

苔藓植物组织培养研究进展

张楠, 杜宝明, 季梦成

(浙江农林大学 园林学院, 浙江 临安 311300)

摘要: 苔藓植物种类繁多, 分布广泛, 资源丰富, 但目前对苔藓的研究才刚刚起步, 苔藓的许多应用价值尚未得到开发。根据国内外相关研究, 综述了苔藓植物的应用价值, 并就苔藓植物在组织培养方面的研究进展进行概述, 介绍了苔藓植物组织培养的研究简史。同时, 对苔藓植物培养材料、消毒方法、基本培养基和培养条件的研究进行了总结分析。建议加强苔藓植物生理、生化方面的研究, 发掘苔藓的应用价值, 并加强对苔藓快繁体系的研究, 建立苔藓植物组织培养的快繁体系。对苔藓组织培养的应用前景进行了展望。参 61

关键词: 植物学; 苔藓植物; 组织培养; 综述; 建议

中图分类号: S718.3; Q949.35 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2011)02-0305-09

Research progress on the bryophytes tissue culture

ZHANG Nan, DU Bao-ming, JI Meng-cheng

(School of Landscape Architecture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: Bryophytes are widely spread plants with abundant resources and various species. However, the study on bryophytes has just started and many of its applications have not yet been developed. This paper reviewed the application values of bryophytes according to related researches at home and abroad. The research progress and history on tissue culture of bryophytes were introduced. Meanwhile, the studies of culture materials of bryophytes, disinfection methods, basic media and culture conditions were analyzed and summarized. It was suggested strengthening physiology research and biochemistry research of bryophytes, exploring the application value of bryophytes, establishing tissue culture and rapid propagation system of bryophytes. The application prospects of bryophytes were put forward. [Ch, 61 ref.]

Key words: botany; bryophyte; tissue culture; review; recommendation

苔藓植物属最原始的高等植物, 也是植物从水生向陆生过渡的关键类群与重要门类, 在整个植物界的系统和演化中占有重要而特殊的地位。苔藓植物种类丰富, 在高等植物中数量仅次于被子植物类群, 全世界苔藓植物约有 2.3 万种^[1]。中国是世界苔藓植物多样性最丰富的国家, 并富有特有类型, 已报道有 125 科 572 属 3 460 余种, 分别占世界科、属和种的 65%, 46.2%和 16.3%^[2], 是世界苔藓植物重要的分布和分化中心之一。

1 苔藓植物应用价值

苔藓植物分布广泛, 由于具有可变水性、体表直接吸收水分和营养物质以及独特的繁殖传播方式, 除了海洋外, 几乎所有的生态系统中均可见苔藓植物的踪迹^[3]。苔藓植物在生长的过程中, 不断分泌酸性物质, 溶解岩面, 本身死亡的残体亦堆积在岩面之上, 能为其他高等植物创造生存条件, 是植物界的

收稿日期: 2010-05-05; 修回日期: 2010-06-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30670153); “十一五”浙江省科技计划项目(2009C32066); 浙江农林大学研究生创新基金资助项目(2112009019)

作者简介: 张楠, 从事园林植物应用研究。E-mail: znrn@sohu.com。通信作者: 季梦成, 教授, 从事苔藓植物分类及园林植物应用研究。E-mail: mchji@163.com

拓荒者之一^[4]。同时,苔藓植物个体矮小,结构简单,仅有一层或几层细胞构成,植物体的表面没有角质或蜡质覆盖物,其背腹面均可直接接受空气中的污染物,尤其是水分和养分均来自雨水和大气的树生苔藓,对大气污染反应敏感^[3],是良好的环境污染和全球变化指示植物。

某些苔藓植物在中国早就被应用于清热解毒、止痛消炎、拔毒生肌等^[3-5],《神农本草经》《本草纲目》《植物名实图考》等均有对苔藓植物药效作用的描述。20世纪80年代,《新华本草纲要》中记载了18个科的药用苔藓植物^[6]。此外,苔藓植物中含有丰富的单萜和倍半萜类化合物,很可能在农业、食品、香料和化妆品工业中得到广泛应用。然而,苔藓植物形体小,混杂丛生,种间不易区别和分离,加上采集足够量的样品比较困难,导致了苔藓植物的研究开发滞后。迄今为止,苔藓植物还没有成为重要的药用植物^[7]。利用植物组织培养技术,可以在相对较短的时间内,获得大量纯净的材料,为解决这一难题提供了捷径。

苔藓植物广泛的适应性和强大的繁殖能力使它们在森林生态系统、高山草甸、苔原及荒漠等生态系统中发挥着重要的生态功能,如二氧化碳的固定、水土保持、涵养水源、营养物质的循环与储存和森林更新等^[8]。特别是在以结皮层的形成作为流沙固定的主要标志之一的人工固沙生态系统中,藓类植物起着重要作用^[9]。由于藓类植物含有抗腐蚀的类似木质素的化合物不易被微生物分解,与沙土共同形成结皮层,从而起到固沙作用,藓类植物的繁殖和生长特性对固定沙丘结皮层的形成和维持具有决定性作用^[10],结皮层的形成需要大量的苔藓材料,通过组织培养的方法可以为结皮层的形成快速提供大量的原材料。

苔藓植物如小立碗藓 *Physcomitrella patens* 能够有效地将外源 DNA 片段通过同源重组整合到其基因组^[11],其基因打靶的高效性使它们已经成为植物基因功能组学的模式系统。在小立碗藓基因打靶实验中,要求其转化材料——原丝体是同一发育阶段^[12-13],而转化材料的大量获得和发育阶段同一性是实验成功的关键。常规方法操作费用和技术要求较高,一般实验室难以实现,而通过组织培养获得纯度高、生长一致的小立碗藓愈合组织,为基因打靶转化实验材料的获得提供了另一条途径。

