

藏药植物川西獐牙菜的快速繁殖技术研究

杨莉娜, 何涛, 王海涛

(青海大学 生态环境工程学院, 青海大学高原物种质资源创新与利用国家重点实验室培育基地, 青海 西宁 810016)

摘要:以川西獐牙菜的茎尖和茎节为外植体,研究了不同激素配比对其丛生芽诱导和生根培养的影响,以期建立川西獐牙菜快速繁殖技术。结果表明:茎尖为川西獐牙菜丛生芽诱导的适宜外植体;芽诱导的最适培养基为 MS+2.0 mg/L 6-BA,在该培养基上,丛生芽诱导率为 96.1%,且每个外植体平均产生 6.1 个丛生芽;最适生根培养基为 1/2MS+0.50 mg/L IAA,此时生根率可达 83.7%,且每个苗平均形成 11.4 条根。

关键词:川西獐牙菜;茎尖;茎节;快速繁殖

中图分类号:S 336 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)13-0141-05

川西獐牙菜(*Swertia mussotii* Franch)属龙胆科(Gentianaceae)獐牙菜属(*Swertia*)1 a 生草本植物,又名“藏茵陈”,在藏语中称斗达、蒂达。它主要分布于青海

省的称多、玉树、囊谦等青南地区以及西藏自治区的昌都和四川省的甘孜州,生长在海拔 3 200~4 400 m 的山坡、灌丛草地、林缘和河滩^[1]。其全草入药,具有清热解毒、舒肝利胆的功能,是治疗肝胆系统疾病的有效药物,为藏族民间常用单方上品草药^[2]。目前,该种已生产出片剂和针剂,用于临床,疗效显著。近年来,由于人类的过度采挖,加之种子萌发率低,川西獐牙菜的野生资源已处于衰退和灭绝的边缘境地。因此,致力于川西獐牙菜的野生抚育和人工栽培研究,对该物种的保护和利用显得尤为重要。

第一作者简介:杨莉娜(1985-),女,硕士研究生,研究方向为植物细胞工程。E-mail:yanglinaqhu521@126.com.

责任作者:何涛(1972-),男,博士,教授,研究方向为植物细胞工程。E-mail:hetaoxn@yahoo.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30960161);国家重点实验室培育基地开放课题资助项目(2011-02)。

收稿日期:2013-03-07

参考文献

- [1] 百度百科. 金心也门铁[EB/OL]. <http://baike.baidu.com/view/3959646.htm>, 2012-12-11.
- [2] 易清,何业华,刘颂颂,等. 3 个也门铁品种高效离体繁殖体系的建立[J]. 湖南农业大学学报, 2007, 33(4): 440-446.

- [3] 翟应昌,周志坚,龚峥,等. 林木组培工厂化育苗技术研究[J]. 广东林业科技, 1996, 12(4): 1-8.
- [4] 程家胜. 植物组织培养与工厂化育苗技术[M]. 北京: 金盾出版社, 2003: 71.

Study on the Techniques of Industrialized Seedling Culture of *Dracaena arborea*

CHEN Li-wen, YANG Li-ping, RONG Yi, SHI Qun, HE Gui-zheng
(Qinzhou Forestry Science Research Institute, Qinzhou, Guangxi 535099)

Abstract: Taking the axillary buds, apical buds and leaves from *Dracaena arborea* as materials, the induction, propagation, rooting and transplanting of the seedlings were studied from the techniques of industrialized seedling culture of *Dracaena arborea*. The results showed that the suitable medium for adventitious bud induction was reform MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L, the suitable medium for bud proliferation was reform MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+AD 1.0 mg/L+AC 0.2%, the suitable medium for bud rooting was 1/2MS+IBA 1.0 mg/L. Induce adventitious bud with axillary buds or apical buds, and propagate by the way of bud proliferation could reduce the mutational rate of the *Dracaena arborea* in tissue culture. Light had obvious influence with the rooting of the *Dracaena arborea* tissue culture seedlings, the suitable light intensity was 2 000~3 000 lx, the seedlings would rooting in this condition for cultured 10 days.

