

doi:10.11937/bfyy.20180510

以叶片为外植体的多花黄精组织培养

陈松树^{1,2}, 张雪³, 赵致^{1,3}, 刘红昌^{1,3}, 王华磊^{1,3}, 李金玲^{1,3}

(1. 贵州省药用植物繁育与种植重点实验室, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州大学 教学实验场, 贵州 贵阳 550025; 3. 贵州大学 农学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要:以叶片为外植体建立多花黄精组织培养快速繁殖技术体系,通过添加不同浓度6-BA、NAA、2,4-D和蔗糖的MS培养基中培养,筛选愈伤组织诱导、愈伤组织增殖、丛生芽诱导、丛生芽生根诱导的最佳培养基。结果表明:愈伤组织诱导的最佳培养基为MS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+NAA 4.0 mg·L⁻¹+蔗糖 20 g·L⁻¹,愈伤组织诱导率最高为53.89%,生长情况最好;愈伤组织增殖培养的最佳培养基为MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 3.0 mg·L⁻¹+蔗糖 20 g·L⁻¹,增殖倍数7.87,生长情况相对最好;丛生芽诱导培养的最佳培养基为MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 4.0 mg·L⁻¹,出芽率最高为86.11%,生长情况最好,芽高最大为1.70 cm;丛生芽生根诱导的最佳培养基为MS+NAA 1.0 mg·L⁻¹,生根率最高为66.67%,根数、根长和根粗最好,分别为31.0条、0.46 cm和1.100 mm。以叶片为外植体可短时间获得大量多花黄精组培苗,解决种植生产上的种苗短缺问题。

关键词:多花黄精;叶片;组织培养

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2018)14-0136-07

多花黄精(*Polygonatum cyrtoneuma* Huad.)是中国药典上黄精药材品种,能补气养阴,健脾,润肺,益肾;用于脾胃气虚,体倦乏力,胃阴不足,口干食少,肺虚燥咳,劳嗽咳血,精血不足,腰膝酸软,须发早白,内热消渴^[1],是我国传统大宗药材,可以药食两用,还可开发为保健品、化妆品,作为

观赏植物等。近年来,野生黄精资源不断减少,黄精价格稳步上升、市场供不应求;而黄精又以根茎种植,不仅繁殖系数低、浪费商品黄精,增加种植成本、限制大规模种植,长期根茎种植还易造成病虫害严重、药材产量和品质下降^[2-3];黄精种子育苗也面临结实率低、种子出苗时间长(经过2个冬季)、发芽率和出苗率低等难题。组织培养技术能快速提供大量优质黄精种苗,解决黄精种植生产上的种苗难题。

多花黄精的组织培养研究文献报道仅见以带芽根茎^[3-7]作为外植体诱导愈伤组织,取根茎芽为外植体对根茎破坏很大,且有不易消毒、感染率高等缺点。找到合适的多花黄精外植体及其适宜的组织培养基,培育大量优质的多花黄精组培苗,使其能够大面积生产,是当前研究多花黄精组织培养面临的难题。

该试验以多花黄精叶片为外植体,研究多花黄精组织培养的最佳愈伤组织诱导培养基、愈伤组织增殖培养基、丛生芽诱导培养基和生根诱导培养基,以期建立多花黄精组织培养快速繁殖技

第一作者简介:陈松树(1987-),男,硕士,助理实验师,研究方向为药用植物栽培与开发利用。E-mail: sschen1@gzu.edu.cn.

责任作者:王华磊(1979-),男,博士,教授,研究方向为药用植物栽培与开发利用。E-mail: whlgu@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31760421);贵州省作物学重点学科建设计划资助项目(黔学位合字 ZDXK [2014]8号);贵州省药用植物繁育与种植人才基地资助项目(黔人领发[2013]15号);贵州省普通高等学校粮油作物遗传改良与生理生态特色重点实验室资助项目(黔教合KY字[2015]333);贵州省生物学一流学科建设资助项目(GNYL[2017]009);贵州省科技计划资助项目(黔科合平台人才[2017]5788号)。