苔藓组织培养体系具有许多种子植物无法竞争的优势^[14]:①孢子易于在无菌培养基上培养;②再生能力奇特;③生长条件简单,可避免种子植物体外培养中的器官缩小和高度含水等问题;④对剪切力的低敏感性;⑤结构简单,细胞分化完全;⑥基因组高效率地整合外源 DNA。目前,苔藓植物组织培养体系已经开始被应用在生物转化、生产次生代谢产物以及生物制药等领域。随着对苔藓植物的认识和研究深入,苔藓植物组织培养体系作为模式生物在植物的代谢、发育及基因功能等的研究中将得到广泛应用。

2 苔藓植物组织培养的研究进展

2.1 苔藓植物组织培养研究简史

早在1902年,Haberlandt就已经利用苔藓植物进行细胞培养的尝试,开创了植物组织培养的先河。Goebel等^[14]也于1905年开展了有关方面的研究,但常规的培养条件对它们并不合适。然而,由于苔藓植物结构简单、个体矮小,似乎缺乏显著的经济价值,致使20世纪50年代以前,苔藓植物组织培养处于滞后状态。随着苔藓化学、苔藓生态和分子生物学等学科的迅速发展,野生的苔藓植物材料远远满足不了需求,而组织培养能够在短时期内提供大量材料,这又使苔藓植物组织培养技术在近50a有了相应的发展。1957年,Allsopp^[15]首次从苔类植物的小叶苔 *Fossmbrotonia pusilla* 和石地钱 *Reboulia hemisphaerica* 的孢子培养中获得了愈合组织,并在含无机盐的培养基上分化成正常的叶状体。1960年,Ward^[16]首次报道了用金发藓 *Politrichum commune* 和波叶仙鹤藓 *Atrichum undulatum* 的孢子进行组织培养并获得了愈合组织。1961年,Lal^[17]通过对西亚立碗藓 *Hyscomitrium coorgense* 配子体的叶和颈卵器壁的培养获得了愈合组织。1977年,Ohta等^[18]首次建立了苔藓植物细胞悬浮培养技术,详细地描述了地钱 *Marchantia polymorpha* 悬浮培养细胞的生长特点,并且分析了细胞的叶绿素含量。苔藓植物的悬浮培养和其他种子植物悬浮培养存在很大不同,苔藓植物自身可以分解片状物或者自身分解植物激素改变培养基的特性从而阻止原丝体的分化,使悬浮物保持在原丝体阶段^[14],这样松散的状态也许更加有利于其他方面的研究。悬浮培养的植物细胞主要是来自于植物愈合组织,而愈合组织细胞是从无菌的植物组织中诱导获得的,这无疑推动了苔藓植物组织培养技术进一步向前发展。根据Ohta和Hirose的统计,截至1982年,人们已先后从5目7科的15种藓类和4目15种苔类中获得了愈合组织^[19]。1984年,Lal^[20]总结了苔藓植物组

组织培养的培养基, 并强调苔藓植物材料不同, 所用的适宜培养基也存在差异, 由此, 促进了科研工作者不断尝试用不同培养基和营养物质培养苔藓植物。

中国苔藓植物的组织培养研究相对较晚。1990 年, 李文安^[21]从地钱的胞芽和配子体培养中获得了愈合组织, 虽然其脱分化时间长达 10 个月, 但这一研究填补了中国苔藓植物组织培养的空白。中国苔藓组织培养初期多为对孢子的培养及其原丝体发育的研究。直到 2003 年, 国内才又开始进行苔藓植物愈合组织的诱导, 高永超等^[22]利用牛角藓 *Cratoneuron filicinum* 的茎段诱导获得了愈合组织, 2005 年, 潘一廷等^[23]诱导和培养了小立碗藓的愈合组织。随着对苔藓植物生理、生物化学及分子水平研究的加深, 苔藓植物组织培养的重要性在国内也渐渐被重视起来。

2.2 培养材料

苔藓植物的孢子体、配子体、原丝体、芽孢以及生殖器官等, 甚至游离的细胞或原生质体均可以作为苔藓组织培养材料^[24]。目前, 最常用的培养材料是孢子体、配子体及原丝体。Schween 等^[25]研究了小立碗藓原生质体的培养条件, 赵建成等^[26]对小扭口藓 *Barbula indica* 的芽孢进行了培养, 其生长发育速度较快, 但产生的植物体的大小、叶片的形状及细胞的形态与野生小扭口藓的相应性状有一定差异。

2.3 消毒方法

不同的培养材料消毒方法应不同。孢子消毒一般将孢蒴浸于体积分数为 70% 的乙醇中 5 min 后用无菌水冲洗 5 次在超净工作台上用镊子和解剖针打开孢蒴, 将孢子散入适量的消过毒的蒸馏水中, 制成一定浓度的孢子悬液。配子体消毒宜采用将配子体流水冲洗 4 h, 体积分数为 70% 的乙醇浸泡 20 s 后用无菌水冲洗 3 次的方法。刚永运^[27]对蛇苔 *Conocephalum conicum*, 大叶藓 *Rhodobryum roseum*, 暖地大叶藓 *R. giganteum*, 仙鹤藓 *Atrichum undulatum*, 仙鹤藓小型变种 *A. undulatum* var. *minus* 和东亚小金发藓 *Pogonatum inflexum* 的不同外植体进行表面消毒所适合采用的消毒液、质量浓度和消毒时间进行了探讨, 得出低质量浓度的升汞溶液(0.50 或 0.25 g·L⁻¹)对多数苔藓植物外植体进行约 1 min 的表面消毒处理均可获得良好的消毒效果(无菌率达 70% 以上)的结论。Saboljevic 等^[28]设置了 12 个次氯酸钙的浓度对孢子体和配子体进行消毒, 发现当质量浓度为 120.00 g·L⁻¹ 时孢子体的存活率最高, 而配子体则在质量浓度为 90.00 g·L⁻¹ 时为最好。郎玉卓等^[29]发现大羽藓 *Thuidium cymbifolium* 配子体最佳消毒方法为 5.00 g·L⁻¹ 次氯酸钠溶液+0.50 g·L⁻¹ 升汞消毒 60 s, 而孢子体最佳消毒方法为 20.00 g·L⁻¹ 次氯酸钠消毒 6 min。