Key words: *Dracaena arborea*; tissues culture; industrialized seedling culture

植物快速繁殖(Rapid propagation)技术,是在离体条件下较短时间内生产出大量再生苗的技术,并且具有较低的体细胞变异风险,从而为珍稀、濒危药用植物的保护提供了一条有效的途径^[3]。目前,已有上百种药用植物通过这一技术成功得以扩繁,其中就包括一些重要的龙胆科植物^[4-7]。尽管作为一种珍稀的药用植物,但有关川西獐牙菜组织培养的研究还比较少^[8-10]。再生频率低^[10]、增殖周期长^[9]和基因型依赖等仍然是该植物组织培养中面临的主要问题,从而限制了这一植物的进一步利用。为此,该研究以自然生长于青藏高原地区的川西獐牙菜为试验材料,以茎尖和茎节为外植体,研究了其离体快速繁殖技术。该技术不仅可以为川西獐牙菜的保护和利用奠定基础,同时对保护青藏高原脆弱的生态系统也具有重要的理论和实践意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试川西獐牙菜(*Swertia mussotii* Franch)的成熟种子由中国科学院西北高原生物研究所提供,采自青海省玉树州。

1.2 试验方法

1.2.1 种子的萌发 成熟种子用自来水冲洗2 h,然后在超净工作台上,用浓度为70%的酒精表面消毒45 s,再用0.1% HgCl₂处理12 min,无菌蒸馏水冲洗5次。将消毒后的种子转移到不含植物生长调节剂的1/2MS^[11]固体培养基上,在(20±2)℃条件下进行种子萌发。待无菌苗生长2个月后,取茎尖和茎节作为外植体。

1.2.2 丛生芽诱导 将茎尖和茎节外植体转移到添加不同浓度6-苄基腺嘌呤(6-BA,0.5~4.0 mg/L)或激动素(KT,0.5~4.0 mg/L)或6-BA与萘乙酸(NAA,0.5~1.0 mg/L)组合的MS培养基上进行丛生芽诱导,以不添加任何植物生长调节剂的MS培养基作为对照。4周后,统计丛生芽诱导率。

1.2.3 生根培养 当丛生芽长到2~3 cm高时,切取单个芽转移到添加不同浓度萘乙酸(NAA,0.25、0.50 mg/L)或吲哚乙酸(IAA,0.25、0.50 mg/L)或吲哚丁酸(IBA,0.25、0.50 mg/L)的1/2MS培养基上进行生根培养,以不添加任何植物生长调节剂的1/2MS培养基作为对照。4周后,统计生根率。每个处理包含20个外植体,试验共重复3次。丛生芽诱导率=(形成丛生芽的外植体数/接种外植体总数)×100%,生根率=(生根的再生苗数/再生苗总数)×100%。

1.2.4 培养条件 所有培养基均附加3%的蔗糖和0.65%的琼脂,pH为5.8。配制分装后,于温度121℃、压力1.05 kPa条件下灭菌25 min。材料接种后,置于(20±2)℃、光照强度30 μmol·m⁻²·s⁻¹、光照时间

16 h/d条件下培养。

1.3 数据分析

使用SPSS软件统计数据并进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 无菌苗的建立

川西獐牙菜种子的萌发率相对较低。在该试验中,大约17%的种子在不添加植物生长调节剂的1/2MS固体培养基上萌发。2个月后,无菌苗长到3~4 cm高,有4~5片叶,包含2~3个茎节。此时,将无菌苗的茎尖和茎节切取下来,作为丛生芽诱导的外植体。

2.2 丛生芽的诱导

由表1可知,茎尖和茎节外植体培养7 d后,包括对照(MS₀)在内的所有处理中均有不定芽的形成。供试的2种细胞分裂素中,6-BA在丛生芽的诱导上比KT更加有效,这一现象在茎尖外植体以及6-BA浓度为2.0~3.0 mg/L的处理中尤为明显,二者存在显著差异($P \leq 0.05$)。6-BA在2.0和3.0 mg/L的浓度下,茎尖丛生芽诱导率分别为96.1%和83.1%,而KT在相同浓度下,丛生芽诱导率仅为76.7%和63.3%。在茎尖丛生芽诱导中,随着6-BA浓度的升高,丛生芽诱导率也随着升高。然而,当6-BA浓度达到3.0 mg/L时,丛生芽诱导率开始下降。类似的结果也存在于茎节丛生芽的诱导中。此外,观察发现,在高浓度的细胞分裂素中,例如3.0和4.0 mg/L,形成的不定芽肿大,畸形的较多,且它们生长缓慢。

