

## 佛手山药组织培养的研究

刘金英<sup>1</sup> 徐有明<sup>1</sup> 李双来<sup>2</sup> 郭春风<sup>1</sup> 郭治成<sup>3</sup>

(1. 华中农业大学园艺林学学院, 武汉 430070)

(2. 湖北省农科院, 武汉 430064)

(3. 武穴市农业局, 武穴 435400)

**摘 要** 以佛手山药块茎、叶片、茎段为外植体, 探讨了其组织培养技术。结果表明: 块茎培养以暗培养 MS + 6-BA1.0 mg · L<sup>-1</sup> + NAA0.1 mg · L<sup>-1</sup> 效果较好; 叶片诱导的适宜培养基为 MS + 6-BA0.5 ~ 1.0 mg · L<sup>-1</sup> + NAA2.0 mg · L<sup>-1</sup>, 暗培养; 茎段培养都是光培养, 无节茎段以 MS + 6-BA1.0 mg · L<sup>-1</sup> + NAA0.5 mg · L<sup>-1</sup> 较好; 带节茎段的初代培养则以 MS + 6-BA0.5 ~ 1.0 mg · L<sup>-1</sup> + NAA0.1 mg · L<sup>-1</sup> 效果较好, 继代增殖培养基为 MS + 6-BA0.5 mg · L<sup>-1</sup> + NAA0.1 mg · L<sup>-1</sup>, 生根培养基为 1/2MS + NAA0.5 mg · L<sup>-1</sup>。

**关键词** 佛手山药; 块茎; 叶片; 茎段; 组织培养

Tissue culture of *Dioscorea opposita* "foshou"LIU Jin-Ying<sup>1</sup> XU You-Ming<sup>1</sup> LI Shuang-Lai<sup>2</sup> GUO Chun-Feng<sup>1</sup> GUO Zhi-Cheng<sup>3</sup>

(1. Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

(2. Hubei Agricultural Institute, Wuhan 430064)

(3. Agricultural bureau of Wuxue City, Wuxue 435400)

**Abstract** Tissue culture of *Dioscorea opposita* "foshou" was studied with explants such as tubers, leaves, stem segments. The results showed that the media of MS + 6-BA1.0 mg · L<sup>-1</sup> + NAA0.1 mg · L<sup>-1</sup> was for tubers and the media of MS + 6-BA0.5 ~ 1.0 mg · L<sup>-1</sup> + NAA2.0 mg · L<sup>-1</sup> was for leaves in the dark condition. The tissue culture of stems was conducted in light condition. The optimum media was MS + 6-BA1.0 mg · L<sup>-1</sup> + NAA0.5 mg · L<sup>-1</sup> for the stem without the node. MS + 6-BA0.5 ~ 1.0 mg · L<sup>-1</sup> + NAA0.1 mg · L<sup>-1</sup> was suitable for primary culture of the stem with the node, the optimum propagating media was MS + 6-BA0.5 mg · L<sup>-1</sup> + NAA0.1 mg · L<sup>-1</sup>, roots were induced on the media of 1/2MS + NAA0.5 mg · L<sup>-1</sup>.

**Key words** *Dioscorea opposita* "foshou"; tubers; leaves; stem segments; tissue culture

山药又名薯蓣, 为薯蓣科薯蓣属一年生或多年生草质藤本, 其地下肉质根状茎和地上枝的叶腋着生的零余子皆为产品, 供人们食用或药用, 是我国地道的药材和传统出口商品, 其产品畅销东南亚和日本等国<sup>[1]</sup>。山药按形态分为长山药、扁山药、圆山药三个品种, 主产地为河南、山东、安徽、江苏、江

西、湖北、广东、福建、广西等 15 个省。佛手山药 (*Dioscorea opposita* "foshou") 属扁山药, 因其地下块茎肥大, 形如掌状, 故名佛手山药, 是我国鄂东独有的一种特色农业栽培品种。其特点是含有丰富的蛋白质、碳水化合物、多种维生素, 还含有纤维素, 以及尿囊素、胆碱等成分, 具有较高的营养价值

基金项目: 华中农业大学科技创新基金项目(049011)