2.4 基本培养基的研究

苔藓植物组织培养常用的培养基有 Knop 培养基、Benecke 培养基和 MS(Murashige and Skoog)培养基等。王振杰等^[30]研究了 Knop, SH(Schenk and Hildebrandt)和 N6 培养基对金灰藓 *Pylaisiella polyantha* 孢子萌发的影响, 并指出在 Knop 培养基上孢子萌发率最高, 培养 72 h 萌发率达 10%, 培养 168 h 后萌发率可达 95% 以上。尹德明等^[31]通过 MSK-2 和 MS 培养基对地钱配子体愈合组织的诱导得出 MSK-2 培养基的诱导效果较好的结论。

2.5 培养条件的研究

2.5.1 蔗糖质量浓度 糖类对原丝体的生长具有一定的影响作用, 但糖的质量浓度对于立碗藓 *Physcomitrium sphaericum* 原丝体愈合组织的形成无决定性的作用^[32], 蔗糖质量浓度为 30.00 g·L⁻¹ 时, 有利于牛角藓愈合组织悬浮细胞的生长^[33]。魏华等^[34]研究发现对尖叶拟船叶藓 *Dolichomitriopsis diversiformis* 质量浓度为 20.00 g·L⁻¹ 的蔗糖虽然诱导出了愈合组织, 但其质地不好, 有褐化现象, 且诱导率低。小立碗藓愈合组织的诱导实验中, 葡萄糖质量浓度超过 40.00 g·L⁻¹ 时愈合组织就会严重褐化, 为减轻褐化, 提高愈合组织诱导效果, 外植体——原丝体培养基中需进一步降低蔗糖或葡萄糖的质量浓度, 减少继代天数可显著降低褐化程度和维持其脱分化状态^[23]。

2.5.2 光照和温度 苔藓植物一般在 20 ~ 25 °C 的温度条件下, 采用 24 μmol·m⁻²·s⁻¹ 或 1 500 ~ 2 000 lx 的光照强度进行组织培养, 光照时间为 12 h·d⁻¹ 或 14 h·d⁻¹。地钱愈合组织的诱导中光照条件下的诱导率比黑暗条件下有较明显的提高^[35]。刘世彪等^[36]发现给予尖叶拟船叶藓 24 h·d⁻¹ 的光照 4 d 时, 其孢子萌发率为 83.3%; 而对其进行黑暗处理时, 30 d 仍不萌发; 当将其转至全光照条件下 4 d 时, 其萌发率达 84.6%。在连续光照条件下, 20 °C 原丝体生长最快, 分枝最多, 分化最早, 而自然光照下 5 ~ 10 °C 环境下的孢子萌发率(18 d 为 70.2%)和原丝体生长速度(127.44 μm)均最慢。尹德明等^[31]通过对地钱配

子体愈合组织的诱导得出, 3 000 ~ 8 000 lx 光照能有效促进地钱愈合组织生长, 但 8 000 lx 下愈合组织细胞的生物量明显低于 5 000 lx 条件下细胞生物量, 指出光强过强容易造成细胞光过氧化和破坏细胞叶绿体结构而降低光合效率, 不利于细胞增殖。

2.5.3 pH 值和植物生长调节物质 苔藓植物受生长环境 pH 值的影响。葫芦藓暖地变种 *Funaria hygrometrica* var. *calvescen* 孢子萌发的 pH 6 ~ 9, 最适点为 pH 8^[37]。细枝赤齿藓圆条变种 *Erythrodonium leptothallum* var. *tereticaule* 在 pH 4 ~ 9 范围内均能生长, 反扭藓 *Timmiella anomala* 的 pH 5 ~ 9, 尖叶扭口藓 *Barbula constricta* 在 pH 4 ~ 9 范围内均能生长, 而尖叶提灯藓 *Mnium cuspidatum* 适宜生长的 pH 3 ~ 8^[38]。王振杰等^[30]报道金灰藓孢子在 pH 7 时萌发率最高, 8 h 时萌发率可达 98.8%。苔藓植物的孢子萌发阶段, 孢子的萌发率不受植物生长调节物质的影响, 但原丝体发育阶段及芽体发育阶段受植物生长调节物质影响明显。刘晓红^[39]提出细胞分裂素对葫芦藓 *Funaria hygrometrica* 芽的分化确实具有诱导作用, 且这种诱导作用与 CaM 有关; 3 种植物生长调节物质对密叶绢藓 *Entodon challengerii* 孢子萌发、原丝体发育和芽体发生的影响显示, 密叶绢藓在发育过程中少量外界生长物质的干扰对其根本不产生显著影响, 而当原丝体产生的生长物质浓度达到促使芽体发生的临界值时, 原丝体才能由营养生长进入生殖生长^[40]。刘丽等^[41]发现萘乙酸对葫芦藓孢子萌发率没有显著影响, 但对原丝体生长的促进作用明显, 这是萘乙酸用在苔藓植物方面的首次报道。李艳红^[32]通过对立碗藓原丝体的培养研究, 发现植物生长调节物质对立碗藓愈合组织的形成起着决定性的作用, 这与高永超^[23]认为植物生长调节物质并不是愈合组织形成的必须成分和 Wang 等^[42]认为小立碗藓体内能产生细胞分裂素类物质可能是造成产生愈合组织不需要任何植物生长调节物质的原因的观点不一致, 她认为是由于苔藓植物中种属间差异大, 不同的基因型染色体数目不同所含的基因也不同致使代谢机制不同造成的^[32]。