从表1还可以看出,在茎尖和茎节2种外植体中,不管是丛生芽诱导率,还是芽的数目和芽的高度均存在差异。来自茎尖外植体的芽的诱导率和芽的数目明显高于茎节外植体($P \leq 0.05$)。在附加2.0 mg/L 6-BA的MS培养基上,茎尖外植体的芽的诱导率和芽的数目分别为96.1%和6.1;而茎节外植体为82.7%和3.7(图1A和B)。然而,在丛生芽的生长速度上,茎节外植体来源的芽则优于茎尖外植体($P \leq 0.05$)。在2.0 mg/L 6-BA的MS培养基上,茎节来源的芽平均高度为2.7 cm,而茎尖来源的芽的平均高度只有1.1 cm。综合考虑,添加2.0 mg/L 6-BA的MS培养基为川西獐牙菜丛生芽诱导的最适培养基,茎尖为丛生芽诱导的适宜外植体。

在确定6-BA为川西獐牙菜丛生芽诱导的最适细胞分裂素的基础上,添加0.5或1.0 mg/L的NAA到含有6-BA的分化培养基上,进一步检测丛生芽的诱导效果和芽的生长情况。结果发现,添加NAA后,促进了外植体基部愈伤组织的形成,该现象在茎尖和茎节外植体中均存在(图1C和D)。而且,与不添加NAA只含有6-BA的组合相比,在添加NAA的培养基中,丛生芽的诱导率和芽的数目均降低。在2.0 mg/L 6-BA附加0.5或1.0 mg/L NAA的培养基中,每个茎尖外植体分别形成

表 1 不同细胞分裂素和生长素组合对川西獐牙菜茎尖和茎节丛生芽诱导的影响

Table 1 Effect of cytokinins and auxin on induction of multiple shoots from shoot tips and nodal segments of *Suertia mussotii*

6-BA /mg · L ⁻¹	KT /mg · L ⁻¹	NAA /mg · L ⁻¹	茎尖 Shoot tip			茎节 Nodal segment		
			丛生芽诱导率	每个外植体上产生的芽数	芽的高度	丛生芽诱导率	每个外植体上产生的芽数	芽的高度
			Induction rate of multiple shoot/ %	Number of shoots per explants/ 个	Shoot length /cm	Induction rate of multiple shoot/ %	Number of shoots per explants/ 个	Shoot length /cm
0	0	0	28.6±3.1f	1.3±0.7	0.6±0.2	18.2±2.7f	0.6±0.4	0.8±0.5
0.5	—	—	71.4±6.4cde *	3.3±1.2	1.4±0.6	44.9±1.9de	1.3±0.7	1.8±0.7
1.0	—	—	85.7±5.2abc *	5.0±1.9 *	0.8±0.5	56.4±3.2bcd	1.6±0.6	1.9±0.5
2.0	—	—	96.1±3.8a	6.1±2.1 *	1.1±0.7	82.7±4.6a	3.7±1.2	2.7±1.1
3.0	—	—	83.1±4.1abc *	3.2±1.0	1.1±0.4	54.5±1.7bcd	3.3±1.3	2.4±0.9
4.0	—	—	57.2±2.3de	2.6±0.8	1.0±0.3	36.4±2.3ef	2.8±0.9	1.9±0.7
—	0.5	—	83.3±6.1abc *	3.7±1.5	1.7±0.5	35.3±1.6ef	3.6±1.0	1.8±0.5
—	1.0	—	91.8±4.3ab *	4.8±2.4 *	1.5±0.7	46.4±2.1de	1.3±0.5	1.7±0.5
—	2.0	—	76.7±3.3bcd	2.0±0.8	1.0±0.3	57.3±3.2bcd	1.4±0.7	1.6±0.8
—	3.0	—	63.3±3.1de	2.3±1.1	1.0±0.2	66.4±4.5abc	1.5±0.4	1.5±0.5
—	4.0	—	55.7±2.9e	2.7±0.7	1.3±0.4	75.5±3.8a	2.3±0.6	1.1±0.4
1.0	—	0.5	50.4±1.9e+	1.7±0.9	1.6±1.0	41.6±1.5de+	2.2±0.7	1.7±0.6
2.0	—	0.5	57.1±2.7de+	2.1±0.6	1.1±0.5	70.5±2.7ab+	2.4±0.9	1.3±0.3
3.0	—	0.5	82.3±3.8abc * +	2.7±1.3	0.6±0.2	40.6±3.3de+	1.5±0.3	0.9±0.2
4.0	—	0.5	90.1±3.4ab * +	3.3±1.2	1.7±0.9	32.7±2.4ef+	1.4±0.4	0.8±0.5
1.0	—	1.0	56.7±2.9e+	1.8±0.5	1.2±0.5	65.6±3.1abc+	1.5±0.6	0.9±0.4
2.0	—	1.0	67.7±1.8cde+	2.3±0.7	0.8±0.3	69.8±3.1ab+	2.2±1.0	1.1±0.8
3.0	—	1.0	70.6±3.6cde+	1.6±0.8	1.1±0.6	72.4±4.5ab+	1.8±0.6	1.6±0.7
4.0	—	1.0	83.4±4.5abc * +	2.7±1.3	0.9±0.4	49.3±2.6cde+	1.4±0.7	1.5±0.6

