

分株紫萁孢子繁殖技术

谢修鸿¹, 李 伟², 李翠兰³, 梁运江²

(1. 长春大学 园林学院, 吉林 长春 130022; 2. 延边大学 农学院, 吉林 延吉 133002; 3. 吉林农业大学 资源与环境学院, 吉林 长春 130118)

摘 要:以分株紫萁为试验材料,采用设置不同条件(营养基质、温度和光照)或浓度(KH_2PO_4 、激素、水分、ABA)的方法,初步探讨了分株紫萁孢子萌发、配子体发育和诱导孢子体形成的培养条件,为其孢子人工快速繁殖提供理论依据。结果表明:以草炭土与保护地土 1:1 混合为育苗基质,100℃ 高温灭菌后播种,保持自然变温和昼夜交替光照条件;播种 3 d 后,每隔 3 d 用喷雾法喷施 1 次 50 mg/L 2,4-D,连续喷 3 次;每隔 3 d 用喷雾法喷施 1 次 0.3% KH_2PO_4 ,连续喷 5 次,有利于孢子萌发和配子体发育。在配子体肉眼可见时,选取生长良好的配子体进行移栽,将基质含水量调到田间持水量,移栽 1 周后,每隔 3 d 用喷雾法喷施 1 次 1.0 mg/L 激素 ABA,连续 3 次,有利于配子体形成孢子体和生长发育。

关键词:分株紫萁;孢子;有性繁殖

中图分类号:S 604 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2015)20-0027-04

分株紫萁(*Osmunda cinnamomea* L. var. *asiatica* Fernald)属紫萁科紫萁属多年生宿根蕨类植物,又称桂皮紫萁,商品名为北方薇菜^[1],植株可高达 0.6~1.0 m,产于中国东北、华北、俄罗斯远东、日本和朝鲜等地^[2]。野生薇菜营养价值丰富,药用价值高,是山野菜中的珍品。由于其生境狭窄,加上人们无节制的采挖,目前其资源已严重不足。薇菜人工栽培既可带来巨大的经济效益,又可实现其资源的可持续发展,发展前景十分广阔^[3]。薇菜的繁殖方式分为有性繁殖和无性繁殖,在自然条件下,其主要以根状茎无性繁殖为主,但繁殖速度较慢。薇菜可产生大量孢子,但在自然环境中孢子很难萌发,如果利用其孢子进行人工繁殖,提高成苗率,将是

提高其繁殖系数的有效途径^[4]。南方薇菜孢子人工繁殖已取得了初步成果^[5]。且无性繁殖亦或有性繁殖方面,报道都较多^[6-8]。而北方薇菜的研究很少见,现以分株紫萁孢子为繁殖对象,进行有性繁殖栽培条件的探讨,旨在探索分株紫萁快速繁殖技术,为人工栽培、合理开发和利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用分株紫萁孢子采集自延边朝鲜族自治州汪清县。培养基质采用沙土、草炭土和保护地土壤,其理化性质见表 1。

表 1

供试土壤理化性质

Table 1

Physical-chemical properties of test soil

土壤类型 Soil type	pH 值 pH value	有机质 Organic matter /(g·kg ⁻¹)	速效磷 Available P /(mg·kg ⁻¹)	水解氮 Hydrolysis N /(mg·kg ⁻¹)	速效钾 Available K /(mg·kg ⁻¹)	全氮 Total N /(g·kg ⁻¹)	全磷 Total P /(g·kg ⁻¹)	全钾 Total K /(g·kg ⁻¹)
沙土 Sandy soil	6.45	1.02	46.94	16.73	89.94	1.63	2.30	1.79
草炭土 Peat soil	6.70	171.96	40.64	846.19	319.36	17.14	21.80	347.32
保护地土 Soil of protective ground	6.63	12.76	24.27	256.56	342.29	2.09	3.50	23.67

第一作者简介:谢修鸿(1972-),女,吉林长春人,博士,讲师,现主要从事农林废弃物利用与土壤改良等研究工作。E-mail:yuxiaoran@163.com.

