



王海洋,龙飞,沈伟祥,等.滇黄精离体快繁体系建立及优化[J].黑龙江农业科学,2022(5):85-90.

滇黄精离体快繁体系建立及优化

王海洋^{1,2},龙飞²,沈伟祥^{1,2},董章宏^{1,2},王正德^{1,2},夏茂甜^{1,2},赵文植^{1,2},辛培尧^{1,2}

(1.西南林业大学 园林园艺学院/国家林业和草原局西南风景园林工程技术研究中心,云南昆明 650224;2.西南林业大学 林学院/西南地区生物多样性保育国家林业和草原局重点实验室,云南昆明 650224)

摘要:为促进滇黄精的工厂化生产,选取滇黄精(*Polygonatum kingianum* Coil. et Hemsl)当年生幼嫩根状茎作为外植体,研究适合滇黄精腋芽诱导、增殖、生根培养的外源生长调节剂的种类、浓度配比、培养基类型,并进行移栽试验。结果表明:滇黄精根状茎诱导分化的最适培养基配方为 $1/2MS+6-BA\ 2.0\ mg\cdot L^{-1}+2,4-D\ 0.2\ mg\cdot L^{-1}+蔗糖\ 30\ g\cdot L^{-1}+琼脂\ 5.5\ g\cdot L^{-1}$;滇黄精带芽茎段增殖最适培养基配方为 $MS+6-BA\ 2.0\ mg\cdot L^{-1}+NAA\ 0.3\ mg\cdot L^{-1}+蔗糖\ 30\ g\cdot L^{-1}+琼脂\ 5.5\ g\cdot L^{-1}$;滇黄精带芽茎段生根最适培养基配方为 $1/2MS+NAA\ 0.2\ mg\cdot L^{-1}+蔗糖\ 30\ g\cdot L^{-1}+琼脂\ 5.5\ g\cdot L^{-1}$;滇黄精组培苗生长最适基质配比是腐殖质土:红泥土:珍珠岩为 $1:1:1$,其成活率可达100%。

关键词:滇黄精;离体快繁;基质筛选

滇黄精(*Polygonatum kingianum* Coil. et Hemsl)是百合科(Liliaceae)黄精属(*Polygonatum*)的多年生草本植物,俗名节节高,根状茎近圆柱形或连珠状,结节为不规则菱状,直径约1~3 cm,茎高约1~3 m,茎顶端作攀援状。滇黄精

生命周期较长,一般在8~30 a^[1],主产于我国云南、贵州、四川等地,在越南、缅甸也有分布,主要分布范围集中于海拔1 200~2 200 m,年均降水量为800~1 800 mm的亚热带季风气候地区,如云南的普洱、文山以及怒江州等地区^[2]。

滇黄精作为传统的中药材广泛应用于临床医疗中,因其含有丰富的多聚糖^[3-4]、甾体皂苷^[3,5]、黄酮^[6-8]等活性物质和其他氨基酸、木质素、含氮化合物、强心苷以及人体所需的多种微量元素^[6],在功能食品、保健化妆品的开发和观赏方面也有应用。华岩等^[9]研究表明,黄精中含有的多糖

收稿日期:2022-01-15

基金项目:云南省科技人才与平台计划项目(202205AF150022);云南省科技厅科技计划重点研发项目(2018BB005)。

第一作者:王海洋(1995—),男,硕士研究生,从事林木遗传育种学习与工作。E-mail:458083617@qq.com。

通信作者:辛培尧(1975—),男,博士,教授,从事植物遗传育种与快繁研究。E-mail:xpytgyx@163.com。

Optimization of Extraction Process for Polyphenols of *Strobilanthes sarcorrhizus* C. Ling by Box-Behnken and Response Surface Methodology

ZHANG Jin-hua^{1,2}, ZHOU Dan², ZHANG Ying^{2,3}, ZHAO Qi², JIANG Cheng-xi²

(1. Dali Pharmaceutical Limited Company, Dali 671000, China; 2. College of Pharmaceutical Sciences, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China; 3. Jiuhua Mountain Polygonatum Institute, Chizhou 247100, China)