注:数据为平均值±标准差。在同一栏中,平均值后的相同字母表示无显著差异($P\leq 0.05$)。*表示在茎尖和茎节外植体间存在显著差异($P\leq 0.05$)。下同。+:在外植体的切口处出现愈伤。

Note: Values represent Mean ± Standard error. Values followed by the same letter in each column are not significantly different ($P\leq 0.05$). * represents significant different ($P\leq 0.05$) between shoot tips and nodal segments, +; Callus formed at the explant base.

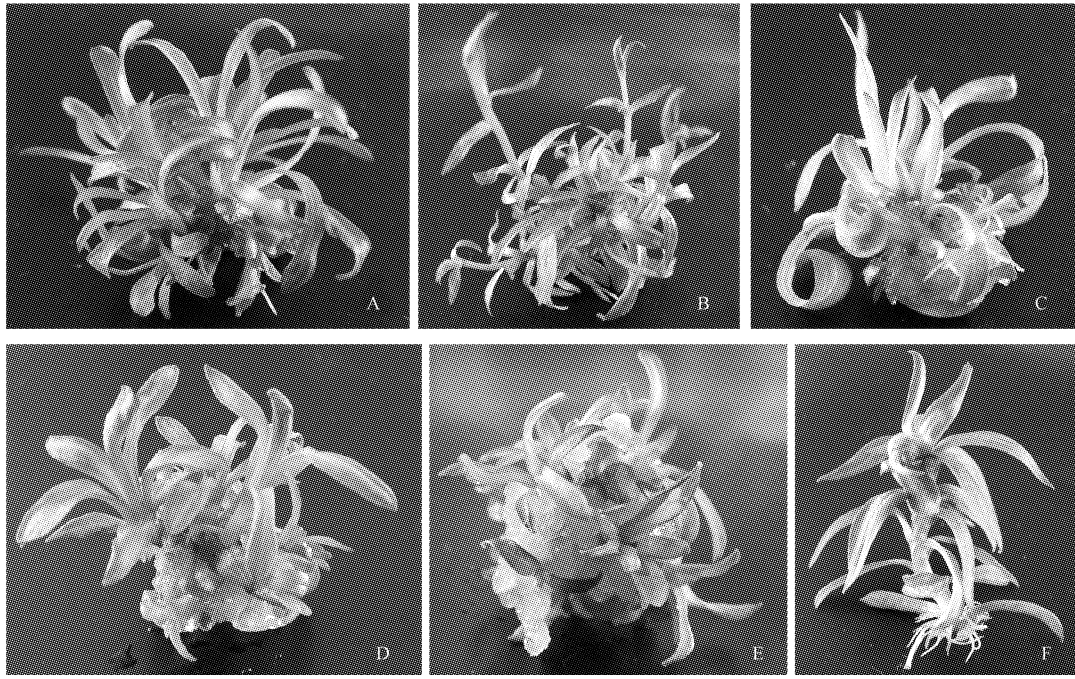


图 1 川西獐牙菜的快速繁殖

注: A. 从一个茎尖外植体上产生的丛生芽(MS+2.0 mg/L 6-BA); B. 从一个茎节外植体上产生的丛生芽(MS+2.0 mg/L 6-BA); C. 基部出现愈伤组织的茎尖外植体来源的丛生芽(MS+2.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA); D. 基部出现愈伤组织的茎节外植体来源的丛生芽(MS+2.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA); E. 从愈伤组织上产生的不定芽(MS+2.0 mg/L 6-BA); F. 生根的再生苗(MS+0.5 mg/L IAA)。

