

海金沙的组织培养和植株再生

郭治友*, 钱绍方, 罗应

黔南民族师范学院生命科学系, 贵州都匀 558000

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw.

GUO Zhi-You*, QIAN Shao-Fang, LUO Ying

Department of Life Science, Qiannan Normal College for Nationalities, Duyun, Guizhou 558000, China

1 植物名称 海金沙 [*Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw.].

2 材料类别 成熟孢子。

3 培养条件 孢子萌发培养基: (1) Knop's; (2) MS+20 g·L⁻¹ 蔗糖(蔗糖和 AC 单位下同)。原叶体增殖培养基: (3) 1/8MS+ 蔗糖 20; (4) 1/4MS+ 蔗糖 20; (5) 1/2MS+ 蔗糖 20; (6) MS+ 蔗糖 5; (7) MS+ 蔗糖 10; (8) MS+ 蔗糖 15; (9) MS+ 蔗糖 20; (10) MS+ 蔗糖 30; (11) MS+ 蔗糖 40; (12) MS+ 蔗糖 50; (13) MS+ 蔗糖 60; (14) MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹ (外源激素单位下同)+NAA 0.5; (15) MS+6-BA 1.0+NAA 0.2。孢子体形成和丛生芽增殖培养基: (16) MS+ IAA 0.05; (17) MS+KT 0.0125+IAA 0.05; (18) MS+KT 0.025+IAA 0.05; (19) MS+KT 0.05+IAA 0.05。生根培养基: (20) 1/2MS+NAA 0.1+AC 2.0; (21) 1/2MS+IBA 1.0+AC 2.0。以上培养基均添加 7.5 g·L⁻¹ 琼脂条, pH 5.6~5.8。培养温度为 24~26 °C, 荧光灯光源, 光照强度约为 40 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间为 12 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 无菌材料的获得 采摘完整无病虫害的孢子叶装入硫酸纸袋, 放置通风干燥处 1 周, 收集自然脱落的孢子去杂备用。把孢子用滤纸包好, 蒸馏水浸泡 2 h, 75% 酒精灭菌 10 s, 无菌水漂洗 1 次, 再用 0.1% HgCl₂ 溶液浸泡 5 min, 无菌水漂洗 3 次。然后孢子接种到培养基(1)和(2)上, 放置培养室内培养。

4.2 孢子萌发 5 d 左右观察培养基(1)和(2)上均见到孢子材料变绿, 显微镜观察结果为孢子萌发, 有的已处于 2~3 个细胞的丝状体阶段, 说明 2~3 d 孢子就开始萌发了。低盐的 Knop's 培养基(1)和高盐的 MS 培养基(2)对其萌发影响不大。9 d 后进入片状体阶段, 15 d 后进入原叶体阶段(图 1), 40 d 后原

叶体性开始成熟。但对配子体发育后期影响较大, 在培养基(1)上形成的绿色小球体积较培养基(2)上的小。

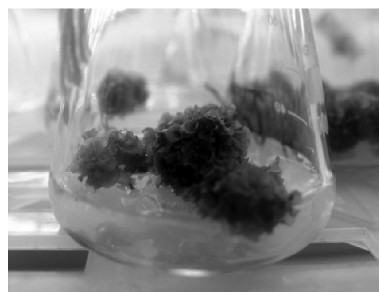


图 1 海金沙原叶体的产生

4.3 原叶体的增殖 将原叶体接种到原叶体增殖培养基(3)~(5)和(9)上, 发现随着培养基大量元素浓度的升高, 原叶体长势依次增强, 其中以培养基(9)最好。说明 MS 大量元素对原叶体的增殖有影响。因此, 增殖的培养基应以全量 MS 大量元素为宜。此外, 比较了蔗糖和外源激素对原叶体的影响。在培养基(6)~(13)上, 以(9)和(10)增殖速度最快, 长势最好, 60 d 后可增殖达 4 倍(图 2); 培养基(6)~(8)上生长缓慢; 培养基(11)~(13)上长势依次变弱。说明适宜的蔗糖浓度可极大地促进增殖, 过高或过低都不适于生长。将原叶体接种在增殖培养基(14)和(15)上, 原叶体能快速增殖, 培养 20 d 后, 原叶体的体积能扩大 3 倍, 其中培养基(15)的增殖速度比(14)快。在整个原叶体增殖过程中培养基(14)和(15)中都不能形成孢子体。

