

# 铁线蕨孢子离体繁殖技术研究

叶 飞, 建德锋

(吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101)

**摘 要:**采用孢子离体培养技术对铁线蕨进行了快繁技术研究。结果表明:把经过消毒灭菌的孢子囊从孢子叶上切下,进行破碎取出孢子后接种到 1/2MS 培养基上,孢子萌发较快,萌发后的原叶体接种到 MS 培养基上能得到较大的扩繁速率,叶原体诱导孢子体在试管内诱导难度较大,可采用 0.1%KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 诱导剂在试管外诱导,更适合叶原体向孢子体的转化。

**关键词:**铁线蕨;孢子;培养基;离体快繁

**中图分类号:**S 682.360.38 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)17-0122-02

铁线蕨(*Adiantum capillus-veneris* Linn.)属铁线蕨科铁线蕨属多年生常绿草本植物。又名美人发、铁线草、扁蓄、石中珠、水猪毛等,其淡绿色薄质叶片搭配着乌黑光亮的叶柄,显得优雅飘逸,它喜阴,适应性强,是室内常见的一种盆栽观赏植物,作为小型盆栽,可置于案头、茶几;较大盆栽可用以布置背阴房间的窗台、过道或客厅,能够长期供人欣赏。繁殖方式主要以分株繁殖和孢子繁殖为主,而常用的孢子繁殖得将成熟后的孢子散落在温暖湿润环境中自行繁殖生长,待其长到一定时再进行盆栽,这样数量有限,繁殖系数不高。该研究尝试采用孢子试管离体培养,以期探索一套铁线蕨孢子离体快繁技术<sup>[1]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

材料取自吉林农业科技学院花卉温室大棚。取铁线蕨含有成熟孢子囊的孢子叶,在花卉组培实验室中将孢子叶切成 1 cm 大小备用<sup>[2]</sup>。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 孢子的处理** 接种前将孢子叶用 0.1% 的升汞(HgCl<sub>2</sub>)溶液浸泡 5 min,蒸馏水冲洗 6~8 次,用消毒过的滤纸吸干水分,分 3 种处理方式切割,A:将 1 cm 大小的孢子叶直接接到培养基上;B:解剖镜下,把孢子囊从孢子叶上分离后接种;C:解剖镜下,将孢子囊分离后,放在小块滤纸上(2 cm 大小),压碎取出孢子,连同滤纸一起接种<sup>[3]</sup>。

**1.2.2 培养过程** 孢子培养阶段:以上切割 3 种方式的孢子分别接种到初代培养基中,初代培养基采用 1/2MS(糖 20 g/L,琼脂 6 g/L)。每种方式接种 50 瓶,观察萌发情况。原叶体增殖阶段:将初代阶段萌发的原叶体团切成 0.5 cm 大小的小块,每块约含 5~8 片叶原体,接种到增殖培养基上,每瓶接种 10 块,增殖培养基采用 10 个配比(表 2),每种配比接种 50 瓶,观察原叶体的增殖萌发情况。孢子体诱导阶段:孢子体诱导分试管内和试管外 2 种方式,试管内诱导方法同原叶体增殖阶段;试管外诱导是将每约 0.5 cm 大小的原叶体分成 10 小块,出瓶移入盆栽基质中,基质采用草炭,每盆移入 20 小块,喷施 4 种不同的诱导剂(表 3),观察诱导情况<sup>[4]</sup>。

**1.2.3 培养条件** 培养室条件:白天温度 25℃,夜间 21℃,散射光,光强 300 lx,光照时间 12 h/d,湿度 80%。试管外移栽条件:温度 20~25℃,散射光,光强 500 lx,遮荫率 60%,覆膜保湿,膜内湿度 100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同孢子处理对孢子萌发的影响

由表 1 可知,不同孢子切割方式对铁线蕨孢子萌发有显著影响,C 处理孢子萌发的时间最早,所用时间最短,能较早的形成原叶体团。在试验观察中,C 处理萌发后的长势也明显优于 A 和 B,平均在第 27 天左右形成的原叶体大小可达 0.3~0.5 cm,54 d 左右时形成的原叶体团大小达 1.5~2.0 cm,而这时 A 和 B 处理瓶中才刚刚开始形成叶原体,另由于 A 和 B 经历时间太长,最后形成了原叶体团,但原叶体团表现松散、发黄、干枯现象。可见在接种时直接从孢子囊中取出孢子比连同孢子囊一起接种效果好。