责任作者:梁运江(1972-),男,吉林前郭人,博士,副教授,现主要从事土壤与植物营养等研究工作。E-mail:lyjluo@ybu.edu.cn.

基金项目:国家科技支撑计划资助项目(2013BAD07B02);吉林省延边朝鲜族自治州科学技术局资助项目(2008YB501A12)。

收稿日期:2015-05-19

1.2 试验方法

1.2.1 不同营养基质的配制 按表 2,首先将基质在干燥箱中高温(100℃)干燥 3 天 2 夜,以杀死基质中的杂草种子、苔藓、藻类、菌类及其它蕨类植物孢子,待其冷却至常温后,装基质至盆容量(30 cm×20 cm×20 cm)的 2/3;然后将盆容量放入适当水深的容器中,使其自然吸水至湿润。平衡 1~2 d 后,用食指指腹面粘取绿色孢

子,然后用大拇指轻弹食指,使孢子均匀散落在湿润的培养土上,播种量以基质上隐约可见绿色孢子为限,用保鲜膜封好盆口,将其放在盛有 2~3 cm 水深的塑料容器中,以提供孢子萌发所需要的湿润基质和湿润空气,放在室内培养,每天用日光灯照射 12 h,黑暗 12 h,每天观察 1 次。记录 7 种基质播孢后孢子开始萌发时间及第 65 天调查的孢子萌发率、形成配子体的叶径。

表 2 营养基质的配制

Table 2 Preparation method of different substrates

处理 Treatment	草炭土 Peat soil	保护地土 Soil of protective ground	河沙 Sandy soil
A	1/3	1/3	1/3
B	1/2	0	1/2
C	0	1/2	1/2
D	1/2	1/2	0
E	0	0	1
F	1	0	0
G	0	1	0

1.2.2 温度和光照条件的设置 采用草炭土和保护地土 1:1 混合为基质,灭菌和播孢同上试验。温度设置恒温 25℃和正常昼夜温差 2 个温度条件,光照设置黑暗、持续光照和昼夜交替 3 个光照条件,两两组合共设置 6 个处理。

1.2.3 喷施不同浓度的 KH_2PO_4 采用草炭土和保护地土 1:1 混合为基质,灭菌和播孢同上试验。将播孢 90 d 左右生长良好的配子体移栽入盆容器。配子体形成并肉眼可见后,喷施 0.1%、0.2%、0.3%、0.4% KH_2PO_4 ,同时以清水为对照处理,每隔 3 d 喷施 1 次,连续 5 次。在移栽第 35 天时,调查不同浓度营养液对配子体发育的影响。

1.2.4 喷施不同激素 采用草炭土和保护地土 1:1 混合为基质,灭菌和播孢同上试验。播孢 3 d 后,每隔 3 d 在盆容器内用喷雾法喷施 1 次,连续喷 3 次。设 4 个处理:1)清水;2)50 mg/L 2,4-D;3)5 mg/L NAA;4)50 mg/L GA_3 。每个处理重复 3 次。孢子萌发性状描述于处理 15、25、35 d 进行,孢子萌发率和形成的配子体叶径于第 45 天调查。

1.2.5 不同水分条件 采用草炭土和保护地土 1:1 混合为基质,灭菌和播孢同上试验。将播孢 91 d 生长良好的配子体移栽入盆容器。移栽 1 周后,进行水分处理,设 3 个处理:1)60%田间持水量;2)田间持水量;3)全蓄水量。

1.2.6 喷施不同浓度激素 ABA 采用草炭土和保护地土 1:1 混合为基质,灭菌和播孢同上试验。将播孢 90 d 左右生长良好的配子体移栽入盆容器。移栽 1 周后,在

成熟的配子体上喷施 0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L ABA 溶液,以清水为对照,每隔 3 d 喷施 1 次,连续 3 次。在移栽第 35 天时,调查不同浓度 ABA 处理形成幼孢子体数情况。

1.2.7 土壤理化性质测定 采用常规分析方法^[9-10]。

1.3 数据分析

采用 Excel 2003 进行数据整理和图表制作,用 SPSS 11.5 数据分析软件对数据进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 营养基质对分株紫萁孢子萌发和配子体发育的影响