第一作者简介: 刘金英(1978—), 女, 硕士, 主要从事细胞生物学研究。

收稿日期: 2005-08-17

与药用价值。该品种风味独特、口感好,深受人们喜爱;还具有健脾、补肺、固肾、除湿、益精补气的功效<sup>[2-6]</sup>,因此开发佛手山药的生产具有良好的前景。

目前,佛手山药在湖北省武穴市栽培已有二百多年历史,已成为该市农业支柱的特色产业。由于长期营养繁殖,其产量低、病害严重,并且存在着品质退化现象。同时,生产上采用块茎进行营养繁殖,其成本较高。植物组织培养技术不仅可以获得优良性状的植株,而且可以保持种的纯度、改善品质;同时,可以在较短的时间内获得大量的种苗、降低成本。就3个山药品种而言,长山药组织培养和快繁相对来说要容易得多,因此国内这方面已有较多报道<sup>[7-11]</sup>。尽管国内一些科研单位对佛手山药进行过深入研究,但因佛手山药很难培养和其它原因至今未取得任何进展。本课题组经过两年的努力,已在这方面取得突破。现就佛手山药组织培养研究进行报道,为该品种的快繁、品种改良和扩大生产提供理论依据与技术支持。

## 1 材料与方 法

佛手山药块茎材料由湖北省武穴市农业局提供。利用块茎繁殖植株后采摘叶片、茎段以及用佛手山药块茎为外植体,先用洗涤剂清洗和用自来水冲洗干净后,用70%酒精浸泡30 s,再用0.1%的升汞消毒。升汞的消毒时间根据外植体的不同而异,块茎由于生长在地下,其表面菌和内生菌较多,消毒时间加长到20 min;叶片和茎段根据幼嫩程度消毒5~10 min。外植体消毒后,用无菌水冲洗5次。其中,块茎切成0.5 cm×0.5 cm×0.2 cm的小方块,叶片切成0.5 cm×0.5 cm的方形,茎段无节部分剪成1 cm长,有节茎段切成只保留一个节,长度为1 cm左右;之后,用无菌滤纸将水分吸干后分别接种到培养基上。

实验主要用2种培养基:生根所用培养基为1/2MS,其它培养基均为MS,附加不同浓度的生长激素。块茎、叶片、茎段培养各设9个激素组合,块茎培养基激素水平为6-BA 0.2、0.5、1 mg·L<sup>-1</sup>, NAA 0.1、0.5、1 mg·L<sup>-1</sup>;叶片培养基激素水平为:6-BA 0.5、1.0、2.0 mg·L<sup>-1</sup>, NAA 0.02、0.2、2.0 mg·L<sup>-1</sup>;无节茎段培养基激素水平为:6-BA 0.5、1.0、2.0 mg·L<sup>-1</sup>, NAA 0.5、1.0、2.0 mg·L<sup>-1</sup>等。其他培养基激素组合见表4~6。

按上述方法培养,块茎、叶片和无节茎段能诱

导出愈伤组织,接种35 d统计愈伤组织诱导率;带节茎段能从叶腋处直接萌发出芽,25 d统计萌芽率。将有节茎段初代培养诱导分化出的侧芽,切取1.0 cm的茎段转接在初代培养中表现优秀的处理组合培养基上进行继代培养,25 d后统计芽诱导率和平均芽数,并转瓶,按节段一芽的微扦插模式进行。将初代培养或继代培养的组培苗剪下具有1~2片展叶的芽苗,接入生根培养基中进行生根培养,25 d后统计生根率。

块茎、叶片的诱导分别在有光和黑暗2个条件下培养,茎段诱导在有光条件下培养。光培养为日光灯光照,光照16 h·d<sup>-1</sup>,光强2 000 lx;暗培养在25℃的恒温箱中进行<sup>[7]</sup>。以上培养基中均加7 g·L<sup>-1</sup>琼脂条为固定剂,蔗糖30 g·L<sup>-1</sup>,pH值调至5.8~6.0,高温高压灭菌。培养温度25±2℃。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度激素组合对愈伤组织诱导的影响

