

野生花卉老鹳草的引种和植物组织培养研究

贡 剑

(山西农业大学林学院, 山西 太谷 030801)

摘 要: 实验用老鹳草无菌苗做原料, 利用老鹳草的茎为外植体, 进行离体培养, 选出合适的培养基, 以培育出品质好的完整植株, 为以后的引种驯化提供试验材料。结果表明, 培养基灭菌时间为 3min, 琼脂浓度为 $7\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 种子的出芽率为最高, 可达 100%; $\text{MS} + 6\text{-BA } 0.3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基为茎段离体培养的最佳培养基。

关键词: 老鹳草; 无菌苗; 外植体; 培养基; 离体培养

中图分类号: S322.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2481(2008)04-0044-03

The wild flower *Geranium thunbergii* Siebet Zuce leads a kind Study with plant tissue culture

YUN Jian

(College of Forestry, Shanxi Agricultural University, Taigu Shanxi, 030801, China)

Abstract: This experiment has no germ seedling to do raw material with *Geranium thunbergii* Siebet Zuce and make use of the caulis of *Geranium thunbergii* Siebet Zuce in order to outside plant a body, carry on leaving body development, select a suitable culture media to grow product the quality good complete plant, is hereafter of lead a kind to tame to turn to provide experiment material. Express that culture media's putting out germ is 3 minutes for time as a result, the Qiong fat density is a $7\text{gs}\cdot\text{point L}^{-1}$, of the seed bud rate is tallest, can reach to 100%; $\text{MS}+6\text{-the BA } 0.3\text{ mgs}\cdot\text{L}^{-1} + \text{NAAs } 0.1\text{ mgs/l}\cdot\text{the culture media of L}^{-1}$ for caulis segment the best culture media which leave body development.

Key words: *Geranium thunbergii* Siebet Zuce; no germ seedling; explants; culture medium; plant in vitro culture

老鹳草学名 *Geranium wilfordii* Maxim, 别名: 鸭脚草; 分类: 牻牛儿苗科 Geraniaceae 老鹳草属 *Geranium*; 形态: 多年生草本, 高 35~80cm。茎伏卧或略倾斜, 多分枝。叶对生, 叶柄长 1.5~4cm, 具平伏卷曲的柔毛, 叶片 3~5 深裂, 近五角形, 基部略呈心形, 裂片近菱形, 先端钝或突尖, 边缘具整齐的锯齿, 上面绿色, 具伏毛, 下面淡绿色, 沿叶脉被柔毛。花小, 径约 1cm, 每 1 花梗 2 朵, 腋生, 花梗细长; 花萼 5, 卵形或卵状披针形, 疏生长柔毛, 先端有芒; 花瓣 5, 倒卵形, 白色或淡红色, 具深红色纵脉; 雄蕊 10, 全具花药; 花柱 5 裂, 延长并与果柄连合成喙。蒴果先端长喙状, 成熟时裂开, 喙部由下而上卷曲。种子长圆形, 黑褐色。花期 5~6 月。果期 6~7 月。老鹳草为一年生或多年生草本植物, 常自生于海拔 100~500m 的低山草坡或疏林下温度适应范围较广, 分布于我国长江流域和北部各省。老鹳草的叶形美观, 叶色鲜艳, 花色多, 花美观, 植株矮小, 适合做地被植物用。

随着城市绿化建设的发展, 野生花卉的引种驯

化和开发应用越来越受到重视。老鹳草为野种驯化而来, 适应性强, 抗性强, 适应于边坡绿化。不仅可以延长北方城市的绿化、彩化期、丰富城市景观, 还可以体现这些城市的绿化特点和地方风格。在城市中绿化、香化、美化等起到一定的作用。除此园林用途外, 老鹳草的药用价值也相当高, 为中医临床常用药。具有祛风湿、通经络、止泻痢等功能, 现代药理研究也发现其具有抗菌消炎、抗病毒、抗肝损伤、止咳、抗氧化、抗癌以及孕激素样等多种作用。目前, 国内对老鹳草的药理作用研究较多, 但对老鹳草的园林用途的研究很少。

本实验试图通过老鹳草的植物组织培养技术, 选出合适的培养基, 以培育出品质好的完整植株, 为以后的引种驯化提供试验材料。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

本实验所用材料老鹳草种子来自庞泉沟自然保

* 收稿日期: 2008-02-18

作者简介: 贡 剑(1980-), 女, 山西太谷人, 在读硕士, 助教, 主要从事园林植物与观赏园艺景观设计规划方面的研究。

护区。

1.2 基本试验操作

1.2.1 培养基的配制 本试验选取 MS 培养基为基础培养基

1.2.1.1 MS 培养基母液的制取 制取母液(表 1), 一般按表列顺序依次称量, 分别溶解在少量蒸馏水中, 最后在依次加到一起, 并定容到规定的体积。用万分之一的电子天平称取药品。母液配好后贴上标签, 保存在 40℃ 冰箱中。其中有成分的母液放置于 -20℃ 冰箱中。

