

华南鳞盖蕨组织培养与假植技术研究

郭文杰, 蔡宣梅, 方少忠, 林真, 鲁雪华

(福建省农业科学院生物技术研究所, 福州 350003)

摘要: 试验进行了华南鳞盖蕨孢子果的萌发试验, 并利用幼嫩茎段进行诱导愈伤组织; 愈伤组织的诱导与增殖培养基为MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.2 mg/L; 其芽分化最佳激素组合为MS+6-BA 0.4 mg/L; 生根培养中MS基本培养基比1/2MS效果好, MS基本培养基不论附加生长素IBA、NAA或IBA+NAA, 均能有效地诱导植株生根, 生根率高; 假植以珍珠岩和泥炭土的混合物为基质效果优于珍珠岩、菜园土和河沙, 具有通气、保水、营养等优点, 假植成活率高, 苗势健壮。

关键词: 华南鳞盖蕨; 组织培养; 假植技术

中图分类号: S604.3; S644.1 **文献标识码:** A

Studies on Tissue Culture and Primary Nursery Transplanting of *Cephalotaxus*

Guo Wenjie, Cai Xuanmei, Fang Shaozhong, Lin Zhen, Lu Xuehua

(Biotechnology Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003)

Abstract: The germination test of Sporocarps of *Microlepia hancei prantl* had been done, the callus can be induced from the delicate stem of *Microlepia hancei prantl*. The inducement and proliferation medium of callus was MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.2 mg/L. The optimal combination of hormones of buds differentiation was MS+6-BA 0.4 mg/L. The effect of MS medium in radication culture was better than 1/2MS, the roots of plants were all efficiently induced in MS medium without reference to adding IBA, NAA or IBA+NAA, the rate of radication was high. The effect of seedling cultured in the mixture of perlite and turf soil was better than perlite, garden soil and river sands. The mixture of perlite and turf soil has the excellences such as ventilate, water conservation, nourishment and so on. The survival rate was higher and seedling substance was also hale.

Key words: *Cephalotaxus*, Tissue culture, Primary nursery transplanting

华南鳞盖蕨 (*Microlepia hancei prantl*), 又名鳞盖蕨、凤尾千金草(广西), 系蕨类植物碗蕨科鳞盖蕨属的一种多年生常绿药用蕨类植物, 分布在福建、台湾、广东、广西^[1], 一般生长在海拔 600 m 以下的酸性土壤上。华南鳞盖蕨含蕨素 A、F、K、V, 全草可药用, 性味微苦、寒, 去湿热; 民间多用于治疗黄疸型肝炎等。由于野生资源日益减少, 且国内对华南鳞盖蕨的研究还很少, 笔者进行了华南鳞盖蕨组织培养与试管苗假植技术研究试验, 并获得成功, 对发展药用蕨类植物生产, 保护野生资源和生态环境有重要意义。

1 材料与方法

1.1 孢子果萌发试验

将露地种植的华南鳞盖蕨叶片背面的孢子果小心

收集集中在滤纸上包成 1 小包, 用自来水冲洗数遍, 再把整个小包放在 75% 酒精中消毒 10 s, 用 0.1% HgCl₂ 溶液浸泡 10 min, 无菌水冲洗数遍, 打开滤纸, 将滤纸上的孢子果小心刮取下移到 MS₀ 培养基上, 放在温室内培养。

1.2 试验步骤

将华南鳞盖蕨幼嫩茎段用自来水冲洗后用洗衣粉水浸泡 3 min, 再用蒸馏水冲洗 10 min。在超净工作台上用酒精消毒 20 s, 0.1% HgCl₂ 消毒 15 min, 再用无菌水冲洗数次。无菌滤纸吸干表面水分后, 剥取茎尖接种在诱导培养基上。将诱导的愈伤组织切成小块转入分化培养基中。将诱导出的小苗接入增殖培养基, 待苗高 2 cm 左右时接入生根培养基中进行生根培养, 待根长

基金项目: 福建省科技厅重点项目“一种替代三尖杉的草本植物的组织培养和药用成分分析研究(2002 Y024-2)。

第一作者简介: 郭文杰男, 1973 年生, 助理研究员, 主要从事植物组织培养研究。通信地址: 350003 福建省福州市五四路 247 号 福建省农科院生物技术研究所, Tel: 0591-87881983, E-mail: gwj73@sina.com。

收稿日期: 2006-10-30, 修回日期: 2006-11-09。

到3~4 cm时,茎高4~5 cm左右时,洗净琼脂进行假植。

1.3 培养

基本培养基用MS,附加不同种类和浓度的激素,3%的白砂糖和0.8%琼脂,pH 5.8。材料放在室温(25℃左右),光强1200-1500 lx左右条件下,每天光照10h。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对华南鳞盖蕨愈伤组织的诱导效果

