

doi:10.3969/j.issn.1001-4616.2020.03.020

黄精组织培养快繁技术体系建立的研究

田 怀¹, 侯 娜²

(1.贵州省林业学校, 贵州 贵阳 550201)
(2.贵州省林业科学研究院, 贵州 贵阳 550201)

[摘要] 为建立山地野生黄精高效组培增殖和生根体系, 给其工厂化、规模化育苗提供可行的关键技术方案, 本文以山地野生黄精无菌种子为试验材料, 研究不同培养基种类、不同激素浓度对黄精种子萌发、继代、增殖、生根、炼苗移栽的效果。结果表明: 黄精种子萌发启动的最佳培养基为 MS+6-BA(0.2 mg/L)+2,4-D(0.2 mg/L)+GA₃(2.0 mg/L), 种子萌芽率为 20%, 90 d 后芽约有 0.50 mm 长, 生长情况良好; 愈伤组织继代培养的最佳培养基为 MS+6-BA(4.0 mg/L)+2,4-D(0.2 mg/L)+TDZ(0.2 mg/L), 愈伤组织长势最好, 芽点增殖多, 苗壮; 增殖培养的最佳培养基为 MS+6-BA(2.0 mg/L)+TDZ(0.2 mg/L)+NAA(0.2 mg/L), 芽生长状况良好, 伸长较大, 叶色绿, 苗壮; 生根诱导培养的最佳培养基为 1/2 MS+TDZ(0.01 mg/L)+NAA(0.2 mg/L), 生根率最高为 70%, 根数、根长最好, 分别为 14 条、0.60 cm; 炼苗移栽后 4~8 条根须移栽的成活率最高达 92%。实验结果认为, 以黄精无菌种子为培养对象可短时间获得大量黄精组培苗, 有利于解决种植生产上的种苗短缺问题。

[关键词] 黄精, 组织培养, 快速繁殖, 种子

[中图分类号] Q942 [文献标志码] A [文章编号] 1001-4616(2020)03-0129-07

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation Technology System of *Polygonatum sibiricum* Red

Tian Huai¹, Hou Na²

(1. Guizhou Forestry School, Guiyang 550201, China)
(2. Guizhou Academy of Forestry, Guiyang 550201, China)

Abstract: In order to establish a high-efficiency tissue culture propagation and rooting system for wild *polygonatum sibiricum*, and provide a feasible key technical solution for its factory and large-scale nursery, this article uses sterile wild *polygonatum sibiricum* seeds as test materials to study the effects of seed germination, subculture, multiplication, rooting and transplanting of refined seeds. The results showed that the best medium for seed germination and start of *polygonatum sibiricum* was MS+6-BA(0.2 mg/L)+2,4-D(0.2 mg/L)+GA₃(2.0 mg/L), the seed germination rate was 20%, and the buds were about 90 ds later. It is 0.50 mm long and grows well. The best medium for subculture of callus is MS+6-BA(4.0 mg/L)+2,4-D(0.2 mg/L)+TDZ(0.2 mg/L), callus the growth is the best, the bud spots are multiplying, and the seedlings are strong; the best medium for multiplying culture is MS+6-BA(2.0 mg/L)+TDZ(0.2 mg/L)+NAA(0.2 mg/L), the buds grow well and elongate large, green leaves, strong seedlings. The best medium for rooting induction culture is 1/2 MS+TDZ(0.01 mg/L)+NAA(0.2 mg/L), the rooting rate is up to 70%, and the root number and root length are the best, respectively, 14 pieces, 0.60 cm. The survival rate of transplanting 4~8 roots after transplanting seedlings is up to 92%. The experimental results believe that using sterile seeds of *polygonatum sibiricum* as a cultivation object can obtain a large number of tissue culture seedlings of *polygonatum sibiricum* in a short time, which is beneficial to solve the problem of shortage of seedlings in planting and production.

Key words: *Polygonatum sibiricum*, tissue culture, rapid propagation, seed

收稿日期: 2019-12-30.