收稿日期:2018-03-12

术体系,为解决多花黄精种植生产上的种苗难题和研究多花黄精次生代谢产物的积累提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试黄精根茎采自于贵州省贵阳市花溪区党武镇,栽培于贵州大学教学实验场中药资源圃,其植株经贵州大学王华磊教授鉴定为多花黄精(*Polygonatum cyrtouema* Hua.)。取多花黄精根茎上的芽,组织培养出无菌苗,取其叶片作为组织培养的外植体材料。

1.2 试验方法

1.2.1 愈伤组织诱导培养

取多花黄精无菌苗叶片,将其剪为长宽约 0.5 cm×0.5 cm 的小块,接种到以 MS 为基本培养基,添加不同浓度的 6-BA、NAA 和蔗糖溶液的培养基中进行愈伤组织诱导培养;每个处理接种 5 瓶,每瓶接入 6 块叶片,重复 3 次;培养 45 d 后统计愈伤组织数、长势情况。长势极好为叶片大部分形成愈伤组织、颜色为绿色,长势好为叶片部分形成愈伤组织、颜色为绿白色,长势一般为叶片极少或没有形成愈伤组织、颜色为白色或黑色。

1.2.2 愈伤组织增殖培养

将叶片诱导出的愈伤组织颗粒转接到以 MS 为基本培养基,添加按 $L_9(3^4)$ 正交实验设计的不同浓度 6-BA、2,4-D、NAA 和蔗糖溶液的培养基中进行愈伤组织增殖培养(表 1)。每个处理接种 15 瓶,每瓶接入 1 块愈伤组织颗粒。培养 55 d 后观察、计算愈伤组织增殖倍数、颜色、密度、致密疏松情况:密度($g \cdot mL^{-1}$)>1 计为致密,密度($g \cdot mL^{-1}$)<1 计为疏松;长势情况:长势极好为愈伤组织增殖倍数为 3 以上、颜色绿色,长势好为增殖倍数在 2~3、颜色大部分绿白,长势一般为增殖倍数只有 1 或无变化、愈伤组织颜色极少有绿色、大为黄色或黑色。

1.2.3 丛生芽诱导培养

将增殖生长极好的愈伤组织切为长宽高约 0.6 cm×0.6 cm×0.6 cm 的小块,接种到以 MS 培养基为基本培养基,添加不同浓度 6-BA、NAA、2,4-D 溶液的培养基中进行丛生芽诱导培养;每个处理接种 5 瓶,每瓶接种 1~3 块增殖的愈伤组织,重复 3 次。培养 40 d 后统计出芽数、

表 1 增殖培养基中 6-BA、2,4-D、NAA 和蔗糖浓度的 $L_9(3^4)$ 因素水平

Table 1 The orthogonal factor level table $L_9(3^4)$ of the concentrations of 6-BA, 2,4-D, NAA and sucrose in the proliferation medium

水平 Level	因素 Factor			
	6-BA /(mg·L ⁻¹)	2,4-D /(mg·L ⁻¹)	NAA /(mg·L ⁻¹)	蔗糖 Sucrose /(g·L ⁻¹)
1	0	0	0	0
2	1	1	2	20
3	2	2	3	30

芽高及长势情况,长势极好为丛生芽苗数在 10 株以上、芽高大于 1 cm,长势好为丛生芽苗数在 4~10 株时,芽高 0.5~1.0 cm,长势一般为丛生芽苗数在 0~4 株,芽高小于 0.5 cm。

1.2.4 生根培养

当丛生芽长至 2~3 cm 时,将其切开分为单芽,接种到以 MS 培养基为基本培养基,添加 20 g·L⁻¹ 的蔗糖、75 g·L⁻¹ 的香蕉和以 2 因素 4 水平完全区组设计添加不同浓度 6-BA 和 NAA 溶液的培养基中进行生根培养;每个处理接种 10 瓶,每瓶接入 1~2 个。培养 50 d 后统计生根数、根长、根粗。

所有培养基均添加 7.5 g·L⁻¹ 的琼脂,pH 调为 5.8~6.0。培养基在 121 °C 下灭菌 25 min,培养温度为(25±2)°C,光照为 1 000~2 000 lx,光照时间为 12 h·d⁻¹。