华南鳞盖蕨的孢子果接种在不添加任何激素的MS₀培养基上,放在温室内培养,30 d后孢子果萌动,有绿色小点出现,60 d左右可观察到有绿色小芽丛出现,但生长极其缓慢,只有在转入诱导愈伤组织培养基上,芽丛才能加速生长。将幼嫩茎段接种在不同诱导培养基上,经25~30 d培养后,愈伤组织的诱导效果有所不同(见表1)。试验结果看出,MS+6-BA 2

表1 不同培养基对华南鳞盖蕨愈伤组织的诱导效果比较

培养基 (mg/L)	接种茎段 (条)	诱导愈伤组织 (块)	诱导率 (%)
6-BA1+NAA0.1	52	37	71.2
6-BA2+NAA0.2	40	40	100.0
6-BA5+NAA0.5	20	7	35.0
6-BA2+NAA0.2+2.4D0.5	40	35	87.5
6-BA3+NAA0.3	25	17	68.0

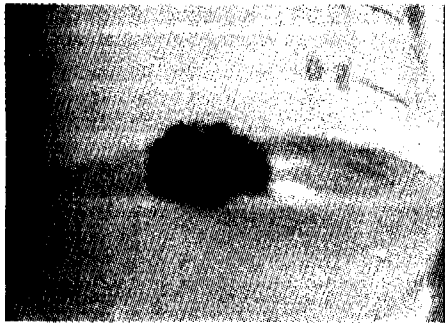


图1 愈伤组织

分化诱导率其次为87.9%;MS+6-BA0.1 mg/L芽的分化诱导率最低为71.4%。说明MS+6-BA 0.4 mg/L和MS+KT 0.5 mg/L两种培养基诱导率高,较适合华南鳞盖蕨芽的分化,且生长的苗叶色正常(如图2所示)。

表2 不同培养基对华南鳞盖蕨芽分化的影响

培养基 (mg/L)	接种愈伤数 (块)	芽丛数 (个)	诱导率 (%)
6-BA0.4+KT0.1	40	31	77.5
6-BA0.4	33	30	90.9
6-BA0.1	28	20	71.4
KT0.5	33	29	87.9
KT0.1+6-BA0.1	32	27	84.4

2.4 不同生根培养基对华南鳞盖蕨生根率的影响

在MS+6-BA 0.4 mg/L分化培养基上,将已分化的华南鳞盖蕨芽丛切割分株接种到生根培养基上,一个月左右,可看到华南鳞盖蕨芽丛基部长出深褐色的

mg/L+NAA0.2 mg/L诱导愈伤组织效果最好,愈伤组织诱导率达100.0%;MS+6-BA2 mg/L+NAA0.2 mg/L+2.4 D 0.5 mg/L诱导愈伤组织效果其次,愈伤组织诱导率达87.5%;MS+6-BA5 mg/L+NAA0.5 mg/L诱导愈伤组织效果最差,只有35.0%,这可能是高浓度激素反而引起抑制作用。

2.2 华南鳞盖蕨愈伤组织继代培养效果

在MS+6-BA2 mg/L+NAA0.2 mg/L培养基上培养的华南鳞盖蕨愈伤组织,转接到筛选出的MS+BA 2 mg/L+NAA 0.2 mg/L的培养基上进行继代培养,经30 d左右愈伤组织可增殖6~8倍,但没有芽的分化,这样每隔30 d左右就可扩大繁殖一次,且增殖倍数较高。图1所示是增殖的愈伤组织块。

2.3 不同分化培养基对华南鳞盖蕨芽分化的影响

华南鳞盖蕨愈伤组织在继代培养基上可不断增殖,且增殖倍数高,但没有芽的分化,只有转入分化培养基上,40 d左右有芽丛出现。

由表2可看出,各培养基都能进行华南鳞盖蕨芽的分化,苗的生长叶色也正常。但不同培养基对华南鳞盖蕨芽分化的影响有所不同,其中MS+6-BA 0.4 mg/L芽的分化诱导率最高达90.9%;MS+KT 0.5 mg/L芽的



图2 分化培养基上芽的分化

根,随着时间的推移,根越长越多,呈须根状,且上半部分也长出枝叶,形成完整的植株(如图3所示)。从表3还可以看出,各培养基都能进行根的分化,根的生长也正常。但不同培养基对华南鳞盖蕨生根率的影响有所不同,其中MS基本培养基比1/2MS效果好,MS基本培养基生根率都在96%以上,而1/2MS基本培养基生根率只有77.1%以下。在MS基本培养基附加生长素IBA、NAA或IBA+NAA,均能诱导华南鳞盖蕨植株生根,且生根率差别不大。说明诱导华南鳞盖蕨植株生根,采用MS基本培养基不论附加生长素IBA、NAA或IBA+NAA,均能有效地诱导植株生根,生根率高。

