

## 槲蕨配子体发育影响因素的初步研究

吴艳芳, 尤敏, 王新胜, 王有为\*

(中国科学院武汉植物园, 武汉 430074)

**摘要:** 主要研究了光照、温度、激素和 pH 值对槲蕨配子体发育的影响。结果表明: 光照强度为 2 500~3 500 lx、温度为 25℃ 以及 pH 值为 7.0~7.5 时最适于槲蕨配子体的生长发育; 激素 6-BA 和 NAA 浓度为 0.5~1.0 mg/L 时有利于槲蕨配子体的增殖和增长。

**关键词:** 槲蕨; 配子体发育; 光照强度; 温度; 激素; pH 值

中图分类号: Q945.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2005)05-0461-03

## Primary Study on Effect Factors for Gametophyte Development of *Drynaria fortunei*

WU Yan-Fang, YOU Min, WANG Xin-Sheng, WANG You-Wei\*

(Wuhan Botanical Garden, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China)

**Abstract:** Effect of the illumination, temperature, hormone and pH was studied on gametophyte development of *Drynaria fortunei*. The results indicated that the optimum illumination and temperature were respectively 2 500—3 500 lx and 25℃, the pH was 7.0—7.5. the hormone 6-BA and NAA could accelerate the growth of gametophyte and the 0.5—1.0 mg/mL concentration was superior.

**Key words:** *Drynaria fortunei*; Gametophyte development; Illumination; Temperature; Hormone; pH value

槲蕨 [*Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm.] 为蕨科槲蕨属植物, 其根茎作为中药骨碎补的主要来源, 具有补肾强骨、续伤止痛之功效。用于治疗肾虚腰痛, 耳鸣耳聋, 牙齿松动, 跌扑闪挫, 筋骨折伤; 外治斑秃, 白癜风等<sup>[1]</sup>。槲蕨主要附生在雨林或季雨林中树干上或石头上, 适生海拔为 100~1 900 m, 是湖北省地道中药材之一。近年来, 随着人们保健意识的增强, 对骨碎补药材的需求量日益增大, 而槲蕨占骨碎补商品药材的 70% 以上, 是当前骨碎补商品的主要来源<sup>[2]</sup>。目前, 国内外对槲蕨的研究主要集中在化学成分、药理以及生药鉴定等方面<sup>[3-16]</sup>, 在生物学特性和栽培繁殖学特性上研究较少, 所以研究槲蕨的繁殖生物学特性是一项非常有意义的工作。

孢子繁殖是扩大蕨类植物繁殖的有效途径之一<sup>[17-19]</sup>。孢子的萌发是孢子繁殖成功的前提, 但即使孢子来源可靠, 每年生长条件相同, 萌发的成功与否也是难以预见的<sup>[20]</sup>。配子体的生长发育是蕨类植

物繁殖的关键, 直接影响到成苗的数量。笔者就光照、温度、激素和 pH 值等因素对槲蕨配子体发育的影响作了初步研究。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

槲蕨采自湖北省五峰土家族自治县, 经中国科学院武汉植物园分类室鉴定。

#### 1.2 方法

##### 1.2.1 孢子的播种

孢子采用当年和保存一年的两种。11 月份, 当槲蕨孢子黄色变为黄褐色时, 采集背面有孢子囊的槲蕨叶片, 置于牛皮纸信封, 风干后保存于 4℃ 冰箱, 备用。

将火渣土过 24 目筛, 大颗粒的土垫于盆底, 过筛后的细土置于盆表, 约 4~5 cm 厚, 稍压实, 然后在 120℃ 左右灭菌 1 h, 取出冷却, 用冷开水渗透, 备用。

收稿日期: 2005-04-28, 修回日期: 2005-05-23。

基金项目: 湖北省科技攻关课题(2003AA302B03)。

作者简介: 吴艳芳(1977—), 女, 在读硕士, 从事药用植物学研究。

\* 通讯作者。

取约 30 mg 榧蕨孢子囊到 50 mL 三角瓶中,加入灭菌的玻璃珠 20~30 颗和适量的蒸馏水,充分振荡,制成榧蕨孢子悬浊液,转入喷壶中,均匀喷洒到灭菌后的盆土表面,盖上平玻璃,然后放在加水的垫盘上,以保持盆土湿度,在光照强度 2 500 lx、光照时间 8 h 和室温为  $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$  的条件下培养。