从表 3 可知,处理 A(草炭土、保护地土、河沙 1:1:1 混合基质)和处理 D(草炭土、保护地土 1:1 混合基质)萌发时间最短,处理 E(河沙基质)萌发时间最长。处理 B 和 F 未萌发。处理 G(保护地土壤基质)孢子萌发率最高,达到 91.9%,其次为处理 D,但处理 G 萌发时间较长(34 d)。比较形成配子体叶径,处理 D 最大,达到 2.21 mm。综合孢子萌发和配子体发育效应,以草炭和保护地土 1:1 混合基质作为分株紫萁孢子萌发及其生长发育的培养基质较好。

表 3 不同基质对孢子萌发和配子体发育的影响

Table 3 Effect of different substrates on spore germination and gametophyte growth

处理 Treatment	开始萌发时间 Start time of germination /d	第 65 天配子体叶径 Gametophyte leaf size of 65 days/cm	萌发率 Germination rate /%
A	25	0.155 b	73.7 b
B	未萌发	—	—
C	33	0.113 a	64.1 a
D	27	0.221 c	78.5 b
E	40	0.100 a	60.7 a
F	未萌发	—	—
G	34	0.125 ab	91.9 c

注:表中数据为平均值,不同的小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同表 5~6,图 1~2。

Note: Data in table is average, different lowercase letters in same column indicate significant difference($P<0.05$). The same below table 5~6, Fig. 1~2.

2.2 不同温度和光照条件对分株紫萁孢子萌发的影响

从表 4 可知,A、C、F 处理开始萌发时间最早。温度与光照的交互作用对孢子萌发率的影响不明显,但不同光照处理萌发率差异较大。不同光照条件下,昼夜交替、持续光照 2 个处理与黑暗条件之间萌发率存在差异,但昼夜交替、持续光照 2 个处理萌发率差异不明显,且昼夜交替、持续光照 2 个处理好于黑暗处理。考虑投入成本,推荐 A 处理(自然变温+昼夜交替光照条件)作为孢子育苗条件。

表 4 温度和光照对孢子萌发的影响

Table 4 Effect of temperature and light on spore germination

处理 Treatment	温度和光照条件 Temperature and light conditions	开始萌发时间 Start time of germination /d	萌发率 Germination rate /%
A	自然变温+昼夜交替光照	14	82.1
B	自然变温+黑暗	20	6.5
C	自然变温+持续光照	15	81.6
D	25℃恒温+昼夜交替光照	17	81.2
E	25℃恒温+黑暗	19	7.3
F	25℃恒温+持续光照	15	82.3

2.3 不同浓度 KH_2PO_4 对分株紫萁配子体发育的影响

国内外学者对紫萁科的一些属、种的配子体发育的研究^[11-12]认为,配子体所需要的大部分养分由配子体的假根从基质中获得,喷施一定浓度的 KH_2PO_4 对配子体的生长具有促进作用。由表 5 可知,随着喷施 KH_2PO_4 浓度的增加配子体的生长率有所提升,当 KH_2PO_4 的浓度为 0.3% 时,其生长率达到最大,为 14%。 KH_2PO_4 浓度与配子体生长率的关系可用模型 $y=10.64+3.81x+92.14x^2-216.67x^3$ (y 为生长率; x 为 KH_2PO_4 的浓度; $R=0.99^{**}$) 来描述,根据方程当 y 值最大,即生长率为

表 6 不同激素对孢子萌发和配子体形成发育的影响

Table 6 Effect of different hormones on spore germination and gametophyte growth

处理 Treatment	孢子萌发时间		性状描述 Characters description			孢子萌发率	配子体叶径
	Start time of spore	第 15 天	第 25 天		第 35 天	Spore germination rate	Gametophyte leaf size
	germination	15 days	25 days		35 days	/ %	/ cm
CK	21	未萌发	泛绿		泛绿	85.5 b	0.206 a
2,4-D	8	极少萌发	出现配子体	萌发整齐,配子体叶径 0.3 cm		87.1 b	0.391 b
NAA	10	出现较多的丝状体,极少量片状体	出现极小配子体	极小配子体		80.7 a	0.344 b
GA ₃	17	部分形成丝状体,有片状体形成	泛绿	泛绿		76.3 a	0.334 b

