

碳源浓度对丽石黄衣组织培养的影响

李昆朋¹, 周广柱¹, 年玉欣¹, 李林曼², 李金玉¹

(1. 沈阳农业大学 林学院, 辽宁 沈阳 110866 2. 朝阳市双塔区农业技术推广中心, 辽宁 朝阳 122000)

摘要: 根据已有的地衣培养方法, 在 BBM 培养基和麦芽汁-酵母膏培养基上, 研究不同碳源浓度对酵母膏培养黄属丽石黄衣的影响。结果表明: 碳源浓度对丽石黄衣组织培养有一定的影响, 尤其是在麦芽汁-酵母膏培养基中, 随着麦芽汁浓度增加, 子囊盘生长速度加快; 得出麦芽汁-酵母膏培养基(麦芽汁浓度 30 g/L)是较好的丽石黄衣培养基, 比 BBM 培养基更能促进丽石黄衣生长。

关键词: 丽石黄衣; 碳源浓度; 麦芽汁-酵母膏培养基; BBM 培养基

中图分类号: S 567.23⁺9 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2011)07-0125-02

目前国内应用最多的地衣是在药用方面, 其次, 还用作日化香料、食用与饲料等; 在国外地衣的应用范围比较广泛, 常用于医药卫生、生物试剂、日化香料、地质探矿、冰川测年、考古研究及监测大气污染等方面。随着科学技术的不断发展, 地衣资源的利用将会日益扩大^[1]。丽石黄衣可作为一种良好的生物指示材料用于环境重金属污染监测^[2], 也可以利用丽石黄衣生长年限对冰川沉积物进行测年, 丽石黄衣测年法被广泛用于地震、地质、气候、考古、岩画等研究领域。宁夏大麦地岩画断代研究采用了该方法。

目前对地衣的组织培养主要有分离培养法和整体培养法, 分离培养法是将地衣藻菌分离后重组, 以提高地衣培养速度的一种方法。分离培养涉及到地衣的遗传学、生理学和地衣化学等诸多领域, 培养成功率往往不到 1/10。人工培养结果表明, 分离培养的菌和藻与地衣共生体菌藻的结构、生理、化学和遗传均有较大区别^[3]。古丽加汗·沙吾提等人用整体培养法研究碳源浓度对新疆淡肤石耳地衣组织培养的影响, 认为不同碳源种类及浓度对淡肤石耳地衣的组织培养有一定影响^[4]。该试验采用整体培养法对 BBM 培养基和麦芽汁-酵母膏培养基碳源浓度进行设定, 研究不同碳源浓度对丽石黄衣生长的影响, 为进一步研究丽石黄衣组织培养提供参考。

第一作者简介: 李昆朋(1987-), 男, 河北秦皇岛人, 在读硕士, 研究方向为园林植物生理生态与栽培。E-mail: triumphkp@163.com。
责任作者: 周广柱(1964-), 男, 教授, 硕士生导师, 现主要从事园林植物生理生态与栽培教学和研究工作。E-mail: zhoughuanzhu@sina.com。
基金项目: 辽宁省交通厅资助项目(200612)。
收稿日期: 2011-01-18

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材于 2009 年 11 月从辽宁省朝阳市凌源市前进乡向阳坡上采集。丽石黄衣(*Xanthoria elegans* (Link) Th. Fr.) 片窄细, 隆起并扭曲, 先端微钝, 上表面橙黄色至橙红色; 下表面近白色至白褐色, 以假根状突起紧固于基物上。

1.2 试验仪器和试剂

解剖镜、高压灭菌锅、电子天平、电子显微镜、细胞计数器、剪刀、镊子、量筒、烧杯、接种针、三角瓶、超净工作台、培养皿、无菌水、70%乙醇、0.1%升汞、琼脂粉、麦芽汁、蛋白胨、Bold's 矿物盐溶液、葡萄糖和酵母膏。

1.3 培养基

1.3.1 BBM 培养基 在 Deason 和 Bold 的方法制备的基础上加入不同浓度的葡萄糖。1 #、2 #、3 # 溶液分别加入 10、20、30 g/L 的葡萄糖。

1.3.2 麦芽汁-酵母膏培养基^[5] 4 #、5 #、6 # 溶液分别加入 10、20、30 g/L 的麦芽汁。

1.4 试验方法

培养基及所用器械杀毒与灭菌, 培养基制备与分装, 将试材放到瓷盘中洒水复活 24 h、消毒, 将其剪成 10 mm×10 mm 的正方形, 子囊盘向上, 置于培养基上, 每皿 2 块。放入组织培养室, 23℃, 1 500 ~ 2 000 lx, 24 h 光照培养。

2 结果与分析

2.1 BBM 培养基碳源浓度对丽石黄衣的影响

经过 21 d 培养, 丽石黄衣表面的黄色不变, 组织块生长缓慢, 经过 75 d 培养, BBM 培养基中部分地衣组织块变为暗土黄色, 少量组织块子囊盘数量增长, 但增长数量较小。从表 1 可知, 1 #、2 #、3 # 培养基中子囊盘

