

仲恺农业技术学院学报, 20(1): 24 ~ 28, 2007

Journal of Zhongkai University of Agriculture and Technology

文章编号: 1006 - 0774(2007)01 - 0024 - 05

淮山的组织培养与快速繁殖

丰 锋¹, 叶春海¹, 王耀辉¹, 李发钦²

(1. 广东海洋大学 农学院, 广东 湛江 524088; 2. 广东廉江市平坦农技站, 广东 廉江 524432)

摘要: 以淮山 (*Dioscorea fordii* Prain et Burkill) 茎段为材料, 以 MS 为基本培养基, 在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、光照强度 $24 \sim 30 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ 、光照时间 10 h/d 条件下对淮山的组织培养与快速繁殖技术进行了研究. 结果表明, 组合 MS + NAA 0.03 mg/L + KT 3.00 mg/L + Ad 5.00 mg/L + PVP 100 mg/L 对芽的诱导最好, 平均芽数达 3.544 5 个, 出芽率为 94.45%; 组合 MS + NAA 0.01 mg/L + KT 3.00 mg/L + Ad 7.50 mg/L + PVP 300 mg/L 对多芽体的增殖最好, 平均增殖 2.968 6 倍; 组合 MS + IBA 0.20 mg/L + PVP 300 mg/L 对生根最好, 平均根数达 15.545 2 条.

关键词: 淮山 (*Dioscorea fordii* Prain et Burkill.); 组织培养; 多芽体

中图分类号: Q943.1; S632.1

文献标识码: A

Tissue culture and plantlet regeneration *in vitro* of *Dioscorea fordii* Prain et Burkill

FENG Feng¹, YE Chun-hai¹, WANG Yao-hui¹, LI Fa-qing²

(1. College of Agriculture, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

2. Lianjiang Pingtan Extension Station of Agricultural Technologies, Lianjiang 524432, China)

Abstract: Using stems as materials, propagation *in vitro* of *Dioscorea fordii* Prain et Burkill was studied under the temperature of $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, illumination intensity of $24 \sim 30 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ and illumination time of 10 h/d, in the MS basic culture medium. Results showed that combination of MS + NAA 0.03 mg/L + KT 3.00 mg/L + Ad 5.00 mg/L + PVP 100 mg/L was the best for induction of the bud. The average bud amount was 3.544 5 and the budding rate was 94.45%. The combination of MS + NAA 0.01 mg/L + KT 3.00 mg/L + Ad 7.50 mg/L + PVP 300 mg/L was the best for multiple-buds production, average produced multiple-buds was 2.968 6. Combination of the MS + IBA 0.20 mg/L + PVP 300 mg/L was the best for rooting, and the average root number was 15.545 2.

Key words: *Dioscorea fordii* Prain et Burkill; tissue culture; multiple-buds

淮山 (*Dioscorea fordii* Prain et Burkill.) 又名薯蓣, 俗称“广山药”、“怀山药”、“淮山药”、简称“淮山”, 为薯蓣科 (Dioscoreaceae) 薯蓣属 (*Dioscorea*) 的攀缘性草本植物^[1], 在我国已有 2 500 年以上的栽培历史, 是一种药食兼用的高产、高效经济作物^[2]. 淮山以块茎和珠芽 (中药称为零余子, 俗称山药蛋) 入药, 块茎含皂甙、甘露聚糖、胆碱、多巴胺、山药素 I、精氨酸、蛋白质、碘质等成分, 性平, 味甘, 具有健脾止泻, 补肺益肾等功能. 块茎同时含有丰富的淀粉、糖、纤维素等碳水化合物, 除药用外还是味美可口的食物^[3-4]. 淮山与怀地黄、怀牛膝、怀菊花合称“四大怀药”, 驰名中外, 其产品畅销国内外, 尤其是东南亚一带^[4-5]. 但由于长期营养体繁殖, 造成其品质退化, 产量降低, 某些优良品种已被药农放弃种植, 几乎处于濒临绝种的境地^[6].