Fig. 1 Rapid propagation of *Suertia mussotii*

Note: A. Multiple shoot development from a shoot tip on MS medium supplemented with 2.0 mg/L 6-BA; B. Multiple shoot development from a nodal segment on MS medium supplemented with 2.0 mg/L 6-BA; C. Development of multiple shoots with callus from a shoot tip on MS medium supplemented with 2.0 mg/L 6-BA and 0.5 mg/L NAA; D. Development of multiple shoots with callus from a nodal segment on MS medium supplemented with 2.0 mg/L 6-BA and 0.5 mg/L NAA; E. Adventitious shoot development from a callus on MS medium supplemented with 2.0 mg/L 6-BA; F. Root initiation from micro-shoots on half-strength MS medium supplemented with 0.5 mg/L IAA.

2.1 和 2.3 个丛生芽;而在只含有 2.0 mg/L 6-BA 的培养基中,每个茎尖外植体形成了 6.1 个丛生芽。然而,当把这些愈伤组织从芽上切取下来,转移到只含 6-BA (2.0 mg/L)的培养基中继代培养,1 周后,大多数愈伤组织变成黄绿色,质地更加紧密,2 周后,大量不定芽开始在愈伤组织表面出现,平均每块愈伤组织产生 13.3 个不定芽(图 1E)。

2.3 生根培养

当丛生芽长到 2~3 cm 高时,切取健康的单芽转移到生根培养基中。1 周后,在所有处理中均有根的形成。由表 2 可知,在不添加任何生长素的 1/2MS 培养基中,川西獐牙菜的再生苗就能正常生根,且生根率为 43.3%。与对照相比,添加外源生长素到生根培养基中则显著($P \leq 0.05$)提高了再生苗的生根率。在供试的 3 种生长素中,IAA 促进生根的效果最好,其次是 IBA。

表 2 不同生长素对川西獐牙菜离体再生苗生根的影响

Table 2 Effect of auxins on rooting response of *in vitro* regenerated shoots of *Swertia mussotii*

NAA /mg · L ⁻¹	IAA /mg · L ⁻¹	IBA /mg · L ⁻¹	生根率 Rooting root/%	每个再生苗上产生的根数 Number of roots per shoot/条	根的长度 Root length/cm
0	0	0	43.3±5.1c	3.4±0.9c	3.2±0.8a
0.25	—	—	49.4±2.4bc +	6.3±1.6bc	2.2±0.7a
0.50	—	—	65.7±1.9ab +	4.3±0.8c	0.9±0.6b
—	0.25	—	50.1±4.3bc	5.5±1.3c	3.4±1.0a
—	0.50	—	83.7±2.6a	11.4±2.5a	4.3±1.5a
—	—	0.25	81.3±3.4a	10.0±1.6a	3.7±1.2a
—	—	0.50	67.7±2.1ab	8.5±0.9ab	3.8±0.9a

注:+,在离体再生苗的基部出现愈伤。

Note: +; Callus formed at the *in vitro* regenerated shoot base.

3 讨论与结论

在川西獐牙菜丛生芽的诱导中,6-BA 的效果要好于 KT,这一结果与 Cao 等^[12]在 *Penthorum chinense* 和 Prakash 等^[13]在 *Searsia dentate* 中的研究一致,但却与 Nandwani 等^[14]的研究不同。Nandwani 等^[14]指出,在 *Pinus kesiya* 丛生芽的诱导中,6-BA 和 KT 的作用是相等的。据推测,这种差异可能与所使用的植物材料以及植物的基因型和外植体不同有关。在药用植物的快速繁殖中,6-BA 对芽分化的促进作用已在许多植物中被证实^[12-13,15]。大量研究表明,在一定浓度范围内,随着 6-BA 浓度的增加,芽的诱导率和芽的数目普遍增加;但在较高浓度时,芽的生长速度往往下降,并且产生畸形不定芽的几率增加^[12-13,15]。在川西獐牙菜的研究中也证实了上述结果。

