

滇龙胆种质资源筛选及离体培养的初步研究

赵志莲^{1,2}, 李海峰¹, 张德全¹, 段宝忠¹

(1. 大理学院 药学与化学学院, 云南 大理 671000; 2. 云南省大理农业学校, 云南 大理 671003)

摘要:以不同居群、同一居群不同滇龙胆植株为试材, 采用 HPLC 法对滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量进行测定, 再以龙胆苦苷含量 $\geq 8.0\%$ 的感通、湾桥和蝴蝶泉居群茎尖为外植体, 研究了培养基、培养温度对滇龙胆离体培养及植株再生的影响。结果表明: 大理苍山滇龙胆不同居群根茎中龙胆苦苷含量差异达到显著或极显著水平, 其中, 感通居群、中和居群、湾桥居群和蝴蝶泉居群根茎中龙胆苦苷含量较高, 达到 8.0% 以上; 上关居群根茎中龙胆苦苷含量最低, 为 $(5.849 \pm 0.01493)\%$ 。滇龙胆同一居群不同植株根茎中龙胆苦苷含量差异较小, 喜洲居群不同植株根茎中龙胆苦苷含量差异达到显著水平 ($P < 0.05$), 中和居群不同植株根茎中龙胆苦苷含量差异达到极显著水平 ($P < 0.01$), 其它居群不同植株根茎中龙胆苦苷含量无显著差异。滇龙胆茎尖生长点离体培养及植株再生的最适宜培养基为 $1/2\text{MS}$ 培养基, 再生植株诱导率可达 80.00% , 不定芽高 $(5.6 \pm 0.2)\text{cm}$, 最佳培养条件是 $20^\circ\text{C}/25^\circ\text{C}$ 变温培养, 再生植株诱导率可达 87.78% , 不定芽高 $(7.5 \pm 0.2)\text{cm}$ 。

关键词:滇龙胆; 种质资源; 龙胆苦苷; 离体培养; 植株再生

中图分类号: Q 945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2013)08-0168-05

滇龙胆(*Gentiana rigescens* Franch. Ex Hemsl.) 属龙胆科龙胆属多年生草本植物, 别名坚龙胆、龙胆草、兰花根、青鱼胆等, 主要分布在云南、贵州、四川等地^[1], 是国家重点保护三级野生药材濒危物种。滇龙胆是云南道地药材, 以根茎入药, 具有清热泻火、保肝、健脾、杀菌等作用^[2], 是龙胆泻肝片颗粒、龙胆泻肝汤、龙胆注射液等 100 多种中成药的原料, 仅在云南年需求量近 $1\ 000\ \text{t}$ ^[2]。近年来, 随着药厂对滇龙胆药材需求量的增加, 滇龙胆野生种质资源遭到了严重破坏, 加之紫茎泽兰泛滥速度没有得到有效控制, 致使野生种质资源濒危程度加剧。

研究发现, 滇龙胆中活性成分龙胆苦苷的含量因不同产地、不同部位存在较大差异, 云南不同产地滇龙胆干燥根茎中龙胆苦苷含量在 $2.75\% \sim 4.87\%$ 之间^[3], 大理产滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量显著高于全云南省的平均水平^[4-5], 大理苍山是龙胆科龙胆属植物主要分布地区之一, 有云南龙胆(*Gentiana yunnanensis* Franch.)、

