

# 影响珍稀濒危植物荷叶铁线蕨孢子培养的环境因素研究

## Study on the Environment Factors Affecting Spores Culture of Rare and Endangered Plant *Adiantum nelumboides*

李莉  
LI Li

(上海辰山植物园, 城市园艺技术研发与推广中心, 上海 201600)  
(Urban Horticulture Research and Extension Center, Shanghai Chenshan Botanical Garden, Shanghai, China, 201602)

文章编号: 1000-0283(2022)05-0134-008  
DOI: 10.12193/j.laing.2022.05.0134.017  
中图分类号: TU986  
文献标志码: A  
收稿日期: 2022-01-12  
修回日期: 2022-03-17

### 摘要

荷叶铁线蕨 (*Adiantum nelumboides* X. C. Zhang) 为仅分布于中国三峡库区的特有珍稀濒危蕨类植物, 其野外种群资源日趋减少, 已被列为国家一级重点保护野生植物。荷叶铁线蕨的繁殖方式主要有分株繁殖和孢子繁殖两种, 孢子繁殖因其繁殖效率高而更有优势。为了为迁地保育提供技术依据, 需要对孢子繁殖所需的环境因素进行标准化, 确定繁殖效率最高的孢子培养条件。根据栽培过程中需要控制的各种环境因素进行单因子控制对比试验, 确定包括基质、温度、光照、播种密度、孢子贮藏时间及孢子消毒与否等环境因素的最佳条件, 并探讨孢子繁殖的技术要点, 为荷叶铁线蕨的繁殖、保护和资源利用提供科学依据。结果表明, 荷叶铁线蕨孢子为需光萌发, 孢子萌发和配子体发育、幼孢子体生长最适宜的环境条件为: 基质草炭: 蛭石=1:1, 温度25℃, 日光灯光照强度3 000 lux, 播种密度25 pcs/cm<sup>2</sup>, 贮藏时间1 m最佳, 孢子不必要消毒。研究给出了荷叶铁线蕨孢子繁殖的最佳环境条件, 通过孢子繁殖可以获得大量的有性繁殖个体, 为荷叶铁线蕨的保育提供技术标准。

### 关键词

珍稀濒危植物; 荷叶铁线蕨; 孢子培养; 环境因素

### Abstract

*Adiantum nelumboides* is a rare and endangered fern that is only distributed in China's Three Gorges Reservoir area. Its wild population has decreased, and it has been listed as the national first-level essential protection plant. Propagating by shoot division or spore is the primary propagation method of *Adiantum nelumboides*, and spore propagation is more advantageous because of its high reproductive efficiency. To provide the technical basis for ex-situ conservation, it is necessary to standardize the environmental factors required for spore reproduction and determine the spore culture conditions with the highest reproductive efficiency. To understand the effects of various factors on the culture of *Adiantum nelumboides*, we adopt spore culture to study the effects of substrate, temperature, illumination intensity, sowing density, spore storage time, and spore disinfection, which can provide a scientific basis for conservation and resource utilization. The results showed that spore germination needs light. The most suitable environmental conditions for spore germination, gametophyte development, and young saprophyte growth were as follows: the substrate was peat: vermiculite=1:1, the temperature was 25℃, the illumination intensity of fluorescent lamp was 3 000 lux, sowing density was 25 pcs/cm<sup>2</sup>, spore storage time was 1 m and not need to be disinfected. This study provides the best environmental conditions for the spore culture of *Adiantum nelumboides*. Through spore propagation, many sexual reproduction individuals can be obtained, which provides technical standards for the conservation of *Adiantum nelumboides*.

### Keywords

rare and endangered plant; *Adiantum nelumboides*; spore culture; environment factors

李莉

1984年生/女/上海人/绿化工程师/研究方向为秋海棠科、球兰属、蕨类植物资源收集及保育

### 基金项目:

上海市绿化和市容管理局科学技术项目“重金属富集草本石油植物的筛选及应用研究”(编号: G222408); 上海市绿化和市容管理局科学技术项目“荷叶铁线蕨、彩叶凤梨、猪笼草3类室内观赏植物栽培繁殖技术规程标准化研究”(编号: G182414)

荷叶铁线蕨 (*Adiantum nelumboides* X. C. Zhang), 又名“荷叶金钱草”, 为凤尾蕨科 (Pteridaceae) 书带蕨亚科 (Vittarioideae) 铁线蕨属 (*Adiantum*) 的常绿植物, 是一个独立的物种<sup>[1-4]</sup>, 为亚洲铁线蕨属植物中唯一的单叶型植物, 因叶片类似于荷叶而得名 (图1)。1978年首次发现于中国四川省万县 (现重庆市万州区)<sup>[5]</sup>, 作为三峡地区的特有植物之一, 仅分布于重庆市万州区和石柱县的局部河谷地段, 为中国特有珍稀濒危蕨类植物, 2021年被列入新发布的《国家重点保护野生植物名录》中, 保护级别为I级<sup>[6]</sup>。依据国际自然保护联盟 (The International Union for Conservation of Nature, IUCN) 标准, 荷叶铁线蕨受威胁等级被评估为极危 (Critically Endangered, CR)<sup>[7]</sup>。研究表明, 在过去近30年中, 荷叶铁线蕨几乎遭受灭绝性的破坏, 一方面由于荷叶铁线蕨的药用价值而遭到过度非法采集, 野外资源大量减少; 另一方面由于三峡工程的建设, 修建水库后水位上升, 加上周边配套公路、住房等的修建, 导致荷叶铁线蕨原生境的栖息地被破坏和片段化, 野外种群数量急剧减少而面临野外灭绝的风险<sup>[8-9]</sup>。因此人工繁育已成为挽救及保护荷叶铁线蕨的重要措施。