配制母液 III 要注意: 分别溶解 $\text{FeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Na}_2\text{-EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 于 450ml 60℃~80℃ 蒸馏水中, 适当加热并不停搅拌。然后将两种溶液混合在一起, 调整 PH 值到 5.5, 最后加蒸馏水定容到 1000ml。

1.2.1.2 MS 培养基的配制 用白糖代替蔗糖, 用琼脂作为凝固剂。有下面 3 种配方:

(1) MS+ 白糖 30g/L+ 琼脂 5g·L⁻¹

(2) MS+ 白糖 30g/L+ 琼脂 7g·L⁻¹

(3) MS+ 白糖 30g/L+ 琼脂 8g·L⁻¹

表 1 MS 培养基母液的配制

编号	种类	成分	用量(mg·L ⁻¹)	每升培养基用量(ml)
I	大量元素	NH_4NO_3	33000	50
		KNO_3	38000	
		$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8800	
		$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	7400	
		KH_2PO_4	3400	
		KI	166	
		H_3BO_3	1240	
		$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	4460	
II	微量元素	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1720	5
		$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	50	
		$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5	
		$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	5	
		$\text{FeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	5560	
III	铁盐	$\text{Na}_2\text{-EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	7460	5
		肌酸	20000	
IV	有机物	烟酸	100	5
		盐酸吡哆醇	100	
		盐酸硫胺素	20	
		甘氨酸	400	

1.2.2 灭菌 将配好的培养基和蒸馏水装到三角瓶中, 及试验所需的器材放在高压锅里进行灭菌。

将所需的灭菌材料及器材放在高压锅内, 接通电源, 打开开关, 温度设置为 121℃, 打开工作开关。当气压达到 0.05 时, 提起阀门放气, 当气压降到 0.25 时, 停止放气。在等到气压达到 0.1 时, 灭菌 20min。然后关掉开关, 切断电源, 冷却, 当气压将为 0 时, 取出材料及器材。

1.2.3 超净台的操作 接通电源, 打开紫外灯对超净台灭菌 15min。然后关掉紫外灯, 打开通风开关, 通风 20min。之后于超净台内进行培养基的分装、接种等操作。

1.3 实验方法

1.3.1 老鹳草种子的无菌培养

1.3.1.1 老鹳草种子的选取 选取颗粒饱满的种子为材料。

1.3.1.2 老鹳草种子的灭菌 在超净台上, 将种子置于无菌培养皿中, 先用 75% 的酒精溶液浸泡 30s, 然后用无菌水冲洗 5 次。在用 35% 的 NaClO 溶液浸泡, 作 3 种梯度进行灭菌; a. 1min; b. 3min; c. 5min。然后用无菌水冲洗 5 次。

1.3.1.3 老鹳草种子无菌培育的培养基的选择 老鹳草种子培养只用 MS 培养基。为了获得硬度适中的培养基, 在培养基中加入不同浓度的琼脂制取固体培养基。

(1) MS+ 琼脂 5g·L⁻¹

(2) MS+ 琼脂 7g·L⁻¹

(3) MS+ 琼脂 8g·L⁻¹

1.3.1.4 老鹳草种子的接种 在超净台中, 将用灭菌不同时间的种子分别接种到琼脂浓度不同的培养基上。接种晚后, 用封口膜将培养皿封好。然后将培养皿放在光照培养箱中进行培养。并隔几天观察一次。

1.3.2 老鹳草茎的培养 从老鹳草无菌苗上剪取茎段, 然后接种到以下 3 种培养基中, 并进行观察。

(1) MS + 6-BA 0.3mg·L⁻¹ + NAA 0.1mg·L⁻¹

(2) MS + 6-BA 0.1mg·L⁻¹ + NAA 0.2mg·L⁻¹

(3) MS + 6-BA 0.3mg·L⁻¹ + NAA 0.2mg·L⁻¹

2 结果与分析

2.1 老鹳草种子的无菌培育

试验结果(表 2), 表明灭菌时间为 1min 时, 虽有发芽, 但有污染。说明灭菌不彻底, 不能培育出无菌实生苗。灭菌时间为 5min 时, 由于灭菌时间过长, 使种子失活, 严重影响种子的发芽率。而灭菌时间为 3min 时, 种子出芽率为最高, 而且无污染, 为最佳灭菌时间。

用不同浓度的琼脂培养基培养, 试验结果表明, 琼脂为 5g·L⁻¹ 的培养基凝固不好, 不利于接种; 琼脂为 7g·L⁻¹ 的培养基和琼脂为 8g·L⁻¹ 的培养基, 硬度适中, 利于接种, 但在接种后, 琼脂为 7g·L⁻¹ 的培养基, 发芽率为 100%, 而琼脂为 8g·L⁻¹ 的培养基发芽率为 10%。说明琼脂为 8g·L⁻¹ 的培养基, 琼脂浓度太高, 培养基太硬, 不利于种子对养分和水分的吸收, 使其发芽速度缓慢发芽率低。实验表明琼脂为 7g·L⁻¹ 的培养基为最佳。