着色龙胆(*Gentiana picta* Franch. ex Hemsl.)、具耳龙胆(*Gentiana otophora* Franch. ex Hems.)、乳突龙胆(*Gentiana papillosa* Franch.)、红花龙胆(*Gentiana rhodantha* Franch. ex Hems.) 等数十种花期与滇龙胆相同的物种, 为滇龙胆与近缘野生种间进行自然杂交提供了丰富的物质基础, 经过长期的自然选择, 可能蕴藏着丰富的滇龙胆优质种质资源, 所以对大理苍山滇龙胆优质种质资源进行筛选, 利用植物组织培养技术对优质种质资源进行离体培养、保存, 为实现滇龙胆优质种质资源可持续利用具有重要意义。因此, 该研究拟采用高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)对大理苍山滇龙胆不同野生居群进行筛选, 再以根茎中龙胆苦苷含量较高的优质种质资源茎尖为外植体, 在培养基中不添加植物激素的条件下研究培养基、培养温度对滇龙胆离体培养及植株再生的影响, 旨在为滇龙胆野生优质种质资源筛选、离体保存、快速繁殖和资源可持续利用等提供依据和参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2011 年 9~11 月, 在大理苍山东坡选择感通、中和、湾桥、喜洲、蝴蝶泉、上关等滇龙胆野生资源分布较丰富的 6 个地方, 每个地方采集 1 个野生居群, 采样点生境以土壤类型为红壤的荒山向阳坡草地上为宜, 每个居群随机采集无病虫害的开花期植株 30 株, 采集植株之间的

第一作者简介:赵志莲(1972-), 女, 硕士, 高级讲师, 研究方向为药用植物资源及生物技术。E-mail: zzh666@sina.com.

责任作者:李海峰(1971-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向为药用植物资源及生物技术。E-mail: lihfh888@sina.com.

基金项目:云南省应用基础研究资助项目(2010ZC136); 大理学院 2011 年中青年学术带头人培养资助项目; 大理学院 2012 年应用基金资助项目。

收稿日期:2012-12-13

株距>3 m,居群间距离>6 km,采集的植株自然干燥。经鉴定为龙胆科滇龙胆(*G. rigescens*)植株。滇龙胆优质种质资源离体培养及植株再生供试材料为12~2月份有休眠芽分化的植株。

仪器与试剂:美国惠普公司 Agilent1100 高效液相色谱仪,包括 G1313A ALS 自动进样器、G1315A/B DAD 检测器、Agilent Chem Station 色谱工作站;SK5200H 型超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司);梅特勒电子天平 AE240(瑞士);FY135 型中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);BUCHI 旋转蒸发器;Millipore 纯水处理系统;高压灭菌器;无菌操作台;智能人工气候箱等。

龙胆苦苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110770-200510),高效液相用甲醇为色谱纯,高效液相用水为三重蒸馏水,其它试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 滇龙胆优质种质资源筛选 样品的选择:不同居群滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量测定时,从每个居群中随机选取根茎质量在 6.0~6.6 g 之间的植株 9 株混合作为样品。同一居群不同滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量测定时,从每个居群中随机选取根茎质量在 6.0~6.6 g 之间的植株 1 株作为样品,每个居群随机选择 6 株。样品中龙胆苦苷含量测定:样品经过粉碎、过筛(100 目)、混合均匀,按照李娇等^[6]的方法提取并测定龙胆苦苷含量,每个样品重复测定 3 次。对照品及样品的色谱图如图 1 所示,龙胆苦苷含量用龙胆苦苷质量/干物质质量的质量分数表示。

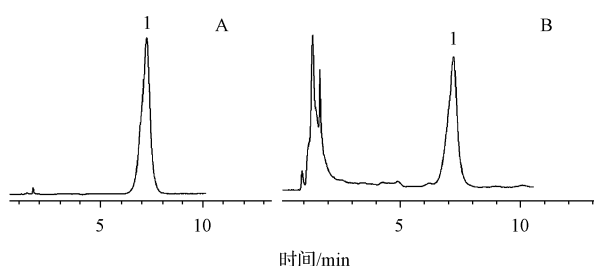


图 1 龙胆苦苷对照品(A)和样品(B)色谱图

Fig. 1 The HPLC chromatogram of gentiopicroside reference substance (A) and sample (B)

1.2.2 滇龙胆离体培养及植株再生 材料的处理:外植体为龙胆苦苷含量 $\geq 8.0\%$ 的感通居群、湾桥居群和蝴蝶泉居群茎尖,不同群的外植体分别用自来水洗净后,切取 2~3 cm 的休眠芽,在无菌操作台上用 70% 的酒精溶液消毒 30 s,再用 0.1% HgCl_2 消毒 8~10 min,最后用无菌水洗涤 4~6 次,在解剖镜下培养皿中无菌滤纸上切取滇龙胆休眠芽生长点(含 3 对叶原基),分别接种到培养基中,建立不同居群的培养系。培养基及培养条件:培养基试验以 MS、1/2MS(NH_4NO_3 为 1/2 的 MS 培