观察发现,在激素配比适宜的MS培养基上,佛手山药块茎、叶片和无节茎段都有愈伤组织形成。块茎培养10 d左右,部分培养基上开始有白色霜状愈伤组织形成;但到20 d左右,由于褐化原因这些白色愈伤组织逐渐转化为褐色的水浸状,不能分化。接种35 d后(表1),光培养条件下7号(6-BA 1 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>)、8号(6-BA 1 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>)、9号(6-BA 1 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 1 mg·L<sup>-1</sup>)块茎培养基中均有愈伤组织形成,这3种培养基中添加的细胞分裂素浓度都为1.0 mg·L<sup>-1</sup>,说明在光培养条件下,细胞分裂素的浓度为1.0 mg·L<sup>-1</sup>可以诱导出愈伤组织。其中,当生长素的浓度为0.5 mg·L<sup>-1</sup>时诱导率最高,为18.2%。暗培养条件下,5号(6-BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>)、6号(6-BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 1 mg·L<sup>-1</sup>)、7号(6-BA 1 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>)、8号(6-BA 1 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>)培养基中有愈伤组织形成,当激素配比为6-BA 1.0 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>块茎愈伤组织的诱导率最高,为57.1%。

叶片愈伤组织诱导时间较长,接种15 d后才有愈伤组织形成,而且愈伤组织一开始就为褐色水浸状,到30 d左右极个别愈伤组织上分化出白色根,无其他器官形成。叶片接种35 d后统计表明(表2),光培养条件下,叶片愈伤组织的诱导率几乎全部为0,只有6号培养基(6-BA 1 mg·L<sup>-1</sup> +

NAA $2\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )上出现愈伤,其诱导率为5%;而暗培养条件下,激素配比 6-BA $0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA $2.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 6-BA $1.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA $2.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基诱导率最高,达到20%。

表1 光、暗培养条件下块茎愈伤组织诱导率(%)

Table 1 Induction ratio of callus of the tubers in the light or dark condition

培养基序号 No. of media	激素种类( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Hormone combination		接种块茎数 Number of inoculated tubers		出现愈伤的块茎数 Number of tubers with callus		愈伤诱导率(%) Induction ratio of callus	
	6-BA	NAA	光(Light)	暗(Dark)	光(Light)	暗(Dark)	光(Light)	暗(Dark)
1	0.2	0.1	20	20	0	0	0	0
2	0.2	0.5	14	14	0	0	0	0
3	0.2	1.0	20	20	0	0	0	0
4	0.5	0.1	20	16	0	0	0	0
5	0.5	0.5	20	20	0	2	0	10
6	0.5	1.0	14	14	0	2	0	14.3
7	1.0	0.1	20	21	2	12	10	57.1
8	1.0	0.5	22	20	4	5	18.2	25
9	1.0	1.0	20	20	1	0	5	0

注:接种35 d统计 Note: Statistics after inoculating thirty-five days

表2 光暗条件下叶片愈伤组织诱导率(%)

Table 2 Induction ratio of callus of the leaves in the light or dark condition

培养基序号 No. of media	激素种类( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Hormone combination		接种块茎数 Number of inoculated tubers		出现愈伤的块茎数 Number of tubers with callus		愈伤诱导率(%) Induction ratio of callus	
	6-BA	NAA	光(Light)	暗(Dark)	光(Light)	暗(Dark)	光(Light)	暗(Dark)
1	0.5	0.02	20	20	0	0	0	0
2	0.5	0.2	20	20	0	0	0	0
3	0.5	2.0	20	20	0	4	0	20
4	1.0	0.02	20	20	0	1	0	5
5	1.0	0.2	20	20	0	0	0	0
6	1.0	2.0	20	20	1	4	5	20
7	2.0	0.02	20	20	0	0	0	0
8	2.0	0.2	20	20	0	1	0	5
9	2.0	2.0	20	20	0	0	0	5

注:接种35 d统计 Note: Statistics after inoculating thirty-five days

无节茎段平放于培养基中,一周后茎段两端开始膨大,10 d左右在激素配比适宜的培养基上发现较幼嫩的无节茎段两端出现致密的绿色愈伤组织,而较老茎段的愈伤组织为褐色水浸状,这两种愈伤都不易分化。35 d后结果表明(表3),不同浓度激素组合的培养基对于无节茎段培养有明显影响。在4号培养基(6-BA $1.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA

$0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )上,无节茎段的愈伤组织的诱导率最高,达到42.5%,而1号(6-BA $0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA $0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、2号(6-BA $0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA $1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、6号(6-BA $1.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA $2\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、7号(6-BA $2\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA $0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )等培养基上没有愈伤产生,愈伤诱导率为0。