淮山的组织培养在国内外已有报道^[6-11], 但未见投入生产. 作者以茎段为材料, 对淮山进行良种繁育、提纯复壮技术研究, 希望能够为保存和恢复淮山优质种性提供一种新思路, 并为其产业化生产提供参考.

收稿日期: 2006 - 12 - 08

基金项目: 广东省科技厅农业攻关项目 (2006B202010022), 广东省农业厅农业科技项目 (B05083) 资助.

作者简介: 丰 锋 (1969 -), 男, 贵州纳雍人, 副教授.

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为广东省廉江市平坦镇大田种植的淮山幼嫩茎段。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌材料获得 选取茎粗 2 mm 以上的健壮茎段,用自来水冲洗 20 min 后,切成长约 3 cm、中间带一片叶的茎段,去掉叶片,保留 2~3 mm 长的叶柄。用 5% 的苯扎溴铵稀释液浸泡 6~8 min,再用 0.2% HgCl_2 溶液灭菌 8 min,无菌水漂洗 4~5 次(每次 1~2 min)。接种到 MS + NAA 0.1 mg/L + 6-BA 1 mg/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 4.5 g/L 的培养基中诱导腋芽萌发。

1.2.2 腋芽诱导 将获得的无菌茎段接种到以 MS 为基本培养基、采用 $L_9(3^4)$ 正交设计的培养基组合中,因素组合分别为: NAA 0.01、0.02、0.03 mg/L、KT 2.0、2.5、3.0 mg/L、Ad (腺嘌呤) 2.5、5.0、7.5 mg/L、聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 100、200、300 mg/L。以 MS + NAA 0.1 mg/L + 6-BA 1.0 mg/L 为对照,每处理接种 5 瓶,每瓶接种 7~10 个茎段,重复 2 次。上述培养基均加入 30 g/L 蔗糖、4.5 g/L 琼脂, pH 5.8。培养温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,光照时间为 10 h/d,光强为 $24 \sim 30 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。3 d 观察一次,35 d 后,统计萌芽数,出芽茎段数,计算平均芽数、出芽率。

$$\text{平均芽数} = \text{总芽数} / \text{接种茎段数}$$

$$\text{出芽率} = (\text{出芽茎段数} / \text{接种茎段数}) \times 100\%$$

1.2.3 增殖培养 将初代培养形成的多芽体,接种于以 MS 为基本培养基。采用 $L_9(3^4)$ 正交设计的培养基组合中,因素组合、琼脂、蔗糖含量、培养条件及对照与上述相同,每个处理接种 5 瓶,每瓶接种 4~5 个多芽体,重复 2 次。称量接种时和培养 35 d 后多芽体的质量,计算增殖倍数作为增殖指标。

$$\text{多芽体增殖倍数} = (\text{接种 35 d 后的质量} - \text{接种时的质量}) / \text{接种时的质量}$$

1.2.4 生根培养 将高 3~4 cm 的不定芽接种于以 1/2 MS 为基本培养基,附加 PVP 300 mg/L,及不同含量 IBA (0、0.01、0.05、0.10、0.15、0.20 mg/L) 的固体培养基中,共 6 个处理,每个处理接种 10 瓶,每瓶接种 6~9 个不定芽,重复 2 次。琼脂、蔗糖含量及培养条件与上述相同。3 d 观察一次,30 d 后,统计根数及生根茎段数,计算平均根数和生根率。

$$\text{平均生根数} = \text{总根数} / \text{生根茎段数}$$

$$\text{生根率} = (\text{生根茎段数} / \text{接种茎段数}) \times 100\%$$

1.3 数据处理

试验数据采用 DPS 软件进行统计学处理,并进行 Duncans 多重比较。

2 结果与分析

2.1 3 种植物生长调节剂和 PVP 不同水平组合对腋芽诱导的影响

2.1.1 腋芽诱导率 3 种植物生长调节剂和 PVP 不同水平组合对腋芽诱导率的影响结果表明,在分析的 4 个因子中,除 Ad 不同水平间和区组间差异不显著外, NAA、KT、PVP 各水平间存在极显著差异(表 1)。腋芽诱导情况见图 1。