基金项目: 贵州乡土珍稀花卉研发团队服务企业行动计划项目(黔科合平台人才[2016]5711)、贵州省科技平台项目“贵州省林木标本数据库及网络共享平台建设”(黔科平台[2012]4002).

通讯作者: 侯娜, 博士, 高级工程师, 研究方向: 林木生物技术研究. E-mail: houna1018@163.com

黄精(*Polygonatum sibiricum*, Red)别名老虎姜、鸡头参等,又名仙人余粮^[1],为百合科(Liliaceae)黄精属(*Polygonatum*)多年生草本植物的根茎^[2],是《中国药典》(一部)规定收藏的3种原生药之一^[3]。黄精具有润肺滋阴、补中益气、益肾填精的作用,按照形状不同,习称“大黄精”、“鸡头黄精”、“姜形黄精”,具有很好的开发与药用价值。我国约有31种黄精属植物,分布于全国各地,主产于河北、内蒙古、陕西等省区^[4-5]。黄精的适应性较差、生境选择性强,繁殖比较困难,近年来国内对黄精的研究主要集中在化学成分、药理活性^[6-7]、种子特性^[8]、栽培模式^[9-10]等方面。

目前,黄精药材主要来源于野生资源,随着人们对黄精的认识越来越全面,用量逐年增加,野生资源大量采挖,野生黄精数量锐减,不仅不能满足日益增长的市场需求,还破坏了生态环境。为响应国家对于野生中药资源的保护政策,采用人工栽培来缓解野生黄精资源紧张情况,但我国对于黄精的人工栽培尚在起步阶段,栽培规模小、难度大,栽培技术也不够完善。黄精的繁殖方式主要是种子繁殖^[11]和根状茎繁殖^[12]。但是,黄精种子的收集难度大、发芽率低、育苗周期长,一般种子繁殖移栽苗需要3年时间,后代性状分化严重,大大增加了黄精的栽培成本^[13];根茎繁殖方法繁殖系数低,种根茎用量大,又存在繁殖率低和多次繁殖容易积累病毒等缺点,限制了多花黄精的产量潜力,不便栽植管理推广^[14-15]。这两种方法大大限制了黄精的种植面积,黄精种苗问题已成为制约黄精人工大规模栽培的瓶颈。

较传统栽培方式,组织培养不受季节、取材数量等因素制约,可在短期内大规模繁殖性状稳定的优良种苗^[16-18]。利用植物组织培养技术建立起黄精组培苗规模化生产体系,能够有效地解决优良种源性状稳定和快速繁殖的难题,是规模化生产优质、无毒黄精种苗的有效途径,是实现黄精栽培种植规范化生产的必要技术基础。目前,有关黄精组织培养的研究已有相关报道^[19-24],但各研究选用的材料并不相同,且选用生长调节剂的种类、剂量和组合也不尽相同,不同水平的激素组合及浓度配比使得黄精根茎上不定芽的增殖数量和质量有一定差异。再者,现有报道中鲜少涉及黄精从种子到组培炼苗快繁技术体系建立的研究。因此,本文对黄精的繁殖从种子到组培炼苗过程进行研究,通过建立黄精组织培养体系,以期黄精快繁、开发利用和种质改良提供参考,也为黄精种苗规模化生产提供科学依据,以达到短期内生产出大量优质种苗,扩大人工种植产业规模的目的。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验所用野生黄精种子均取自贵州山地已成熟的黄精果实,于2018年—2019年在贵州省林业科学研究院中进行试验。

1.2 试验方法

1.2.1 种子预处理

选取饱满的野生黄精种子,直接置于塑料袋中发酵10 d,然后将发酵好的果实放在12目筛子上揉搓,再以清水冲洗,揉搓漂洗至果皮果肉完全去除。将处理完的种子平铺置于盘子中通风阴干。选择最佳的野生黄精种子置于75%的乙醇中浸泡1 min,以无菌水冲洗3次,再用0.1%氯化汞(HgCl_2)消毒处理15 min后,无菌水再冲洗3次,最后用无菌滤纸吸干种子多余水分,放置在干净容器中备用。

