

水蕨的组织培养和快速繁殖

蔡汉权* 林燕文 刘发康 罗永根 欧阳情

韩山师范学院生物系, 广东潮州 521041

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Ceratopteris thalictroides* (L.) Brongn

CAI Han-Quan*, LIN Yan-Wen, LIU Fa-Kang, LUO Yong-Gen, OUYANG Qing

Department of Biology, Hanshan Teachers College, Chaozhou, Guangdong 521041, China

1 植物名称 水蕨 [*Ceratopteris thalictroides* (L.) Brongn.]。

2 材料类别 营养叶、孢子叶。

3 培养条件 基本培养基为 MS 培养基。(1) 诱导愈伤组织培养基: MS+6-BA $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (单位下同)+NAA 0.5; (2) 诱导芽培养基: MS+6-BA 0.25+IBA 0.25+活性炭(AC) $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; (3) 生根培养基: MS+6-BA 0.5+IBA 0.25+AC $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。以上培养基均含 0.92% 琼脂, pH 6.5~7.0, 高压灭菌锅中 121°C 下灭菌 20 min。培养温度为 $23\sim 24^\circ\text{C}$, 光照时间 $12 \text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$, 光强为 $20\sim 30 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

4 生长与分化情况

4.1 孢子叶的离体萌发 剪取 $2\sim 3 \text{ cm}$ 的孢子叶, 在自来水中荡洗, 再用洗衣粉上清液荡洗 1 次, 自来水中清洗 4 次, 去除尘垢。放入干净的烧杯中, 在超净工作台上, 用 0.1% 升汞浸泡 2 次, 每次 3 min, 且每次浸泡后都用无菌水荡洗 5 次。将材料修剪成 $0.5\sim 1 \text{ cm}$ 小段, 接种于培养基 (2) 上。14 d 左右, 其孢子萌发, 可见大量 $2\sim 5 \text{ mm}$ 的配子体。30 d 后, 在配子体上形成孢子体。萌发过程无需更换培养基, 萌发量极大。

4.2 营养叶诱导不定芽 剪取 $2\sim 3 \text{ cm}$ 的营养叶, 灭菌和修剪都按上述方法, 接种于培养基 (2) 上培养。14 d 后开始萌动, 20 d 左右长出许多不定芽。不定芽多由叶片边缘开裂处形成, 其类型属于由培养器官(叶片)直接产生的不定芽, 与自然状态下水蕨营养叶形成不定芽十分相似, 但芽的数量有明显的增加。30 d 左右即可发育成茂盛的丛生芽。以后, 每隔 3 周左右, 在培养基 (2) 上继代 1 次, 便可得大量不定芽。

4.3 营养叶诱导愈伤组织再生植株途径

4.3.1 愈伤组织的诱导 剪取 $2\sim 3 \text{ cm}$ 的营养叶, 灭菌和修剪都按上述方法, 接种于培养基 (1) 上培养。14 d 后开始萌动, 20 d 左右即发育成绿色的愈伤组织。愈伤组织质地致密, 表面呈粒状或瘤状突起, 生长迅速。愈伤组织形成 3 周左右应及

时继代, 否则, 在愈伤组织表面形成许多气生根, 有老化现象。以后, 每隔 3 周左右, 在培养基 (1) 上继代 1 次, 便可得到大量愈伤组织。

4.3.2 丛生芽的诱导 将 4.3.1 中得到的愈伤组织接种于培养基 (2) 中, 15 d 左右, 可在愈伤组织表面长出不定芽。不定芽数量极多, 但芽体小, 生长慢。因此, 不定芽形成后, 应及时将愈伤组织上的丛生芽分开, 并分别接种于培养基 (2) 上继代培养, 便可得到大量生长健壮的丛生芽。

4.4 生根培养 将由营养叶直接诱导得到的不定芽以及由愈伤组织诱导得到的不定芽接种于生根培养基 (3) 上培养, 便可获得大量的带根试管苗。水蕨容易生根, 在芽诱导培养基 (2) 上生长的芽也有根系形成, 因此, 大量繁殖时可省略生根步骤。

4.5 试管苗的移栽 将培养瓶移至室内散射光处, 敞瓶炼苗 $3\sim 4 \text{ d}$ 。然后, 将带根的试管苗小心取出, 洗净培养基, 移入苗床。苗床的泥土取自水蕨自然产地的土壤, 并混入等量粗沙, 消毒灭菌而成。移栽后, 用多菌灵喷洒消毒, 加遮光网遮光、保温。 $2\sim 3 \text{ d}$ 后, 去掉遮光网, 小心浇水和消毒护理, 成活率达 85% 以上。

5 意义与进展 水蕨为水蕨科水蕨属植物, 水生或半水生草本。根茎短, 绿色多汁, 叶近根生, $2\sim 3$ 回羽状裂片, 叶片长 $10\sim 35 \text{ cm}$, 有营养叶和孢子叶 2 种, 孢子叶里有大量孢子。但自然条件下, 受精率很低, 濒于灭绝, 1999 年, 在国务院公布的第一批《国家重点保护野生植物名录》中被列为国家二级保护植物。水蕨可制成名贵可口的菜肴; 由于造型美观和稀有, 也常用作园艺观叶植物; 还可药用, 有活血, 解毒, 治痞积、痢疾、胎毒和跌打损伤等功能。是经济价值较高的可供开发和利用的植物。本文结果对濒危植物水蕨的保护和大面积种植推广有潜在的参考价值。目前, 水蕨的组织培养在国内外尚未见报道。

收稿 2006-05-08 修定 2006-07-24

*E-mail: hanquan010@126.com, Tel: 0768-3878946