养基)、 B_5 、White 和 Miller 5 种培养基^[7-8]作为基本培养基,培养基中分别添加蔗糖 30 g/L、琼脂 8.0 g/L、pH 为 5.6,培养条件 20℃ 培养、光照强度 3 000 lx、光照时间 16 h/d。培养温度设为 15、20、25℃ 3 个恒温培养和 15℃/25℃、20℃/25℃ 2 个变温培养,以 1/2MS 作为基本培养基,添加成分及培养条件同上。培养容器为 150 mL 三角瓶,每瓶加入 40 mL 培养基,120℃ 高压灭菌 15 min,每瓶接种 3 个外植体,每个处理接种 10 瓶,每个试验设 3 次重复。

1.3 数据分析

所得滇龙胆种质资源筛选数据用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,筛选出滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量较高的优质种质资源。

滇龙胆离体培养 30 d 后统计不定芽数和不定芽高,不定芽数为接种外植体中有芽生成的外植体数,诱导率(%)为不定芽数占接种外植体数的质量分数。所得数据用 SPSS 13.0 统计软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 滇龙胆居群间及居群内植株根茎中龙胆苦苷含量比较

2.1.1 不同居群根茎中龙胆苦苷含量比较 从表 1 可以看出,大理苍山不同居群滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量差异较大。不同居群滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量由高到低的顺序为湾桥居群、感通居群>中和居群>蝴蝶泉居群>喜洲居群>上关居群。对不同居群滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量进行显著性测验表明,湾桥居群和感通居群滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量之间无显著差异,湾桥居群滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量极显著高于中和居群,感通居群和中和居群滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量之间没有显著差异,中和居群滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量极显著高于蝴蝶泉居群,喜洲居群滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量极显著高于上关居群。大理州苍山不同居群滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量整体较高,含量较低的上关居群为

表 1 滇龙胆不同居群根茎中龙胆苦苷含量比较分析(Mean \pm SD,n=3)

Table 1 Comparison analysis of the gentiopicroside content in the rhizome of different population *Gentiana rigescens*

居群 Population	编号 No	龙胆苦苷含量 Gentiopicroside content/%
感通 Gantong	GT2011	8.231 \pm 0.0151ABab
中和 Zhonghe	ZH2011	8.204 \pm 0.0117Bb
湾桥 Wanjiao	WQ2011	8.263 \pm 0.0205Aa
喜洲 Xizhou	SZ2011	6.255 \pm 0.0213Dd
蝴蝶泉 Hudiequan	HDQ2011	8.144 \pm 0.0210Cc
上关 Shangguan	SG2011	5.849 \pm 0.0149Ee

注:数据后大小写字母分别表示 $P=0.01$ 和 $P=0.05$ 水平存在显著性差异。下同。

Note: The small and capital letter mean differences from control at 0.05 and 0.01 levels respectively. The same below.

(5.849±0.0149)%,龙胆苦苷含量是《中国药典》2010年版1.0%的限量标准的5倍多^[7],说明苍山野生滇龙胆中存在龙胆苦苷含量较高的优质种质资源,这为从野生滇龙胆居群中筛选根茎中龙胆苦苷含量较高的优质种质资源提供了依据。

2.1.2 同一居群不同植株根茎中龙胆苦苷含量比较
从表2可以看出,大理苍山滇龙胆6个居群不同植株根茎中龙胆苦苷含量变化较小,感通居群、湾桥居群、蝴蝶

泉居群和上关居群中滇龙胆不同植株根茎中龙胆苦苷含量无显著差异,喜洲居群不同植株根茎中龙胆苦苷含量差异达到显著水平($P<0.05$),中和居群不同植株根茎中龙胆苦苷含量差异达到极显著水平($P<0.01$)。该结果表明,同一居群不同植株滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量具有较稳定的居群遗传能力,为从野生滇龙胆居群中筛选出根茎中龙胆苦苷含量较高的优势居群作为繁殖材料提供了依据。