2.5 不同基质对试管苗成活率的影响

在华南鳞盖蕨试管苗假植炼苗过程,不同基质对试管苗的成活率及苗的质量具有很大的影响,从表4

可看出,华南鳞盖蕨试管苗假植炼苗的基质,采用珍珠岩和泥炭土的混合物,其幼苗30d成活率最高达92.2%、苗均增高最多达1.85 cm、苗健壮、色绿质量好。这可能与珍珠岩和泥炭土的混合物的通透性、保湿性好有关,有利于促进植株根系生长,对炼苗初期提高成活率作用甚佳。而河沙作为试管苗假植炼苗的基质,虽然通气也好,但是保水保肥能力差,导致幼苗30d成活率低只有70.2%、苗均增高最少只有1.02 cm、苗小

表 3 不同培养基对华南鳞盖蕨生根率的影响

培养基 (mg/L)	接种数 (株)	生根数 (株)	诱导率 (%)
1/2MS+NAA0.5	154	104	67.5
1/2MS+IBA1.0	140	108	77.1
MS+IBA1.0	168	162	96.4
MS+NAA0.5	124	120	96.8
MS+IBA0.5+NAA0.5	130	126	96.9



图 3 华南鳞盖蕨完整植株

苗弱,生长状况较差。说明采用珍珠岩和泥炭土的混合物作为华南鳞盖蕨试管苗假植炼苗的基质,有利提高幼苗的成活率及苗的质量。

2.6 不同季节对试管苗假植炼苗成活率的影响

表 4 不同基质对试管苗成活率的影响

处理	15d		30d		生长情况
	成活率 (%)	苗均增高 (cm)	成活率 (%)	苗均增高 (cm)	
珍珠岩	88.9	0.87	82.4	1.41	苗弱, 叶黄
珍珠岩+泥炭土 (1:1)	94.5	1.05	92.2	1.85	苗健壮、色绿
河沙	79.6	0.52	70.2	1.02	苗弱
菜园土	82.2	0.67	78.8	1.53	苗弱

表 5 不同季节对试管苗成活率的影响

季节	10-12 月	1-3 月	4-5 月
成活率 (%)	93.7	74.0	93.9

通透性、保湿性好,又有充足的营养有关,有利于促进植株根系生长,对炼苗初期提高成活率作用甚佳。这与参考文献^[4]的研究结果相同。

3.5 此项研究结果对探讨野生药用蕨类植物的人工驯化栽培和组织培养快速繁殖均有一定的参考价值。华南鳞盖蕨的组织培养尚未见报道。

在华南鳞盖蕨试管苗假植炼苗过程中,外界的气温对试管苗成活率的影响甚大。从表5可看出,华南鳞盖蕨试管苗假植炼苗安排在4-5月份和10-12月份,幼苗成活率高,分别为93.9%和93.7%。而1-3月份假植炼苗幼苗成活率低,只有74.0%。这可能与气温低,湿度小有关。说明气温在18℃~23℃最适宜华南鳞盖蕨试管苗假植炼苗,高于30℃或低于15℃都不利于假植炼苗。所以福建省全年中最适合华南鳞盖蕨假植炼苗的季节,上半年应选4-5月份,下半年应选10-12月份为好。

3 讨论

3.1 此次试验认为最适宜华南鳞盖蕨诱导愈伤的激素组合为MS+6-BA 2mg/L+NAA 0.2mg/L,若提高6-BA和NAA的浓度,愈伤组织的诱导率反而下降,这可能是高浓度激素反而引起抑制作用^[23]。

3.2 此次试验进行几种分化培养基都能进行华南鳞盖蕨芽的分化。但不同培养基对华南鳞盖蕨芽分化的影响有所不同,其中最佳激素组合为MS+6-BA 0.4 mg/L,该组合诱导率高,较适合华南鳞盖蕨芽的分化,且生长的苗叶色正常。

3.3 不同培养基对华南鳞盖蕨生根率的影响有所不同,其中MS基本培养基比1/2MS效果好,诱导华南鳞盖蕨植株生根,采用MS基本培养基不论附加生长素IBA、NAA或IBA+NAA,均能有效地诱导植株生根,生根率高。

3.4 假植基质对试管苗成活率及质量有很大的影响,此次试验以珍珠岩和泥炭土的混合物为基质,效果优于珍珠岩、菜园土或河沙,珍珠岩和泥炭土的混合物的

参考文献

[1] 秦仁昌编.中国植物志.北京:科学出版社,1959:236.
[2] 鲁雪华,徐立晖,郭文杰,等.卡特丽亚兰的组织培养.江西农业大学报,2004,26(2):242-245.
[3] 鲁雪华,郭文杰,林勇.墨兰的无菌播种和植株再生.亚热带植物通讯,1999,28(1):34-37.
[4] 蔡宜梅,方少忠,林真.药用百合组织培养与试管苗假植技术研究.西北农业学报,2004,13(4):152-155.

(责任编辑:杜 宏)