Abstract: In order to promote the development and utilization of *Strobilanthes sarcorrhizus* C. Ling, this study conducted a single factor study on ethanol concentration, solid-liquid ratio and temperature. Box-behnken response surface analysis was used to establish a model, and the extraction amount of polyphenols was used as the response value to determine the optimal conditions for the extraction of polyphenols from *Strobilanthes sarcorrhizus* C. Ling. The results showed that the optimal extraction conditions were determined as extraction temperature of 50 °C, solid-liquid ratio of 1:22 and ethanol concentration of 75%. The yield of polyphenols was 5.896 mg·g⁻¹ under these conditions. The predicted value was consistent with the actual value, which indicated that the process could improve the yield of polyphenols.

Keywords: *Strobilanthes sarcorrhizus* C. Ling; polyphenols; extraction; optimization

能抑制高强度运动引起的血液中肌酸激酶(Creatine Kinase,CK)含量升高,从而缓解运动疲劳。秦臻等^[10]研究发现黄精有降低活性氧(Reactive Oxygen Species,ROS)水平的功效,可以延缓传代培养内皮祖细胞(Endothelial Progenitor Cells,EPCs)的衰老过程,保护EPCs的功能。夏晓凯等^[11]研究发现黄精多糖能抑制脂质过氧化产物生成,从而间接延缓衰老。李友元等^[12]研究发现黄精多糖对实验小鼠血糖及血清糖化血红蛋白浓度有一定影响,这可能与其抑制糖基化损伤相关,从而促进胰岛素及C肽分泌,达到降血糖的效果。此外,黄精还具有改善记忆力,提高抗菌、抗炎、抗病毒、抗辐射以及抗肿瘤能力的作用,在保护心脑血管、舒张支气管、镇痛以及治疗男性不育症等方面均有一定的功效^[13-17]。

滇黄精的繁殖方式可分为有性繁殖和无性繁殖两种。有性繁殖受种子储存方式、解除休眠方式以及二次休眠等影响,成活率低。无性繁殖主要以根状茎为主,但对处理方式、生长环境要求较高,操作不当就会导致黄精的根状茎大面积污染腐烂,成活率较低。且无论有性还是无性繁殖,黄精出芽率都较低,出芽后的维护成本较高,最终造成黄精的繁殖受到较大影响,无法满足市场的需要^[18-20]。黄精快繁体系的研究主要集中在多花黄精和黄精^[21-24],滇黄精快繁研究鲜见报道。莫勇生等^[25]建立了多花黄精组培苗快繁体系,多花黄精无菌培养诱导的最佳培养基为MS+6-BA $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +GA₃ $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;继代增殖的最佳培养基为MS+6-BA $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;生根壮苗阶段的最佳培养基为1/2MS+IBA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。肖雅等^[26]关于黄精组培苗移栽技术研究发现,黄精组培苗根状茎若未生根,组培苗难以成活,组培苗成活率最高的基质配比是菌渣:珍珠岩为2:1。

本研究拟选取滇黄精的根状茎为外植体,MS培养基为基本培养基,分别加入不同种类和不同浓度的外源生长调节剂,筛选出长势较优的滇黄精不定芽诱导、增殖、生根培养方案,从而建立滇黄精的离体快繁体系,以期对滇黄精遗传改良、良种繁育以及滇黄精的工厂化生产提供理论依据及技术支持,在一定程度上解决滇黄精资源匮乏的现状,从而满足生产需要。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用种子材料由云南天泉生物科技股份有限公司提供,在西南林业大学温室大棚播种育苗,待生长稳定后,取生长良好且无病虫害的根状茎,备用。