### 1.2.2 实验和数据处理方法

孢子约 45 h 后萌发,肉眼可见绿色丝状体。保存一年的孢子比当年采收的孢子约晚 1 周萌发。当配子体宽度长到 0.3 cm 左右时(需 6 个月以上),按照株行距 1 cm $\times$ 1 cm 移栽到盛有沙子的培养皿中(沙子和培养皿都已消毒),每个培养皿移栽 15 株。移栽 1 周后,进行实验处理。实验分光照强度组、温度组、激素组和 pH 组,每组根据预实验情况设不同处理,每个处理设 3 个重复。光照强度分为 800 以下、800~1 500、1 500~2 500、2 500~3 500 lx;温度分为 15 $^{\circ}\text{C}$ 、25 $^{\circ}\text{C}$ 、30 $^{\circ}\text{C}$  和室外变温;激素 6-BA、NAA 的浓度分为 0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L;pH 值分为 6.5、7.0、7.5、8.0。

移栽第 2 周开始实验处理,每周观察记录配子体的生长情况,并分别选 5 株配子体,用游标卡尺测量其宽度。以每周配子体宽度相对第一次测得配子体宽度的净增长量为指标,以时间为横坐标,榧蕨配子体宽度的净增长量为纵坐标作曲线,同时结合配子体颜色和假根生成多少,比较各个实验处理对榧蕨配子体生长发育的影响情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 光照强度对榧蕨配子体发育的影响

移栽 2 周后,2 500~3 500 lx 组榧蕨的配子体生长明显;3 周后可以明显观察到其生长速度较其它组都快,有大量的假根生成,整个配子体背面几乎都是假根;在 4~5 周后,2 500~3 500 lx 组配子体的颜色呈深绿色,800~1 500 lx、1 500~2 500 lx 组的配子体呈绿色,有假根生成,800 lx 组的呈浅绿色,生长较慢(见图 1)。以上实验表明,在 2 500~3 500 lx 光照条件下榧蕨的配子体生长最好,该结果与榧蕨生长在野外散射光充足的地方较符合。

### 2.2 温度对榧蕨配子体发育的影响

移栽 2 周后,25 $^{\circ}\text{C}$  组的榧蕨配子体生长比较明显,呈深绿色,且有较多的假根生成;室外变温组的颜色呈较浅绿色,有很少的假根生成;15 $^{\circ}\text{C}$  组的配子体生长较好。3 周后,25 $^{\circ}\text{C}$  组的榧蕨配子体生长比其它 3 组快,但彼此之间增长幅度都不大(见图 2)。

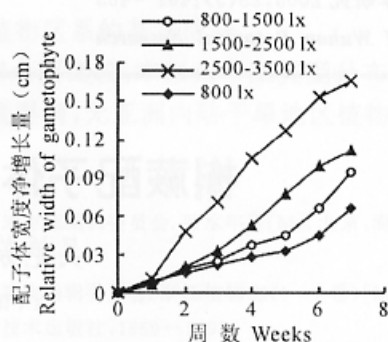


图 1 光照强度对榧蕨配子体发育的影响  
Fig. 1 Effect of the different illumination on gametophyte development

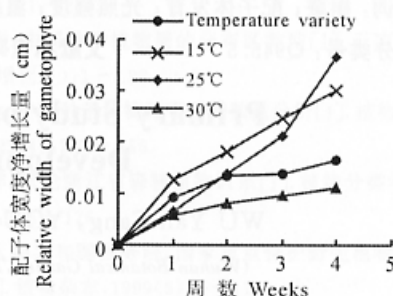


图 2 温度对榧蕨配子体发育的影响  
Fig. 2 Effect of different temperature on gametophyte development