在自然环境中, 荷叶铁线蕨主要有无性繁殖 (根状茎萌蘖) 和有性繁殖 (孢子繁殖) 两种方式。人工繁育除了利用根状茎萌蘖进行分株繁殖和利用孢子萌发进行孢子繁殖之外, 还可以利用无菌培养和组培技术进行快速繁殖。分株繁殖只需在根部进行人工分离, 操作简便, 成活率较高<sup>[10]</sup>, 但繁殖效率不高。无菌培养和组培技术结合可以利用孢子产生的配子体进行大量扩繁<sup>[11]</sup>, 但由于无菌培养需要专业的技术和条件, 组培产生的配子体适应力差等原因而不具备生产价值。孢子繁殖属于模仿自然的有性繁殖过程, 利用



图1 荷叶铁线蕨的形态特征  
Fig. 1 The morphological characteristics of *Adiantum nelumboides*

容易获取的大量孢子在基质材料中萌发, 产生原叶体、受精、产生幼孢子体的过程, 最终得到成熟个体<sup>[12-14]</sup>。这种繁殖方式一方面成本较低、效率较高, 另一方面属于有性生殖而不容易出现种群退化的现象。

孢子繁殖技术是蕨类植物快速扩繁的重要手段, 荷叶铁线蕨的孢子繁殖也受到了较多的关注。徐慧珠等<sup>[12]</sup>第一次提出利用孢子繁殖技术来扩繁荷叶铁线蕨, 并通过实验研究确定孢子繁殖的繁殖周期随光温条件而变化, 从播种到出现孢子体幼苗最短只需110 d左右。潘丽等<sup>[13]</sup>通过孢子的不同贮藏时间与培养条件对配子体和孢子体形成的影响研究发现, 在室温下保存5年以上依然具有活力。张祖荣等<sup>[14]</sup>通过对比实验发现, 在保证水分的条件下, 无菌环境、白天光照和自然变温可以获得更好的繁殖效率。但上述研究都没有系统给出完整外部环境因素的最佳

条件, 开展荷叶铁线蕨孢子繁殖环境因素研究成为繁育体系标准化的基础。

本研究在前人研究和预实验的基础上摸索了一批环境变量的最佳条件, 同时为了便于实验开展, 最终的可控条件将温度调整为室温 (20 ~ 25℃)、孢子选择不消毒作为单因素对比实验的受控条件。在受控条件一致的情况下, 通过单因子对比试验, 逐一探讨了不同基质、温度、光照条件、播种密度、孢子贮藏时间及孢子消毒与否等各环境因素对荷叶铁线蕨孢子繁殖的影响, 以期为该种建立繁殖体系、种质资源保护提供科学理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 孢子的采集保存

荷叶铁线蕨孢子采集于重庆市万州区石柱县, 经干燥后保存, 播种至上海辰山植物

园保种温室，成苗后取其新产生的孢子作为实验材料。采集孢子时，将成熟的孢子叶剪下放入自制硫酸纸带中，置于封口袋中，使用变色硅胶干燥7~10 d。孢子可自然脱落。收集孢子时，轻轻拍打硫酸纸袋使孢子充分脱落，移至干净的硫酸纸上去除叶片及孢子囊群盖，再将孢子收集于离心管内，放置于4℃冰箱保存。

### 1.2 孢子消毒与定量播种方法

孢子的消毒方法参照徐艳等<sup>[15]</sup>关于江南星蕨配子体形态发育的研究中使用的方法，取适量成熟孢子置于1.5 ml离心管中，加入5%NaClO水溶液1 ml消毒5 min，离心5 min，沉淀用无菌水冲洗5遍。

采集的孢子适量置于50 ml离心管中，用移液枪精确滴加适量无菌水，制成孢子悬浊液，用血球计数板进行检测，制成高浓度的孢子母液，用移液枪精确取适量进行无菌水稀释，按照播种基质面积及所需孢子数量，最终制成浓度为25 pcs/cm<sup>2</sup>水溶液。

### 1.3 播种方法与盆器选择

前期研究对于盆器的选择没有特殊要求，郭治友<sup>[16]</sup>在进行金毛狗孢子繁殖研究中选择紫砂花盆作为盆器，并用保鲜膜进行保湿处理；周淑香等<sup>[17]</sup>在进行巢蕨孢子繁殖及栽培技术研究中选用苗床作为盆器，盖上透明玻璃保湿；岳晓晶等<sup>[18]</sup>在对开蕨繁殖技术研究时选用圆形塑料盆作为盆器；孙起梦<sup>[19]</sup>对几种蕨类植物的孢子繁殖试验研究中运用瓦盆作为栽培盆器。可见盆器对孢子繁殖的影响不大，只要能够保持足够的湿度即可。