收稿 2009-08-06 修订 2009-08-21
资助 贵州省科技厅自然科学基金(黔科合 J 字[2008]2102)。
* 通讯作者(E-mail: guozhiyou8888@126.com; Tel: 0854-8737026)。

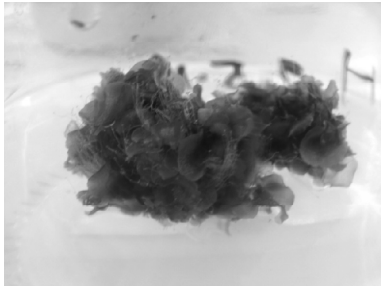


图2 海金沙原叶体的增殖

4.4 孢子体的形成与增殖 将原叶体接种于培养基(16)~(19)上,保持培养基表面有少许水(这样有利于受精),14 d后,培养基上均出现幼孢子体,但在培养基(17)和(18)的幼孢子体分枝多,且长势好。说明低浓度的KT利于孢子体增殖。采用分株的繁殖方式将孢子体进行扩增,可以快速得到大量的无菌孢子体(图3)。



图3 海金沙幼孢子体的诱导

4.5 生根与移栽 将已分化出苗的孢子体接种到生根培养基(20)和(21)上,培养15 d可生根,生根率均可达100%,继续培养30 d,幼孢子体每株高达12~25 cm,2~5分枝,根数达2~4条。移栽前将瓶盖打开,在通风处炼苗7 d,取出生根苗,洗去根部

附着的培养基,移栽到用1%高锰酸钾溶液消毒过的蛭石和松针腐殖质(1:1)混合土中,盆栽,保持湿度100%,盆覆盖膜7 d后再逐渐打开,成活率达95%以上。

5 意义与进展 海金沙隶属于海金沙科(Lygodiaceae)海金沙属多年生草质藤本蕨类植物,广泛分布于热带和亚热带地区(秦仁昌1959)。海金沙可以入药,在明代李时珍的《本草纲目》中早有记载。其叶含二脂酰甘油基三甲基高丝氨酸(DGTS)和咖啡酸(caffeic acid)等成分,用鲜叶捣烂调茶油可治烫伤,茎叶捣烂加水浸泡,可作为生物农药用来杀陆地棉等的作物蚜虫和红蜘蛛等(曾宋君和刑福武2002);还用于热淋,砂淋,石淋,血淋,膏淋,尿道涩痛等症(何顺志2005);其孢子粉包煎食之,能清利湿热,通淋止通(国家药典委员会2005)。海金沙也是饮料的原料(曾宋君和刑福武2002)。海金沙植株有攀援缠绕习性,能做绿篱或园林布景点缀假山林石,它的复叶羽片小巧奇特,是垂直绿化悬吊观赏的好材料(钟运芳和唐安科1991;曾宋君和刑福武2002)。本文对未来海金沙保护性开发利用,商业化生产可能有一定的参考价值(秦廷豪和邹宗兰2004;蔡汉权等2006;郭治友等2007;梁硕等2008)。海金沙的组织培养和快速繁殖尚未见报道。

参考文献

- 蔡汉权,林燕文,刘发康,罗永根,欧阳情(2006). 水蕨的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 42 (5): 914
- 郭治友,龙应霞,肖国学(2007). 钟萼木的组织培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 43 (2): 127
- 国家药典委员会(2005). 中华人民共和国药典(2005年版第一部). 北京:化学与化工出版社, 207
- 何顺志(2005). 贵阳市中草药资源. 贵阳:贵州科技出版社, 35
- 梁硕,吴坤林,陈之林,郑枫,曾宋君,段俊(2008). 银中斑凤尾蕨的组织培养与植株再生. 植物生理学通讯, 44 (1): 127
- 秦仁昌(1959). 中国植物志(2). 北京:科学出版社, 106~114
- 秦廷豪,邹宗兰(2004). 鸟巢蕨的组织培养. 植物生理学通讯, 40 (3): 349
- 曾宋君,刑福武(2002). 观赏蕨类. 北京:中国林业出版社, 105~107
- 钟运芳,唐安科(1991). 海金沙配子体的培养与观察. 重庆师范学院学报(自然科学版), 8 (4): 90~92