1.2 方法

1.2.1 滇黄精组织培养无菌体系的建立 从西南林业大学温室大棚选取长势均一,且生长良好、无病虫害的滇黄精苗,去除叶和根,保留根状茎,流水冲洗去除表面泥土,用牙刷反复清洗,将根状茎表面可能产生污染的地方清洗干净,用手术刀片去除根状茎上纹路内的泥土,然后用加有洗衣粉的水进行清洗,再用流水冲洗30 min。将根状茎转到无菌操作台内,0.1%升汞消毒5~12 min(具体的消毒时间依据根状茎的大小来确定),消毒后的根状茎用无菌水清洗3~4次,即可接种。

1.2.2 滇黄精根状茎分化培养基的筛选 以1/2MS为基本培养基,外源生长调节剂添加2,4-D和6-BA,6-BA设置1.0和2.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2个梯度,2,4-D设置0.1,0.2和0.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 3个梯度,共计6个处理,每个处理5瓶,每瓶培养基放置2个长势相近的滇黄精根状茎。45 d后观察滇黄精根状茎的分化情况、统计芽的数目、计算分化系数(植物组培分化系数=瓶苗在一个周期内形成的有效苗数/接种苗数)。

1.2.3 滇黄精带芽茎段增殖培养基的筛选 以MS为基本培养基,外源生长调节剂添加NAA和6-BA,6-BA设置1.0和2.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2个梯度,NAA设置0.1,0.2和0.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 3个梯度,共计6个处理,每个处理5瓶,每瓶培养基放置4个长势相近的滇黄精带芽茎段(约2 cm)。45 d后观察滇黄精带芽茎段的增殖情况、统计芽的数目、计算增殖系数。

1.2.4 滇黄精带芽茎段生根培养基的筛选 以1/2MS为基本培养基,外源生长调节剂添加NAA和6-BA,6-BA设置1.0和2.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2个梯度,NAA设置0.1,0.2和0.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 3个梯度,共计6个处理,每个处理5瓶,每瓶培养基放置4个长势相近的滇黄精带芽茎段(约2 cm)。30 d后观察滇黄精带芽茎段的生根情况、统计生根数等相关数据。

1.2.5 培养条件 配制的所有培养基,加入蔗糖30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,琼脂5.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,培养基调节pH至5.8~

6.0,培养室内的培养条件为温度(25±1)℃,光照时间 11 h·d⁻¹,光照强度 1 500~2 000 lx。

1.2.6 炼苗与移栽 将已生根且生长良好的组培苗从培养室转到室内自然光下进行炼苗,天气晴朗,则 4 d 可以将组培苗取出(若天气阴霾则需要 7 d),轻轻洗净根部培养基,进行移栽。

移栽基质设置 4 个处理,分别为 I:全腐殖质土;Ⅱ:腐殖质土:红泥土:珍珠岩为 1:1:1;Ⅲ:红泥土:腐殖质土为 1:1;Ⅳ:全红泥土,每个处理 10 株组培苗。移栽当天,先用 0.100%~0.125% 浓度的多菌灵浸泡组培苗 5 min 后,再用生根粉溶液浸泡 5 min。移栽后做好田间温湿度管理,环境温度 25℃左右,喷雾保湿,覆盖遮阴率为 70%的遮阳网,后期根据生长情况再喷洒适当农药,30 d 之后统计成活率,观察滇黄精长势情况并记录数据。

1.2.7 数据分析 于 2019 年 1—3 月进行数据纪录,包括滇黄精根状茎分化、增殖、生根的相关数据,即分化个数、发芽数、生根数、生长状况等,相关数据核对无误后输入电脑,采用 Excel 2010 和 SPSS 22.0 对数据进行处理和分析。

