~2 000 lx。

#### 4 生长与分化情况

**4.1 无菌材料的获得** 将成熟的孢子包在滤纸内, 用70%酒精浸泡30 s, 无菌水冲洗3~5次, 再用0.1%升汞液消毒5 min, 无菌水冲洗3~5次, 备用。

**4.2 孢子接种及原叶体生长** 将无菌的孢子分散于适量无菌水中, 用滴管吸取孢子水溶液, 将孢子溶液滴在培养基(1)上。每次吸孢子溶液时要先将溶液混合均匀, 每瓶滴3~5滴。20~30 d后, 在培养基上可见绿色小点, 表明孢子已经萌发。20 d左右可见心形原叶体。在加入活性炭的培养基中, 孢子萌发及原叶体生长速度比不含碳的培养基上生长的快, 且长势好, 颜色浓绿。

**4.3 原叶体增殖与继代培养** 孢子萌发后1个月, 可进行继代培养。将原叶体移到培养基(2)上, 即可得到大量的配子体, 30 d可增殖15~20倍。

**4.4 孢子体诱导与增殖** 原叶体叶片长到3 mm左右时, 将其转移到培养基(3)上培养, 20 d后可见有孢子体形成。为了得到更多的孢子体, 可将其转移到培养基(4)上进行继代培养, 每株孢子体均可大量增殖。未分化的原叶体可继续在培养基(3)上

培养, 一段时间后仍可形成孢子体。在孢子体诱导过程中, 要注意经常向培养基中喷水, 可以促进孢子体形成。

**4.5 生根培养与移栽** 将孢子体转移到培养基(5)上, 30 d左右即可见有根长出, 生根率可达90%以上。待孢子体长到3 cm左右、根长到2 cm左右时, 即可将其移到栽培基质中进行驯化。移栽时将试管苗根部培养基洗净, 移植到经高温消毒的松针土和细沙混合(1:1)的基质上, 覆上薄膜保湿, 湿度保持在90%以上, 放到荫凉处。10 d后可去掉薄膜, 但仍要遮荫保湿, 不可放在强光下。移栽成活率可达90%左右。

**5 意义与进展** 多齿蹄盖蕨属蕨类, 蹄盖蕨科蹄盖蕨属低等植物。生长于海拔300~400 m的针阔混交林中较潮湿的林下、林缘及草地上。我国东北、华北等地广有分布。拳状嫩叶可食, 5~6月间采集没有展开的叶和幼茎, 其营养成分十分丰富, 且具有保健功能, 产品可加工成盐渍、干制品等, 是深受人们喜爱的绿色保健食品, 同时也是出口创汇的主要野生蔬菜之一。近年来, 由于过度采集, 资源遭到破坏, 产量锐减, 传统的根茎繁殖方法繁殖系数低、不便运输, 且挖掘根茎, 地表植被破坏, 造成水土流失。采用孢子培养方法既不破坏资源, 又利于其大量繁殖, 为保护种质资源和大规模栽培利用提供了一条可能的途径。多齿蹄盖蕨孢子的组织培养尚未见报道。

收稿 2003-07-24 修定 2003-10-08

资助 黑龙江省自然科学基金项目(C0223)和黑龙江省科技攻关计划项目(GB03B304)。

\* E-mail: xhwangs@163.com, xhwangs@hotmail.com;

Tel: 0451-86603753