结合理论及实践经验，最终选用三件套式播种盒。该播种盒主要分为三个部分：盒身（无洞）、厚1~2 cm的保水棉、透明盖。

盒身为主要的孢子播种盆器，保水棉以上还需要加入播种基质，透明盖主要用于保湿和透光。

播种时将所需基质用网孔直径为2 mm的细筛筛出细壤，121℃灭菌锅20 min。将灭菌后的基质放入三件套式播种盒内，使基质平整，基质厚度为3 cm，基质浸润，将稀释好的孢子水溶液均匀播撒于基质表面，并用透明盖盖住即可。

### 1.4 孢子培养

结合前人对于孢子繁殖方法，经过前期反复验证实验，在可控制条件下分别对栽培基质、温度、光照强度、播种密度、孢子贮藏时间及孢子消毒与否进行单因素对比培养实验，每个因子均设5组重复。

(1) 栽培基质。选用孢子贮藏时间为1 m，在播种密度为25 pcs/cm<sup>2</sup>，环境室温控制在20~25℃，置于12 h/d光照，光照强度为3 000 lux条件下培养。共设置8个基质对比。各基质见表1。

(2) 温度对比实验。选用孢子贮藏时间为1 m。基质为草炭:蛭石=1:1(高温消毒)，在播种密度为25 pcs/cm<sup>2</sup>，置于12 h/d光照，光照强度为3 000 lux条件下培养，温度

分别设置为15℃、20℃、25℃、30℃、室温20~25℃，共5个对比。

(3) 光照强度对比实验。选用孢子贮藏时间为1 m，基质为草炭:蛭石=1:1(高温消毒)，在播种密度为25 pcs/cm<sup>2</sup>，环境室温控制在20~25℃，置于12 h/d光照条件下培养，光照强度分别设置为0 lux(暗环境)、1 000 lux、2 000 lux、3 000 lux、5 000 lux、10 000 lux、15 000 lux共7个对比。

(4) 播种密度对比实验。选用孢子贮藏时间为1 m，基质为草炭:蛭石=1:1(高温消毒)，环境室温控制在20~25℃，置于12 h/d光照，光照强度为3 000 lux条件下培养，播种密度分别设置为：5 pcs/cm<sup>2</sup>、10 pcs/cm<sup>2</sup>、15 pcs/cm<sup>2</sup>、25 pcs/cm<sup>2</sup>、35 pcs/cm<sup>2</sup>、50 pcs/cm<sup>2</sup>、65 pcs/cm<sup>2</sup>、80 pcs/cm<sup>2</sup>、100 pcs/cm<sup>2</sup>、120 pcs/cm<sup>2</sup>，共10个对比。

(5) 孢子贮藏时间对比实验。选用基质为草炭:蛭石=1:1(高温消毒)，在播种密度为25 pcs/cm<sup>2</sup>，环境室温控制在20~25℃，置于12 h/d光照，光照强度为3 000 lux条件下培养，孢子贮藏时间分别设置为1 m、3 m、1 y、2 y、5 y，共5个对比。

(6) 孢子消毒与否对比实验。选用孢子贮藏时间为1 m，基质为草炭:蛭石=1:1(高

表1 栽培基质明细  
Tab. 1 Details of culture substrate

名称 Name	基质配比 Substrate composition
基质1号	草炭:蛭石=1:1(高温消毒)
基质2号	草炭:蛭石:腐叶土=1:1:1(高温消毒)
基质3号	草炭:蛭石:赤玉土=1:1:1:1(高温消毒)
基质4号	草炭:蛭石:腐叶土:赤玉土=1:1:1:1(高温消毒)
基质5号	草炭:蛭石=1:1(未消毒)
基质6号	草炭:蛭石:腐叶土=1:1:1(未消毒)
基质7号	草炭:蛭石:赤玉土=1:1:1:1(未消毒)
基质8号	草炭:蛭石:腐叶土:赤玉土=1:1:1:1(未消毒)