2 结果与分析

2.1 6-BA 和 2,4-D 对滇黄精根状茎分化的影响

由表 1 可知,不同激素浓度配比下,滇黄精根状茎分化系数在处理间差异显著($P<0.05$);整体上 6-BA 2.0 mg·L⁻¹ 的培养基分化系数大于

6-BA 3.0 mg·L⁻¹ 的培养基,且生长状况相对较好。处理 1 的分化系数最小(3.60),显著低于其他处理。处理 2 和其他处理组合相比,分化系数最大(6.80),差异显著。通过生长状况可知,分化的不定芽较多、生长较好且叶绿枝粗(图 1A),由此可得出,处理 2 为滇黄精根状茎分化的最佳处理组合,激素浓度配比为 1/2MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+2,4-D 0.2 mg·L⁻¹。

2.2 6-BA 和 NAA 对滇黄精带芽茎段增殖的影响

根据不同激素浓度配比,对滇黄精带芽茎段增殖进行方差分析和多重比较可知,各处理组合的滇黄精带芽茎段增殖之间具有显著差异($P<0.05$)。由表 2 可知,整体上 6-BA 1.0 mg·L⁻¹ 处理的增殖系数小于 6-BA 2.0 mg·L⁻¹ 的处理,说明 6-BA 2.0 mg·L⁻¹ 处理更适合滇黄精带芽茎段的增殖。方差分析结果显示,处理 7 与处理 8 两者的增殖系数较小(2.53 和 3.17),无显著性差异;处理 10 的增殖系数居于中间水平(3.50),与处理 7、处理 8、处理 9、处理 11 均无显著差异;处理 9 与处理 11 之间增殖系数相近(4.82 和 4.57),二者无显著差异;处理 12 增殖系数最大(5.75),增殖个数最多(115 个),且与处理 7、处理 8 和处理 10 相比差异显著,植株整体生长状况良好(图 1B),因此,最适合滇黄精带芽茎段增殖的激素配方为 MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.3 mg·L⁻¹。

表 1 6-BA 和 2,4-D 对滇黄精块茎分化的影响

处理	6-BA/(mg·L ⁻¹)	2,4-D/(mg·L ⁻¹)	接种数/个	分化数/个	分化系数	生长状况
1	2.0	0.1	10	36	3.60±1.74 c	芽较少、茎粗、叶红绿、生长较好
2	2.0	0.2	10	68	6.80±1.09 a	芽多、茎粗、叶绿、生长较好
3	2.0	0.3	8	35	4.37±0.47 bc	芽多、茎粗壮、叶红绿、生长良好
4	3.0	0.1	10	57	5.70±1.25 ab	芽多、茎稍细、叶淡绿、生长较好
5	3.0	0.2	10	41	4.10±1.29 bc	芽多、茎粗壮、叶红绿、生长较好
6	3.0	0.3	10	41	4.10±1.24 bc	芽多、茎粗壮、叶翠绿、生长良好

注:不同小写字母表示不同处理间在 $P\leq 0.05$ 水平差异显著。下同。

表 2 6-BA 和 NAA 对滇黄精带芽茎段增殖培养的影响

处理	6-BA/(mg·L ⁻¹)	NAA/(mg·L ⁻¹)	接种数/个	增殖数/个	增殖系数	生长状况
7	1.0	0.1	20	47	2.53±1.27 c	芽较多、茎粗壮、叶绿、生长良好
8	1.0	0.2	20	74	3.17±1.16 c	芽多、茎粗壮、叶淡绿、生长良好
9	1.0	0.3	20	100	4.82±1.01 ab	芽多、茎粗壮、叶淡绿、生长一般
10	2.0	0.1	20	74	3.50±0.63 bc	芽多、茎粗壮、叶绿、生长良好
11	2.0	0.2	20	98	4.57±0.96 ab	芽多、茎粗、叶绿、生长良好
12	2.0	0.3	20	115	5.75±1.75 a	芽多、茎稍细、叶绿、生长稍弱