1.2.2 种子萌发培养

根据实验目的,将预处理后的黄精种子在室温下用不同种类培养基,相同浓度的6-苄基腺嘌呤(6-BA)、2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)、赤霉素(GA_3)进行培养(表1)。每组处理20粒种子,重复3次。所有培养基均添加30 g/L蔗糖,60 g/L琼脂固化,并调节pH值为5.8。培养瓶进行灭菌消毒后,进行材料接种。每瓶接种1粒黄精种子,每种培养基均接种20瓶,重复3次。将接种好的种子置于无菌操作室中培养,培养温度控制在 $(25\pm 1)^\circ\text{C}$,光照时间12 h/d,光照强度约2 000 Lx。

1.2.3 继代培养

以种子萌发获得的无菌黄精苗为材料,选取大小一致、生长健壮、没有污染的黄精壮苗在无菌条件下切除须根、地上茎和叶,将切好的根状茎接种在6-BA、2,4-D、噻苯隆(TDZ)不同激素浓度配比(表2)的MS培养基中继代培养。每瓶接种1个根状茎,每10瓶一个处理,每个处理重复3次。培养条件与1.2.2相同。在30 d后观察记录植物的继代培养情况。

表 1 种子萌发培养

Table 1 Seed germination culture

处理	培养基种类	6-BA/(mg/L)	2,4-D/(mg/L)	GA ₃ /(mg/L)
I-Q	WPM	0.2	0.2	2.0
II-Q	1/2 MS	0.2	0.2	2.0
III-Q	MS	0.2	0.2	2.0

表 2 继代培养

Table 2 Successive transfer culture

处理	培养基种类	6-BA/(mg/L)	2,4-D/(mg/L)	TDZ/(mg/L)
I-J	MS	1.0	0.2	0
II-J	MS	2.0	0	0
III-J	MS	4.0	0.2	0.2

1.2.4 增殖培养

选取大小一致、生长健壮、没有污染的黄精继代培养小芽种球切块成直径 0.30 cm 大小作为增殖材料,接种到 6-BA、TDZ、萘乙酸(NAA)不同激素浓度配比的增殖培养基中(表 3)。每瓶接种 3 个带芽,每种处理接种 20 瓶,重复 3 次。培养条件与 1.2.2 相同。每隔 10 d 观察植株的生长情况,30 d 后观察黄精增殖情况。

表 3 增殖培养基

Table 3 Proliferation medium

处理	培养基种类	6-BA/(mg/L)	TDZ/(mg/L)	2,4-D/(mg/L)	NAA/(mg/L)
I-Z	MS	0.2	0	0.4	0
II-Z	MS	0.5	0	0.2	0.05
III-Z	MS	1.0	0.01	0.05	0.1
IV-Z	MS	1.5	0.05	0	0.2
V-Z	MS	2.0	0.2	0	0.2

1.2.5 生根诱导

选取大小一致、生长健壮、没有污染的带不定芽的黄精根状茎作为试验材料,接种到不同激素浓度配比的生根诱导培养基中(表 4)。每瓶接种 1 个根状茎,每组处理 20 株,重复 3 次。培养条件与 1.2.2 相同。培养 30 d 后观察记录生根情况。

表 4 生根诱导培养基

Table 4 Rooting induction medium

处理	培养基种类	6-BA/(mg/L)	NAA/(mg/L)	TDZ/(mg/L)
I-G	1/2 MS	0.2	0	0
II-G	1/2 MS	—	0.2	0.01
III-G	MS	0.3	0	0
IV-G	MS	0.3	0.3	0.1

1.2.6 室外炼苗移栽

生根培养 30 d 后,搬出培养房,炼苗 15 d,选取有 3 条以上正常根系的生根苗,清洗掉根系附着的培养基,栽植于配置好的沙土基质中,喷质量浓度为 0.1% 的多菌灵,保持室温 23 ℃ 左右,湿度 85%,50%~75% 的光照下,3 d 浇一次水,一周施一次肥。40 d 后统计成活率。成活率=(成活株数/移栽株数)×100%。