2.5.4 水分和湿度 苔藓植物生活在比较阴湿的环境中, 在对它们进行组织培养时一般要求相对湿度在 80% 或 90% 以上。赵建成等^[43]对红蒴立碗藓 *Physcomitrium eurystomum* 等 10 种藓类植物孢子萌发与原丝体发育进行研究时采用了近饱和的相对湿度, 均获得了相应的原丝体^[43]。

2.5.5 沉水因素 针对很多学者未能证实原丝体发育过程中会出现绿丝体阶段和轴丝体阶段 2 个阶段, 魏华等^[44]首次研究了沉水因素对原丝体发育的影响, 报道了沉水培养对尖叶拟船藓的孢子萌发率没有影响, 但会使其原丝体生长缓慢、分枝少、细胞出现变异生长且不能形成配子原始细胞。

2.6 孢子萌发与原丝体发育的研究

在苔藓植物的整个生活史过程中, 孢子萌发并产生原丝体是其区别于其他植物类群的显著特征^[44-45]。1782 年, Hedwig^[44]首次描述了苔藓植物原丝体的形态。70 a 后, Hofmeister^[46]观察研究了泥炭藓 *Sphagnum palustre* 原丝体的组成, 这是对藓类植物原丝体系统特征的最早描述。此后, 日本学者在此方面开展了较为广泛的研究。其中, 以 Nishida^[47]在 20 世纪 70 年代对藓类植物孢子萌发与原丝体发育的研究最具代表性, 她研究描述了 121 种藓类植物孢子萌发和原丝体发育的特征, 并依据这些藓类植物孢子萌发的方式、原丝体发育的特征等将其归纳为 13 种孢子萌发型。在中国, 藓类植物孢子萌发与原丝体发育研究起步较晚。1986 年, 高谦等^[48]最先对中国产真藓亚纲 9 个种的孢子萌发和原丝体发育进行了研究, 实验结果显示: 藓类植物的原丝体阶段适应性相当广泛。包文美等^[49]对泥炭藓孢子萌发成为配子体以及地钱孢子萌发成为叶状体的细节进行了详细的描述。近几年来, 衣艳君等^[50-55]对红蒴立碗藓, 狭叶绢藓 *Entodon maceropus*, 大帽藓 *Encalypta ciliata* 和垂蒴真藓 *Bryum uliginosum* 等藓类植物的孢子萌发和原丝体发育进行了系统研究, 取得了一系列的研究成果。李敏等^[56]研究了中华缩叶藓 *Ptychomitrium sinense* 孢子萌发与原丝体发育特征并指出: 在原丝体发育过程中产生的棒状原丝体具有粗疣, 配子体原始细胞仅产生于块状原丝体上, 这 2 个特征在之前的相关研究中均未见报道。刘保东等^[57]在对波叶仙鹤藓的孢子进行培养时首次报道了绿丝体细胞在原丝体发育的初期和末期结构及功能均不相同: 初期颜色较浅, 分裂旺盛, 末期颜色较深, 几乎不分裂, 而且分化出专门诱发芽体的绿丝体细胞。

3 苔藓植物组织培养存在的问题及建议

众所周知, 苔藓植物种类繁多, 分布广泛, 很多苔藓植物可分泌次级代谢产物、萜类、半萜类等化学物质, 有的可以用来转基因制药, 但由于人们对苔藓植物的生理生化细节了解较少, 这使得很多具有

较高利用价值的苔藓种类不能得到开发利用。因此，只有加强苔藓植物生理、生物化学方面的研究，发现苔藓植物的应用价值，才能为苔藓植物组织培养正确选择培养对象(即有应用价值的苔藓种类)指引方向，这有利于扩大苔藓植物组织培养的研究对象范围，实现苔藓植物的顺利开发。

目前，在苔藓组织培养的研究方面，大多仅仅局限于对其孢子萌发或原丝体发育的研究，有的仅停留在获得愈合组织阶段，对愈合组织继代培养、扩大培养等研究较少，因此，需对苔藓组织培养进行系统深入的研究，深入研究苔藓愈合组织形成机制，建立形成愈合组织快捷有效的培养模式，可有效地缩短苔藓组织培养的时间。苔藓植物结构简单，多由一层或几层细胞构成，组织培养材料在消毒时容易受到伤害，给苔藓植物组培带来困难，外殖体的消毒方法需尽快探索。同时，对苔藓快繁体系的进行研究，建立系统而全面的组织培养体系，为苔藓植物在实际生产中提供理论保障。

苔藓植物在森林生态系统、高山草甸、苔原和荒漠等生态系统中发挥着重要的生态功能，在园林应用中发挥可绿化环保作用，在生物化学和医药中具有重要的药用价值，苔藓植物在未来的研究和应用中存在较大的潜力，因此，进行系统全面的苔藓植物组织培养技术研究具有重要的学术价值和现实意义，将为促进苔藓植物应用作出贡献。

4 苔藓植物组织培养应用前景展望

4.1 次生代谢产物的生产

苔藓植物化学成分的研究已有近百年的历史，但只有近几十年来，特别是进入 21 世纪以来，这方面的研究才有了较快的发展。人们已对很多苔藓植物的化学成分作过分析，从苔藓植物中分离到的次生代谢物质中有生物碱、黄酮、萜类、木脂体和酚类化合物等。就次生物质来讲，凡是被子植物中有的苔藓植物中都有^[46]。许多苔藓植物中还含有重要的药用成分。中国古代书籍中曾有以金发藓作为药物用于退热解毒的记载。另外，还有人认为苔类中的地钱可以外治疮毒，内治黄疸性肝炎；大叶藓和暖地大叶藓可以治冠心病^[58]。国外学者试图通过离体培养来获得大量的苔藓培养物，以此提取得到有用的次生代谢物质。近年来，用组织培养方法研究苔藓植物化学成分的很多，其中以日本成就最大，而中国在这方面的研究基本处于空白状态，今后中国在这一领域的研究也应重视和加强。