2.1.2 平均芽数 接种 7 d 后,所有处理的茎段都有芽萌生,35 d 后,对 3 种植物生长调节剂和 PVP 不同水平处理的平均芽数

结果进行极差分析和方差分析(表 2、3)表明, NAA 各水平的极差最大,是影响芽数的关键因素,其次是 KT 和 PVP。另外除 Ad 不同水平间和区组间差异不显著外,其余 3 种各水平间都存在极显著差异。Duncans 多重比较表明, NAA 0.03 与 0.02、0.01 间差异极显著, 0.02 与 0.01 间差异显著; KT 3.0 与 2.5 间差

表 1 3 种植物生长调节剂和 PVP 不同水平处理对淮山腋芽诱导率的方差分析表

Table 1 Analysis of variance of the axillary bud induction rate under different PVP and plant growth regulator treatments

变因 Factors	df	SS	MS	F	F0.05	F0.01
区组 Sections	1	0.000 0	0.000 0			
NAA	2	0.278 2	0.139 1	13.967 2**	4.46	8.65
KT	2	0.239 4	0.119 7	12.022 1**		
Ad	2	0.088 4	0.044 2	4.440 2		
PVP	2	0.216 5	0.108 3	10.871 2**		
误差 Erros	8	0.079 7	0.010 0			
总和 Total	17	0.902 2				

* 表示差异显著; ** 表示差异极显著。下表同。

* Means significant difference; ** Mean highly significant difference. The same as below.

异显著, 它们与 KT 2.0 间差异极显著; PVP 100 与 200 间差异不显著, 与 300 间差异极显著, PVP 200 与 300 间差异显著。

对各处理间的腋芽诱导率和平均芽数进行 Duncans 多重比较, 其中以组合 MS + NAA 0.03 mg/L + KT 3.0 mg/L + Ad 5.0 mg/L + PVP 100 mg/L 对芽的诱导最好, 平均芽数达 3.55 个, 极显著高于其他处理和对照; 低含量的 NAA (0.01 mg/L) 不利于不定芽的诱导, 腋芽诱导率 (81.35%) 及平均芽数 (1.84) 均较低 (表 4)。

2.2 3 种植物生长调节剂和 PVP 不同水平组合对淮山多芽体增殖的影响

将经初代培养诱导出的多芽体接种到增殖培养基中, 35 d 后对增重倍数进行极差分析表明, Ad 各因素水平的极差最大, 是影响多芽体增殖的主要因素, 其次是 PVP。Duncans 多重比较表明, Ad 7.5 与 5.0 间差异不显著, 与 2.5 间差异极显著, Ad 2.5 与 5.0 间差异显著; PVP 300 与 200 间差异不显著, 与 100 间差异极显著, PVP 200 与 100 间差异显著 (表 5)。方差分析表明, 3 种激素和 PVP 不同水平处理, 只有 Ad 和 PVP 不同水平间差异存在显著性。NAA、KT 各水平间以及区组间差异都不显著 (表 6)。腋芽增殖情况见图 2、图 3。

表 4 3 种植物生长调节剂和 PVP 不同水平处理对淮山腋芽诱导和出芽率的差异检验结果

Table 4 Variance test of axillary buds induction and budding under different PGRs and PVP treatments

