

石松植物繁殖的研究进展

李娜, 陈钧 (江苏大学药学院, 江苏镇江 212013)

摘要 综述了石松植物在组织培养、孢子繁殖、扦插技术方面的研究进展, 以期更好地开发利用这种珍贵的蕨类植物资源。

关键词 石松植物; 组织培养; 孢子繁殖; 扦插繁殖

中图分类号 S567.9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)22-06771-02

石松蕨类是一群最古老的现存陆生维管束植物, 其起源可以追溯到前寒武纪。石松植物共分 2 目 3 科 13 属, 共有 380 余种。我国产石松植物 3 科 8 属, 约 60 多种。石松生物碱是从石松植物中分离得到的结构相似、具有相同生源的一类天然生物碱。迄今为止, 已经从石松植物中分离到 201 种生物碱^[1]。20 世纪 80 年代, 我国科学家从我国民间草药“千层塔”[蛇足石杉, *Huperzia serrata* (Thunb) Trev. (Huperziaceae)] 中分离得到石杉碱甲 (Huperzine A, Hup-A), 并且证实了强效、高选择性的抗乙酰胆碱酯酶活性。这引起了世界各国科学家的广泛关注。石松植物已成为药学界最受人瞩目的研究热点之一^[2]。

1 组织培养技术

组织培养具有需要材料少、条件可控、不受季节限制、周期短、重复性强等优点, 是石松植物快速繁殖和大规模工厂化生产的理想手段。我国的研究者也进行了一些相关方面的尝试, 但是目前还没有组织培养成功的报道。鲁润龙等认为, 蛇足石杉外植体灭菌较困难, 而且在培养过程中易被真菌污染, 其原因是其与内生真菌共生^[3-4]。沈晓霞在含有特殊前加物、5 mg/L 2,4-D 和 1 mg/L KT 的 MS 基本培养基上培养蛇足石杉外植体, 获得愈伤组织, 但之后未见其发育成植株的报道^[4]。Atmane 等以 *Lycopodiella inundata* (L.) Holub 为材料进行组织培养获得成功。外植体灭菌后置于愈伤组织再生培养基上培养 13 周, 转移到胚状体发生培养基上, 培养 13 周后分化出叶和根, 23~26 周后出现与野生植株一样的二叉分枝^[5]。Wojciech 进行了 *Huperzia selago* 组织培养, 以灭菌后的茎为外植体, 接种到培养基上 6 个月 after 出现二叉分枝, 8 个月 after 长到 10 cm; 3 个月 after 在外植体茎的顶部出现了致密的愈伤组织, 接种到胚状体发生培养基上 2 周后发育成体细胞胚, 4 周后发育成孢子体, 长出完整的叶子和二叉分枝的根, 8 个月 after 出现二叉分枝枝条。他还测定了组培苗的石杉碱甲含量, 发现组培苗含量高于野生植株^[6]。2006 年 Ma 成功地进行了马尾杉的组织培养, 并且申请了专利^[7]。

2 孢子繁殖

2.1 类型 石松植物原叶体地下生, 圆柱状长圆形或线形, 长达几厘米, 单一或分枝, 有菌根, 与真菌共生, 能存活数年。菌丝生于原叶体的外部细胞层内, 也可生于腐殖土中, 属于全腐寄生。精子器和颈卵器生于原叶体背面, 并有节状隔毛混生^[8]。Bruchmann 根据形态将石松植物原叶体分为 5 类,

最常见的有 2 种。一类原叶体盘状, 层状细胞 3 层, 颈卵器颈部细胞 10 个, 如 *Lycopodium clavatum*; 另一类原叶体萝卜状, 层状细胞 2 层, 颈卵器颈部细胞 14 以上, 如 *L. complanatum*; *L. lucidulum* 则代表了不为多见的第 3 种原叶体形态, 它是轴式的, 白色, 肉质。石松植物在人工培养基上发芽困难, 需要时间长, 发芽率低。大部分的温带石松植物原叶体生活于土壤表层以下 10 cm 深处, 与真菌共生, 依靠真菌从土壤中吸收营养。这类石松孢子发芽慢^[9-10]。Bruchman 将 *L. selago*、*L. annotinum* 和 *L. clavatum* 置于土壤中培养, 3 个种的孢子发芽需要时间都在 3 年以上^[11]。*L. obscurum*、*L. digitatum* 和 *L. lucidulum* 的孢子在培养基上发芽也需要 1 年, 有些种的孢子在自然条件下 12 年以上才能发芽。多数热带和一些温带生长石松植物原叶体生活于土壤表面, 可以进行光合作用, 营自养生存。这类植物发芽较快。*L. inundatum*, *L. cernuum*, *L. salakense* 在土壤中几天就可以发芽, *L. appressum* 在培养基上数月可以发芽^[10]。马尾杉原叶体属特殊类型, 孢子在黑暗中萌发, 开始原叶体生活于地下, 与真菌共生, 一段时间后长出地面, 变为绿色, 并且进行光合作用^[12]。

