

## 三花龙胆嫩叶的离体培养与快速繁殖

顾地周\*, 陆爽, 解艳君

通化师范学院生物系, 吉林通化 134002

### *In vitro* Culture and Rapid Propagation of Young Leaves of *Gentiana triflora* Pall.

GU Di-Zhou\*, LU Shuang, XIE Yan-Jun

Department of Biology, Tonghua Normal College, Tonghua, Jilin 134002, China

**1 植物名称** 三花龙胆(*Gentiana triflora* Pall.)。

**2 材料类别** 新萌发嫩叶。

**3 培养条件** 基本培养基为MS。(1)嫩叶直接再生芽苗诱导培养基: 1/2MS+6-BA 2.20 mg·L<sup>-1</sup> (单位下同)+IAA 0.08+3% 蔗糖; (2)芽苗继代增殖培养基: 1/2MS+6-BA 2.20+IAA 0.05+3%蔗糖; (3)生根培养基: 1/4MS+IBA 0.01+1.5% 蔗糖。上述各培养基均加 7.0 g 琼脂粉, pH 5.8。培养温度为(26±2) °C, 光照强度为 22 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 光照时间 10 h·d<sup>-1</sup>。

#### 4 诱导与分化情况

**4.1 嫩叶直接再生芽苗的诱导** 于6月上旬, 取三花龙胆新萌发的嫩叶, 在超净工作台上用75%酒精涮洗 10 s, 再用含 3% 次氯酸钠溶液浸泡 5 min, 然后用无菌水冲洗 6 次, 无菌滤纸吸干叶片表面的水分(顾地周等 2008a), 然后将其接种到培养基(1)中进行叶片直接再生芽苗诱导培养。培养 10 d 叶片开始增厚, 继续培养 24 d, 叶片表面出现颗粒状锥形凸起, 36 d 后颗粒状锥形凸起逐渐伸长为芽苗, 芽苗诱导率达 98.0% 以上。

**4.2 芽苗的继代与增殖** 将带有芽苗的增厚嫩叶切割成 0.2~0.3 cm 的小块, 转接到培养基(2)中进行继代增殖培养。27 d 为 1 个继代增殖周期, 增殖倍数平均达 70 以上。

**4.3 壮苗与生根** 将生长健壮的芽苗切下, 然后将其移入培养基(3)中。培养 18 d, 幼苗的基部长出 2~3 条肉质的不定根; 28 d 后, 苗高达 4.0 cm, 根长可达 2.5 cm 以上, 有的长出 2 条以上肉质的侧根, 生根率达 98.5%。

**4.4 炼苗与移栽** 待苗生根后, 从培养瓶中取出试管苗, 在含有 50 倍液的杀毒矾溶液中洗去苗上残留的琼脂(顾地周等 2007), 然后植入经 500 倍液多菌灵过的田园土、腐烂松针和细河砂(3:1:1)混合的基质中, 用透性好的塑料薄膜覆盖以保湿保温(顾地周

等 2008b), 湿度保持在 80%, 温度控制在(16±2) °C, 每天自然光照 11 h, 每天中午通风换气 30 min, 1 周后揭去薄膜, 每天早晚喷洒清水各 1 次(顾地周等 2008c)。成活率达 96% 以上。

**5 意义与进展** 三花龙胆是龙胆科龙胆属多年生草本植物, 在《吉林省野生动植物保护管理暂行条例》中定为省级一类重点保护植物, 是长白山区野生珍稀濒危药用植物。据中华人民共和国药典(一部)记载, 其干燥根及根茎具有清热燥湿、泻肝胆火的功效, 主治湿热黄疸、阴肿阴痒、带下、强中、湿疹瘙痒、目赤等症。另外, 其花冠深蓝色, 通常 3~7 朵簇生于茎端或叶腋, 可引种开发做鲜切花和用于花坛的绿化。其在长白山区数量稀少, 分布区域十分狭窄, 仅零星分布在长白山区海拔 640~1 800 m 的草甸、山坡草地、灌木丛中或林中空地。因其种子成熟度差, 萌发率低, 其常规繁殖主要靠分蘖方式, 繁殖系数小, 不易操作。本文结果对其开发和利用可能有一定的参考意义。与其同属的其它种植物的组培快繁已有报道(顾地周等 2009), 但三花龙胆的组织培养和快速繁殖的报道尚未见。

#### 参考文献

- 顾地周, 丛小力, 姜海智, 张秋菊, 姜云天, 朱俊义(2008a). 牛皮杜鹃的组织培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 44 (2): 300  
顾地周, 丛小力, 姜云天, 何晓燕(2008b). 色木槭的组织培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 44 (2): 314  
顾地周, 丛小力, 宋利丽, 王艳萍, 姜云天(2008c). 木通马兜铃的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 44 (1): 136  
顾地周, 何晓燕, 朱俊义, 孙忠林, 张秋菊(2007). 细叶杜香的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 43 (5): 898  
顾地周, 赵淑玲, 杨静秋(2009). 高山龙胆的离体培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 45 (6): 586

收稿 2009-11-03 修定 2009-12-23

资助 国家科技部“国家科技攻关计划引导项目”(2005BA741C)。

\* 通讯作者(E-mail: gudizhou@163.com; Tel: 0435-3208073)。