因素组合 Factor combinations/(mg/L)				腋芽诱导 Axillary bud induction			
NAA	KT	Ad	PVP	平均芽数 Average buds	秩序 Order	诱导率 Percentage of induction/%	秩序 Order
0.03	3.0	5.0	100	3.544 5A	1	94.45AB	5
0.03	2.5	2.5	300	2.612 5BC	3	100.00A	1
0.02	3.0	2.5	200	2.519 0BC	4	81.10BC	8
0.03	2.0	7.5	200	2.372 5BCD	5	80.90BC	9
0.02	2.5	7.5	100	2.287 5BCDE	6	100.00A	1
0.01	2.5	5.0	200	2.064 0CDE	7	87.65ABC	6
0.01	3.0	7.5	300	1.750 0DE	8	68.75C	10
0.01	2.0	2.5	100	1.678 1DE	9	87.65ABC	6
0.02	2.0	5.0	300	1.567 5E	10	100.00A	1
CK				2.878 0B	2	96.35AB	4

表 5 3 种植物生长调节剂和 PVP 不同水平处理对淮山多芽体增殖的极差分析及差异检验结果

Table 5 Range analysis and variance test of the multiplication of buds under different PGRs and PVP treatments

因素水平	增重倍数 Weight improvement			
Level of factor	NAA	KT	Ad	PVP
T1	2.380 0a	2.433 3a	2.165 0Aa	2.153 3Aa
T2	2.493 3a	2.408 3a	2.525 0ABb	2.588 3ABb
T3	2.558 3a	2.590 0a	2.741 7Bb	2.690 0Bb
极差 Range	0.178 3	0.181 7	0.576 7	0.536 7

表 2 3 种植物生长调节剂和 PVP 不同水平下平均芽数极差分析及差异检验结果

Table 2 Range analysis and variation test of axillary bud induction percentage under 3 plant growth regulators (PGRs) and different PVP contents

因素水平	平均芽数 Average buds			
Level of factor	NAA	KT	Ad	PVP
T1*	1.833 3Aa**	1.875 0Aa	2.271 7Aa	2.491 7Aa
T2	2.113 3Ab	2.310 0Bb	2.393 3Aa	2.320 0ABa
T3	2.845 0Bc	2.606 7Bc	2.126 7Aa	1.980 0Bb
极差 Range	1.011 7	0.731 7	0.266 7	0.511 7

* T1、T2、T3 分别为各因素逐步递增的 3 个水平, 下同。

** T1、T2 和 T3 represents three ascend levels of various factors. The same as below.

** 表中同一列不同大小字母者分别表示在 $\alpha=0.01$ 和 $\alpha=0.05$ 水平上差异显著, 下表同。

** The different capital and small letter in the same column indicated significantly difference at $\alpha=0.01$ or $\alpha=0.05$ level respectively, the same as below.

表 3 3 种激素和 PVP 不同水平处理平均芽数的方差分析表

Table 3 Analysis of variance of average bud number under different PVP and hormone treatments

变因 Factors	df	SS	MS	F	F0.05	F0.01
区组 Sections	1	0.0123	0.0123			
NAA	2	3.274 4	1.637 2	37.553 0**	4.46	8.65
KT	2	1.625 1	0.812 6	18.638 2**		
Ad	2	0.213 9	0.106 9	2.452 9		
PVP	2	0.813 7	0.406 9	9.332 5**		
误差 Erros	8	0.348 8	0.043 6			
总和 Total	17	6.288 2				

对各处理组合间进行 Duncans 多重比较表明, 组合 MS + NAA 0.01 mg/L + KT 3.0 mg/L + Ad 7.5 mg/L + PVP 300 mg/L 对多芽体的增殖较好, 平均增殖达 2.97 倍, 但与对照 (平均增殖 2.87 倍) 的差异不显著. 组合 MS + NAA 0.01 mg/L + KT 2.0 mg/L + Ad 2.5 mg/L + PVP 100 mg/L 对多芽体的增殖效果最差, 平均增殖为 1.70 倍 (表 7).

2.3 IBA 对生根的影响

接种 7 d 后各处理的材料均有根长出, 30 d 后生根率都达到 100%. 对平均根数进行方差分析, 表明处理间差异达极显著水平, 区组间差异不显著 (表 8). 生根情况见图 4、图 5.