2.2 孢子萌发与真菌的关系 大部分石松植物原叶体在自然条件下与真菌共生^[9,13-15]。真菌-原叶体共生体一般形成于原叶体发育的早期即 8~12 个细胞时期。真菌侵染后原叶体才能完成发育过程。早期的研究者认为真菌与原叶体的共生关系具有专一性。1962 年 Freeberg 从 *L. obscurum* 的原叶体分离出一株内生真菌, 发现它可以侵染 *L. complanatum*、*L. selago*、*L. cernuum* 原叶体, 与真菌共生长的原叶体在淀粉培养基的生长状况好于没有真菌的原叶体。Freeberg 推测内生真菌对于 *L. selago*、*L. complanatum* 的原叶体生长是必要的, 它们的原叶体在培养基上的形态与自然条件下的形态有区别。在培养基上生长的原叶体仍然与真菌共生; 而在培养基和自然条件下 *L. obscurum* 原叶体的形态没有发生任何变化。培养基上的原叶体没有内生真菌, 在培养基上能发现自由状态的真菌^[16]。Spessard 从 *L. obscurum* 和 *L. lucidulum* 中分离到一株内生真菌, 被鉴定为子囊菌, 发现与 Freeberg 实验所用的真菌不是同一真菌。可见真菌-原叶体的共生关系也不是专一的。*L. complanatum* 原叶体在培养基上被真菌感染后, 侵入部分肉质化, 同样将培养基中蔗糖浓度提高到 2%~4%, 也会使其原叶体肉质化, 当蔗糖浓度降到 1% 以下时, 原叶体变成丝状。真菌的侵入会造成原叶体大量吸收碳源, 肉质化; 另一方面, 原叶体可能通过肉质化稀释真菌产生的某些物质。这些真菌的作用被认为与兰科植物的菌根相似, 都可以侵入寄主细胞内, 促进寄主吸收糖类及其他营养元素, 有利于植物的生长^[16-17]。

作者简介 李娜(1978-), 女, 辽宁沈阳人, 博士研究生, 研究方向: 药用植物活性成分。

收稿日期 2007-04-15

3 扦插繁殖

盛束军等研究了蛇足石杉的扦插繁殖技术^[18]。采用不同浓度水平的吲哚丁酸、萘乙酸、生根粉和吲哚丁酸+萘乙酸等药剂处理蛇足石杉插条,发现几种处理的平均发根率为70%,最高可达100%,吲哚丁酸处理的发根率和平均生根量明显高于其他药剂处理;萌芽插条的生根率、平均生根量和平均根长等指标明显高于未萌芽插条;腐殖土与河沙的混和土壤作扦插基质比腐殖土或河沙单独作为基质的效果好。

4 讨论

目前,研究者已对石松植物的组织培养、孢子繁殖和扦插繁殖进行了研究。孢子繁殖要求条件复杂,有的种孢子萌发需要时间很长,但是石松植物孢子量非常可观,所以如果实验室孢子繁殖技术获得突破,那么将大大增加其栽培种质来源。组织培养技术在石松植物繁殖方面应用前景广阔。它有利于缓解对现有蕨类植物需求的压力。但是从目前的研究状况来看,石松植物组织培养离规模化生产种苗还有一段距离。扦插繁殖要求技术比较简单,易于推广。目前我国已有一些地区利用扦插对蛇足石杉进行人工栽培,种苗的来源问题可能会成为限制其大规模栽培的因素。

参考文献

- [1] MA X Q, GANG D R. The *Lycopodium alkaloids* [J]. Nat Prod Rep, 2004, 21: 752-772.
- [2] TANG X C, HAN Y F, CHEN X P. Effects of huperzine A on learning and retrieval process of discrimination performance in rats [J]. Acta Pharmacol Sin, 1986, 7: 501-511.
- [3] 鲁润龙,周忠泽.药用植物蛇足石杉的生物学特性[J].中国科学技术

大学学报, 1999, 29(1): 118-121.