1.3 项目测定

愈伤组织诱导率(%)=(形成愈伤组织数/接种数)×100;愈伤组织增殖倍数=增殖培养的愈伤组织体积(mL)/接种愈伤组织体积(mL)(用排水法测量愈伤组织体积);密度($g \cdot mL^{-1}$)=质量(g)/体积(mL);出芽率(%)=(出芽株数/接种株数)×100;生根率(%)=(生根株数/接种株数)×100。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 2007 和 SPSS 19.0 统计软件进行数据整理分析。

2 结果与分析

2.1 不同 6-BA、NAA、蔗糖浓度对愈伤组织诱导培养的影响

由表 2 可知,处理 6 的愈伤组织质量最好,其

愈伤组织诱导率最高,为 53.89%,愈伤组织生长情况也最好;处理 8 的愈伤组织质量较好,其诱导率较高,为 45.55%,愈伤组织生长情况也较好;均含有 6-BA、NAA、蔗糖的处理 6 和处理 8 的愈伤组织质量明显好于含有 6-BA、NAA、蔗糖的其它处理,表明 6-BA、NAA、蔗糖均明显影响愈伤组织质量,缺少其中之一愈伤组织质量就差;权宏

等^[8]以红龙草叶片为外植体研究其组织培养时也发现适当浓度的生长素和细胞分裂素组合有利于愈伤组织的形成。处理 1,即 6-BA、NAA、蔗糖均为 0 时愈伤组织质量最差,其平均诱导率最低,为 2.22%,生长情况也最差,表明无 6-BA、NAA、蔗糖,几乎不能诱导愈伤组织。

表 2 不同浓度 6-BA、NAA、蔗糖对愈伤组织诱导的影响

Table 2 Effects of different concentrations of 6-BA, NAA and sucrose on callus induction

处理 Treatment	6-BA /(mg·L ⁻¹)	NAA /(mg·L ⁻¹)	蔗糖 Sucrose /(g·L ⁻¹)	诱导率 Induction rate/%	生长情况 Growth situation		
					长势极好数	长势好数	长势一般数
1	0	0	0	2.22cD	0	0	15
2	0	3	20	4.44cD	0	1	14
3	0	4	30	4.33cD	0	0	15
4	3	3	0	9.89cD	0	3	12
5	3	0	30	33.17bAB	0	4	11
6	3	4	20	53.89aA	2	3	10
7	4	4	0	8.89cD	0	1	14
8	4	3	30	45.55abAB	2	1	12
9	4	0	20	29.44bBC	0	5	10

注:小写字母表示不同处理在 0.05 水平上的差异显著性,大写字母表示不同处理在 0.01 水平上的差异显著性,下同。

Note: The lower case letters indicate the difference between different processing at the 0.05 level, and the uppercase letters indicate the difference between the different processing at the 0.01 level. The same below.

2.2 不同 6-BA、2,4-D、NAA、蔗糖浓度对愈伤组织增殖培养的影响

由表 3 可知,4 个因素对多花黄精愈伤组织增殖倍数影响次序是蔗糖>6-BA>NAA>2,4-D,蔗糖的最优水平浓度是 20 mg·L⁻¹,6-BA 的最优水平浓度是 2 mg·L⁻¹,NAA 的最优水平浓度是 3 mg·L⁻¹,2,4-D 的最优水平浓度是 0 mg·L⁻¹,刚好是处理 7,其增殖倍数是 7.87,

生长情况也相对较好。由表 4 可知,蔗糖和 6-BA 对愈伤组织增殖倍数分别有极显著和显著性差异,不同浓度蔗糖和 6-BA 溶液的愈伤组织增殖倍数进行多重比较分析得出,蔗糖浓度的 3 个水平均有显著性差异或极显著性差异,6-BA 溶液的 2、1 mg·L⁻¹水平与 0 mg·L⁻¹水平有显著性差异,分析结果见表 5、6。

表 3 不同浓度 6-BA、2,4-D、NAA、蔗糖对愈伤组织增殖的影响

Table 3 Effects of different concentrations of 6-BA, 2,4-D, NAA and sucrose on the proliferation of callus