1.3 数据处理

试验数据用 Microsoft Excel 计算,采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析,计量资料应用($\bar{x} \pm s$)表述, $P < 0.05$ 代表组间比较具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 黄精种子萌发情况

60 d 不同处理的黄精种子均出现萌发(图 1),但不同培养基的黄精种子萌发状态不同,I-M 和 II-M 处理均有种子芽萌动,但 III-M 处理的种子芽萌动率最高(20.00%),70 d 芽约有 0.20 mm 长,80 d 芽约有 0.30 mm 长,90 d 后约有 0.50 mm 长(表 5)。单因素方差分析结果表明,在添加相同浓度配比激素(6-BA 0.2 mg/L+2,4-D



图 1 种子芽萌发

Fig. 1 Seed bud sprouting

0.2 mg/L+GA₃ 2.0 mg/L) 情况下,在 MS 培养基中黄精种子的发芽率最高,70 d、80 d、90 d 后长势明显比其他两种培养基好,且与其他两组处理差异显著(表 5)。

表 5 种子萌发情况($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Seed germination

处理	60 d 种子萌发数	70 d 芽长/mm	80 d 芽长/mm	90 d 芽长/mm
I-M	1	0.19±0.01 ^b	0.30±0.02 ^b	0.40±0.02 ^b
II-M	1	0.20±0.13 ^b	0.31±0.03 ^b	0.41±0.01 ^b
III-M	4	0.26±0.10 ^a	0.41±0.02 ^a	0.51±0.03 ^a

注:数值为(平均值±标准差),同列数值间不同字母表示差异显著($P<0.05$),下同。

2.2 继代培养

本实验采用 2,4-D 和 TDZ 与 6-BA 搭配使用,在 MS 培养基上进行继代培养。30 d 后,从愈伤组织生长情况来看,处理 III-J 长势最好、产生愈伤并有芽分化(图 2);处理 II-J 黄精长势一般、产生愈伤组织;处理 I-J 长势较差,产生少量愈伤。从新芽数来看,处理 III-J 长出的新芽数最多,显著高于其他组处理(表 6)。实验表明,MS 培养基+6-BA(4.0 mg/L)+2,4-D(0.2 mg/L)+TDZ(0.2 mg/L) 为最佳继代培养基。

表 6 继代培养愈伤组织情况

Table 6 Subculture of callus

处理	新芽数/个	愈伤组织生长情况
I-J	3.33±0.58 ^c	产生少量愈伤,芽点增殖少,且伸长较小,芽弱
II-J	15.00±2.00 ^b	产生较多愈伤,芽点增殖一般,部分伸长,芽长势一般
III-J	25.00±1.00 ^a	产生较多愈伤,芽点增殖多,伸长较长,苗壮



图 2 处理 III-J 愈伤组织生长情况

Fig. 2 Treatment of III-J callus growth

2.3 增殖培养基的筛选

增殖培养中,处理 I-Z 黄精长势不好;处理 II-Z 黄精分化较好,增殖一般;处理 III-Z 黄精愈伤增殖多,芽分化较少;处理 IV-Z 黄精增殖分化都较好;处理 V-Z 黄精增殖分化最好,芽长势也最好(图 3,表 7)。通过对比筛选,最佳增殖培养基为 MS+6-BA(2.0 mg/L)+TDZ(0.2 mg/L)+NAA(0.2 mg/L)。



图 3 处理 V-Z 不定芽生长情况

Fig. 3 Treatment of V-Z adventitious bud growth

表 7 不同培养基中黄精不定芽的增殖及生长情况

Table 7 Proliferation medium

处理	增殖块数/个	芽点分化倍数	外植体生长情况
I-Z	0 d	0	芽弱,长势不好
II-Z	22.67±2.52 ^b	7~9	芽长势一般,无球茎,增殖率一般
III-Z	44.67±1.53 ^c	2~4	芽长势一般,增殖率一般,球茎异常
IV-Z	48.00±2.00 ^b	9~11	芽长势较好,少数叶子,球茎有点畸形
V-Z	59.00±1.00 ^a	10~12	芽长势最好,伸长较大,叶色绿,苗壮