表2 滇龙胆居群内不同植株的根茎中龙胆苦苷含量比较(Mean±SD,n=3)

Table 2 Comparison analysis of the gentiopicroside content in the rhizome of the same population *Gentiana rigescens*

感通居群 Gantong population		中和居群 Zhonghe population		湾桥居群 Wanqiao population		喜洲居群 Xizhou population		蝴蝶泉居群 Hudiequan population		上关居群 Shangguan population	
编号 No.	龙胆苦苷 Gentiopicroside content/%	编号 No.	龙胆苦苷 Gentiopicroside content/%	编号 No.	龙胆苦苷 Gentiopicroside content/%	编号 No.	龙胆苦苷 Gentiopicroside content/%	编号 No.	龙胆苦苷 Gentiopicroside content/%	编号 No.	龙胆苦苷 Gentiopicroside content/%
GT01	8.233±0.0142Aa	ZH01	8.218±0.0183Aa	WQ01	8.263±0.0329Aa	SZ01	6.273±0.0225Aa	HDQ01	8.198±0.0136Aa	SG01	5.838±0.0204Aa
GT02	8.237±0.0206Aa	ZH02	8.023±0.0161Cc	WQ02	8.220±0.0355Aa	SZ02	6.204±0.0259Ab	HDQ02	8.163±0.0176Aa	SG02	5.821±0.0245Aa
GT03	8.238±0.0356Aa	ZH03	7.992±0.0245Cc	WQ03	8.187±0.0465Aa	SZ03	6.203±0.0180Ab	HDQ03	8.204±0.0226Aa	SG03	5.758±0.0713Aa
GT04	8.222±0.0245Aa	ZH04	8.178±0.0170Bb	WQ04	8.243±0.0182Aa	SZ04	6.239±0.0165Aab	HDQ04	8.188±0.0224Aa	SG04	5.778±0.0120Aa
GT05	8.2257±0.0258Aa	ZH05	8.034±0.0115Cc	WQ05	8.194±0.0115Aa	SZ05	6.213±0.0202Ab	HDQ05	8.176±0.0262Aa	SG05	5.805±0.0258Aa
GT06	8.252±0.0274Aa	ZH06	7.546±0.0304Dd	WQ06	8.224±0.0139Aa	SZ06	6.220±0.0208Ab	HDQ06	8.178±0.0119Aa	SG06	5.816±0.0163Aa

2.2 滇龙胆离体培养及植株再生的研究

2.2.1 培养基对滇龙胆离体培养及植株再生的影响

由图2可知,在不同的培养基上均能从滇龙胆茎尖生长点诱导不定芽的产生,但是,滇龙胆茎尖生长点接种在B₅和1/2MS培养基上芽诱导率显著($P<0.05$)高于其它培养基;无机盐浓度高的MS培养和无机盐含量非常低的White培养基均不利于滇龙胆茎尖生长点诱导不定芽。滇龙胆茎尖生长点接种后经过4~6d培养,生长点开始萌动,再经过16~24d培养不定芽高2~6cm,其中,MS培养基和1/2MS培养基上不定芽高显著($P<0.05$)高于其它培养基。

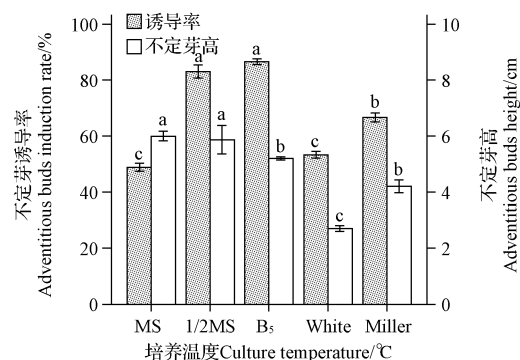


图2 培养基对滇龙胆离体培养及植株再生的影响

Fig.2 The effects of culture medium on the *in vitro* culture and plant regeneration of *Gentiana rigescens*