处理 Treatment	6-BA /(mg·L ⁻¹)	2,4-D /(mg·L ⁻¹)	NAA /(mg·L ⁻¹)	蔗糖 Sucrose /(g·L ⁻¹)	增殖倍数 Multiplication multiple	生长情况 Growth situation				
						致密数	疏松数	长势极好数	长势好数	长势一般数
1	1(0)	1(0)	1(0)	1(0)	1.27	2	13	0	4	11
2	1	2(1)	2(2)	2(20)	3.40	4	11	2	3	10
3	1	3(2)	3(3)	3(30)	3.33	3	12	2	3	10
4	2(1)	1	2	3	3.73	7	8	2	5	8
5	2	2	3	1	2.07	2	13	3	2	10
6	2	3	1	2	6.67	7	8	6	4	5
7	3(2)	1	3	2	7.87	5	10	4	6	5
8	3	2	1	3	4.13	4	11	3	3	9
9	3	3	2	1	2.73	2	13	2	4	9
K ₁	8.00	12.87	12.07	6.07						
K ₂	12.47	9.60	9.86	17.94						
K ₃	14.73	12.73	13.27	11.19						
R	6.73	3.27	3.41	11.87						

注:K 为各因素的同一水平增殖倍数之和,R 为各因素的增殖倍数水平极差。

Note: K is the sum of the multiplication times of the same level of each factor, and R is the difference of the multiplication level of each factor.

表 4 愈伤组织增殖培养的增殖倍数方差分析

Table 4 Multiplication factor analysis of multiplication culture of callus

变异来源 Variation source	离差平方和 SS	自由度 df	均方差 MS	F 值 F value	F 临界值 Critical F value
6-BA	7.82	2	3.91	13.03*	$F_{(0.05,2,3)}=9.55$
2,4-D	2.28	2	1.14	3.80	$F_{(0.01,2,3)}=30.82$
NAA	1.10	2	0.55	1.83	
蔗糖 Sucrose	23.63	2	11.815	39.38**	
误差 Error	0.90	3	0.3		
总变异 Total variation	35.73	11			

注: * 表示差异显著, ** 表示差异极显著。下同。

Note: * indicates that the difference is significant, and ** indicates that the difference is extremely significant. The same below.

表 5 不同浓度蔗糖愈伤组织增殖倍数多重比较 (SSR 法)

Table 5 Multiplex comparison of callus proliferation under different concentrations of sucrose (SSR method)

蔗糖浓度 Sucrose concentration/(g · L ⁻¹)	愈伤组织增殖倍数 Callus multiplication times
20	5.98aA
30	3.78bAB
0	2.02cB

表 6 不同浓度 6-BA 愈伤组织增殖倍数多重比较 (SSR 法)

Table 6 Multiple comparison of multiplication of callus of different concentrations 6-BA (SSR method)

6-BA 浓度 6-BA concentration/(g · L ⁻¹)	愈伤组织增殖倍数 Callus multiplication times
2	4.91aA
1	4.16aA
0	2.67bA

2.3 不同 6-BA、NAA、2,4-D 浓度对出芽诱导培养的影响

由表 7 可知, 处理 7 的出芽率最高, 为 86.11%, 其生长情况也最好, 芽高最大为 1.70 cm; 处理 7 的出芽率与处理 16、6、14 比较无显著性差异, 但极显著高于其它处理, 表明处理 7 的 6-BA、NAA、2,4-D 浓度对出芽诱导培养最好, 处理 16、6、14 的培养较好。处理 1 的出芽率最低, 为 19.00%, 极显著低于其它处理, 其生长情况也差, 表明未添加 6-BA、NAA、2,4-D 的培养基对出芽诱导培养最差。

2.4 不同 6-BA、NAA 浓度对生根培养的研究

由表 8 分析知, 处理 3 的生根率最高, 为 66.67%, 其生长情况也最好, 根数、根长和根粗最好, 分别为 31.0 条、0.46 cm 和 1.100 mm; 处理 1 的生根率最低, 为 12.50%, 其生长情况也最差,

表 7 不同浓度 6-BA、2,4-D、NAA 对丛生芽诱导培养的影响

Table 7 Effects of different concentrations of 6-BA, 2,4-D and NAA on the induction and culture of cluster buds