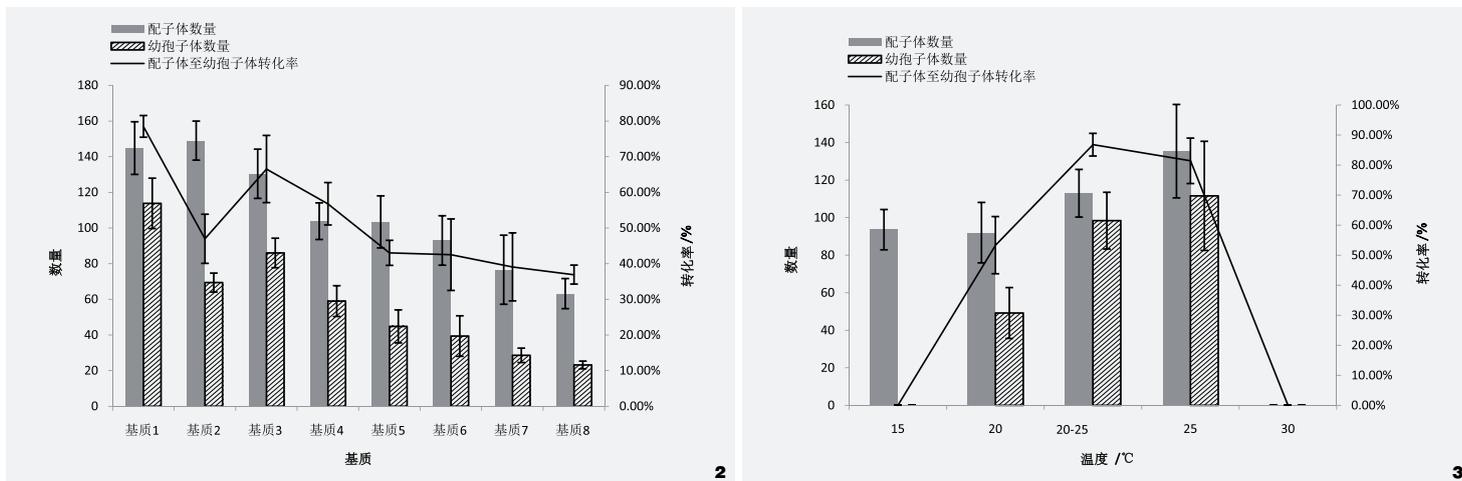
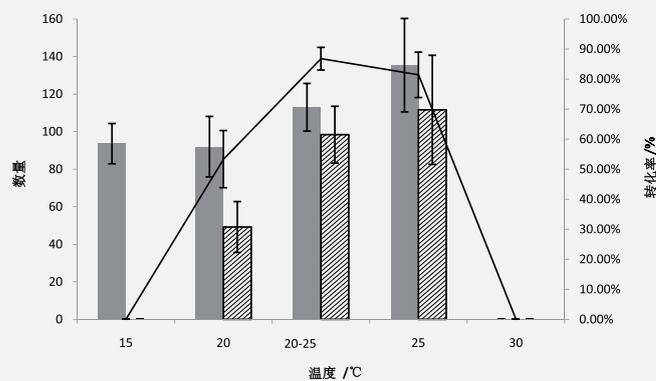


图2 栽培基质对配子体、幼孢子体发育的影响  
Fig. 2 Effect of culture substrate on the development of gametophyte and young sporophyte

图3 温度对配子体、幼孢子体发育的影响  
Fig. 3 Effect of temperature on the development of gametophyte and young sporophyte



温消毒), 在播种密度为25 pcs/cm<sup>2</sup>, 环境室温控制在20~25℃, 置于12 h/d光照, 光照强度为3 000 lux条件下培养, 孢子消毒及未消毒处理。

(7) 观察记录与数据统计。播种3 d后进行定时观察, 测量、拍照记录配子体的萌发、发育、孢子体萌发情况, 具体记录(播种时间、配子体萌发的天数、配子体萌发的数量、配子体萌发率、孢子体萌发的天数、孢子体萌发的数量、孢子体萌发率、配子体到幼孢子体的转化率等)。将5个重复进行统计, 计平均值。所有数据用统计软件SPSS20.0在P=0.05水平上进行单因素方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 栽培基质对荷叶铁线蕨孢子繁殖的影响

从图2、表2可见, 荷叶铁线蕨在选用孢子贮藏时间为1 m, 在播种密度为25 pcs/cm<sup>2</sup>, 环境室温控制在20~25℃, 置于12 h/d光照, 光照强度为2 000~3 000 lux条件下, 基质1、2、3配子体萌发数量较高, 基质1配子体转化

成幼孢子体转化率最高、幼孢子体萌发数量上最多。各基质在配子体萌发时间差异性不显著, 基质1在幼孢子体萌发时间最短。综上, 基质1, 即草炭:蛭石=1:1(高温消毒), 为荷叶铁线蕨孢子繁殖的适宜基质。

### 2.2 温度对荷叶铁线蕨孢子繁殖的影响

从图3、表3可见, 选用孢子贮藏时间为1 m, 基质为草炭:蛭石=1:1(高温消毒), 在播种密度为25 pcs/cm<sup>2</sup>, 置于12 h/d光照,

光照强度为3 000 lux条件下, 温度条件15℃、30℃条件下未能产生幼孢子体, 20℃、25℃及室温20~25℃均产生了幼孢子体, 在配子体及幼孢子体萌发时间上, 三者无显著性差异。25℃在配子体数量及幼孢子体数量最多, 转化率最高。25℃及室温20~25℃条件下, 配子体及幼孢子体萌发时间差异性不显著。25℃在孢子繁殖最终目标即幼孢子体数量为最多。从人工成本及设施设备考虑, 室温20~25℃是可接受的条件选择。

表2 栽培基质对配子体、幼孢子体萌发时间的影响  
Tab. 2 Effect of culture substrate on the germination time of gametophyte and young sporophyte

基质 Culture substrate	配子体萌发最早时间/d The earliest time of gametophyte germination	幼孢子体最早萌发时间/d The earliest time of young sporophyte germination
1	43.6 ± 5.81a	116.4 ± 9.34a
2	42.8 ± 2.68a	138.6 ± 6.15bc
3	42.2 ± 1.64a	130.4 ± 6.66abc
4	43.4 ± 1.34a	136.2 ± 12.24bc
5	42.8 ± 1.64a	125.0 ± 9.82abc
6	44.8 ± 5.36a	123.0 ± 5.61ab
7	42.8 ± 1.64a	132.4 ± 12.14abc
8	42.2 ± 1.64a	141.6 ± 7.57c