Prakash 等^[13]指出,添加 NAA 到含有 6-BA 的芽诱导培养基中可以促进芽的形态建成,更有利于芽的生长。该研究结果没有确切的符合 Prakash 等^[13]的观点。在该研究中,添加 0.5 或 1.0 mg/L NAA 到含有的 1.0~4.0 mg/L 6-BA 的芽诱导培养基中,没有提高丛生芽的诱导率,而且在芽的生长速度与单独使用 6-BA

IAA 在 0.50 mg/L 浓度时,生根率可达 83.7%,且每个再生苗平均产生 11.4 条根,根生长较快(图 1F);而它在 0.25 mg/L 浓度时,生根率只有 50.1%。IBA 在促进生根上刚好与 IAA 相反,IBA 在较低浓度时(0.25 mg/L)获得了较高的生根率(81.3%)和生根数(10.0);而在较高浓度时(0.50 mg/L),生根率(67.7%)和生根数(8.5)均下降。与相同浓度的 IAA 和 IBA 相比,NAA 在根的诱导率,尤其是根的生长速度上明显低于前二者。出现这一现象的原因,可能与再生苗基部出现愈伤组织有关。在添加有 NAA 的培养基中,在再生苗的基部均有不同程度的愈伤组织发生;而在含有 IAA 和 IBA 的培养基中,没有观察到该现象。综合考虑,1/2MS 培养基附加 0.50 mg/L IAA 为川西獐牙菜再生苗生根的最适培养基。

也没有显著差异。但是试验发现,在培养基中添加 NAA 后,在外植体的基部都出现了愈伤组织。Hosoki^[16]在对 *Scabiosa caucasica* 的研究中,也观察到类似的现象。Marks 等^[17]认为,这些愈伤组织的形成可能与生长素在外植体基部的积累有关,它们促进了细胞的分裂。

在离体再生苗的生根中,生长素被广泛使用。其中,最常用的生长素是 IAA、IBA 和 NAA。在不同的植物中,这 3 种生长素对根的诱导效果存在一定的差异^[15,18-19]。Ramesh 等^[18]指出,在 *Terminalia arjuna* 再生苗的生根中,IBA 要优于 IAA 和 NAA,在附加 4.9 μM IBA 的 B₅ 培养基上,有 80% 的再生苗生根。而 Rout^[15]发现,在 *Clitoria ternatea* 茎节来源再生苗的生根中,NAA 比 IBA 更加有效。在该研究中发现,IAA 和 IBA 在诱导川西獐牙菜再生苗生根中的效果均等,但要好于 NAA。类似的结果也存在于药用植物 *Metrosideros excelsa*^[19] 和 *Vitex agnus-castus*^[20] 中。Iapichino 等^[19]推测,与 IBA 和 IAA 相比,NAA 主要以游离方式存在于组织中,长期以来积累了较高浓度,从而抑制了根的发生。试验认为,在川西獐牙菜再生苗的生根中,正是由于

NAA 以游离方式的长期积累,导致了芽的基部出现愈伤组织,从而抑制了根的形成。

综上所述,在该研究中,一种有效的川西獐牙菜离体快速繁殖再生体系被成功建立。与刘建成等^[9]、He 等^[10]的研究相比,该研究提供了一个更加简单和更加有效的技术体系。在该体系中,不仅提高了川西獐牙菜的离体再生频率,而且再生苗的增殖周期也被进一步缩短,从丛生芽诱导到再生苗生根仅需要 8 周时间。这一再生体系可以为川西獐牙菜的保护和大规模繁殖提供技术基础。