2.3 6-BA 和 NAA 对滇黄精带芽茎段生根的影响

对不同激素浓度配比下滇黄精带芽茎段生根数据的方差分析可知,处理之间存在极显著差异($P<0.01$)。如表 3 所示,当 6-BA 浓度为 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时滇黄精带芽茎段未能生根,但有益于滇黄精茎叶的生长(图 1C),不添加 6-BA 时接种的滇黄精根状茎全部生根。每瓶苗平均生根条数差异显著性分析结果显示,处理 13 与处理 15 生根总数较少(309 和 290),无根毛,两者平均生根条数无显著性差异;处理 14 的生根总数最多

(487),且根的长势良好,有根毛(图 1D),与其他两个处理相比差异显著,因此最适合滇黄精带芽茎段生根的激素配方为 $1/2\text{MS}+\text{NAA } 0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

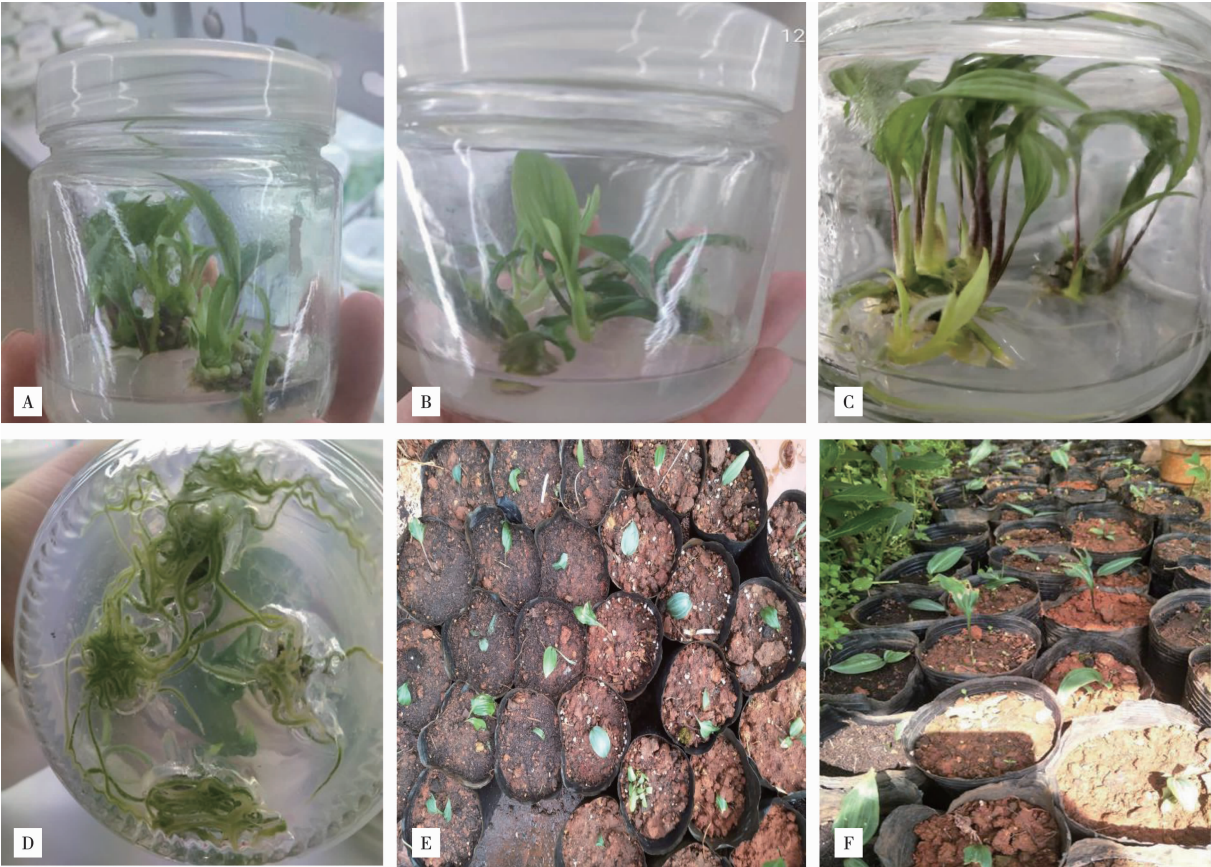
2.4 炼苗

对滇黄精组培生根苗进行炼苗、移栽,由表 4 可知,处理 I 成活率最低,为 92.31%;处理 II、III、IV 的成活率均为 100%,但处理 III 叶片颜色淡绿,处理 IV 无新芽,处理 II 整体生长良好且新芽数最多(图 1E、F),由此可知,滇黄精组培苗生长最佳的基质配比是腐殖质土:蛭石:珍珠岩为 1:1:1。