表 3 不同浓度激素对无节茎段愈伤组织的诱导率的影响

Table 3 Effect of different hormone concentration on induction ratio of callus of the stem without the node

培养基序号 No. of media	激素种类(mg · L <sup>-1</sup> ) Hormone combination		接种的无节茎段数 Number of inoculated stems without nodes				出现愈伤组织茎段数 Number of stems with callus				愈伤组织诱导率(%) Induction ratio of callus				平均诱导率 Average induction ratio
	6-BA	NAA	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	
1	0.5	0.5	4	4	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0.5	1.0	4	5	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0.5	2.0	4	4	4	4	1	0	0	0	25	0	0	0	6.25
4	1.0	0.5	5	4	4	5	1	0	4	2	20	0	100	20	42.5
5	1.0	1.0	5	5	4	4	1	1	0	0	20	20	0	0	10
6	1.0	2.0	5	4	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	2.0	0.5	4	4	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	2.0	1.0	5	5	4	4	2	3	0	0	40	60	0	0	25
9	2.0	2.0	5	4	5	4	1	0	0	0	20	0	0	0	5

注:接种 35 d 统计,表中 a、b、c、d 表明每种激素组合接种 4 瓶培养基的序号,平均表示 4 瓶的平均诱导率。

Note: Statistics after inoculating thirty-five days, a、b、c、d in the table indicates the sequence number of media which inoculated four bottles with each hormone combination, and indicates average induction ratio of four bottles

## 2.2 光照和黑暗条件对块茎和叶片愈伤组织诱导率的影响

实验表明,黑暗与光照条件下块茎和叶片愈伤组织的诱导率差别显著(表 1,2),黑暗条件下诱导率高于光照条件。同时发现黑暗条件下外植体褐化较轻,这是因为光能促进组织培养中酚的氧化<sup>[12]</sup>。因此采用暗培养方法诱导块茎和叶片的愈伤组织较宜,这与李明军(2000)<sup>[13]</sup>对长山药叶片愈伤组织的研究不同,他的研究表明光培养利于长山药叶片愈伤组织的诱导。

## 2.3 不同激素浓度的组合对带节茎段培养的影响

### 2.3.1 芽的诱导

接种时带节茎段直立插入不同浓度激素的初代培养基上,节基部紧贴培养基,基部以上露于培养基外。5 d 左右基部开始膨大,并在叶腋处萌出小芽;20 d 后,生长好的可达 5 cm,具有 4~5 个节,而差的仅萌发出一个芽点。激素配比为 6-BA1.0 mg · L<sup>-1</sup> + NAA0.1 mg · L<sup>-1</sup> 时,诱导率最高,达 90%。1、4 和 10 号培养基的诱导率也较高,都在 50% 以上,这几种培养基的 NAA 浓度都是 0.1 mg · L<sup>-1</sup> (表 4),表明 NAA 浓度为 0.1 mg · L<sup>-1</sup> 适合芽的诱导。在不附加任何外源激素的 MS 培养基上,叉蕊薯蓣带节茎段不出芽<sup>[14]</sup>,而佛手山药的萌芽率为 25%。从萌芽率和平均芽长两项指标综合来看,适合节段培养的初代培养基为

6-BA0.5 ~ 1.0 mg · L<sup>-1</sup> + NAA0.1 mg · L<sup>-1</sup>。初代培养中发现,以带节茎段为外植体,节部已经露出芽的节段萌芽率都不高,可能是由于消毒时没有控制好时间,因为幼嫩的腋芽极易在消毒时被杀伤,时间不好掌握,所以选取没有露出腋芽的节段培养效果更好。

### 2.3.2 继代增殖

将初代培养诱导分化的侧芽,分别转接到在初代培养中表现最好的两种培养基(4 和 7 号)上进行继代培养(表 5)。25 d 观察发现,继代培养最佳培养基是 6-BA0.5 mg · L<sup>-1</sup> + NAA0.1 mg · L<sup>-1</sup>,诱导率达 87%。随着继代次数的增加,嫩茎叶片变小,芽的数量增多,原因在于此过程中,试管嫩茎完成试管复幼,内源 IAA 含量增加,而 ABA 减少。