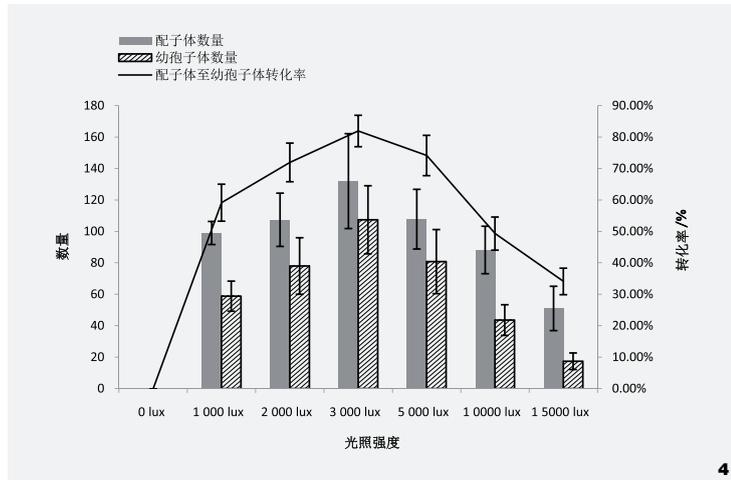


图4 光照强度对配子体、幼孢子体发育的影响  
Fig. 4 Effect of illumination intensity on the development of gametophyte and young sporophyte

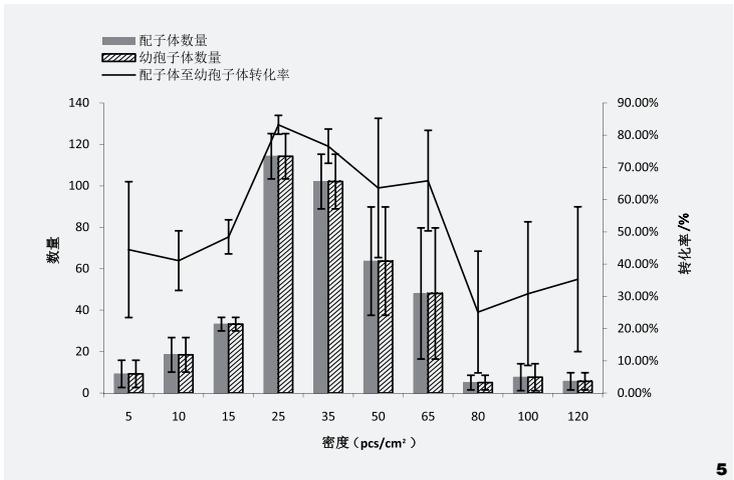


图5 密度对配子体、幼孢子体发育的影响  
Fig. 5 Effect of density on the development of gametophyte and young sporophyte

### 2.3 光照强度对荷叶铁线蕨孢子繁殖的影响

从图4、表4可见，选用孢子贮藏时间为1 m，基质为草炭：蛭石=1：1（高温消毒），在播种密度为25 pcs/cm<sup>2</sup>，环境室温控制在20～25℃，置于12 h/d光照条件下，3000 lux条件下，配子体的最早萌发时间次于2000 lux，幼孢子体的最早萌发时间为最短。在幼孢子体萌发的时间、配子体及幼孢子体萌发数量都高于其他光照条件，同时配子体转化成幼孢子体的转化率也是最高，差异显著。综上，3000 lux为荷叶铁线蕨孢子萌发最佳

光照条件。

### 2.4 播种密度对荷叶铁线蕨孢子繁殖的影响

从图5、表5可见，选用孢子贮藏时间为1 m，基质为草炭：蛭石=1：1（高温消毒），环境室温控制在20～25℃，置于12 h/d光照，光照强度为3000 lux条件下，播种密度为25 pcs/cm<sup>2</sup>在配子体萌发时间、配子体及幼孢子体萌发数量，转化率均最高，在统计学上存在显著差异。因此播种密度25 pcs/cm<sup>2</sup>为最佳密度条件。

### 2.5 孢子贮藏时间对荷叶铁线蕨孢子繁殖的影响

从图6、表6可见，选用基质为草炭：蛭石=1：1（高温消毒），在播种密度为25 pcs/cm<sup>2</sup>，环境室温控制在20～25℃，置于12 h/d光照，光照强度为3000 lux条件下，随着孢子贮藏时间的递增，在配子体及幼孢子体的萌发时间逐渐增加，在配子体、幼孢子体数量及转化率各方面均逐渐降低。因此贮藏时间对孢子体活性有直接的影响，时间越短，孢子活性越强。在本研究对比中时间最短的1 m最佳。

表3 温度对配子体、幼孢子体萌发时间的影响

Tab. 3 Effect of temperature on the germination time of gametophyte and young sporophyte

温度/℃ Temperature	配子体萌发最早时间/d The earliest time of gametophyte germination	幼孢子体最早萌发时间/d The earliest time of young sporophyte germination
15	46.0±2.12a	∞
20	36.4±3.29b	107.2±5.45a
25	31.0±2.12c	93.4±4.45b
30	∞	∞
20~25	36.4±3.91b	94.6±49.56b

注：∞表示配子体，幼孢子体完全没有萌发。

### 2.6 孢子消毒与否对荷叶铁线蕨孢子繁殖的影响

从图7、表7可见，选用孢子贮藏时间为1 m，基质为草炭：蛭石=1：1（高温消毒），在播种密度为25 pcs/cm<sup>2</sup>，环境室温控制在20～25℃，置于12 h/d光照，光照强度为3000 lux条件下，孢子消毒与否在各方面的优势度不明显，在统计学上无显著性差异。综上，孢子消毒与否并非荷叶铁线蕨孢