2.5 不同水分条件对分株紫萁诱导孢子形成的影响

分株紫萁作为蕨类的一种,它的生殖过程对水分的要求比较严格,精子器产生的精子必须借助水才能到达颈卵器,与卵子结合形成合子,才能生长发育成孢子体,所以合适的水分含量对配子体的转化影响较为显著。由图 1 可知,不同水分处理条件下,孢子体的转化率不同,三者差异达到显著水平。采取 60% 田间持水量

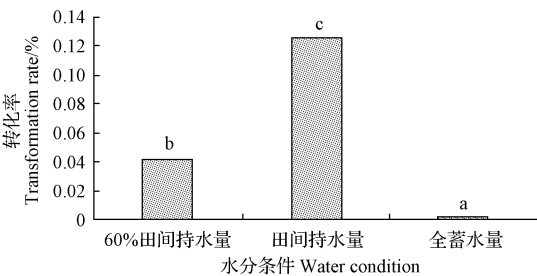


图 1 不同水分对分株紫萁孢子体转化的影响

Fig. 1 Effect of different moisture on sporophyte transformation

表 5 KH_2PO_4 对配子体生长的影响

Table 5 Effect of KH_2PO_4 on gametophyte growth

KH_2PO_4 /%	喷施前叶径 Leaf size before spraying/cm	喷施后叶径 Leaf size after spraying/cm	生长率 Growth rate/%
0.0	0.550	0.605	10.7 a
0.1	0.580	0.646	11.5 a
0.2	0.565	0.642	13.7 b
0.3	0.592	0.660	14.0 b
0.4	0.562	0.636	13.1 ab

14.2 时,可求出 x 为 0.3%。为促进配子体生长发育长,建议喷施浓度为 0.3% 的 KH_2PO_4 较好。

2.4 不同激素处理对分株紫萁孢子萌发和配子体发育的影响

由表 6 可知,喷施激素处理均提前了孢子萌发时间,以 2,4-D 最优,且促进配子体的发育。第 35 天时,配子体萌发整齐,直径达 3 mm。其次 NAA, GA_3 最差。由孢子萌发率可知,2,4-D 数值最高,但与清水相比差异不显著;而以形成配子体叶径可知,与清水相比差异显著,2,4-D 最大,达 3.91 mm。综上所述,2,4-D 对孢子萌发和配子体形成发育有较好效果。

处理,无法保证分株紫萁形成合子,只有很少的配子体转化成孢子体;全蓄水状态下,虽然满足了水分条件,但通气性差,配子体生长受抑制,转化率相应很低;田间持水量条件既能保证基质足够的水分,为分株紫萁受精作用提供了良好的水环境,又有较好的通气性,有利于配子体形成孢子体和生长发育。

2.6 不同 ABA 浓度对分株紫萁诱导孢子体形成的影响

从图 2 可知,不同浓度的 ABA 对配子体转化的影响存在差异,多重比较表明萌发率在 ABA 浓度为 0.0、0.5、1.5、2.0 mg/L 时差异不显著,1.0 mg/L 时孢子体转化率最高,为 23.3%,与其它处理差异显著,ABA 浓度低于或高于 1.0 mg/L,孢子体转化率都很低,原因是 ABA 浓度低,对配子体的转化率影响不大,随着浓度的增加,1.0 mg/L 时转化率达到最大,之后随着浓度的增加,激素 ABA 对配子的转化率又有抑制作用。