表 3 6-BA 和 NAA 对滇黄精带芽茎段生根的影响

处理	6-BA/(mg·L ⁻¹)	NAA/(mg·L ⁻¹)	接种数/个	生根总数/条	平均生根条数/瓶	生长情况
13	0	0.1	40	309	30.90 B	根细,长势一般,无根毛
14	0	0.2	40	487	48.70 A	根中等,长势好,有根毛
15	0	0.3	40	290	29.00 B	根粗、长势好,无根毛
16	1.0	0.1	40	0	0	未生根,茎叶更粗状
17	1.0	0.2	40	0	0	未生根,茎叶更粗状
18	1.0	0.3	40	0	0	未生根,茎叶更粗状

注:表中不同大写字母表示不同处理间在 $P\leq 0.01$ 水平上差异显著。



A.处理2根状茎分化; B.处理12带芽茎段增殖; C.带芽茎段未生根; D.带芽茎段生根; E.组培苗炼苗前; F.组培苗炼苗后。

图 1 滇黄精根状茎分化、增殖、生根及炼苗情况

表 4 不同移栽基质对滇黄精生长的影响			
处理	基质	成活率/%	生长情况
I	腐殖质土	92.31	叶绿,生长良好,新芽 2 个
II	腐殖质土:红泥土:珍珠岩=1:1:1	100.00	叶绿,生长良好,新芽 4 个
III	红泥土:腐殖质土=1:1	100.00	叶淡绿,生长一般,新芽 1 个
IV	红土	100.00	叶绿,生长一般,无新芽

3 讨论

许丽萍等^[23]的研究结果表明,滇黄精根茎芽的最佳增殖培养基为 MS 培养基加 6-BA (1.5 mg·L⁻¹)、NAA(0.5 mg·L⁻¹)、蔗糖(30 g·L⁻¹)以及琼脂粉(5.8 g·L⁻¹);根茎芽的最佳生根培养基为 1/2 MS 培养基加 IBA(1.0 mg·L⁻¹)、NAA (0.5 mg·L⁻¹)、CA(0.5 mg·L⁻¹)、蔗糖(30 g·L⁻¹)以及琼脂粉(5.8 g·L⁻¹),与本研究的结果差异较大,推测可能与选材有关,不同部位外植体对激素需求不一,导致两个试验结果出现差异。研究显示,植物不同器官生长发育对不同生长激素的需求不一样,这取决于植物自身和对应的生长环境^[27-28]。本研究得出,6-BA 2.0 mg·L⁻¹的培养基整体比 6-BA 3.0 mg·L⁻¹培养基的增殖系数更大,且生长状况相比而言较好,推测过量的 6-BA 引起了滇黄精根状茎生长不适,滇黄精对 6-BA 的需求相对较少。相反,植物激素含量少则不能满足植物生长发育的需要,在处理 12 中,适宜的激素配比,促使瓶内接种的滇黄精带芽茎段增殖过快,致使激素消耗较快,从而生长状况稍弱。当培养基中含有 6-BA 激素时滇黄精带芽茎段不能生根,推测 6-BA 抑制了滇黄精带芽茎段的生根。