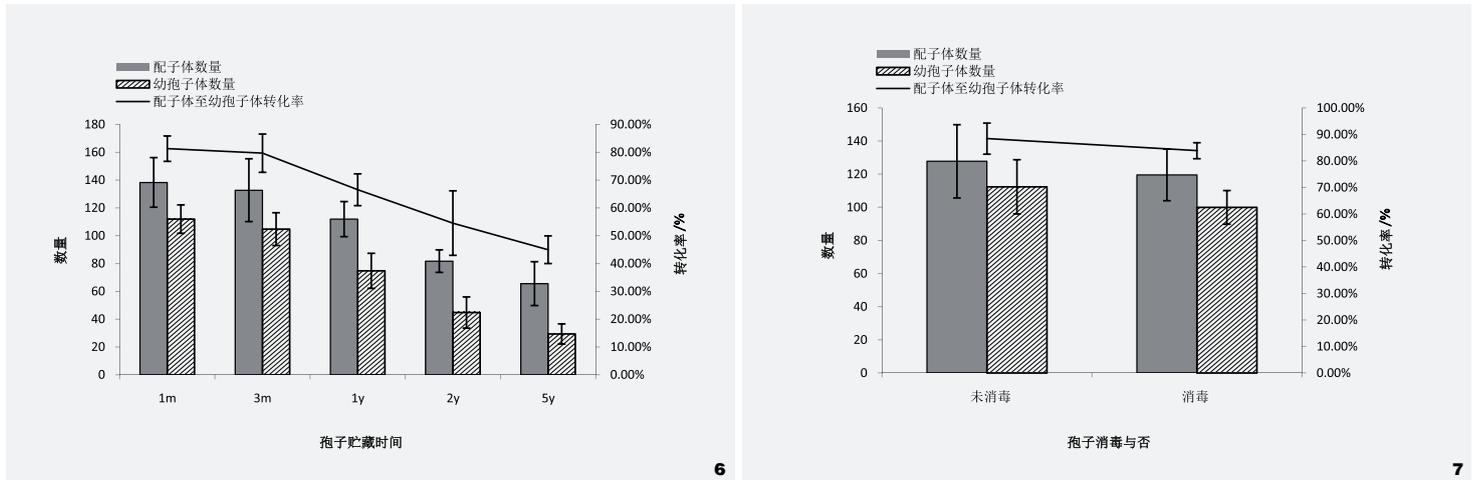


图6 孢子贮藏时间对配子体、幼孢子体发育的影响  
Fig. 6 Effect of spore storage time on the development of gametophyte and young sporophyte

图7 孢子消毒与否对配子体、幼孢子体发育的影响  
Fig. 7 Effect of spore disinfection or not on the development of gametophyte and young sporophyte

表4 光照强度对配子体、幼孢子体萌发时间的影响  
Tab. 4 Effect of illumination intensity on the germination time of gametophyte and young sporophyte

光照强度/lux Light intensiey	配子体萌发最早时间/d The earliest time of gametophyte germination	幼孢子体最早萌发时间/d The earliest time of young sporophyte germination
暗环境	0	0
1 000	44.4 ± 4.77a	103.6 ± 5.77c
2 000	34.6 ± 3.91a	91.6 ± 2.51a
3 000	35.2 ± 6.57a	87.4 ± 3.91a
5 000	37.0 ± 3.67a	98.8 ± 7.22bc
10 000	40.6 ± 6.50a	102.4 ± 6.50bc
15 000	39.4 ± 3.91a	109.2 ± 5.89c

表5 密度对配子体、幼孢子体萌发时间的影响  
Tab. 5 Effect of density on the germination time of gametophyte and young sporophyte

密度/ (pcs/cm <sup>2</sup> ) Density	配子体萌发最早时间/d The earliest time of gametophyte germination	幼孢子体最早萌发时间/d The earliest time of young sporophyte germination
5	52.6 ± 5.37ab	116.2 ± 7.53cde
10	56.8 ± 3.42bc	110.8 ± 9.39cde
15	54.4 ± 7.47bc	118.6 ± 4.93de
25	41.8 ± 1.64a	94.6 ± 4.93ab
35	43.0 ± 3.00a	91.0 ± 3.67a
50	52.0 ± 7.04ab	104.2 ± 4.55abc
65	66.4 ± 7.47d	105.4 ± 10.04bcd
80	61.6 ± 3.91bcd	111.4 ± 7.77cde
100	64.0 ± 4.74cd	121.0 ± 3.67e
120	62.2 ± 3.42bcd	119.8 ± 4.55e

子繁殖的技术要点。从人工成本及设施设备考虑，不消毒即可。

### 2.7 栽培养护管理

荷叶铁线蕨孢子繁殖在播种后需定期观察盆内基质含水情况，在基质完全浸润条件下，配子体萌发前无须加水，配子体萌发后须定期观察，及时加水。对于盆内萌发的苔藓、藻类、霉菌进行及时清除。