### 2.3.3 生根培养

植物激素对于不定根的形成起着决定性作用,人工合成生长素都能促进生根。一般赤霉素、细胞分裂素、乙烯通常不利于发根。本实验以 1/2MS 为基本培养基附加 NAA,进行生根培养,结果见表 6。从平均生根数和生根率两项指标综合来看,添加 0.5 mg · L<sup>-1</sup> NAA 最利于生根。实验发现如在培养基中加入活性炭有利于根的生成,这与新疆香梨生根培养中报道一致<sup>[15]</sup>。试验中发现粉末状活性炭浓度以 0.06% 较合适,如加入过多不利于根的生成,这主要是由于过量的活性炭会吸附营养物质。

表 4 不同浓度激素对萌芽率的影响

Table 4 Effect of different hormone concentration on the budding ratio

培养基 序号 No. of media	激素种类 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Hormone combination		接种的无节茎段数 Number of inoculated stems without nodes				出芽茎段数 Number of stems with the buds				萌芽率 (%) Budding ratio				平均萌 芽率	平均芽长 (cm)
	6-BA	NAA	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	Average of budding ratio	Average length of the buds
CK	0	0	10	10	10	10	3	2	2	3	30	20	20	30	25	2
1	0.2	0.1	10	10	10	10	5	4	5	6	50	40	50	60	50	3.5
2	0.2	0.5	10	10	10	10	1	3	2	2	10	30	20	20	22.5	2.5
3	0.2	1.0	10	10	10	10	4	5	2	3	40	50	20	30	35	2.5
4	0.5	0.1	10	10	10	10	9	8	7	9	90	80	70	90	82.5	3
5	0.5	0.5	10	10	10	10	5	4	7	3	50	40	70	30	47.5	1.5
6	0.5	1.0	10	10	10	10	4	3	6	2	40	30	60	20	37.5	1
7	1.0	0.1	10	10	10	10	10	9	7	10	100	90	70	100	90	2.5
8	1.0	0.5	10	10	10	10	4	3	5	3	40	30	50	30	37.5	0.7
9	1.0	1.0	10	10	10	10	5	7	3	2	50	70	30	20	42.5	1
10	2.0	0.1	10	10	10	10	6	5	4	5	60	50	40	50	50	1.5
11	2.0	0.5	10	10	10	10	3	7	4	3	30	70	40	30	42.5	1
12	2.0	1.0	10	10	10	10	1	4	0	3	10	40	0	30	20	0.7

注:接种 25 d 统计,表中 a、b、c、d 表示四次相同实验。

Note: Statistics after inoculating twenty-five days, a, b, c, d in the table indicates the four same experiment

表 5 不同处理对继代培养的影响

Table 5 Effect of different treatment on the continued culture

激素组合 Hormone combination	诱导率 (%) Induction ratio	平均芽数 Average number of the buds	芽平均高度 (cm) Average height of the buds	生长情况 Growth state
6-BA1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	83.3	1.9	3	生长一般,叶色青绿 General growth, light green leaves
6-BA0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	87	2.5	3.5	生长较好,叶色浓绿 Growing well, dark green leaves

表 6 不同 NAA 浓度对生根的影响

Table 6 Effect of different NAA concentration on rooting

激素种类 Hormone combination	NAA 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	NAA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	NAA 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	NAA 2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
平均根数 Average number of rooting	< 3	> 4	> 4	< 3
生根率 (%) Rooting rate	51	87.4	73	65

### 3 讨论与小结

研究过程中发现,佛手山药块茎、叶片、茎段组培均会发生严重的褐变现象。一般接种 1~2 周左

右,外植体插入培养基中的部位变褐变黑,叶片叶缘部位渗出褐化物,并逐渐扩散,最后导致整个外植体变黑死亡。原因可能在于佛手山药含有较多的酚类物质,取样过程中外植体细胞受伤,引起细