2.2 老鹳草茎的培养

老鹳草的实生苗长到一定高度时, 将其茎剪下,

表 2 出芽种子及状况

灭菌时间	出芽的种子及状况	出芽率
1min	30 粒种子出芽的有 27 粒,但有严重的污染。	90%
3min	30 粒种子出芽的有 30 粒,无污染。	100%
5min	10 粒种子出芽的有 1 粒,无污染。	10%

并将茎切成小段,放在不同培养基培养的情况如下。在 MS+6-BA0.3mg·L⁻¹+NAA0.1mg·L⁻¹ 的培养基中培养的茎段伤口处褐化。10d 后培养基褐化减轻,茎段基部膨大,从茎段的顶端产生丛生芽,增殖数为 3,芽的诱导率为 100%,并且在基部有粉色的愈伤产生,愈伤的诱导率为 100%。13d 后茎段和培养基的褐化明显减弱,愈伤组织增大。之后应将愈伤分离出去,诱导其分化。将丛生芽放入生根培养基中诱导生根,培育出完整植株。

在另外 2 种培养基上培养的茎段,5d 后茎段变褐,产生褐化现象。继续培养,有少数茎段接触到培养基的基部有愈伤的形成。

实验结果表明,在 MS+6-BA0.3mg·L⁻¹+NAA 0.1mg/L·L⁻¹ 的培养基为最佳培养基。

3 讨论

实验过程中,对材料灭菌不充分,材料上、超净台中有菌,培养器皿不干净等都会引起污染造成实验结果不理想。目前来看,老鹳草的种子的培养,培养基灭菌时间为 3min,琼脂浓度为 7g·L⁻¹ 时,种子的出芽率为最高。MS+6-BA0.3mg·L⁻¹+NAA 0.1mg/L·L⁻¹ 的培养基为老鹳草茎段离体培养的最佳培养基。是否有更佳的培养基还有待于进一步研究。

种植中草药不仅可以满足人民医疗保健的需要,而且可以为山区的经济发展,开展多种经营,扶贫致富,改变山区面貌作出贡献。所以,今后加强老鹳草的引种、驯化,以及对其栽培技术的研究将具有很重要的现实意义。

4 小结

近年来,我国北方城乡植树种草等园林建设有了很大进展,但是面临着树种单调、花卉种类不多的问题。很多地方依靠草花或引进南方木本花卉,以解决眼前困难。但是引进外来的木本花卉存在着一定的局限性,如所引进的木本花卉不一定能适应北方的生态环境,大量南方木本花卉耐寒性及抗旱性较弱,不能露天种植;在繁殖与栽培管理方面存在着技术困难;从经济角度考虑不合算。然而,许多本地的野生花卉适应性广,经济价值高,但采用常规方法难以满足人们的需求,故应采用应用生物工程组织培养等新技术,实现工厂化育苗。目前在我省的引种驯化中还很少采用组织培养等新技术,因此,要充分利用本地的野生花卉资源,丰富花卉生产。从而,满足人们的多种需求。

参考文献:

- [1] 李俊明. 植物组织培养教程[M]. 北京:北京农业大学出版社. 1997, 1.
- [2] 王玉珍. 组培快速繁殖技术与产业化研究[J]. 林业科技, 1997, 22(6): 12-17.
- [3] 国家药典委员会. 中国药典: I 部[M]. 北京:北京化学工业出版社. 2000, 91.
- [4] 官秀度,王纪华. 老鹳草的栽培研究[J]. 国外特种经济动植物, 1992, 13(2): 51-52.
- [5] 周海燕. 老鹳草的研究概况[J]. 国外医药-植物药分册, 1996, 11(4): 164-165.
- [6] 张丰华,黄秀深,贾波. 药用老鹳草原植物分布概述[J]. 时珍国医药, 2005, 16(6): 540-542.
- [7] 宋立人. 现代中药学大辞典[M]. 北京:人民卫生出版社. 2001, 795-798.
- [8] 闰润红,杨文珍,王世民,等. 老鹳草孕激素样作用的实验研究[J]. 中药药理与临床, 1998, 14(4): 29.
- [9] 常海涛. 茄中的翠雀素对人纤维肉瘤 HT-1080 侵袭的体外抑制作用[J]. 中草药, 1999, 30(3):321-323.
- [10] 朱华. 老鹳草的药理作用研究进展[J]. 中草药, 1997, 28(10):132-133.
- [11] 雷志勇,刘岱琳,胡迎庆,等. 老鹳草的化学成分及药理研究进展[J]. 中药材, 2002, 25(10): 579-581.
- [12] 雷海民,等. 粗根老鹳草化学成分的研究[J]. 药学报, 2000, 35(1):67.
- [13] 周海燕. 老鹳草的研究概况[J]. 国外医药植物药分册, 1996, 11(4):164.
- [14] 李琳波,等. 青岛老鹳草化学成分的研究[J]. 中草药, 2000, 31(2):92.
- [15] 李琳波,等. 青岛老鹳草挥发油成分研究[J]. 中药材, 1998, 21(12):616.