2.4 生根诱导培养基的筛选

生根诱导培养中,处理 I-G 20 株有 2 株生根,生根率为 10%,根长平均 0.20 cm;处理 II-G 20 株有 14 株生根,生根率 70%,根长平均 0.60 cm;处理 III-G 20 株无生根现象,生根率为 0;处理 IV-G 20 株有 1 株生根,生根率 5%,根长平均 0.20 cm(图 4、表 8)。



图 4 处理 V-Z 不定芽生长情况

Fig. 4 Treatment of V-Z adventitious bud growth

表 8 生根诱导培养基
Table 8 Rooting induction medium

处理 Treatments	生根数/条 Number of roots	生根率/% Rooting rate	根长/cm Root length
I-G	2±0 ^b	10	0.20±0.01 ^b
II-G	14±1 ^a	70	0.60±0.02 ^a
III-G	0±0 ^c	0	—
IV-G	1±0 ^{bc}	5	0.20±0.01 ^b

2.5 炼苗移栽

生根瓶苗移栽 40 d 后生长稳定,其中,4~8 条根处理的成活率可达 92%,10 条以上根在移栽过程中不方便操作,且移栽成活率相对较低(表 9).

表 9 炼苗移栽成活率

Table 9 Survival rate of transplanting seedlings

根须数/条 Number of roots	成活株数 Number of living plants	成活率/% Survival rate
4~8	44~48(均值 46)	92
10 以上	33~37(均值 35)	70

2.6 讨论

本研究以黄精无菌种子为研究对象,建立黄精组织培养快繁技术体系进行分析. 以往研究认为^[25],将黄精种子取出后揉搓至种皮脱落,可提高发芽率、缩短发芽时间,因此本实验参照前人经验,将黄精种子置于塑料袋中发酵 10 d 后,揉搓漂洗至果皮果肉完全去除. 在野生黄精种子萌发实验中发现,激素应用能提高黄精种子的发芽率,缩短发芽时间. 本实验以 6-BA 为 0.2 mg/L,2,4-D 为 0.2 mg/L 和 GA₃ 为 2.0 mg/L 这一组浓度的激素配比加入到不同培养基中,结果发现不论是发芽率还是发芽势,MS 培养基均优于 WPM、1/2 MS 培养基. 分析认为,这是由于 MS 培养基有较高的无机盐浓度,能保证组织生长所需的矿质营养,足以满足植物细胞在营养与生理上的需求. 还有研究发现,GA₃ 能够有效打破野生黄精种子的休眠,促进胚根萌发生长,而 6-BA 能够诱导种子内多种水解酶和合成酶的活化,促进糖类、蛋白质等营养物质的分解与转化,为黄精种子的萌发提供物质与能力^[26]. 因此认为,在黄精种子萌发处理中加入适宜浓度配比的 6-BA 与 GA₃,能进一步促进萌芽率,缩短萌芽时间.

组织培养过程中,生长素的种类和浓度及试管苗的生长状态、生理代谢状态与其生根密切相关. 为了在短时间内获得更多的优质壮苗,需要对经过愈伤组织诱导的黄精萌芽进行继代和增殖培养. 本实验中,启动培养阶段培养出来的黄精芽等数量较少,因此,需要对其进行进一步的增殖,增加数量. 万莹^[24]认为选择恰当的继代时间、适宜的培养基、不断调整植物生长调节剂的比例,对组培苗进行增殖,可以达到所要求的繁殖数量. 这一阶段的激素一般都以细胞分裂素为主,生长素与其搭配使用,继代培养的周期为 30 d 左右. 在本次继代培养实验中,将 6-BA(4.0 mg/L)、2,4-D(0.2 mg/L)与 TDZ(0.2 mg/L)激素联合应用,其中,6-BA 与 2,4-D 激素对块茎组织有显著的诱导效果. TDZ 是具有很强细胞分裂素活性的苯基脲衍生物,它对植物芽的增殖与再生、体细胞胚发生等有着重要作用,三者按上述浓度配比联合用于黄精苗的继代培养中,可获得最佳继代培养效果.