4.2 抗逆基因的筛选

苔藓植物对逆性环境有很强的适应性。许多苔藓植物既不被动物取食，也不会遭受害虫袭击，甚至至今还没有发现苔藓中存有病毒^[58-59]。有些苔藓植物既可以常年生活在温度高达 50 °C 的热泉周围，也可以在年平均气温低于 0 °C 的环境下生长。一些山地苔藓在适当的水分和光照条件下，即使气温低至 -8 °C 或 -9 °C 时仍可以进行光合作用，在寒温带，一些苔藓在冬季仍可以生长^[45]。不仅如此，苔藓植物还具有很强的耐旱性，很多种类的苔藓可以随着环境变干将植物体内的含水量降到最低，以休眠状态生存。Richardson^[60]将在黑暗条件下干燥保存了 19 a 的丛本藓 *Anoetangium aestivum* 放在适当的条件下培养，结果仍有生活力。一些泥炭藓属植物经干燥处理 1 周后并不死亡，而且仍能正常生长。从苔藓植物的抗虫性、耐寒性和耐旱性可以预见其内部除有抗虫、抗旱或抗寒的生理特性以外，其内部也就是遗传物质上还存有抗逆性的基因。Wood 等^[61]对从土生墙藓 *Tortula ruralis* 中大量任意选择的 cDNA 或表达序列靶进行分析时，发现了 152 个 ESTs (expressed sequence tags)，71% 与已经鉴定的基因无相似性。这些新的 ESTs 克隆一方面反映了苔藓植物的独特性，另一方面对于寻找新的基因也有参考意义。

4.3 园林应用

苔藓植物植株矮小，很多种类生长紧密且颜色翠绿，在盆景中种植苔藓进行装饰和局部点缀，既能使盆景显得古朴典雅，清纯宁静，又利于盆景的养护和植物的生长。苔藓植物因其鲜嫩翠绿的色泽、娇小玲珑的姿态，能给人以一种清秀纯洁的感觉，而和草坪草相比，苔藓植物具有柔美、宜于近观、不需修剪维护、不用打药和适宜于阴湿地栽植等特点。进行组织培养，可以快速大量地获得苔藓植株，来满足苔藓在实际生产、生活中的应用。

4.4 生产应用

在中国秦岭以南地区，特别是西南部山区，有将一些藓类植物(如尖叶匍灯藓 *Plagiomnium cuspidatum*)作为五倍子蚜虫 *Melaphis chinensis* 的冬寄主用于五倍子生产中的经验，这是苔藓植物经济应用的

最为典型的例子。如果采用组织培养在短期内生产出大量藓株,显然可以加快其产业化的步伐。

此外,苔藓植物中含有芳香性很强的单萜和倍半萜化合物,这些萜类能抵御有害生物的侵袭,将其提取后可以作为无污染的生物农药用于农业生产上^[3]。可以预见,随着苔藓植物研究的不断深入,苔藓植物组培将会在医药、农业、食品和香料化妆品工业中得到广泛应用。

参考文献:

- [1] 斯特斯 C A. 植物分类学与生物系统学[M]. 韦仲新,译. 北京:科学出版社,1986.
- [2] CAO Tong, ZHU Ruiliang, TAN B C, *et al.* A report of the first national red list of Chinese endangered bryophytes [J]. *J Hattori Bot Lab*, 2006, **99**: 275 - 295.
- [3] 娄红祥. 苔藓植物化学与生物学[M]. 北京:北京科学技术出版社,2006.
- [4] 李凤兰,高述民. 植物生物学[M]. 北京:中国林业出版社,2008.
- [5] 黄土良,李琳,范庆书. 河北省药用苔藓资源的初步研究[J]. 河北师范大学学报:自然科学版,2003, **27** (6): 623 - 626.
HUANG Shiliang, LI Lin, FAN Qingshu. A preliminary study on resource of medicinal bryophytes in Hebei Province [J]. *J Hebei Norm Unive Nat Sci Ed*, 2003, **27** (6): 623 - 626.
- [6] 江苏省植物研究所. 新华本草纲要[M]. 上海:上海科学技术出版社,1990.
- [7] 于传梅. 5种苔藓植物的组织培养[M]. 上海:华东师范大学出版社,2007.
- [8] 吴玉环,程国栋,高谦. 苔藓植物的生态功能及在植被恢复与重建中的作用[J]. 中国沙漠,2003, **23** (3): 215 - 220.
WU Yuhuan, CHENG Guodong, GAO Qian. Bryophyte's ecology functions and its significances in revegetation [J]. *J Desert Res*, 2003, **23** (3): 215 - 220.
- [9] 王世冬,白学良,雍世鹏. 沙坡头地区苔藓植物区系初步研究[J]. 中国沙漠,2001, **21** (3): 244 - 249.
WANG Shidong, BAI Xueliang, YONG Shipeng. Preliminary research on bryoflora in Shapotou Area [J]. *J Desert Res*, 2001, **21** (3): 244 - 249.
- [10] 白学良,王瑶,徐杰,等. 沙坡头地区固定沙丘结皮层藓类植物的繁殖和生长特性研究[J]. 中国沙漠,2003, **23** (2): 171 - 176.
BAI Xueliang, WANG Yao, XU Jie, *et al.* Characteristics of reproduction and growth of mosses in the soil crust of fixed dunes in Shapotou Area [J]. *J Desert Res*, 2003, **23** (2): 171 - 176.
- [11] SCHAEFER D G, ZRYD J P. Efficient gene targeting in the moss *Physcomitrella patens* [J]. *Plant J*, 1997, **11**: 1195 - 1206.
- [12] NISHIYAMA T, HIWATASHI Y, SAKAKIBARA K, *et al.* Tagged mutagenesis and gene-trap in the Moss, *Physcomitrella patens* by shuttle mutagenesis [J]. *DNA Res*, 2000, **7**: 9 - 17.
- [13] SCHAEFER D G. A new moss genetics: targeted mutagenesis in *Physcomitrella patens* [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2002, **53**: 477 - 501.
- [14] HOHE A, RESKI R. From axenic spore germination to molecular farming: one century of bryophyte in vitro culture [J]. *Plant Cell Rep*, 2005, **23**: 513 - 521.
- [15] ALLSOPP A. Controlled differentiation in cultures of two liverworts [J]. *Nature*, 1957, **179**: 681 - 682.
- [16] WARD P R. Callus tissues from the mosses *Polytrichum* and *Atrichum* [J]. *Science*, 1960, **132**: 1401 - 1402.
- [17] LAL M. In vitro production of apogamous sporogonia in *Physcomitrium coogense* Broth [J]. *Phytomorph*, 1961, **11**: 263 - 269.
- [18] OHTA Y, KATOH K, MIYAKE K. Establishment and growth characteristic of a cell suspension culture of *Marchantia polymorpha* L. with high chlorophy content [J]. *Planta*, 1977, **36**: 229 - 232.
- [19] OHTA Y, HIROSE Y. Induction and characteristics of cultured cells from some liverworts of Jungermanniales [J]. *J Hattori Bot Lab*, 1982, **53**: 239 - 244.
- [20] LAL M. The culture of bryophytes in cluding apogamy, apospory, parthenogenesis and protoplasts [G]// DYER A F, DUCKETT J G. *The Experimental Biology of Bryophytes*. London: Academic Press, 1984.
- [21] 李文安. 地钱在离体条件下的无性繁殖及脱分化与再分化的研究[J]. 植物学报, 1990, **32** (11): 852 - 857.