对各处理进行 Duncans 多重比较分析表明, 在 IBA 处理范围内, 随 IBA 浓度的增加, 平均根数逐渐增加. 组合 MS + IBA 0.20 mg/L + PVP 300 mg/L 对生根最好, 平均根数达 15.55 条, 而在其它条件相同, 不添加 IBA 的情况下生根效果最差 (表 9).

2.4 假植移栽

生根苗通过强光炼苗 7~10 d 后, 洗净培养基, 移入 V(椰糠):V(沙)=1:1 的疏松透气基质中, 覆盖薄膜保湿, 每天浇水 2 次. 10 d 后, 新叶长出, 移去薄膜, 移栽成活率超过 95%. 移栽 30 d 后, 苗高 8~10 cm 左右, 移入大田种植. 假植移栽情况见图 6.

表 8 不同含量 IBA 对平均根数的方差分析表

Table 8 Analysis of variance of average root number under different concentrations of IBA

变异来源 Variance source	df	SS	MS	F	F0.05	F0.01
处理 Treatment	5	826.715 5	165.343 1	22.20**	2.45	3.51
区组 Section	8	58.115 7	7.264 5	0.98		
误差 Errors	40	297.884 8	7.447 1			
总和 Total	53	1182.716 0				

表 6 3 种植物生长调节剂和 PVP 不同水平处理对淮山多芽体增殖的方差分析表

Table 6 Analysis of variance of the multiplication of buds under different PGRs and PVP treatments

变因 Factors	df	SS	MS	F	F0.05	F0.01
区组 Sections	1	0.054 5	0.054 5			
NAA	2	0.097 7	0.048 9	0.727 7	4.46	8.65
KT	2	0.116 3	0.058 2	0.866 1		
Ad	2	1.018 2	0.509 1	7.580 0*		
PVP	2	0.975 1	0.487 6	7.259 6*		
误差 Errors	8	0.537 3	0.067 2			
总和 Total	17	2.799 2				

表 7 3 种植物生长调节剂和 PVP 不同水平处理对淮山多芽体增殖的差异检验结果

Table 7 Variance test of the multiplication of buds under different PGRs and PVP treatments

因素组合 Factor combinations				增重倍数 Weigh improvements	秩序 Order
NAA	KT	Ad	PVP		
0.01	3.00	7.50	300.00	2.968 6Aa	1
0.03	2.00	7.50	200.00	2.886 0Aa	2
0.02	2.00	5.00	300.00	2.709 9Aa	4
0.01	2.50	5.00	200.00	2.472 5ABa	5
0.02	3.00	2.50	200.00	2.404 0ABa	6
0.03	3.00	5.00	100.00	2.393 4ABa	7
0.03	2.50	2.50	300.00	2.389 3ABa	8
0.02	2.50	7.50	100.00	2.365 6ABa	9
0.01	2.00	2.50	100.00	1.704 0Bb	10
CK				2.836 1Aa	3

表 9 不同浓度 IBA 对平均根数的差异检验结果

Table 9 Variance test of the effect of concentrations of IBA on the average root number

IBA/(mg/L)	总和 Total	平均根数 Average root number	秩序 Order
0.20	139.907 1	15.545 2Aa	1
0.15	125.846 4	13.982 9Aab	2
0.10	112.197 2	12.466 4Ab	3
0.05	63.607 1	7.067 5Bc	4
0.01	61.844 4	6.871 6Bc	5
0.00	48.683 4	5.409 3Bc	6

3 结论与讨论

本试验利用 $L_9(3^4)$ 正交试验方法研究不同因素水平在淮山离体快繁中的作用, 寻找较优组合配方. 在诱导腋芽时 NAA、KT 起主要作用, 在一定范围内, 腋芽数与 NAA 和 KT 的含量成正相关. 组合 MS + NAA 0.03 mg/L + KT 3.00 mg/L + Ad 5.00 mg/L + PVP 100 mg/L 对芽的诱导较好, 平均芽数达 3.544 5 个, 出芽率为 94.45%; 多芽体的增殖主要是受 KT、Ad 和 PVP 不同水平组合的影响, 3 种植物生长调节剂较