### 2.3 激素对榧蕨配子体发育的影响

移栽 4 周后明显看到配子体基部生出许多棕色不定根。6-BA、NAA 处理的低浓度组中榧蕨配子体增长速度比高浓度组快,配子体明显增宽很多,颜色呈鲜绿色。高浓度组中榧蕨配子体分生出较多新配子体附着在其边缘。不同浓度激素处理对配子体增长的影响见图 3、图 4。

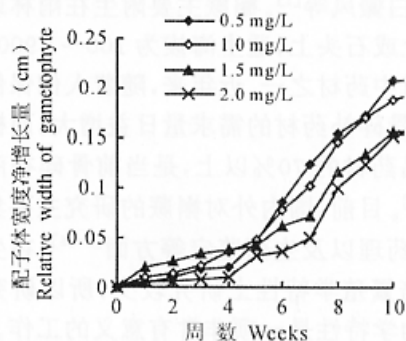


图 3 不同浓度 6-BA 对榧蕨配子体发育的影响  
Fig. 3 Effect of different concentration of 6-BA on gametophyte development

### 2.4 pH 值对榧蕨配子体发育的影响

4 周后,pH 8.5 组的配子体部分有分生出新配子体的现象,并且颜色较前 4 个处理浅,呈浅绿色。pH 7.5 和 pH 7.0 组的配子体生长速度较快,颜色呈深绿色,假根生成较多。结果见图 5。

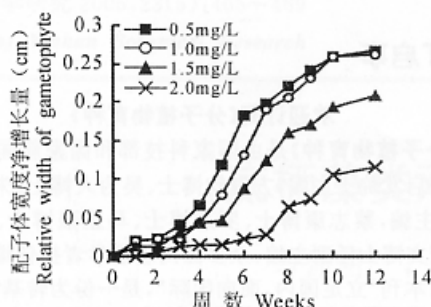


图4 不同浓度NAA对槲蕨配子体发育的影响  
Fig. 4 Effect of different concentration of NAA on gametophyte development

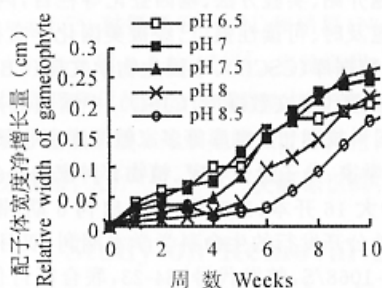


图5 不同pH对槲蕨配子体发育的影响  
Fig. 5 Effect of different concentration of pH on gametophyte development

### 3 讨论

实验表明, 槲蕨配子体在 2 500~3 500 lx 的光照强度和 25℃ 的条件下, 生长速度较快, 发育良好, 颜色呈深绿色, 为其最适生长光照强度和温度。不同 pH 值对配子体发育影响的实验表明, 槲蕨适生土壤的 pH 为 7.0~7.5。在自然生境下, 槲蕨一般附生在光照强度 2 000~11 000 lx 的石灰岩壁上和河谷路边的树上, 孢子体的肉质根茎非常耐旱, 对温度, 光照等条件的要求相对宽松, 而配子体相对较弱, 对生境的要求比较严格, 具体机理还需进一步研究。

预实验时, 激素 6-BA 和 NAA 处理组的槲蕨配子体生长速度明显高于对照组, 说明激素 6-BA、NAA 对槲蕨配子体的生长都有促进作用。从实验情况来看, 在实验选择的浓度范围内, 低浓度激素明显有利于配子体的增长, 高浓度激素可以促进配子体的分生, 得到数量较多的配子体。此结果对槲蕨的组织培养具有一定意义, 是否可以利用激素在短时间内获得大量的配子体是一个值得研究的课题。

槲蕨作为中药骨碎补的主要基源植物, 目前完全来源于野生资源, 且骨碎补药材来源品种混乱, 如中华槲蕨、团叶槲蕨、光叶槲蕨等, 商品收购十分混乱, 加上野生资源比较分散, 不易收集, 因此很有必要进行人工栽培。人工孢子繁殖系数高、生长速度