2.2.2 培养温度对滇龙胆离体培养及植株再生的影响

如图3所示,滇龙胆茎尖生长点接种在B₅培养基上在

15℃/20℃或20℃/25℃变温条件下培养,不定芽诱导率显著($P<0.05$)高于其它温度培养,变温培养有利于滇龙胆茎尖生长点诱导不定芽;15℃低温培养不能诱导不定芽,25℃高温培养不定芽诱导率较低,培养温度过高或过低都不利于滇龙胆茎尖生长点诱导不定芽。滇龙胆茎尖生长点接种后经过3~4d培养,生长点开始萌动,再经过16~24d培养不定芽高2~6cm,其中,25℃恒温培养和20℃/25℃变温培养上不定芽高显著($P<0.05$)高于其它培养温度。

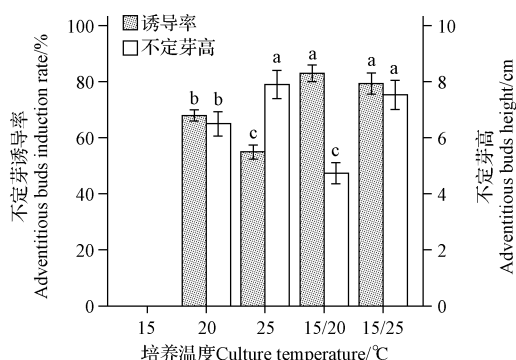


图3 培养温度对滇龙胆离体培养及不定芽生长的影响

Fig.3 The effects of culture temperature on the *in vitro* culture and plant regeneration of *Gentiana rigescens*

3 讨论

滇龙胆野生优质种质资源是自然界长期进化、自然杂交选育的结果,是育种和基因工程的基础,所以对大

理苍山滇龙胆优质种质资源进行筛选,利用植物组织培养技术离体保存优质种质资源,对实现滇龙胆优质种质资源可持续利用具有重要意义。该研究表明,大理苍山滇龙胆不同居群根茎中龙胆苦苷含量差异达到显著或极显著水平,但不同居群根茎中龙胆苦苷含量都较高,上关居群根茎中龙胆苦苷含量最低($5.849 \pm 0.0149\%$),也是《中国药典》2010年版1.0%限量标准的5倍多^[9],说明大理苍山存在龙胆苦苷含量较高的野生优质种质资源;滇龙胆同一居群不同植株根茎中龙胆苦苷含量差异较小,除喜洲居群和中和居群不同植株根茎中龙胆苦苷含量差异达到显著或极显著水平,其它居群不同植株根茎中龙胆苦苷含量无显著差异,滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量具有较稳定的居群遗传能力,研究结果与杨维泽等^[10]的研究结果相似,云南滇龙胆居群间表型变异高于居群内。为从野生滇龙胆居群中筛选滇龙胆根茎中龙胆苦苷含量较高的优质种质资源提供理论依据。

朱宏涛等^[11]对滇龙胆无性繁殖进行研究,建立了滇龙胆无性繁殖系;罗春梅等^[12]用滇龙胆的顶芽及侧芽作为外植体,筛选出不定芽诱导的最佳条件。但是,他们的研究都是在培养基中添加了植物生长调节剂,经过愈伤组织途径完成植株再生,为了使野生滇龙胆居群根茎中龙胆苦苷含量较高的优良性状得到稳定遗传,分别以龙胆苦苷含量较高的感通居群、湾桥居群和蝴蝶泉居群野生优质种质资源为外植体,在培养基中不添加任何植物激素的条件下研究培养基、培养温度对滇龙胆优质种质资源茎尖生长点诱导不定芽进行初步研究,结果表明,滇龙胆茎尖生长点诱导不定芽的最适宜培养基为