胞分泌多酚氧化酶氧化酚类物质成醌,扩散到培养基中,从而抑制其他酶活性,进而毒害整个外植体,这也许就是国内有关科研单位无法在佛手山药组培方面取得进展的重要原因。为了避免褐变物质毒害外植体,试验时在培养基中加入 AC、VC 和 PVP 等抗氧化剂和吸附剂进行筛选,发现只有 AC 能有效地抑制褐变,但 AC 对试管苗生长有较大的影响。经过探索,如果能够适时切除培养物的褐化部分,并且接种后 10~15 d 转 1 次新的培养基,褐化程度则可明显降低,而且对试管苗的生长影响不大,因此佛手山药组培最合适的防褐方法是要勤转接。外植体中,块茎的褐化程度较其他外植体严重,这是因为块茎切割面积大,被伤害的细胞分泌的多酚氧化物多。此外,外植体的老幼程度,季节等对褐化也有影响。幼嫩的外植体褐化轻,春季材料褐化轻。

以节段为外植体能达到较高的萌芽率,而其他外植体只有少部分形成愈伤,这说明节段有较强的分生能力,是最理想的外植体。而且,采用节段离体培养,直接萌发出芽,未经过愈伤组织阶段,有利于保持该品种遗传性状稳定。另外,还发现具有主脉的叶片在愈伤组织诱导方面比无主脉叶片诱导力强,充分说明分生组织的存在是组织培养的一个有利因素。

研究发现,低浓度的 NAA( $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )对于佛手山药的节段萌芽有较好的促进作用,说明佛手山药节段的内源生长素水平较高,高浓度的外源生长素水平会影响其生长。另外,佛手山药与长山药的组织培养条件及发生方式有很大差异,这除了基因型不同外,还可能与实验条件的变化有关。

试管苗生长和分化还表现出一定的季节生理现象,即秋冬季分化生长缓慢。这种生理休眠现象与仙客来<sup>[17]</sup>组织培养报道类似。这一方面说明佛手山药及其外植体具有较强的自然遗传特性,另一方面表明可能与冬季培养室温湿度控制有关。

佛手山药的组织培养除受外植体选择,继代次数,植物生长调节物质种类及浓度制约外,还受其

它许多物理因子等因素影响,将进一步观察研究。

## 参 考 文 献

1. 蔡建荣,曾军,张志勇,等. 怀山药茎段组织培养的研究[J]. 湖北农业科学,2000(1):61-62.
2. 丁羸,赵云岚. 山药、穿山龙[M]. 北京:中国医药出版社,2001.
3. 贡树铭. 药食同源的枸杞和山药[J]. 医古文知识,2003:16-17.
4. 王文林,彭海燕. 山药的食疗运用[J]. 药膳食疗研究,1999,1:30.
5. 印万芬. 大众保健食品——山药[J]. 植物杂志,1998,6:12.
6. 周小玲. 山药药用保健膳食[J]. 药膳食疗研究,1999,2:42.
7. 石岭. 山药节间部培养及其增殖的研究[J]. 内蒙古农牧学院学报,1991(6),12(2):65-69.
8. 江金兰,胡启灿,陈燕,等. 淮山药组培快繁技术初探[J]. 三明农业科技,2004,1:16.
9. 郭君丽,陈明霞,李明军,等. 光质和生长物质组合对怀山药零余子脱分化和再分化的影响[J]. 河南师范大学学报:自然科学版,2003,31(2):99-102.
10. 张志勇,刘文榕. 山药零余子组培快繁研究[J]. 广西农业科学,2002,5:244.
11. 蔡建荣,曾军. 怀山药茎段组织培养及增殖的研究[J]. 福建农业科技,2002,2:14-15.
12. 贝奇. 树木和果树生物技术[M]. 张培皋译. 北京:中国林业出版社,1991,179-362.
13. 李明军,薛建平. 不同因子对山药愈伤组织诱导的影响[J]. 广西植物,2000,20(2):156-160.
14. 张宗勤,撒文清. 叉蕊薯蓣的微繁殖及微型薯蓣的离体诱导[J]. 生物技术,1998,8(1):18.
15. 刘彤,赵新俊. 新疆香梨试管苗最佳生根培养基研究[J]. 果树学报,2004,21(2):124-127.
16. Bhat S R, K P S Chandel. A novel technique to overcome browning in tissue culture[J]. Plant Cell Report,1991,10:358-360.
17. Lihn, Yanf. In vitro culture and somatic embryo inducement of *Cyclamen persicum* [J]. Journal of Hanzhong Teachers college,2001,15(2):86(In Chinese).