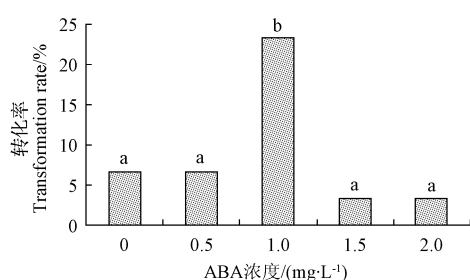


图2 ABA浓度对分株紫萁诱导孢子体形成的影响

Fig. 2 Effect of different ABA concentrations on sporophyte transformation

3 结论

以草炭土和保护地土各二分之一混合基质作为分株紫萁孢子萌发及其生长发育的培养基质较好,开始萌发时间为25 d。温度及其与光照的交互作用对孢子萌发的影响不显著,昼夜交替或持续光照2个处理好于黑暗处理,建议自然变温+昼夜交替光照条件作为孢子育苗条件。喷施0.3%的 KH_2PO_4 对配子体的生长具有较好的促进作用,生长率达到最大为14%。不同激素处理中,2,4-D处理孢子萌发时间为8 d,萌发率达87.1%,优于 GA_3 和NAA。不同水分状态下,田间持水量状态最

有利于配子体形成孢子体及其生长发育。不同ABA浓度中,1.0 mg/L ABA最适合诱导孢子体的形成。

参考文献

- [1] 马玉心,高德武,蔡体久.分株紫萁的研究进展[J].国土与自然资源研究,2001(1):95-96.
- [2] 李武.薇菜及其利用现状[J].中国野生植物,1989(3):22-23.
- [3] 周永杰,张万华.薇菜人工栽培与加工技术[M].北京:中国农业出版社,2004.
- [4] 梁运江,李伟,王维娜,等.薇菜的生物学特性及人工繁殖[J].北华大学学报(自然科学版),2010,11(2):183-185.
- [5] 何义发,罗世家,王柏泉,等.薇菜孢子繁殖育苗试验初探[J].中国林副特产,1995(4):8-9.
- [6] 高德峰,杨万森,周立刚.野生薇菜的人工高产栽培技术[J].湖北农业科学,2001(5):68-69.
- [7] 何义发.经济蕨类植物紫萁的研究进展与展望[J].湖北农业科学,2002(6):101-103.
- [8] 王谋强,张朝君.我国南方薇菜的研究现状及其发展对策[J].贵州农业科学,2006,34(4):135-136.
- [9] 鲍士旦.土壤农化分析[M].3版.北京:中国农业出版社,2000.
- [10] 依艳丽.土壤物理研究法[M].北京:北京大学出版社,2009.
- [11] HASGAWA N. On the sexual generation of three species of *Osmunda* in Japan[J]. Journ Jap Bot, 1955, 30(3): 97-101.
- [12] 包文美,敖志文,刘保东.东北蕨类植物配子体发育的研究-III.紫萁科[J].植物研究,1986,6(3):117-125.

Spore Propagation Techniques of *Osmunda cinnamomea* L. var. *asiatica*

XIE Xiuhong¹, LI Wei², LI Cuilan³, LIANG Yunjiang²

(1. College of Landscape Architecture, Changchun University, Changchun, Jilin 130022; 2. College of Agriculture, Yanbian University, Yanji, Jilin 133002; 3. College of Resource and Environmental Science, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract: Culture conditions of spore germination, gametophyte growth and sporophyte transformation of *Osmunda cinnamomea* L. var. *asiatica* were preliminary discussed in this paper with different conditions (substrates, temperature, light) and different concentration of KH_2PO_4 , hormone, water, ABA, to provide theoretical foundation of artificial rapid propagation techniques for making use of spores. The results showed that favorable conditions of spore germination and gametophyte development were as follows: a part of protective ground soil and a part of peat soil were mixed as seeding substrate, spores were sowed after 100°C high temperature sterilization with maintaining conditions of natural temperature and alternating day and night lighting. 3 days after sowing spore, spraying 2, 4-D once every 3 days, continuous sprayed 3 times. Spraying 0.3% KH_2PO_4 once every 3 days, continuous sprayed 5 times. Favorable conditions of sporophyte transformation and development were as follows: when gametophyte was saw by naked eye, transplanting good gametophyte, adjusting water content of substrate to field capacity. A week after transplanting, spraying 1.0 mg/L hormone ABA once every 3 days, continuous sprayed 3 times.

Keywords: *Osmunda cinnamomea* L. var. *asiatica*; spore; sexual propagation