

# 鹿蹄草组织培养研究

鹿蹄草属鹿蹄草科植物，根茎纤细，叶基生，圆形、椭圆形或肾形，花瓣白色或粉红色，蒴果扁球形。主要分布于山东、山西、河南等地，河北主要产于承德、小五台山、白石山等地。中医学将鹿蹄草作为中草药使用，有祛风湿、解毒、止血等功效。本试验通过组织培养方法对鹿蹄草进行繁殖，目的在于为更快、更好地繁殖鹿蹄草植株积累资料。

## 1 材料和方法

1.1 试验材料。2007年7月采自承德塞罕坝森林公园成熟鹿蹄草植株，外植体是叶片和根状茎。

### 1.2 试验方法

1.2.1 消毒处理。将外植体茎段、叶片置于流水下冲洗干净，用洗涤剂浸泡5 min，用牙刷轻轻地刷洗干净，再用流水冲洗。把茎段剪成1.5 cm左右的小段，对叶片则垂直主脉剪2~3下，把主脉切断，用蒸馏水冲洗3遍，待用。

将茎段在无菌的超净工作台上用75%酒精浸泡30 s，用无菌水冲洗一遍，再用0.1%的升汞消毒3、5、7、9、11 min，观察不同消毒处理后损伤情况，最后用无菌水冲洗4~5次，接种于MS培养基上，定期进行观察。叶片消毒的方法同上。

培养条件：消毒后均接种在MS培养基(蔗糖3%，琼脂0.6%，pH值5.8~6.0)上，于无菌室内培养，光照为1500~2000 lx，温度为25(±2)℃，光照时间为14 h/d。

1.2.2 二次灭菌。对有污染的试管苗采用0.1%升汞处理3、5、7、9 min，观察不同处理消毒后外植体损伤情况，最后用无菌水冲洗4~5次，接种于培养基上，20 d后观察不同处理消毒后外植体的污染率和生长表现。

## 2 结果与分析

2.1 外植体消毒处理。用0.1%的升汞对茎段进行消毒处理，则消毒时间不同污染率有所不同(表1)。

表1 升汞处理对鹿蹄草根状茎的污染率的影响

消毒时间(min)	接种瓶数	污染瓶数	污染率(%)	消毒后外植体表现
3	15	13	87	正常
5	15	7	47	正常
7	15	5	33	正常
9	10	3	30	切口变褐
11	10	3	30	切口变褐

试验结果表明：外植体的污染率都在30%以上，随着灭菌时间的延长，污染率有所降低，但对外植体的损伤越来越严重，当达到9 min时，污染率最低，而切口开始变褐。因此得出结论：用0.1%的升汞对茎段灭菌采用7 min最佳。

2.2 用0.1%的升汞对叶片进行消毒处理，则消毒时间不同污染率有所不同(表2)。试验结果表明：外植体的污染率都在30%以上，随着灭菌时间的延长，污染率会逐渐降低，但对外植体的损伤越来越严重，灭菌7 min污染率并没有下

降，而叶缘开始变褐。因此得出结论：用0.1%的升汞对叶片的灭菌采用5 min最佳。

表2 升汞处理对鹿蹄草叶片的污染率

消毒时间(min)	接种瓶数	污染瓶数	污染率(%)	消毒后外植体表现
3	15	12	80	正常
5	15	6	40	正常
7	15	6	40	叶缘变褐
9	10	3	30	叶缘变褐
11	10	3	30	现失绿斑点

2.3 二次灭菌。用0.1%的升汞对茎段进行二次灭菌，则消毒时间不同污染率有所不同(表3)。

表3 二次灭菌对鹿蹄草根状茎污染率的影响

消毒时间(min)	接种瓶数	污染瓶数	污染率(%)	消毒后外植体表现
3	10	7	70	正常
5	10	4	40	正常
7	10	4	40	切口变褐
9	10	3	30	切口变褐

试验结果表明：外植体污染率都在30%以上，随着灭菌时间的延长，污染率有所降低。当达到7 min，茎段切口开始变褐。因此得出结论：用0.1%的升汞对茎段进行二次灭菌采用5 min最佳。

2.4 用0.1%的升汞对叶片进行二次灭菌，则不同时间污染率有所不同(表4)。

表4 二次灭菌对鹿蹄草叶片的污染率

消毒时间(min)	接种瓶数	污染瓶数	污染率(%)	消毒后外植体表现
3	10	5	50	正常
5	10	4	40	叶缘变褐
7	10	4	40	叶缘变褐
9	10	4	40	现失绿斑点

试验结果表明：外植体的污染率都在40%以上，随着灭菌时间的延长，污染率有所降低。当时间达到5 min，叶缘开始变褐。因此得出结论：用0.1%的升汞对叶片进行二次灭菌采用3 min最佳。

## 3 结论与讨论

3.1 在植物组织培养中，当外植体组织被切割和接种时，损伤切面变褐，这些褐色物扩散到培养基中，常发现外植体或培养物的褐化、枯死现象，对诱导外植体的脱分化和培养物的再分化有严重的影响，以至对某些植物的组织培养能否取得成功起到决定性的作用。在试验过程中，用升汞消毒后发现鹿蹄草的根状茎和叶片存在着不同程度的褐化现象。对鹿蹄草的组织培养，基本上掌握了其消毒方法，用0.1%的升汞对鹿蹄草茎段的灭菌采用7 min最佳，用0.1%的升汞对鹿蹄草叶片的灭菌采用5 min最佳。

3.2 本试验对外植体采用消毒处理和二次灭菌处理后，污染率均在30%以上，找出降低污染率的方法还有待于进一步研究。

071001 河北省保定职业技术学院 王 维

卢建涛 郑兴莲

071000 河北顺驰房地产开发有限公司 苏 巧