孢子体幼苗长出4~5片真叶后即可移栽，基质种类包括：草炭、蛭石、腐叶土、赤玉土。腐叶土须进行暴晒晒干，适当研磨，取小于2 mm的基质；基质配比为草炭：蛭石：腐叶土：赤玉土=1：1：1：1。移栽到准备好的12孔穴盘中进行培育，移栽密度500株/m<sup>2</sup>。种完后1h内浇定根水，并于浇水后30 min后检查，盆内基质呈湿润状态；定期观察，及时加水，湿度控制在80%以上最佳，光照12 h/d，光照强度5 000~8 000 lux，温度10~25℃。

幼孢子体长成高度为5 cm，叶片为

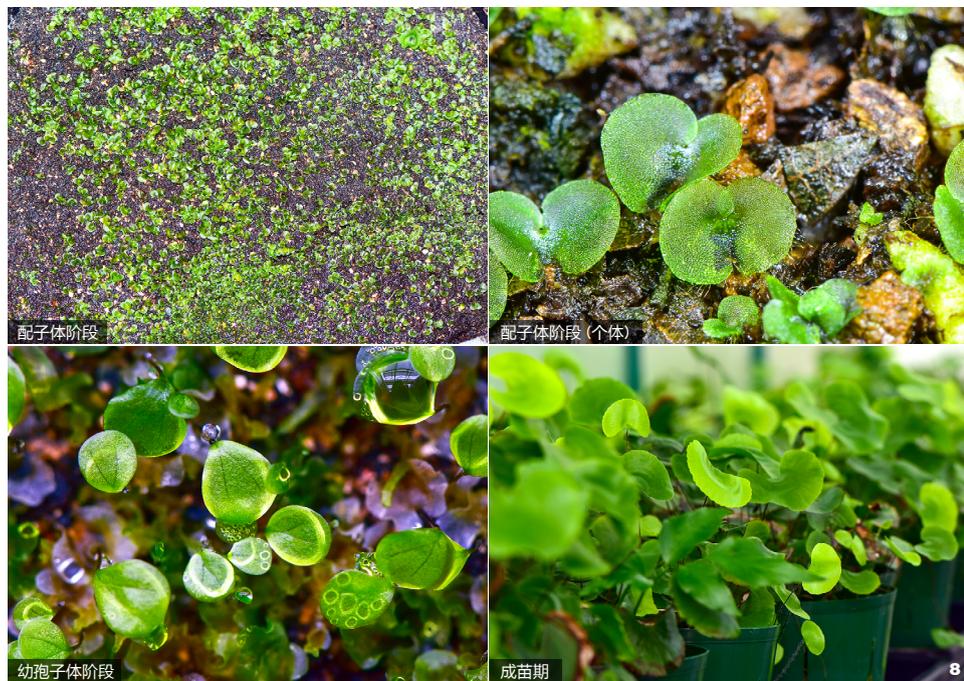


图8 荷叶铁线蕨孢子繁殖各阶段形态  
Fig.8 Various stages of spore propagation in *Adiantum nelumboides*

10 ~ 20片叶子后，移栽到准备好的三寸盆中进行培育，移栽密度120株/m<sup>2</sup>。种完后1h内浇定根水，浇水后30 min检查，盆内基质呈湿润状态。同时在移栽后的7 d用透明盖子进

行保湿，确保在根系未完全生长良好前，以免发生叶片蒸腾作用大于根系吸收水分功能的后果。移栽1 m后开始薄施水肥，15 d施1次。做好盆土水分控制、除草、除虫、病虫

表6 孢子贮藏时间对配子体、幼孢子体萌发时间的影响

Tab. 6 Effect of spore storage time on the germination time of gametophyte and young sporophyte

孢子贮藏时间 Spore storage time	配子体萌发最早时间/d The earliest time of gametophyte germination	幼孢子体最早萌发时间/d The earliest time of young sporophyte germination
1 m	34.0 ± 2.12a	85.0 ± 2.12a
3 m	35.2 ± 3.42ab	88.6 ± 5.37a
1 y	40.6 ± 3.29ab	102.4 ± 3.91b
2 y	44.2 ± 4.55b	106.6 ± 8.85b
5 y	56.8 ± 8.62c	123.4 ± 6.84c

表7 孢子消毒与否对配子体、幼孢子体萌发时间的影响

Tab. 7 Effect of spore disinfection or not on the germination time of gametophyte and young sporophyte

孢子消毒与否 Spore disinfection or not	配子体萌发最早时间/d The earliest time of gametophyte germination	幼孢子体最早萌发时间/d The earliest time of young sporophyte germination
未消毒	44.0 ± 2.12a	109.8 ± 3.42a
消毒	46.0 ± 4.95a	113.4 ± 2.51a

害防治等管理工作，以保证植物生长良好。

### 3 讨论

从栽培基质对比实验中能看出，基质消毒整体比未消毒在各数据上有显著性差异，消毒的基质更好。原因可能为基质在消毒过程中消灭了所有的菌类，而菌类势必会影响荷叶铁线蕨的整个繁殖过程。实验中发现基质1与基质2在配子体、幼孢子体的萌发数量及转化率方面，都是肥力较弱的基质1优势明显，因此本研究怀疑荷叶铁线蕨的孢子繁殖过程中的配子体萌发、性器官的发育对于基质肥力要求不高。

温度是促进孢子萌发和配子体发育重要的因素，实验结果表明，低温15℃有配子体的萌发，但是未产生幼孢子体的萌发，低温可能抑制了性器官的发育及受精，而高温30℃抑制孢子的萌发。在一定范围内，温度的升高可以促进配子体萌发及幼孢子体萌发，25℃是荷叶铁线蕨的适合温度，这和很多其他蕨类植物适宜温度一致<sup>[20,21]</sup>。