图 1 淮山初代培养(腋芽诱导)

Photo 1 Culture establishment of

Dioscorea fordii using axillary bud as explant

图 2 增殖培养(示多芽体)

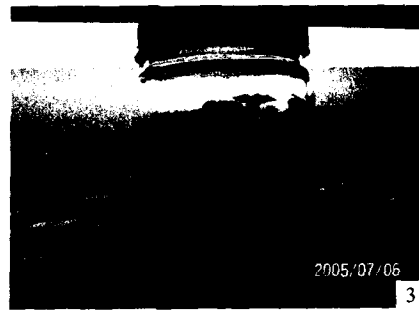
Photo 2 Enrichment culture
(showing multiple shoots)

图 3 增殖培养

Photo 3 Enrichment culture

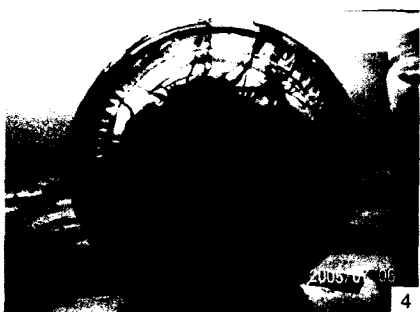


图 4 生根培养(示根系)

Photo 4 Root culture (showing root)



图 5 生根培养

Photo 5 Root culture

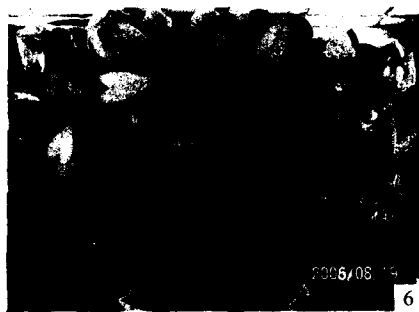


图 6 假植移栽

Photo 6 Transplantation

高水平的组合对增殖较为有利。组合 MS + NAA 0.01 mg/L + KT 3.00 mg/L + Ad 7.50 mg/L + PVP 300 mg/L 对多芽体的增殖较好,重量平均增加 2.968 6 倍。在生根方面,组合 MS + IBA 0.20 mg/L + PVP 300 mg/L 对生根较好,平均根数达 15.545 2 条。

在淮山茎段诱导多芽体时,有学者^[4,12]采用的植物生长调节剂组合主要是 NAA 和 6-BA,且 NAA 的含量比较高(0.1~1 mg/L)形成多芽体的芽数为 3~5 个,而本试验用的是 NAA 和 KT 组合,NAA 的含量较低(0.01~0.03 mg/L),形成多芽体的芽数为 3~4 个,与前人的结果相差不大。丰锋等^[13-14]在芦荟和猪笼草的组织培养过程中添加了一定含量的 Ad,取得了较好的效果。而本试验发现 Ad 在多芽体的增殖时有显著作用,但对腋芽诱导作用不大。

试验中发现,多芽体褐变比较严重,而利用 PVP 作为吸附剂来减轻褐变,效果跟于倩等^[15]利用活性炭的效果相差不大,对褐变有一定的减轻作用,但不能逆转或完全控制。

