维普资讯 http://www.cqvip.com

绵马鳞毛蕨的组织培养与植株再生

安晓云，王圣杰，杨烁，姜长阳*
辽宁师范大学生命科学学院，辽宁大连 116029

Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Dryopteris crassirhizoma* Nakai

AN Xiao-Yun, WANG Sheng-Jie, YANG Shuo, JIANG Chang-Yang*
College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116029, China

1 植物名称 绵马鳞毛蕨(*Dryopteris crassirhizoma* Nakai)，又称粗茎鳞毛蕨、野鸡翅膀子。

2 材料类别 嫩叶。

3 培养条件 愈伤组织诱导培养基：(1) 1/2MS+6-BA 0.3 $mg \cdot L^{-1}$ (单位下同)+IBA 0.3+$NH_4H_2PO_3$ 200，(2) 1/2MS+6-BA 0.3+IAA 0.3+$NH_4H_2PO_3$ 200，(3) 1/2MS+6-BA 0.3+NAA 0.3+$NH_4H_2PO_3$ 200，(4) 1/2 MS+6-BA 0.3+2,4-D 0.3+$NH_4H_2PO_3$ 200；愈伤组织分化培养基：(5) 1/2MS；生根培养基：(6) 1/2 MS+IAA 0.1。培养基中均加 15 $g \cdot L^{-1}$ 蔗糖，胨力强度均为 180 $g \cdot cm^2$，pH 5.8~6.0。光照度 20~30 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$，光照时间 10~12 $h \cdot d^{-1}$；培养温度 18~27 ℃。愈伤组织分化培养时的光照度为 40~60 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$，光照时间 10~11 $h \cdot d^{-1}$，培养温度 25 ℃。

4 生长与分化情况

4.1 无菌材料的获得 5月中下旬从辽宁省庄河市仙人洞山林树阴下采集的嫩叶放入 300 mL 的磨口广口瓶中，用自来水冲洗 20 min 后，加入 0.05% 的安利洗涤液振荡洗涤 20 min，再用自来水振荡洗涤 5 次，移至超净台上，用 75% 的乙醇灭菌 10 s 左右后，迅速用无菌水清洗 3 次，接着用 0.02% 的 $HgCl_2$ 溶液振荡灭菌 9 min，再用无菌水振荡清洗 5 次，即获得无菌材料。

4.2 愈伤组织的诱导 将无菌嫩叶剪碎后，接种到培养基(1)~(4)上，进行愈伤组织的诱导培养。接种 70 d 时，尽管表面上的大多数培养材料已近死亡，培养基(1)、(3)、(4)开始形成愈伤组织。培养到 90 d 时，培养基(3)、(4)上的愈伤组织生长速度快、诱导率高，但愈伤组织表面为灰白色疏松状，没有分化能力；在培养基(1)上的为绿色颗粒状，具有分化能力。虽然培养基(1)的诱导率仅有 28%，但继代培养 7 代，30 d 生长速度达到 20 倍左右，且外部保持绿色颗粒状。这说明培养基(1)是诱导绵马鳞毛蕨愈伤组织的理想培养基。

4.3 分化培养 把培养基(1)上继代培养的愈伤组织接种到培养基(5)上进行分化培养(图 1)。培养 30 d，愈伤组织的颗粒就会分化形成绿色的幼叶，分化率为 98% 以上；继续培养 20 d，幼叶长成丛生叶。把丛生叶切成基部具有愈伤组织、3~4 个幼叶的组织块，进行分化继代培养，40 d 又能分化形成丛生叶，分化率为每块 50 个幼叶左右。

4.4 试管苗的生根 将生长旺盛、高 1.5 cm 的丛生叶从基部切开后，接种到培养基(6)上进行生根培养。20 d 左右可形须根，随后根须迅速生长，40 d 时生根率为 89%。继续培养 30 d 左右，生根试管苗就会长出较粗壮的根茎。

4.5 试管苗的移栽 将生有根茎的试管苗培养瓶打开，在 60~80 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 的光照下炼苗 3 d 后取

图 1 绵马鳞毛蕨的分化培养

收稿 2007-03-26 修定 2007-05-29
资助 辽宁师范大学教学改革项目(20050101123)。
* 通讯作者(E-mail：changyangjiang@126.com；Tel：0411-84258983)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

出，马上剪去根茎上的大部分叶子，接着在净水中洗去根部培养基，然后移栽到上层为5~6 cm厚的颗粒炉灰渣、下层为肥沃山皮土的温室内花盆中，在温度20 ℃左右、湿度90%以上和没有直射光的条件下，25 d时根茎上可长出新叶，40 d时成活率为98%。移栽80 d后试管苗的生长非常旺盛，将盆栽成活苗的移植到林阴下，成活率为98%。3个月后，长势与野生的苗基本一致。

5 意义与进展 绵马鳞毛蕨属于鳞毛蕨科鳞毛蕨属多年生草本植物(图2)，生长于混淆林中的阴地上，原产于亚洲，分布于我国东北、华北，在朝鲜、日本及远东地区也有分布。绵马鳞毛蕨具有杀虫、清热、解毒止血等功效，能治风热感冒、温热斑疹、吐血、血痢和便血等疾病，在农业中还可以用根茎粉防治蚜虫和螟虫等害虫。因为过量采集根茎，致使分布和数量都很少的野生资源遭到了严重破坏；而在人工的条件下其孢子又难以萌发成苗，从而影响了栽培和利用。本文结果为人工种植和资源的开发提供了可能途径。迄今，已有鸟巢蕨(*Asplenium nidus*)、铁线蕨(*Adiantum capillus-veneris*)等蕨类植物组织培养的报道(秦廷豪等2004；彭晓明等2004)，但绵马鳞毛蕨组织培养和植株再生的报道尚未见。

图2 绵马鳞毛蕨的植株

参考文献

彭晓明, 曾宋君(2004). 铁线蕨的组织培养及植株再生. 植物生理学通讯, 40 (5): 575

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