光照强度是孢子萌发和配子体发育重要的因素。无光条件下，荷叶铁线蕨孢子无法发育。各光照强度下孢子都能进行萌发，光照强度对配子体及幼孢子体萌发的时间影响较为明显，3 000 lux的光照条件比15 000 lux条件下配子体萌发时间早4 d以上，幼孢子体萌发时间早20 d以上。

本研究结果表明，当培养密度较低时，配子体间距离较大，不利于受精，难以形成幼孢子体；相反，当培养密度过高时配子体发育迟缓、长势较弱，幼孢子体的萌发率也较低，因此荷叶铁线蕨的理想培养密度为25 pcs/cm<sup>2</sup>。

荷叶铁线蕨为不含叶绿素的孢子。本研究证实贮藏5年的孢子仍有一定活性，具有

良好的孢子萌发力。随着贮藏时间越长,配子体、幼孢子体的萌发数量及转化率等方面也随之逐步降低。因此荷叶铁线蕨孢子的播种应选择采收后及时播种,活性最大,得苗率最高。

综上所述,结合试验结果推断荷叶铁线蕨在基质为草炭:蛭石=1:1,温度25℃,日光灯光照强度为3000 lux、播种密度25 pcs/cm<sup>2</sup>、贮藏时间1 m,同时孢子不必消毒的条件下繁殖最快、最多,可建立荷叶铁线蕨的繁殖技术体系(图8),从而实现快速获得种苗的方法,具有实际指导的意义。

注:文中图片均由作者拍摄、绘制。

## 参考文献

- [1] WANG A H, SUN Y, SCHNEIDER H, et al. Identification of the Relationship Between Chinese *Adiantum reniforme* var. *sinense* and Canary *Adiantum reniforme* [J]. BMC Plant Biology, 2015, 15(36): 1-10.
- [2] 张宪春. 中国石松类和蕨类植物[M]. 北京: 北京大学出版社, 2012: 258.
- [3] 林允兴. 中国铁线蕨属新分类[J]. 植物分类学报, 1980, 18(1): 101-105.
- [4] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志第三卷第一分册[M]. 北京: 科学出版社, 1990.
- [5] 《万县中草药》编写组. 万县中草药[M]. 重庆: 四川省万县地区卫生局四川省万县地区科委, 1977: 639-640.
- [6] 国家林业和草原局, 农业农村部. 国家林业和草原局 农业农村部公告(2021年第15号)(国家重点保护野生植物名录)[EB/OL]. [2021-09-07]. <http://www.forestry.gov.cn/main/5461/20210908/162515850572900.html>
- [7] 覃海宁, 杨永, 董仕勇, 等. 中国高等植物受威胁物种名录[J]. 生物多样性, 2017, 25(7): 696-744.
- [8] 傅立国. 中国珍稀濒危植物[M]. 上海: 上海教育出版社, 1989: 1-299.
- [9] 康明. 三种濒危植物的保育遗传学研究[D]. 武汉: 中国科学院研究生院(武汉植物园), 2006: 1-132.
- [10] 陈卓良, 金义兴, 郑重, 等. 珍稀植物荷叶铁线蕨的生境及其引种栽培研究[C]//植物引种驯化集刊 第7集. 北京: 科学出版社, 1990: 129-136.
- [11] 李洪林, 高丽, 杨波. 荷叶铁线蕨孢子的离体繁殖[J]. 亚热带植物科学, 2008, 37(3): 67.
- [12] 徐慧珠, 金义兴, 江明喜, 等. 三峡库区珍稀特产植物荷叶铁线蕨的孢子繁殖[J]. 长江流域资源与环境, 1998(3): 46-49.
- [13] 潘丽, 叶其刚, 黄洪文. 荷叶铁线蕨孢子的不同贮藏时间与培养条件对配子体和孢子体形成的影响[J]. 武汉植物学研究, 2007, 25(2): 173-177.
- [14] 张祖荣, 张绍彬. 杉栎与荷叶铁线蕨的孢子繁殖技术研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(19): 10007-10009.
- [15] 徐艳, 石雷, 刘燕, 等. 江南星蕨配子体形态发育的研究[J]. 植物学报, 2004, 21(6): 660-666.
- [16] 郭治友. 濒危植物金毛狗的配子体发育观察及孢子繁殖研究[J]. 种子, 2009, 28(5): 67-70.
- [17] 周淑香, 杜兴臣. 巢蕨的孢子繁殖与栽培技术[J]. 现代园艺, 2014(6): 1.
- [18] 岳晓晶, 岳桦. 对开蕨在哈尔滨地区的繁殖技术研究[J]. 黑龙江农业科学, 2010(7): 81-83.
- [19] 孙起梦, 刘兴剑. 几种蕨类植物的孢子繁殖试验研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(25): 13571-13572.
- [20] 朱晓凤, 沈慧, 金冬梅, 等. 4种蕨类植物的孢子繁殖研究[J]. 植物研究, 2016, 36(2): 167-176.
- [21] 莫日根高娃, 谭桂娟, 严岳鸿, 等. 影响泽泻蕨孢子培养的环境因素研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2015, 23(4): 413-418.