试验中滇黄精根状茎或带芽茎段取材应选取 1~3 年生幼嫩的根状茎,从而保证增殖与分化能力^[29]。在根状茎的增殖培养中,出现了部分的外植体褐化和玻璃化的现象,褐化是由于多数植物中广泛含有酚类物质引起^[30],猜测滇黄精根状茎中可能也含有此类物质,所以为减少或避免外植体褐化,接种时需要快速且及时,避免与空气长时间接触。玻璃化现象推测是因为培养基中含有水分或者在接种时外植体与培养皿的玻璃壁接触;另一种原因可能是由于培养基中某类激素的含量过高,导致植物生长发育过程中营养供应不及时,大量水分被植物吸收,致使植物玻璃化。

炼苗是滇黄精组织培养体系研究的重要一环。肖雅等^[26]关于黄精组培苗移栽技术研究表明,黄精组培苗成活率最高的基质配比是菌渣:珍珠岩为2:1,与本研究结果存在较大差异。推测是因为滇黄精组培苗对不同基质土壤的适应力存在差异,导致滇黄精长势差异大,此次试验的组培苗在炼苗前生根数较多且根的质量较好,所以成活率较高,但部分滇黄精组培苗受到病虫害侵扰,相关的病虫害防治问题有待攻克。

4 结论

滇黄精根状茎分化时最适培养基配方为 1/2 MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+2,4-D 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 5.5 g·L⁻¹;带芽茎段作外植体诱导不定芽增殖时最适培养基配方为 MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.3 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 5.5 g·L⁻¹;带芽茎段作生根时最适培养基配方为 1/2MS+NAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 5.5 g·L⁻¹。用于滇黄精组培苗移栽的最佳基质配比是腐殖质土:红泥土:珍珠岩为1:1:1,成活率可达 100%。

参考文献:

[1] 黄璐琦,杨维泽,杨绍兵,等. 黄精生产加工适宜技术[M]. 北京:中国医药科技出版社,2018.

[2] 中国科学院中国植物志编辑委. 中国植物志(第 15 卷)[M]. 北京:科学出版社,1978.

[3] 顾健. 滇黄精多糖的制备与质量分析[D]. 兰州:兰州大学,2018.

[4] 陈兴荣,陈玲,马志敏. 滇黄精的药用价值与开发利用[J]. 医药导报,2013(4):261-263.

[5] 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,2015,8(15):2329-2338.

[6] 李小沛,张亚玉,赵立春,等. 黄精的化学成分和药理作用研究进展[J]. 植物学研究,2017,6(5):255-261.

[7] 康利平,张洁,余和水,等. 滇黄精化学成分的研究[C]//中国化学会. 第七届全国天然有机化学学术研讨会论文集. 2008:76-77.

[8] 孙隆儒,李铤. 黄精化学成分的研究(Ⅱ)[J]. 中草药,2001(7):586-588.

[9] 华岩,周碎平,梁金孟. 黄精多糖对大强度运动大鼠外周血肌酸激酶、尿素氮及部分免疫指标的影响[J]. 现代预防医学,2019,46(5):875-878.