植物组织培养快速繁殖就是为了在最短的时间内,生产出最多的优质种苗,要求既要缩短培养的周期,又要扩大种苗的繁殖系数. 因此,经过继代培养获得一定数量的组培苗后,为进一步满足工厂化生产的需求,还需要进行增殖培养. 黄精芽的增殖不仅是建立在无性系的基本物质基础上,还要伴随芽的分化与生长,这样才能够保证有足够的有效芽进行器官分化,最后繁殖成苗. 因此,在增殖培养阶段,仍需要将细胞分裂素与生长素配合使用,以建立优良的无性繁殖体系. 本实验中,将分化有不定芽的块茎切成直径 0.30 cm 大小,于不同浓度激素配比的培养基中进行培养. 增殖培养基实验认为,2,4-D 可促进愈伤组织诱

导,但对器官分化增殖有不太好的影响,因此不建议在黄精块茎增殖培养中添加2,4-D激素;而6-BA对促进芽的分化有显著效果,因此在这一阶段应该适当增大6-BA的浓度.许丽萍等^[27]在滇黄精根茎外植体增殖实验中,认为增殖培养基为MS+6-BA(1.5 mg/L)+NAA(0.5 mg/L)时最佳,若6-BA浓度超过2 mg/L,则虽芽萌得多但细.本实验将6-BA最高浓度设计为6-BA(1.5 mg/L),NAA设计为0.2 mg/L,显示芽萌得多且壮.而TDZ作为一种新型的细胞分裂素,用于组培能更好地促进植物的花芽分化,在叶片保绿上的生物活性较好,因此在增殖培养中添加适当浓度TDZ也很有必要.

黄精增殖培养一段时间后,不定芽达到了一定数量,就进入生根阶段.试管苗生根是保证组黄精育苗工厂化生产的关键因素之一,试管苗的生根质量是影响黄精移栽成活的重要因素^[28].生根壮苗过程中,为更好促进壮苗生根,设计1/2 MS与MS两种培养基.MS是较为稳定的平衡培养液,无机盐和离子浓度均比较高,广泛用于原生质体的培养.1/2 MS则是将MS中营养元素减半,其他不变而配置的培养基,其降低了无机盐浓度,因为植物在生根过程中无需太多营养,减少营养元素有利于植物为吸收营养而生根来适应环境^[29].激素配比设计时主要考虑生根效果,在生根培养时,需要添加一定浓度的生长素以促进生根.6-BA和NAA均属于生长素,对生根有促进作用,另外仍需要将细胞分裂素与生长素配合使用.而生根培养实验结果发现,添加6-BA生根的效果较差,且较高浓度的6-BA会抑制根的诱导;而添加NAA的1/2 MS培养基不定根生长较多.因此认为,培养基1/2 MS+TDZ(0.01 mg/L)+NAA(0.2 mg/L)有利黄精的生根培养.在炼苗移栽过程中,选取4~8条根一组移栽50株,10条根以上一组移栽50株,每组重复3次,移栽在配好的沙壤土中.移栽40 d后发现,4~8条根处理的生根瓶苗的成活率可达92%,而10条以上根在移栽过程中不方便操作,且其移栽成活率相对较低,这与莫勇生等^[30]的研究结果相符.

3 结论

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、提高质量尤为重要.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.本研究以山地野生黄精种子为外植体,探索组织培养快速繁殖技术,对培养基与激素浓度配比的合理选择展开分析.结果显示,黄精种子萌发启动的最佳培养基为MS+6-BA(0.2 mg/L)+2,4-D(0.2 mg/L)+GA₃(2.0 mg/L),种子萌芽率为20%,90 d后芽约有0.50 mm长,生长情况良好;愈伤组织继代培养的最佳培养基为MS+6-BA(4.0 mg/L)+2,4-D(0.2 mg/L)+TDZ(0.2 mg/L),愈伤组织长势最好,芽点增殖多,苗壮;增殖培养的最佳培养基为MS+6-BA(2.0 mg/L)+TDZ(0.2 mg/L)+NAA(0.2 mg/L),芽生长状况良好,伸长较大,叶色绿,苗壮;生根诱导培养的最佳培养基为1/2 MS+TDZ(0.01 mg/L)+NAA(0.2 mg/L),生根率最高为70%,根数、根长最好,分别为14条、0.60 cm;炼苗移栽后4~8条根须移栽的成活率最高.本次实验不仅可以为有效地保存山地野生黄精种质资源提供依据,还可以提供大量优质的野生黄精种苗,为人工大面积种植野生黄精提供技术支持,为解决种植生产上面临的种苗短缺问题提供参考.