- LI Wen'an. In vitro propagation, dedifferentiation and redifferentiation of *Marchantia polymorpha* L. [J]. *J Integr Plant Biol*, 1990, **32** (11): 852 – 857.
- [22] 高永超, 沙伟, 张晗. 不同植物生长物质对牛角藓愈伤组织诱导的影响[J]. 植物生理学通讯, 2003, **39** (1): 29 – 32.
- GAO Yongchao, SHA Wei, ZHANG Han. Effects of different plant growth substances on callus induction of *Cratoneuron filicinum* [J]. *Plant Physiol Commun*, 2003, **39** (1): 29 – 32.
- [23] 潘一廷, 施定基, 杨明丽, 等. 小立碗藓愈伤组织诱导和培养[J]. 植物生理学通讯, 2005, **41** (3): 293 – 296.
- PAN Yiting, SHI Dingji, YANG Mingli, *et al.* Callus induction and culture of *Physcomitrella patens* [J]. *Plant Physiol Commun*, 2005, **41** (3): 293 – 296.
- [24] 曹同, 陈静文, 娄玉霞. 苔藓植物组织培养繁殖技术及其应用前景[J]. 上海师范大学学报: 自然科学版, 2005, **34** (4): 52 – 56.
- CAO Tong, CHEN Jingwen, LOU Yuxia. Reproducing techniques in the tissue culture of bryophytes and its applying prosperity [J]. *J Shanghai Norm Univ Nat Sci*, 2005, **34** (4): 52 – 56.
- [25] SCHWEEN C, HOHE A, KOPRIVOVA A, *et al.* Effects of nutrients, cell density and culture techniques on protoplast regeneration and protonema development in a moss, *Physcomitrella patens* [J]. *Plant Physiol*, 2003, **160**: 209 – 212.
- [26] 赵建成, 黄土良, 李敏, 等. 小扭口藓 *Barbula indica* 芽胞发育特征的实验研究[J]. 植物研究, 2005, **25** (2): 169 – 172.
- ZHAO Jiancheng, HUANG Shiliang, LI Min, *et al.* Experimental studies on the characteristics of gemma development in *Barbula indica* [J]. *Bull Bot Res*, 2005, **25** (2): 169 – 172.
- [27] 刚永运. 几种药用苔藓植物的培养及生物学特性研究[D]. 北京: 首都师范大学生命科学学院, 2001.
- GANG Yongyun. *Studies on Culturing and Biological Characters of Several Medical Bryophytes* [D]. Capital Normal University. Collage of Life Science, 2001.
- [28] SABOVLJVIC M, BIJELOVIC A, DRAGICEVIC I. In vitro culture of mosses: *Aloina aloides* (K. F. Schultz) Kindb., *Brachythecium velutinum* (Hedw.) B. S. G., *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., *Eurhynchium praelongum* (Hedw.) B. S. G. and *Grimmia pulvinata* (Hedw.) Sm.[J]. *Turk J Bot*, 2003, **27**: 441 – 446.
- [29] 郎玉卓, 阚世超, 刘伟才, 等. 大羽藓组培初代培养适宜消毒方法的筛选[J]. 安徽农业科学, 2008, **36** (34): 14892 – 14893.
- LANG Yuzhuo, KAN Shichao, LIU Weicai, *et al.* Screening of appropriate disinfection method of early cultured *Thuidium cymbifolium* tissue culture [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2008, **36** (34): 14892 – 14893.
- [30] 王振杰, 黄土良, 李志, 等. 不同 pH 值和培养基对金灰藓 *Pylaisiella polyantha* 孢子萌发的影响[J]. 河北师范大学学报: 自然科学版, 2008, **32** (6): 813 – 816.
- WANG Zhenjie, HUANG Shiliang, LI Zhi, *et al.* The effect of different pH and cultures on the *Pylaisiella polyantha* spore germination [J]. *J Hebei Norm Univ Nat Sci Ed*, 2008, **32** (6): 813 – 816.
- [31] 尹德明, 温学森, 娄红祥. 地钱愈伤组织的诱导及其细胞培养条件的建立[J]. 山东大学学报: 医学版, 2008, **46** (4): 433 – 437.
- YIN Deming, WEN Xuesen, LOU Hongxiang. Initiation of callus tissues and establishment of suspension culture of *Marchantia polymorpha* L. cells [J]. *J Shandong Univ Health Sci*, 2008, **46** (4): 433 – 437.
- [32] 李艳红, 宋秀珍, 张便勤. 不同培养基及酶对立碗藓原丝体的作用研究[J]. 植物研究, 2004, **24** (2): 192 – 196.
- LI Yanhong, SONG Xiuzhen, ZHANG Bianqin. Effects of diferent media and enzymes on protonema of *Physcomitrium sphaeri* [J]. *Bull Bot Res*, 2004, **24** (2): 192 – 196.
- [33] 高永超, 薛红, 沙伟, 等. 大量元素对牛角藓愈伤组织悬浮细胞的生理效应[J]. 植物生理学通讯, 2003, **39** (6): 595 – 598.
- GAO Yongchao, XUE Hong, SHA Wei, *et al.* Physiological effect of major elements on the suspended cells of *Cratoneuron filicinum* [J]. *Plant Physiol Commun*, 2003, **39** (6): 595 – 598.
- [34] 魏华, 李菁, 陈军, 等. 尖叶拟船叶藓愈伤组织诱导实验[J]. 吉首大学学报: 自然科学版, 2008, **29** (1): 87 – 89.