数量变化均不明显,其中,2 #、3 #培养基组织块生长情况要略微好于1 #培养基。表明碳源浓度对其生长有一定的影响。

表 1 BBM 培养基碳源浓度对丽石黄衣的影响				
葡萄糖浓度 / g · L ⁻¹	接种组织 块总数	接种初子 囊盘总数	60 d 后子 囊盘总数	单个组织块子囊 盘扩增倍数
1 # (10)	30	140	142	1.014
2 # (20)	30	110	119	1.081
3 # (30)	30	121	132	1.091

2.2 麦芽汁-酵母膏培养基碳源浓度对丽石黄衣的影响
从表 2 可知,培养 75 d 后,麦芽汁-酵母膏培养基中部分组织块子囊盘数量增长,且随着麦芽汁浓度增加,子囊盘总数也逐渐增加。其中 6 #培养基对子囊盘生长促进作用最为明显。

表 2 麦芽汁-酵母膏培养基碳源浓度对 丽石黄衣的影响				
麦芽汁浓度 / g · L ⁻¹	接种组织 块总数	接种初子 囊盘总数	60 d 后子 囊盘总数	单个组织块子囊 盘扩增倍数
4 # (10)	30	152	160	1.053
5 # (20)	30	123	135	1.098
6 # (30)	30	121	139	1.149

2.3 2 种培养基中丽石黄衣生长情况比较
由表 3 可知,麦芽汁-酵母膏培养基组织块生长速度要快于 BBM 培养基,子囊盘数量增加,原因可能是碳源不同,真菌生长速度不同^[9],由此可知,用麦芽汁比用葡萄糖做碳源更能促进丽石黄衣生长。

表 3 2 种培养基中丽石黄衣生长情况对照				
	接种组织 块总数	接种初子 囊盘总数	60 d 后子 囊盘总数	单个组织块子囊 盘扩增倍数
BBM 培养基	60	371	393	1.059
麦芽汁-酵母 膏培养基	60	396	434	1.096

3 结论与讨论

该试验结果表明,碳源浓度对丽石黄衣组织培养有影响,尤其是在麦芽汁-酵母膏培养基中,随着麦芽汁浓度增加,子囊盘生长速度加快。麦芽汁-酵母膏培养基(麦芽汁浓度 30 g/L)是较好的丽石黄衣培养基。与古丽加汗·沙吾提等通过整体培养法得出,不同碳源种类及碳源浓度对淡肤石耳地衣的组织培养有一定影响^[4]的结论相一致。

根据魏江春等用多指地卷(*Peltigera ploydactyla*)所做的试验证明,念珠藻在光合作用下所固定的 LY-葡萄糖在 0.5 h 内便释放出来,并从藻层向破层移动,并立刻转化为 IY-甘露糖醇,随后以较慢的速度再转化为不溶性地衣酸而在髓层等苗丝组织内贮存下来^[9]。由于碳源的差异,组织块转化地衣酸的速度也不同。试验结果表明,麦芽汁-酵母膏培养基比 BBM 培养基更能促进丽石黄衣生长。

参考文献

[1] 吴金陵.中国地衣植物图鉴[M].北京:中国展望出版社,1987.
[2] 热衣木·马木提,吾尔妮莎·沙依丁,阿不都拉·阿巴斯,等.不同地衣种类对微量元素富集能力的比较[J].食品科学,2009,30(15): 63-66.
[3] 李冬雪,丁雨龙.地衣协同进化研究进展[J].南京林业大学学报,2001,25(1): 56-60.
[4] 古丽加汗·沙吾提,帕孜来提·拜合提,阿不都拉·阿巴斯.碳源浓度对新疆淡肤石耳地衣组织培养的影响[J].新疆大学学报(自然科学版),2004,17(21): 110-114.
[5] Ahmadjian V. A Guide to the Algae occurring as Lichen Symbionts: Isolation, Culture, Oulral Phycology, and Identification[J].Physiologia, 1967, 6(2/ 3): 127-160.
[9] 魏江春,王先业,吴金陵,等.中国药用地衣[M].北京:科学出版社,1982.

Effects of Carbon Source Concentration to the Tissue Culture
of *Xanthoria elegans* (link) Th. Fr

LI kun-peng¹, ZHOU Guang-zhu¹, NIAN Yu-xin¹, LI Lin-man², LI Jin-yu¹

(1.College of Forestry, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866; 2. Chaoyang Agricultural Technology Popularization Center, Chaoyang, Liaoning 122000)

Abstract: *Xanthoria elegans* (link) Th. Fr in BBM culture medium and the wort-yeast culture medium by setting different carbon sources were studied. The results showed that carbon source concentration had influence on the tissue culture of *Xanthoria elegans* (link) Th. Fr, especially in the maltose-yeast culture medium, the growth rate of apothecia accelerates with malt wort concentration increasing. The wort-yeast culture medium (wort concentration of culture medium as 30 g/L) was the better culture medium for *Xanthoria elegans* (link) Th. Fr. The wort-yeast culture medium had more promoting effect than BBM culture for the growth of *Xanthoria elegans* (link) Th. Fr.

Key words: *Xanthoria elegans* (link) Th. Fr; carbon source concentration; maltose-yeast culture medium; BBM culture medium