1/2MS培养基、20℃/25℃变温培养,再生植株诱导率可达87.78%,不定芽高(7.5 ± 0.2)cm。并建立了感通居群、湾桥居群和蝴蝶泉居群3个居群的离体培养及植株再生体系。但是,野生滇龙胆优质种质资源离体培养再生植株根茎中龙胆苦苷含量较高的性状是否能够得到稳定遗传还需进一步研究。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志[M]. 62卷. 北京:科学出版社,1988:14-286.
- [2] 庄绪会,孙娇,张庆芝. 昆明龙胆与滇龙胆中龙胆苦苷含量的比较[J]. 云南中医学院学报,2010,33(1):12-13,23.
- [3] 来国防,程宾,罗士德,等. 云南不同产地滇龙胆中龙胆苦苷的含量测定[J]. 时珍国医国药,2010,21(8):1867-1868.
- [4] 李智敏,赵磊,白艳婷,等. 不同产地滇龙胆中龙胆苦苷的含量测定[J]. 云南中医学院学报,2008,6(12):10-11,14.
- [5] 沈涛,金航,杨涛,等. 不同产地野生滇龙胆中主要裂环烯醚萜类成分的含量比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(13):70-73.
- [6] 李娇,王晓芳,车安兵,等. 坚龙胆不同部位中龙胆苦苷的含量测定[J]. 大理学院学报,2009,8(10):19-20.
- [7] 王清莲. 植物组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2002:18-19.
- [8] 大泽胜次,久保田旺. 生物工学基础[M]. 东京:农山渔村文化协会,1997:37-39.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2010:89.
- [10] 杨维泽,金航,杨美权,等. 云南滇龙胆居群表型多样性及其与环境关系研究[J]. 西北植物学报,2011,31(7):1886-1890.
- [11] 朱宏涛,陈可可,张颖君,等. 坚龙胆的快速繁殖[J]. 天然产物研究与开发,2004,11(3):25-27.
- [12] 罗春梅,邱璐,刘爱民. 不同激素组合对诱导滇龙胆顶芽及腋芽产生不定芽的研究[J]. 楚雄师范学院学报,2005,20(3):49-52.

Preliminary Study on the Screening of Germplasm Resources and the *in Vitro* Propagation for *Gentiana rigescens*

ZHAO Zhi-lian^{1,2}, LI Hai-feng¹, ZHANG De-quan¹, DUAN Bao-zhong¹

(1. College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali, Yunnan 671000; 2. Dali Agriculture School of Yunnan Province, Dali, Yunnan 671003)

Abstract: Taking different population and the different individuals within the same population of *Gentiana rigescens* Franch as materials, the gentiopicroside content in the rhizome of *Gentiana rigescens* Franch was determined by HPLC method, then the high quality germplasm resources of which the gentiopicroside content was greater than or equal to 8.0% were selected as the explants, and the effects of culture medium and culture temperature on the *in vitro* propagation and plant regeneration of *Gentiana rigescens* Franch were explored. The results showed that the gentiopicroside content in rhizome of *Gentiana rigescens* Franch from different populations of Dali Cangshan reached significant or extremely significant level. Among them, in Gantong population, Zhonghe population, Wanqiao population, and Hudiequan population, the gentiopicroside contents were high, and the content reached more than 8.0%. In Shangguan population, the gentiopicroside content was the lowest ($5.849 \pm 0.0149\%$). Within the same population, the gentiopicroside contents of individual plant in rhizome of *G. rigescens* had small difference. The difference in Xizhou population reached significant level ($P < 0.05$), in Zhonghe population reached extremely significant level ($P < 0.01$), while in other populations, the gentiopicroside contents had no significant difference. The most suitable culture medium

晚熟鲜食桃新品种“玉西红蜜”的选育与品种特性研究

李艳梅¹, 韩文忠², 姜全会³, 杨英军¹

(1. 河南科技大学 林学院, 河南 洛阳 471003; 2. 新安县仓头镇, 河南 新安 471011; 3. 宜阳县锦屏镇, 河南 宜阳 471011)