- WEI Hua, LI Qing, CHEN Jun, *et al.* Primary study on the callus induction of *Dolichomitriopsis diversiformis* [J]. *J Jishou Univ Nat Sci Ed*, 2008, **29** (1): 87 - 89.
- [35] 高永超, 王加宁, 邱维忠, 等. 不同光照和植物生长物质对地钱愈伤组织诱导及分化的影响[J]. *山东科学*, 2007, **20** (4): 37 - 43.
- GAO Yongchao, WANG Jianing, QIU Weizhong, *et al.* Effects of different light and plant growth substances on the induction and decomposition of callus of *Marchantia polymorpha* [J]. *Shandong Sci*, 2007, **20** (4): 37 - 43.
- [36] 刘世彪, 陈军, 李菁, 等. 光照和温度对尖叶拟船叶藓孢子萌发及原丝体发育的影响[J]. *西北植物学报*, 2003, **21** (1): 101 - 106.
- LIU Shibiao, CHEN Jun, LI Jing, *et al.* Effects of light and temperatures on spore germination and protonema development of *Dolichomitriopsis diversiformis* [J]. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 2003, **21** (1): 101 - 106.
- [37] 王智慧, 张朝晖, 钟本固. pH 和钙离子浓度对葫芦藓暖地变种孢子萌发的影响[J]. *贵州科学*, 1995, **13** (4): 33 - 35.
- WANG Zhihui, ZHANG Zhaohui, ZHONG Bengu. The effects of pH value and Ca⁺ on spore germination of *Fuaria hygrometrica* Hedw. var. *calvescens* Kind [J]. *Guizhou Sci*, 1995, **13** (4): 33 - 35.
- [38] 陈蓉蓉, 刘宁, 杨松, 等. pH 值对黔灵山喀斯特生境中几种苔藓植物生长的影响[J]. *贵州环保科技*, 1998, **4** (1): 23 - 28.
- CHEN Rongrong, LIU Ning, YANG Song, *et al.* The effects of pH value on growth of four bryophytes from Karst Area on Qianling Mountain [J]. *Guizhou Environ Prot Sci Technol*, 1998, **4** (1): 23 - 28.
- [39] 刘晓红. 细胞分裂素、氯丙嗪对葫芦藓发育过程的影响[J]. *西南师范大学学报*, 1998, **23** (4): 476 - 480.
- LIU Xiaohong. Effect of cytokinins and chlorpromazine during development in *Fuaria hygrometrica* [J]. *J Southwest China Norm Univ Nat Sci*, 1998, **23** (4): 476 - 480.
- [40] 黄士良, 李敏, 张秀萍, 等. 3种植物生长调节剂对密叶绢藓 *Entodon challengerii* 孢子萌发、原丝体发育及芽体发生的影响[J]. *武汉植物学研究*, 2007, **25** (1): 65 - 69.
- HUANG Shiliang, LI Min, ZHANG Xiuping, *et al.* Effect of three growth regulators on spore germination, protonema development and bud differentiation in *Entodon challengerii* [J]. *J Wuhan Bot Res*, 2007, **25** (1): 65 - 69.
- [41] 刘丽, 胡光珍, 王幼芳, 等. 萘乙酸(NAA)对葫芦藓 *Fuaria hygrometrica* 孢子萌发及原丝体生长的影响[J]. *华东师范大学学报: 自然科学版*, 2004 (4): 138 - 141.
- LIU Li, HU Guangzhen, WANG Youfang, *et al.* Effect of NAA on spore germination and protonema growth of *Fuaria hygrometrica* [J]. *J East China Norm Univ Nat Sci*, 2004 (4): 138 - 141.
- [42] WANG T L, HORGAN R, COVE D. Cytokinins from the moss *Physcomitrella patens* [J]. *Plant Physiol*, 1981, **68**: 735 - 738.
- [43] 赵建成, 李秀芹, 张慧中. 10种藓类植物孢子萌发与原丝体发育的初步研究[J]. *干旱区研究*, 2002, **19** (1): 32 - 35.
- ZHAO Jiancheng, LI Xiuqin, ZHANG Huizhong. A preliminary study on spore germination and protonema development of ten species of mosses [J]. *Arid Zone Res*, 2002, **19** (1): 32 - 35.
- [44] 魏华, 王亚琴, 李菁. 尖叶拟船叶藓原丝体沉水培养的发育特征[J]. *吉首大学学报: 自然科学版*, 2006, **27** (6): 95 - 98, 102.
- WEI Hua, WANG Yaqin, LI Jing. Characteristics of protonema development of submerged culture in *Dolichomitriopsis diversiformis* [J]. *J Jishou Univ Nat Sci Ed*, 2006, **27** (6): 95 - 98, 102.
- [45] 胡人亮. 苔藓植物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1987.
- [46] 吴鹏程. 苔藓植物生物学[M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [47] NISHIDA A Y. Studies on the sporeling types in bryophytes [J]. *J Hattori Bot Lab*, 1978, **44**: 371 - 454.
- [48] 高谦, 张钺. 中国藓类植物孢子萌发和原丝体发育的初步研究[J]. *武汉植物学研究*, 1986, **4** (2): 123 - 133.
- GAO Qian, ZHANG Yue. A preliminary study on spore germination and protonema development of mosses in China [J]. *J Wuhan Bot Res*, 1986, **4** (2): 123 - 133.
- [49] 包文美, 曹建国. 泥炭藓及其孢子萌发和有性生殖[J]. *生物学通报*, 2001, **36** (1): 8 - 9.
- BAO Wenmei, CAO Jianguo. Spore germination and sexual reproduction of *Sphagnum* [J]. *Bull Biol*, 2001, **36** (1): 8 - 9.