- [4] 沈晓霞,俞旭平,盛束军.千层塔茎尖组织培养灭菌方法的研究[J].中国中药杂志, 2002, 27(6): 458-459.
- [5] ATMANE N, BLERVACQ A S, MICHAUX-FERRIERE N, et al. Histological analysis of indirect somatic embryogenesis in the marsh clubmoss *Lycopodiella inundata* (L.) Holub (Pteridophytes) [J]. Plant Science, 2000, 156: 159-167.
- [6] SZYPULA W, PIETROSIUK A, SUCHOCKI P, et al. Somatic embryogenesis and *in vitro* culture of *Huperzia selago* shoots as a potential source of huperzine A [J]. Plant Science, 2005, 168: 1443-1452.
- [7] MA X Q, TAN C H, ZHU D Y, et al. A survey of potential huperzine A natural resources in China: The Huperziaceae [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2006, 104: 54-67.
- [8] 浙江植物志编辑委员会.浙江植物志:第1卷[M].杭州:浙江科学技术出版社, 1993.
- [9] BRUCHMAN H. Über die Prothallien und die Keimpflanzen mehrerer europäischer Lycopodien [M]. Gotha: F A Perthes, 1896: 119.
- [10] BRUCE J G. Gametophyte of *Lycopodium digitatum* [J]. American Journal of Botany, 1979, 66(10): 1138-1150.
- [11] BRUCHMAN H. Die Keimung der Spore nund die Entwicklung der Prothallien von *Lycopodium clavatum* L., *L. annotinum* L. und *L. selago* [J]. Flora, 1910, 101: 220-267.
- [12] WHITTIER D P, BRAGGINS J E. Observations on the Mature Gametophyte of *Phylloglossum* (Lycopodiaceae) [J]. American Journal of Botany, 2000, 87(7): 920-924.
- [13] TREUB M. Etudes sur les lycopodiacees. I. Le prothalle du *Lycopodium cernuum* L [J]. Ann Jard Bot Buitenz, 1884, 4: 107-138.
- [14] GOEBEL K. Ueber Prothallien von Keimpflanzen von *Lycopodium inundatum* [J]. Bot Gaz, 1887, 45: 164-168.
- [15] LANG W H. The prothallus of *Lycopodium clavatum* [J]. Ann Bot, 1899, 13: 279-318.
- [16] FREEBERG J A. *Lycopodium prothalli* and their endophytic fungi as studies *in vitro* [J]. American Journal of Botany, 1962, 49(5): 530-535.
- [17] SPESARD E A. Prothallia of *Lycopodium* in America. II. *L. lucidulum* and *L. obscurum* var. *dendrodidium* [J]. Bot Gaz, 1922, 74: 392-413.
- [18] 盛束军,徐建中,王志安,等.千层塔扦插繁殖研究[J].资源开发与市场, 2000, 16(5): 268-269.

(上接第6770页)

2.5 文化性 居住环境的文化性体现在地方性和时代性当中,应充分考虑传统生活方式的特点,寻找与现代居住空间环境的契合点,以不同的方式,从空间形态、尺度、界面的色彩、细部表达对传统与现代的理解,延续文化脉络。

3 设计方法

设计的出发点以人的日常行为、心理、习性、活动规律作为组织空间及细部设计的参考坐标,以最大限度满足使用者主观愿望和客观需求作为设计不断前进的目标。从技术操作层面,人性设计可从以下3个方面进行:①了解使用者。通过观察、访谈、问卷调查以及从官方机构获得信息等途径找出户外空间设计的主要和潜在使用群体,借助图纸绘图、电脑计算、文字说明等工具统计和分析这些使用者的职业、性别、年龄、家庭结构以及他们的文化背景、民俗风情、生活习惯等,从而全面、系统地回答使用者是谁的问题。②适应使用者的行为和需求。运用观察、访谈、拍照、标记活动、记录行为痕迹、问卷调查等手段收集有关空间使用情况的资料,通过讨论、分析总结出各类使用群体在户外空间中行为活动的性质、习性、规律,结合大众行为心理学知识,剖析这些使用者的需求层次以及对于空间设计的要求,从而清晰解答使用群体如何使用空间、期待何种变化的问题。③协调人与场所的关系。基于对使用者以及场地现状的了解,综合评价场地被使用状况,明确空间中哪些元素富有趣

味性和人情味,能够吸引大量的使用者驻足、逗留,哪些元素不被人们关注而无人问津,并总结各种元素受喜爱的特点和被冷落的原因,结合场所的人文、生态过程,设计保留积极的要素、谨慎剔除不协调的要素,合理引进受欢迎的要素,从而更好地满足使用者的愿望和需求,协调人与场所的关系。

4 结语

人是整个社会、整个城市、整个住区的主体,现代住区的设计不仅仅是满足基本的居住功能需求,还要从环境景观的设计上考虑对人的真正关怀,挖掘和重视住区人群的心理状态。人们通过共同生活,创造了共同的文化,而这种文化在今天应该反过来引领人们的思维,在住区环境的设计中创造充满趣味和人情味的交往空间,增加人群对彼此的依赖和重视,寻找情感寄托,重现当年邻里相帮、相助、相靠的珍贵情谊,让住区的生活更富情趣和温情^[5]。

参考文献

- [1] 叶艳莉.浅谈人性化的居住区园林景观设计[J].沿海企业与科技, 2006(10): 111-112.
- [2] 陈永生,管欣.现代居住区景观设计初探[J].安徽农业科技, 2006(1): 37-38.
- [3] 赵舰.对居住区中交往空间的几点思考[J].科技情报开发与经济, 2004(5): 18.
- [4] 尹素娟,石平,何建宏.居民行为与住区庭院的场所设计[J].山西建筑, 2005(3): 22.
- [5] 赵红红,刘绘宇.住区邻里情感的回归[J].热带建筑, 2006(3): 1-4.