处理 Treatment	6-BA /(mg · L ⁻¹)	NAA /(mg · L ⁻¹)	2,4-D /(mg · L ⁻¹)	出芽率 Germination rate/%	芽高 Bud high/cm	生长情况 Growth situation		
						长势一般数	长势极好数	长势好数
1	0	0	0.0	19.00dE	0.18	1	3	11
2	0	2	0.2	61.33bcBCD	1.27	2	5	8
3	0	3	0.4	57.78cBCD	1.13	3	3	9
4	0	4	0.6	60.67cBCD	1.00	2	5	8
5	2	2	0.4	48.89cD	0.67	1	4	10
6	2	0	0.6	79.00aAB	1.13	1	7	7
7	2	4	0.0	86.11aA	1.70	2	10	3
8	2	3	0.2	52.55cD	0.71	1	3	11
9	3	3	0.6	48.78cD	0.78	2	2	11
10	3	4	0.4	46.56cD	0.68	2	3	10
11	3	0	0.2	55.56cCD	0.89	2	5	8
12	3	2	0.0	57.67cBCD	0.84	2	4	9
13	4	4	0.2	49.00cD	0.67	3	5	7
14	4	3	0.0	78.00abABC	2.40	3	6	6
15	4	2	0.6	45.56cD	0.55	2	4	9
16	4	0	0.4	80.00aAB	1.20	1	7	7

表8 不同浓度6-BA、NAA对生根培养的影响
Table 8 Effects of different concentrations of 6-BA and NAA on rooting culture

处理 Treatment	6-BA /(mg·L ⁻¹)	NAA /(mg·L ⁻¹)	生根率 Rooting rate/%	生长情况 Growth situation		
				根数	根长/cm	根粗/mm
1	0.0	0.0	12.50	0.3	0.09	0.163
2	0.0	0.5	50.00	18.7	0.40	0.809
3	0.0	1.0	66.67	31.0	0.46	1.100
4	0.0	1.5	36.36	2.7	0.19	0.543
5	0.5	0.5	46.15	5.6	0.37	0.568
6	0.5	0.0	28.57	0.6	0.21	0.361
7	0.5	1.5	42.86	2.4	0.44	0.533
8	0.5	1.0	35.71	1.9	0.42	0.529
9	1.0	1.0	33.33	2.1	0.29	0.511
10	1.0	1.5	37.50	3.1	0.34	0.653
11	1.0	0.0	28.57	1.1	0.19	0.374
12	1.0	0.5	50.00	7.6	0.45	0.670
13	1.5	1.5	40.00	1.3	0.17	0.549
14	1.5	1.0	41.67	2.5	0.22	0.662
15	1.5	0.5	46.67	3.1	0.33	0.603
16	1.5	0.0	25.00	1.6	0.25	0.362

根数、根长和根粗最差,分别为0.3条、0.09 cm和0.163 mm;表明6-BA浓度为0,NAA为1.0 mg·L⁻¹时丛生芽的生根最好,6-BA和NAA浓度为均为0时丛生芽的生根最差。处理1、2、3、4比较,即当6-BA浓度为0时,丛生芽的生根率、根数、根长和根数均随NAA浓度的增大先增大后变小,表明不含有6-BA时丛生芽的生根率、根数、根长和根数在NAA为0.0~1.5 mg·L⁻¹时先促进生长再抑制生长。处理1、6、11、16比较,即当NAA浓度为0时,丛生芽的生根率和根数均随6-BA浓度的增大先增大后变小,根数则是随6-BA浓度的增大而增大,表明不

含有NAA时丛生芽的生根率和根数在6-BA为0.0~1.5 mg·L⁻¹时先促进生长再抑制生长。

由表9可知,6-BA的各浓度水平对丛生芽的生根率无显著性差异,NAA的各浓度水平对丛生芽的生根率有显著性差异,表明6-BA的0.0~1.5 mg·L⁻¹各水平对丛生芽的生根率比较无显著性影响,NAA的0.0~1.5 mg·L⁻¹各水平对丛生芽的生根率比较有显著性影响。NAA各浓度水平对生根率进行多重比较表明,NAA的0.5、1.0、1.5 mg·L⁻¹的水平比较,丛生芽的生根率无显著性差异,但均显著性高于NAA的0.0 mg·L⁻¹水平的生根率,分析结果见表10。