摘 要:“玉西红蜜”是采用杂交方法选育, 于9月下旬成熟的晚熟桃品种; 其果形美观, 色泽鲜艳, 品质优异, 耐贮性好。现以主栽品种“北京晚蜜”、“八月鲜”为对照, 对其生物学特性、果实品质及其发育特性进行了测定分析。表明凡适宜“大久保”、“北京晚蜜”种植的地区, 都适宜推广该品种。

关键词:桃; 新品种; 晚熟; “玉西红蜜”

中图分类号:S 662.1 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2013)08-0172-03

桃(*Prunus persica* (L.) Batsch)适应性强, 结果早、管理易, 是世界主要水果之一, 也是我国第三大落叶果树。但目前生产中, 早中熟品种所占比例大, 成熟期接近, 采收期短、贮运性差, 中晚熟品种(果实8月中旬以后成熟)较少。同时随着“果树进城”和观光果园的兴起以及乡村旅游发展的需要, 近年来发展起来的食赏兼用模式, 是一种新型栽培方式与管理模型。因此晚熟耐贮、花果兼优、型果兼优的桃新品种选育与示范是今后育种与生产发展的重要目标^[1-2], 目前已经育成了一些食赏兼用桃品种^[3-4]。

“玉西红蜜”是河南科技大学杂交育成的晚熟大果桃新品种^[5-7]。果大色艳, 抗逆性好。成熟于中秋节和国庆节期间, 非常适宜食赏兼用栽培, 市场前景很好。

1 选育过程

于1996年3月下旬进行杂交。以“北京晚蜜”、“八月鲜”、“眉县冬桃”、“河洛红蜜”、“艳光油桃”、地方晚熟

桃等为亲本, 进行几十个组合的正反杂交, 当年获得杂交种子经层积和催芽处理, 于翌年春播种。9月中旬将栽培性状明显的杂种苗嫩枝嫁接在2 a生的毛桃实生砧木上正常管理。经过1998~2008年连续10 a观察, 在“北京晚蜜”×(“八月鲜”+“眉县冬桃”)组合中选育出大果、味甜、粘核、抗逆性好、耐贮运的“玉西红蜜”。并于2009年通过河南省林木良种审定委员会审定。

2 生物学特性研究

分别在2006~2008年连续对“玉西红蜜”物候期、单果重、可溶性固形物、有机酸含量等品质与特性进行测定和研究。试验材料为5~8 a生桃树, 毛桃作砧木, 对照品种为“北京晚蜜”和“八月鲜”, 株行距3.5 m×4 m, 管理水平较高, 树体生长健壮、整齐一致, 3~4根主枝。试验地点在孟州市槐树乡、山东省平原县等地。供试品种以单株为小区, 3次重复, 选择3个主枝最先端的3枝新梢调查, 每隔15 d测量其长度。着果后每个品种各小区选30个果实, 间隔20 d测量各品种果实的纵横径及单果重。用天平称重; 游标卡尺测果实纵横径及皮厚; 手持测糖仪测定可溶性固形物; 斐林试剂法测定糖含量; 中和法测定酸含量。

2.1 植物学特征

“玉西红蜜”树冠呈自然半圆形, 树姿半开张。新梢绿色, 阳面有红晕, 节间长2.35 cm。叶为狭披针形, 长

第一作者简介:李艳梅(1973-), 女, 实验师, 研究方向为植物病理及其防治。

责任作者:杨英军(1968-), 男, 硕士, 教授, 研究方向为果树种质资源及其应用。E-mail: yangyinjun2003@126.com

基金项目:洛阳市科技发展计划资助项目(0801044A); 河南科技大学人才科学研究基金资助项目(05018)。

收稿日期:2012-12-18

for stem-tip growth-point *in vitro* propagation and plant regeneration of *Gentiana rigescens* Franch was 1/2MS, and the induction frequency of plant regeneration could reach 80.00%, adventitious buds height (5.6±0.2) cm. The optimal culture condition was variable temperature culture at 20/25℃, and the regenerated plant induction frequency could reach 87.78%, with adventitious buds height (7.5±0.2) cm.

Key words: *Gentiana rigescens* Franch; germplasm resources; gentiopicroside; *in vitro* propagation; plant regeneration