快, 对槲蕨的人工栽培、扩大种源、大面积栽培有十分重要的意义。目前, 国内外对槲蕨的生物学特性研究几乎为空白, 本实验只是在槲蕨孢子萌发的基础上, 对配子体发育影响的几个因素作了初步的探讨, 在以后的工作中, 还需要对槲蕨繁殖生物学方面深入研究。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(2000年版一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 209.
- [2] 周铜水, 周荣汉. 骨碎补类生药商品调查和性状鉴定研究[J]. 中国中药杂志, 1993, 18(12): 710-712.
- [3] 刘振雨, 吕爱平, 张秋海, 张玲. 骨碎补脂溶性成分的研究[J]. 中草药, 1999, 24(4): 222-223.
- [4] 刘振雨, 张玲, 张秋海, 丁家欣. 骨碎补挥发油成分分析[J]. 中国药材, 1998, 21(3): 135-136.
- [5] 赵湘洪. 骨碎补对实验性骨性关节炎的治疗作用[J]. 中药通报, 1987, 12(10): 617.
- [6] 董福慧, 郑军, 程伟. 骨碎补对骨愈合过程中相关因素表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(7): 518-521.
- [7] 周富荣, 张小茜. 3种骨碎补的品质评价研究[J]. 中国中药杂志, 1994, 19(5): 261-263.
- [8] 周铜水, 周荣汉. 骨碎补类生药显微鉴定研究 I. 根茎横切面组织构造[J]. 中国药科大学学报, 1992, 23(5): 263-268.
- [9] Chang E J, Lee W J, Cho S H. Proliferative effects of flavan-3-ols and propylgallate on MCF-7 and osteoblastic cells[J]. Arch Pharm Res, 2003, 26(8): 620-630.
- [10] 周铜水, 刘晓东, 周荣芳. 骨碎补对大鼠实验性骨折愈合的影响[J]. 中草药, 1994, 25(5): 249-250.
- [11] Sun J S, Lin C Y, Dong G C, Sheu S Y, Lin F H, Chen L T, Wang Y J. The effect of GU-SUI-BU (*Drynaria fortunei* J. Sm.) on bone cell activities[J]. Biomaterials, 2002, 23(16): 3377-3385.
- [12] Liu H C, Chen R M, Jian W C, Lin Y L. Cytotoxic and antioxidant effect of the water extract of the traditional Chinese herb gusuibu (*Drynaria fortunei*) on rat osteoblasts[J]. J Formos Med Assoc, 2001, 100(6): 383-388.
- [13] Sun J S, Dong G C, Lin C Y, Sheu S Y, Lin F H, Chen L T, Chang W H, Wang Y J. The effect of Gu-Sui-Bu (*Drynaria fortunei* J. Sm.) immobilized modified calcium hydrogen-phosphate on bone cell activities[J]. Biomaterials, 2003, 24(5): 873-882.
- [14] 王维信, 王敦格. 骨碎补双氢黄酮苷对心血管系统的作用[J]. 药学通报, 1984, 1(2): 55.
- [15] 戴小牛, 董素琴, 贾淑萍, 陶艳梅. 骨碎补对链霉素耳毒性解毒作用的实验研究[J]. 南京铁道医学院学报, 2000, 19(4): 248-249.
- [16] Yang T H, Lee Y C, Chun H N. 槲蕨的成分[J]. 台湾药学杂志, 1966, 18(1): 38-40.
- [17] 董丽. 荚果蕨 *Matteuccia struthiopteris* Todaro 孢子繁殖的研究[J]. 园艺学报, 1994, 20(3): 274-278.
- [18] 张德明, 陈立如. 几种蕨类植物配子体生长发育过程观察[J]. 植物杂志, 1991, 18(5): 1-3.
- [19] 郝丽珍. 蕨类人工繁殖技术[A]. 见: 韩振海, 黄卫东, 许雪峰编. 中国科学技术协会第二届青年学术年会园艺学论文集[C]. 北京: 北京农业大学出版社, 1994. 69-72.
- [20] 郝丽珍, 邓俊玲, 皇甫武威, 王建忠, 王萍. 蕨类孢子萌发及生育进程与诸因素关系研究[J]. 内蒙古农牧学院学报, 1998, 19(2): 75-80.