表9 生根培养的生根率方差分析
Table 9 Root rate variance analysis table of rooting culture

变异来源 Variation source	离差平方和 SS	自由度 df	均方差 MS	F值 F value	F临界值 Critical F value
6-BA	0.003 9	3	0.001 3	0.105 7	$F_{(0.05,3,9)}=3.86$
NAA	0.175 8	3	0.058 6	4.764 2*	$F_{(0.01,3,9)}=6.99$
误差 Error	0.110 3	9	0.012 3		
总变异 Total variation	0.29	15			

表 10 不同浓度 NAA 生根率多重比较(SSR 法)
Table 10 Multiple comparison of NAA rooting rate of different concentrations (SSR)

NAA 浓度 NAA concentration/(mg · L ⁻¹)	生根率 Rooting rate/%
0.5	52.37aA
1.0	44.34aA
1.5	39.18abA
0.0	23.66bA

3 讨论与结论

外植体是影响组培快繁成功与否的重要因素,不仅要考虑外植体大小,同时还需兼顾外植体来源、类型等^[9];多花黄精的组织培养技术研究均以根茎芽作为外植体,但取下根茎上的芽后根茎就不能再生长,甚至会腐烂,不仅对根茎损害大,而且根茎芽比较少,不能大规模快速繁殖,且根茎芽作为外植体污染率高,杂菌潜伏期还达 10 d 以上^[7];而该试验选择无菌苗叶片为外植体,不仅对多花黄精损害较小,而且还做了叶片愈伤组织的增殖培养,能为多花黄精的组织培养研究提供足够的愈伤组织;并且还用自然环境生长的多花黄精的幼嫩叶片作外植体,做愈伤组织诱导试验的效果和该试验无菌苗叶片效果几乎相同,且其叶片消毒只需 75% 的酒精浸泡 3 s,0.1% 的 HgCl₂ 溶液消毒 15 min 即可,污染率接近 0。

在植物组织培养中,蔗糖是最常用的碳源,蔗糖的浓度不仅影响着培养物的生长速度和生长量,还影响着代谢物的合成,是影响组织培养成功的关键物之一^[10],而前人研究多花黄精的组织培养时均未研究蔗糖对其影响,该研究的蔗糖浓度对愈伤组织诱导和愈伤组织增殖培养时均有影响,高浓度的蔗糖不仅抑制愈伤组织和愈伤组织增殖的质量,而且在愈伤组织增殖培养上蔗糖浓度对增殖倍数有极显著影响。

该试验以多花黄精叶片为外植体进行组织培养研究,通过分析添加不同浓度的 6-BA、NAA、2,4-D 和蔗糖对多花黄精愈伤组织诱导、愈伤组织增殖、愈伤组织诱导丛生芽和丛生芽生根的试验结果分析得出,愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS+6-BA 3.0 mg · L⁻¹+NAA 4.0 mg · L⁻¹+蔗糖 20 g · L⁻¹,愈伤组织诱导率最高为 53.89%,生长情况最好;愈伤组织增殖培养的最佳培养基为

MS+6-BA 2.0 mg · L⁻¹+NAA 3.0 mg · L⁻¹+蔗糖 20 g · L⁻¹,增殖倍数 7.87,生长情况相对最好;丛生芽诱导培养的最佳培养基为 MS+6-BA 2.0 mg · L⁻¹+NAA 4.0 mg · L⁻¹,出芽率最高为 86.11%,生长情况最好,芽高最大为 1.70 cm;丛生芽生根诱导的最佳培养基为 MS+NAA 1.0 mg · L⁻¹,生根率最高为 66.67%,根数、根长和根粗最好,分别为 31.0 条、0.46 cm 和 1.100 mm。