- [50] 衣艳君, 强胜. 5 种藓类植物的孢子萌发与原丝体发育[J]. 植物学通报, 2005, **22** (6): 708 – 714.
YI Yanjun, QIANG Sheng. Study of spore germination and protonema development of five species mosses [J]. *Chin Bull Bot*, 2005, **22** (6): 708 – 714.
- [51] 包文美, 曹建国. 地钱的孢子体和孢子萌发[J]. 生物学通报, 2000, **35** (1): 17 – 19.
BAO Wenmei, CAO Jianguo. Sporophyte and spore germination of *Marchantia Polymorpha* [J]. *Bull Biol*, 2000, **35** (1): 17 – 19.
- [52] 范庆书, 赵建成, 黄土良. 金灰藓 *Pylaisiella polyantha* 配子体发生的实验观察[J]. 武汉植物学研究, 2004, **22** (2): 140 – 144.
FAN Qingshu, ZHAO Jiancheng, HUANG Shiliang. Experimental observations on the gametophyte development of *Pylaisiella polyantha* [J]. *J Wuhan Bot Res*, 2004, **22** (2): 140 – 144.
- [53] 李敏, 范庆书, 黄土良, 等. 大帽藓原丝体发育特征的实验研究[J]. 武汉植物学研究, 2005, **23** (1): 58 – 62.
LI Min, FAN Qingshu, HUANG Shiliang, *et al.* Experimental studies on the characteristics of protonema development in *Encalypta ciliate* [J]. *J Wuhan Bot Res*, 2005, **23** (1): 58 – 62.
- [54] 李敏, 赵建成, 黄土良, 等. 垂蒴真藓原丝体发育特征的研究[J]. 西北植物学报, 2005, **25** (2): 363 – 367.
LI Min, ZHAO Jiancheng, HUANG Shiliang, *et al.* Study on the characteristics of protonema development of *Bryum uliginosum* [J]. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 2005, **25** (2): 363 – 367.
- [55] ZHAO Jiancheng, HUANG Shiliang, LI Min, *et al.* A study on the characteristics of spore generation and protonemal development in *Lindbergia brachypterera* [J]. *Arctoa*, 2004, **13**: 223 – 228.
- [56] 李敏, 赵建成, 黄土良, 等. 中华缩叶藓孢子萌发与原丝体发育特征研究[J]. 西北植物学报, 2006, **28** (8): 1521 – 1525.
LI Min, ZHAO Jiancheng, HUANG Shiliang, *et al.* Characteristics of spore germination and protonemal development in *Ptychomitrium sinense* [J]. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 2006, **28** (8): 1521 – 1525.
- [57] 刘保东, 丛迎芝. 波叶仙鹤藓的孢子培养及发育生物学研究[J]. 植物研究, 2003, **23** (2): 159 – 164.
LIU Baodong, CONG Yingzhi. Studies on spores culture and developmental biology of *Atrichum undulatum* [J]. *Bull Bot Res*, 2003, **23** (2): 159 – 164.
- [58] 刘吉开, 曾陇梅, 吴大刚. 苔藓植物活性成分研究进展[J]. 化学通报, 1993 (2): 1 – 5.
LIU Jikai, ZENG longmei, WU Dagang. Advances in studies on active compounds from bryophytes [J]. *Chemistry*, 1993 (2): 1 – 5.
- [59] 王小宁, 娄红祥. 苔藓植物生物活性成分研究进展[J]. 中草药, 2005, **36** (2): 303 – 307.
WANG Xiaoning, LOU Hongxiang. Advances in studies on bioactive compounds from bryophytes [J]. *Chin Trad Herbal Drug*, 2005, **36** (2): 303 – 307.
- [60] RICHARDSON D H S. *The Biology of Mosses* [M]. Oxford: Blackwell Scientific Publications Blackwell, 1981.
- [61] WOOD A J, DUFF R J, OLIVER M J. Expressed sequence tags (ESTs) from desiccated *Tortula ruralis* identify a large number of novel plant genes [J]. *Plant Cell Phys*, 1999, **40**: 361 – 368.