同时还发现,在茎段诱导多芽体时,多芽体的芽数随 NAA(0.01~0.03)含量增加而增加,而在多芽体增殖时,与 NAA 的含量关系不大,生长素在植物体内的合成部位主要是叶原基、嫩叶和发育中的种子^[16],所以可能在多芽体增殖时,多芽体本身产生的生长素较多,从而使添加的植物生长调节剂起不了太大的作用所致。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志(16卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 54.
- [2] 韦本辉, 唐荣华, 韦威泰, 等. 广西淮山生产现状及发展对策[J]. 广西农业科学, 2003(1): 7-12.
- [3] 刘合刚. 药用植物优质高效栽培技术[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 362-364.
- [4] 江苏新医学院. 中药大词典(上册)[M]. 上海: 上海科技出版社, 1977: 167.
- [5] 聂桂华, 周可范, 董秀华, 等. 山药的研究概况[J]. 中草药, 1993, 24(3): 158-160.
- [6] 李明军, 李金亭, 朱命炜, 等. 怀山药的离体繁殖[J]. 中草药, 1999, 30(4): 296-298.

(下转第 32 页)

程度与肥料的包膜材料有较大关系, 因此在生产包膜控释肥料时, 要结合生产实际来充分考虑包膜材料的选取。

参考文献:

- [1] MARTIN E T. Controlled - Release and Stabilized Fertilizers in Agriculture[M]. Paris: Published by International Fertilizer Industry Association, 1997: 11 - 12.
- [2] 杜建军, 王新爱, 廖宗文, 等. 不同浸提条件对包膜控/缓释肥水中溶出率的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(1): 71 - 78.
- [3] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 268 - 270.
- [4] 徐和昌, 黄沛成, 武冠英. 包膜肥料释放养分速度的测定[J]. 北京化工学院学报: 自然科学版, 1994, 21(3): 33 - 48.
- [5] 山添文雄, 越野正义, 藤井国博, 等. 肥料分析方法详解(修订版)[M]. 韩辰极, 付玉振, 陈国绥, 等译. 北京: 化学工业出版社, 1983: 483 - 486.
- [6] 陈剑慧, 曹一平, 许涵, 等. 有机高聚物包膜控释肥氮释放特性的测定与农业评价[J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(1): 44 - 47.
- [7] HAUCK R D. Slow release and bio - inhibitor - amended nitrogen fertilizers[M]//ENGELSTAD O P. Fertilizer Technology and use. 3rd.ed. Madison: ASA, 1985: 507 - 533.
- [8] 陈剑秋, 张民, 杨超越. 包膜控释肥养分释放特性的研究[J]. 化肥设计, 2006, 44(2): 56 - 58.

【责任编辑 冯元璋】

(上接第 28 页)

- [7] 李明军. 怀山药茎段愈伤组织的诱导与多芽体的形成[J]. 华北农学报, 2000, 15(2): 85 - 86.
- [8] 李明军, 杨建伟, 张嘉宝. 怀山药的茎段培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(4): 275 - 276.
- [9] 汪国莲, 陈明, 孙玉东, 等. 淮山药的茎尖培养与快速繁殖[J]. 江苏农业科学, 2003(3): 77 - 78.
- [10] KOHMURA H, ARAKI H, IMOTO M. Micropropagation of Yamatoimo'chinese yam (*Dioscorea opposita*) from immature leaves[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1995, 40(3): 271 - 276.
- [11] HAJIMEA Araki, LING Shi, TOSHIRO Yakuwa. Effects of auxin, cytokinin and nitrogen concentration on morphogenesis of tissue cultured shoot apex of Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb)[J]. J Japan Soc Hort Sci, 1992, 60(4): 851 - 857.
- [12] 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, 2002(1): 61 - 62.
- [13] 丰锋, 李洪波, 吕庆芳, 等. 芦荟的组织培养[J]. 西南农业大学学报, 2000, 22(2): 157 - 159.
- [14] 丰锋, 李洪波, 谢建英. 猪笼草的组织培养[J]. 西南农业大学学报, 2002, 24(3): 268 - 270.
- [15] 于倩, 李明军. 怀山药微型块茎愈伤组织的诱导形成及高频率再生[J]. 生态学报, 2004, 24(5): 1022 - 1026.
- [16] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 第 4 版, 北京: 高等教育出版社, 2001: 172.

【责任编辑 徐 妍】