[10] 秦臻,韦正新,辛青青,等. 黄精降低活性氧水平促进衰老内皮祖细胞功能的研究[J]. 中国药理学通报,2019,

- 35(1):123-127.
- [11] 夏晓凯,张庭廷,陈传平. 黄精多糖的体外抗氧化作用研究[J]. 湖南中医杂志,2006,22(4):90.
- [12] 李友元,邓洪波,张萍,等. 黄精多糖对糖尿病2模型小鼠糖代谢的影响[J]. 中国临床康复,2005,9(27):90-91.
- [13] 陈兴荣,王成军,李龙星,等. 滇黄精的化学成分及药理研究进展[J]. 时珍国医国药,2012,12(9):560-561.
- [14] 张娇,王元忠,杨维泽,等. 黄精属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志,2019,44(10):1989-2008.
- [15] 赵文莉,赵晔, TSENG Y. 黄精药理作用研究进展[J]. 中草药,2018,9(18):4439-4443.
- [16] WANG Z, ZHOU J, JU Y, et al. Effects of two saponins extracted from the *Polygonatum zanlanscianense* pamp on the human leukemia (HL-60) cells[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2001, 24(2):159.
- [17] YU H S, MA B P, KANG L P, et al. Saponins from the processed rhizomes of *Polygonatum kingianum* [J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2009, 57(9):1011.
- [18] 梁引库. 药用植物黄精研究现状[J]. 陕西农业科学, 2008(1):81-83.
- [19] 王苑,李锦鹏,吴冬艳,等. 滇黄精种子的繁育特性[J]. 江苏农业科学,2018,46(12):118-121.
- [20] 邴帅,郑晓文,刘政,等. 黄精繁殖及栽培技术的研究进展[J]. 中国医药导报,2018,10,15(29):35-38.
- [21] 国家药典委员会. 中国药典(第1部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:306.
- [22] 沈宝明,杨硕知,谭著明,等. 中药多花黄精组培快繁技术体系研究[J]. 湖南林业科技,2018,45(5):27-31.
- [23] 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,2018,46(1):33-37.
- [24] 姜程曦,张铁军,陈常青,等. 黄精的研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. 中草药,2017,48(1):1-16.
- [25] 莫勇生,卢拓方. 多花黄精组培苗快速繁殖体系建立研究[J]. 中国现代中药,2018,4(20):445-449.
- [26] 肖雅,雷艳,麻琼方,等. 黄精组培苗移栽技术研究[J]. 现代农业科技,2018(2):57-59.
- [27] 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.
- [28] MIRALLES J, MARTÍNEZ-SÁNCHEZ J J, FRANCO J A, et al. *Rhamnus alaternus*, growth under four simulated shade environments: Morphological, anatomical and physiological responses[J]. Scientia Horticulturae, 2011, 127(4):562-570.
- [29] 农艳丰,李健,吴永振. 滇黄精不同外植体无菌体系的建立[J]. 安徽农学通报,2018,24(22):21-23.
- [30] 高洁,张萍,薛祺祺,等. 酚类物质及其对木本植物组织培养褐变影响的研究进展[J]. 园艺学报,2019,46(9):1645-1654.

Establishment and Optimization of *in vitro* Rapid Propagation System of *Polygonatum kingianum*

WANG Hai-yang^{1,2}, LONG Fei², SHEN Wei-xiang^{1,2}, DONG Zhang-hong^{1,2}, WANG Zheng-de^{1,2}, XIA Mao-tian^{1,2}, ZHAO Wen-zhi^{1,2}, XIN Pei-yao^{1,2}

(1. College of Landscape and Horticulture, Southwest Forestry University/Southwest Research Center for Landscape Architecture Engineering, State Forestry and Grassland Administration, Kunming 650224, China; 2. College of Forestry, Southwest Forestry University/Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Biodiversity Conservation in Southwest China, Kunming 650224, China)

Abstract: In order to promote the industrial production of *Polygonatum kingianum*, using young rhizome of *Polygonatum kingianum* as explant, the variety concentration ratio and medium type of exogenous growth regulator suitable for axillary bud induction, multiplication and rooting of *P. kingianum* were studied, and transplanting experiments were performed. The results showed that the best medium for rhizome induction and differentiation of *P. kingianum* was 1/2MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+2,4-D 0.2 mg·L⁻¹+sucrose 30 g·L⁻¹+agar 5.5 g·L⁻¹; The propagation medium of stem segments with buds of *P. kingianum* was formulated as MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.3 mg·L⁻¹+sucrose 30 g·L⁻¹+agar 5.5 g·L⁻¹; The best rooting medium formulation was 1/2MS+NAA 0.2 mg·L⁻¹+sucrose 30 g·L⁻¹+agar 5.5 g·L⁻¹; The optimum substrate ratio for the growth of *P. kingianum* plantlets was humus soil:red sandstone soil:perlite=1:1:1, graftings had 100% survival rate.

Keywords: *Polygonatum kingianum*; rapid propagation *in vitro*; matrix optimization