参考文献

- [1] 郭本兆. 青海经济植物志[M]. 西宁:青海人民出版社,1987:461-463.
- [2] Brahmachari G, Mondal S, Gangopadhyay A, et al. *Swertia* (Gentianaceae): chemical and pharmacological aspects [J]. Chem Biodivers, 2004, 1:1627-1651.
- [3] Bhojwani S S, Razdan M K. Plant tissue culture: Theory and practice [M]. Elsevier Science, Amsterdam, 1996.
- [4] Joshi P, Dhawan V. Axillary multiplication of *Swertia chirayita* (Roxb. Ex Fleming) H. Karst., a critically endangered medicinal herb of temperate Himalayas[J]. In Vitro Cell Dev Biol Plant, 2007, 43:631-638.
- [5] Chaudhuri R K, Pal A, Jha T B. Conservation of *Swertia chirata* through direct shoot multiplication from leaf explants[J]. Plant Biotechnol Rep, 2008(2):213-218.
- [6] Fiuk A, Rybczynski J J. Genotype and plant growth regulator-dependent response of somatic embryogenesis from *Gentiana* spp. leaf explants[J]. In Vitro Cell Dev Biol Plant, 2008, 44:90-99.
- [7] Doi H, Takahashi R, Hikage T, et al. Embryogenesis and doubled haploid production from anther culture in gentian (*Gentiana triflora*) [J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 2010, 102:27-33.
- [8] 向凤宁,李建民,马继雄,等. 高寒藏药川西獐牙菜组织培养研究 I. 愈伤组织的诱导及初步培养[J]. 中草药, 1996, 27(8):492-495.
- [9] 刘建成,陈先玉. 川西獐牙菜的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(3):237.
- [10] He T, Xu J, Yang L N, et al. An efficient method for plant regeneration from calli of *Swertia mussotii*, an endangered medicinal herb[J]. Am J Plant Sci, 2012(3):904-908.
- [11] Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures[J]. Physiologia Planta, 1962, 15:473-497.
- [12] Cao H, Yang J, Peng Z S, et al. Micropropagation of *Penthorum chinense* through axillary bud[J]. In Vitro Cell Dev Biol Plant, 2007, 43:149-153.
- [13] Prakash S, Staden J V. Micropropagation of *Searsia dentate* [J]. In Vitro Cell Dev Biol Plant, 2008, 44:338-341.
- [14] Nandwani D, Kumaria S, Tandon P. Micropropagation of *Pinus kesiya* Royle ex Gord (Khasi pine) [J]. Gartenbauwissenschaft, 2001, 66:68-71.
- [15] Rout G R. Effect of cytokinins and auxins on micropropagation of *Clitoria ternatea* L [J]. Biol Lett, 2004, 41:21-26.
- [16] Hosoki T, Nojima S. Micropropagation of *Scabiosa caucasica* bieb. cv. Caucasica blue [J]. In Vitro Cell Dev Biol Plant, 2004, 40:482-484.
- [17] Marks T R, Simpson S E. Factors affecting shoot development in apically dominant Acer cultivars *in vitro* [J]. J Hort Sci, 1994, 69:543-551.
- [18] Ramesh M, Pavan U, Shyam P S, et al. *In vitro* regeneration of plants from mature nodal segments of *Terminalia arjuna* Bedd [J]. Sericologia, 2002, 42:75-80.
- [19] Iapichino G, Airo M. Micropropagation of *Metrosideros excelsa* [J]. In Vitro Cell Dev Biol Plant, 2008, 44:330-337.
- [20] Balaraju K, Agastian P, Preetamraj J P, et al. Micropropagation of *Vitex agnus-castus* (Verbenaceae)-a valuable medicinal plant [J]. In Vitro Cell Dev Biol Plant, 2008, 44:436-441.

Rapid Propagation of Tibetan Medicinal Plant *Swertia mussotii* Franch

YANG Li-na, HE Tao, WANG Hai-tao

(State Key Laboratory Breeding Base for Innovation and Utilization of Plateau Crop Germplasm, School of Ecol-Environmental Engineering, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016)

Abstract: Taking the shoot tip and nodal segment of *Swertia mussotii* Franch as materials, the effect of different concentrations of hormones on multiple shoot induction and rooting were studied, in order to establish the rapid propagation of *Swertia mussotii* Franch. The results showed that shoot tip was the optimum explants. The best medium for multiple shoot induction was MS+2.0 mg/L 6-BA, with induction rate of multiple shoot 96.1%, and 6.1 shoots per explants. The optimum medium for rooting was 1/2MS+0.50 mg/L IAA, with rooting rate 83.7%, and 11.4 roots per shoot.

Key words: *Swertia mussotii* Franch; shoot tip; nodal segment; rapid propagation