[参考文献]

- [1] 杨云. 多花黄精林下栽培研究进展[J]. 安徽农业科学, 2016(35):147-148.
- [2] 中国医学科学院药物研究所等编. 中药志[M]. 北京:人民卫生出版社,1982.
- [3] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典(200年版第1部)[M]. 北京:科学出版社,2000.
- [4] 裴莉昕,纪宝玉,陈随清,等. 黄精不同外植体对愈伤组织诱导的影响[J]. 时珍国医国药, 2017(8):1995-1997.
- [5] 王剑龙,常晖,周仔莉,等. 黄精种子萌发过程发育解剖学研究[J]. 西北植物学报, 2013,33(8):1584-1588.
- [6] 陈辉,冯珊珊,孙彦君,等. 3种药用黄精的化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药, 2015,46(15):2329-2338.
- [7] 徐景萱,刘力,杨胜祥,等. 多花黄精地上部分化学成分的研究[J]. 中草药, 2016,47(20):3569-3572.
- [8] 傅飞龙,丁自勉,马存德,等. 黄精种子萌发及出苗特点研究[J]. 中国现代中药, 2017,19(8):1151-1156.
- [9] GUANGSHENG X I, YAO M A. Analysis of yield accumulation of the polygonatum odoratum at different growth stages and glycine max intercropping benefit[J]. Northern horticulture, 2013(4):54-62.
- [10] HANFEI Y, LIPING X, CHAOQUAN L, et al. Cultivation comparative test of different varieties of polygonatum odoratum[J]. Hunan forestry science & technology, 2009,6:10-16.
- [11] 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.
- [12] 田启建,赵致. 黄精栽培技术研究进展[J]. 中国现代中药, 2007,9(8):32-33.

- [13] 孙骏威,赵进,周荣鑫. 不同植物生长调节剂对多花黄精组织培养的效果[J]. 贵州农业科学,2017,45(3):97-100.
- [14] 万学锋,陈菁瑛. 多花黄精组培快繁技术初探[J]. 中国现代中药,2013,15(10):850-852.
- [15] 王勇刚. '紫芙蓉'玫瑰组培快繁技术研究[D]. 泰安:山东农业大学,2012.
- [16] 李魁鹏,王亚珍,孙晓梅,等. 杂种落叶松嫩枝离体培养与芽增殖研究[J]. 林业科学研究,2013,26(S1):82-86.
- [17] 唐佳佳,尚旭岚,洪香香. 黑荆树愈伤组织诱导、增殖与分化[J]. 中南林业科技大学学报,2014,34(9):38-43.
- [18] 周新华,厉月桥,王丽云,等. 多花黄精根茎芽高效组培增殖和生根体系研究[J]. 经济林研究,2016,34(1):51-56.
- [19] 牟小翎,张利民,杨圣祥,等. 泰山野生黄精的组培快繁技术研究[J]. 山东农业科学,2010(1):12-13.
- [20] 陈贝贝,汪安乐,蒋明,等. 黄精叶钩吻组培中褐化控制的探讨[J]. 浙江农业科学,2012,1(4):490-492.
- [21] 李莺,罗明志,罗雯,等. 黄精的组织培养与植株再生[J]. 西北农业学报,2011,20(8):159-162.
- [22] 新华,厉月桥,王丽云,等. 多花黄精根茎芽高效组培增殖和生根体系研究[J]. 经济林研究,2016,34(1):51-56.
- [23] 刘芳源. 多花黄精种质资源利用及苗体皂昔成分提取[D]. 合肥:安徽大学,2017.
- [24] 万莹. 来安花红茎段组织培养研究[D]. 南京:南京林业大学,2014.
- [25] 饶宝蓉,谢东奇,陈泳和,等. 多花黄精实生苗组培快繁技术研究[J]. 江西农业学报,2018,30(2):46-49.
- [26] 张智慧,马聪吉,王丽,等. 滇黄精组织培养及快繁技术研究[J]. 时珍国医国药,2018,29(10):2525-2527.
- [27] 许丽萍,唐红燕,贾平,等. 滇黄精根茎芽组织培养技术研究[J]. 南方林业科学,2018,1(1):33-37.
- [28] 刘静. 白鹤芋花序体细胞胚胎发生及快繁技术研究[D]. 银川:宁夏大学,2015.
- [29] 何艳,朱玉球,肖波,等. 多花黄精组织培养体系的研究[J]. 中国中药杂志,2019,44(10):2032-2037.
- [30] 莫勇生,卢拓方,邱展鸿,等. 多花黄精组培苗快速繁殖体系建立研究[J]. 中国现代中药,2018,20(4):445-449.