**第一作者简介:**叶飞(1978-),男,新疆塔城人,讲师,硕士,现主要从事植物离体培养技术研究工作。

**责任作者:**建德锋(1974-),男,河南灵宝人,副教授,硕士,现主要从事园艺植物繁育方面的教学与科研工作。

**收稿日期:**2012-05-02

表 1 不同孢子处理孢子萌发情况

处理方式	孢子萌发时间/d	原叶体形成时间/d	原叶体团形成时间/d
A	45	67	92
B	37	58	89
C	18	27	54

注:以上数据均为 50 瓶的平均数据。

## 2.2 不同培养基对原叶体增殖的影响

对表 2 中的增殖倍数采用新复极差法进行显著性检验,各培养基的增殖率没有明显差异,由表 2 也可知,各培养基的增殖倍数都在 4.5 以上,说明各个培养基配方都可以较快的增殖出大量的原叶体,但采用 6-BA 激素比采用 KT 激素效果好,而不采用任何激素的 MS 配方比采用激素好,增殖倍数达到 5.5。另在实际的增殖中还要考虑到诱导出的原叶体质量,一般密实、生长慢、不平展的原叶体很难用于再次诱导增殖和诱导孢子体,比较看,MS 培养基和添加 0.5 mg/L 6-BA 的 MS 培养基中诱导出的原叶体生长状态最佳。结合增殖倍数,在诱导原叶体增殖过程中,采用不添加任何激素的 MS 培养基效果最好。

表 2 不同培养基上原叶体增殖情况

基本培养基	6-BA /mg · L <sup>-1</sup>	KT /mg · L <sup>-1</sup>	接种数 /个	培养后叶原 体数/个	增殖 倍数	叶原叶 体生长状态
1/2MS	0	0	63	330	5.2	较大,多数平展
MS	0	0	62	342	5.5	大,大多平展
MS	0.5	0	64	341	5.3	大,大多平展
MS	1.0	0	61	318	5.2	大,有些密实
MS	1.5	0	63	317	5.0	大,有些密实
MS	2.0	0	60	302	5.0	生长慢,密实
MS	0	0.5	72	344	4.8	大,少数平展
MS	0	1.0	64	311	4.9	大,少数平展
MS	0	1.5	62	306	4.9	生长慢,疏松
MS	0	2.0	67	307	4.6	较大,疏松

注:以上培养基中均为糖 20 g/L,琼脂 6 g/L,pH 5.8。数据为 50 瓶的平均值,生长状态为 50 瓶的总体状态。

## 2.3 孢子体的诱导情况

2.3.1 试管内诱导状况分析 原叶体能否向孢子体转化,是铁线蕨苗木繁殖的关键,在试管内,从表 2 中的叶原体的生长状态可以看出,MS 培养中添加不同浓度的

6-BA 和 KT,均没有任何叶原体转变为孢子体。可见原叶体向孢子体的转化不适合在试管内进行。

2.3.2 试管外诱导状况分析 由表 3 可知,喷施不同的诱导剂,各盆中均有孢子体形成,但从孢子体的诱导率可以看出,0.1%KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 诱导液的诱导率最大,达到了 90%,其它 3 种均低于 50%,多数没有诱导出孢子体。因此在进行原叶体试管外盆栽诱导时,可在盆中喷施 0.1%KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,可增强原叶体向孢子体的转化。

表 3 不同诱导剂对孢子体试管外诱导状况

诱导液	栽植原叶体数/个	孢子体数/个	孢子体诱导率/%
H <sub>2</sub> O	520	210	40
0.1%KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	510	460	90
Fe 盐	510	120	24
MS	520	180	35

注:Fe 盐为 MS 培养基中的铁盐成分(Na<sub>2</sub> · EDTA 37.3 mg/L + FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 27.8 mg/L);MS 中不添加糖。

## 3 结论与讨论

综上所述,铁线蕨最佳的孢子离体繁殖途径为:把经过消毒灭菌的孢子囊从孢子叶上切下,进行破碎取出孢子后接种到 1/2MS 培养基上,孢子萌发较快,能得到原叶体,然后将萌发后的原叶体接种到 MS 培养基上能得到较大的扩繁速率,经过若干次的扩繁后,可以将获得的大量原叶体移栽到室外盆中,喷施 0.1%KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 诱导剂,加强管理,可促进原叶体向孢子体的转化,再进一步培育,可获得大量的铁线蕨苗木。在该试验中,诱导阶段只采用 1/2MS 1 种配方,只在孢子的切割上进行比较,关于是否有更快诱导的配方没有进行试验,有待于研究,以提高孢子萌发速率。另关于 4 种诱导剂为何诱导率出现大的差异,也有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] 曹春英.花卉栽培[M].北京:中国农业出版社,2010:350.
- [2] 韦三立.花卉组织培养[M].北京:中国林业出版社,2000:90-91.
- [3] 周涛,张启翔.观赏花卉组织培养中外植体材料的选取[J].山东林业科技,2003(1):43-44.
- [4] 顾德峰,李东升,王雷,等.东亚对开蕨离体快繁的研究[J].园艺学报,2008,35(9):1373-1376.

## Study on the Spores Propagation of *Adiantum capillus-veneris* in vitro

YE Fei, JIAN De-feng

(Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin, Jilin 132101)

**Abstract:** The rapid propagation technique of *Adiantum capillus-veneris* by spores culture in vitro were studied. The results showed that the sporangia after disinfected and cut from sporophyll were crushed to remove the spores, which were seeded into the medium of 1/2MS, and the spore germination rate was higher. Using prothallus to be seeded into MS could get larger propagation rate. It was difficult to induce the sporophyte from prothallus in vitro, and using 0.1% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> inducer to induce outside vitro was more suitable for the transformation of prothallus to sporophyte.

**Key words:** *Adiantum capillus-veneris*; spores; medium; rapid propagation in vitro