随着黄精市场需求量的不断扩大和不合理采挖等原因,黄精的野生资源越来越少,寻找新的技术来保护资源、增加产量、提高质量显得越来越重要,组织培养快速繁殖技术是解决黄精资源短缺的有效方法之一。该试验以多花黄精的叶片为外植体,研究其组织培养快速繁殖技术,不仅可以有效地保存多花黄精种质资源,还可以提供大量优质的多花黄精种苗,为解决其种植生产上面临的种苗短缺问题提供参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国科技医药出版社,2015.
- [2] 陈松树,赵致,王华磊,等. 多花黄精初生根茎破除休眠及其成苗的条件研究[J]. 时珍国医国药,2017,28(7):1748-1750.
- [3] 徐红梅,赵东利. 植物生长调节剂对多花黄精芽体外发生过程中性状的影响[J]. 中草药,2003(9):90-93.
- [4] 刘红美,方小波,夏开德,等. 多花黄精组织培养快繁技术的研究[J]. 种子,2010,29(12):13-17.
- [5] 徐忠传,何俊蓉,郁达,等. 多花黄精的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2006(1):78.
- [6] 徐忠传,何俊蓉,周静亚,等. 6-BA 浓度对离体多花黄精不定芽增殖的影响[J]. 安徽农业大学学报,2006(1):105-107.
- [7] 万学锋,陈青瑛. 多花黄精组培快繁技术初探[J]. 中国现代中药,2013,15(10):850-852.
- [8] 权宏,施和平. 红龙草叶片的组织培养及其植株再生[J]. 园艺学报,2005(4):735-737.
- [9] 张杰,李洋,孙红梅. LA 系列百合‘Eyeliner’花器官组培快繁技术研究[J]. 西北植物学报,2014,34(9):1894-1899.

[10] 王刚,陈宝刚,刘东升.蔗糖在植物组织培养中的效应[J]. 林业勘查设计,2007(1):53-55.

Tissue Culture of *Polygonatum cyrtonema* Huad. With Leaf as Explants

CHEN Songshu^{1,2}, ZHANG Xue³, ZHAO Zhi^{1,3}, LIU Hongchang^{1,3}, WANG Hualei^{1,3}, LI Jinling^{1,3}

(1. Guizhou Key Laboratory of Propagation and Cultivation on Medicinal Plants, Guiyang, Guizhou 550025; 2. Teaching Farm, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025; 3. Agricultural College, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract: To construct a rapid propagation system of the tissue culture of *Polygonatum cyrtonema* Huad. which regeneration from the leaves. The aim was to screen the optimum combination for the best medium of callus induction, callus proliferation, cluster bud induction and rooting induction of clustered shoots by adding different 6-BA, NAA, 2, 4-D and sucrose proportions in MS medium. The results showed that the best medium for callus induction was MS+6-BA 3.0 mg · L⁻¹ + NAA 4.0 mg · L⁻¹ + sucrose 20 g · L⁻¹, and the callus induction rate was the highest, it reached 53.89%, and the growth was the best. The best medium for callus proliferation was MS+6-BA 2.0 mg · L⁻¹ + NAA 3.0 mg · L⁻¹ + sucrose 20 g · L⁻¹, and the multiplication multiple was 7.87, and the growth was the best. The best medium for the induction culture of cluster buds was MS+6-BA 2.0 mg · L⁻¹ + NAA 4.0 mg · L⁻¹, and the germination rate was the highest, it reached 86.11%, and the maximum height of 1.70 cm. The best medium of rooting induction for clustered shoots was MS + NAA 1.0 mg · L⁻¹, and the rooting rate was the best, it reached 66.67%, and the best root number, length and diameter were 31.0, 0.46 cm and 1.100 mm, respectively. A large amount of *Polygonatum cyrtonema* Huad. tissue culture seedlings could be obtained by the regeneration from the leaves, in a short time, which could solve the shortage of seedlings in planting production.

Keywords: *Polygonatum cyrtonema* Huad.; leaf; tissue culture

中草药制剂对作物的作用与原理

信息广角

一、中草药制剂对作物的作用

1. 提高叶绿素含量。提高作物的自营养能力,有利于作物营养复壮、增产增收,提高植株抗逆能力。
2. 提高酶活性。提高作物次生代谢途径中关键酶的酶活性,提高作物的抗病能力。
3. 抗病基因的诱导。诱导抗病基因上调表达,提高植株的免疫力;通过基因的诱导表达可以从根源上提高植物的抗病性。

二、医养结合的原理

1. 医。防病治病,修复伤口,促进受伤组织的愈合速度。
2. 养。为作物生长提供一定量的营养,让叶片厚实油绿,有利于植株健壮生长;利于作物果实提高抵抗日灼病的能力。

(来源:中国农业信息网)