[责任编辑:黄 敏]

(上接第 111 页)

- [18] MONCAUT N, RIGBY P W, CARVAJAL J J. Dial M(RF) for myogenesis[J]. Febs journal, 2013, 280(17):3980-3990.
- [19] NABESHIMA Y, HANAOKA K, HAYASAKA M, et al. Myogenin gene disruption results in perinatal lethality because of severe muscle defect[J]. Nature, 1993, 364(6437):532-535.
- [20] WHITE M M, AYLWIN M. Niflumic and flufenamic acids are potent reversible blockers of Ca²⁺-activated Cl⁻ channels in Xenopus oocytes[J]. Molecular pharmacology, 1990, 37(5):720-724.
- [21] SAYO M, SATOMI N, KATSUHIKO M, et al. Downregulation of Ca²⁺-activated Cl⁻ channel TMEM16A by the inhibition of histone deacetylase in TMEM16A-expressing cancer cells[J]. Journal of pharmacology & experimental therapeutics, 2014, 351(3):510-518.
- [22] OTTOLIA M, TORO L. Potentiation of large conductance KCa channels by niflumic, flufenamic, and mefenamic acids[J]. Biophysical journal, 1994, 67(6):2272-2279.
- [23] OH S J, HWANG S J, JUNG J, et al. MONNA, a potent and selective blocker for transmembrane protein with unknown function 16/anoctamin-1[J]. Molecular pharmacology, 2013, 84(5):726-735.
- [24] BOEDTKJER D M B, KIM S, JENSEN A B, et al. New selective inhibitors of calcium-activated chloride channels-T16A(inh)-A01, CaCC(inh)-A01 and MONNA—what do they inhibit? [J]. British journal of pharmacology, 2015, 172(16):4158-4172.
- [25] DAVIS A J, SHI J, PRITCHARD H A, et al. Potent vasorelaxant activity of the TMEM16A inhibitor T16A(inh)-A01[J]. British journal of pharmacol, 2013, 168(3):773-784.
- [26] ADRIAN B, ANKE B, HEIKE B, et al. Calcium-activated chloride channel ANO1 promotes breast cancer progression by activating EGFR and CAMK signaling[J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2013, 110(11):E1026-E1034.
- [27] SONG Y, GAO J, GUAN L, et al. Inhibition of ANO1/TMEM16A induces apoptosis in human prostate carcinoma cells by activating TNF- α signaling[J]. Cell death & disease, 2018, 9(6):703.
- [28] WEN L, MIN L, BAO GANG L, et al. Inhibition of Ca²⁺-activated Cl⁻ channel ANO1/TMEM16A expression suppresses tumor growth and invasiveness in human prostate carcinoma[J]. Cancer letters, 2012, 326(1):41-51.

[责任编辑:黄 敏]