



铁棍山药组织培养快繁及试管珠芽 离体再生体系研究

韩晓勇, 闫瑞霞, 殷剑美*, 张培通, 郭文琦, 李春宏

(江苏省农业科学院经济作物研究所, 南京 210014)

摘要:以河南温县铁棍山药带腋芽的茎段为外植体进行铁棍山药种苗快繁及珠芽离体再生体系的研究。结果表明:(1)75%乙醇浸泡 30 s 和 5% NaClO 消毒 15 min 配合使用灭菌效果最好;腋芽诱导最适培养基为 MS+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA, 培养 20 d 后诱导的多芽体倍数最高, 为 2.22, 高度最高为 3.3 cm;继代增殖最适培养基为 MS+1.5 mg·L⁻¹ 6-BA, 增殖倍数可达 4.1;生根培养最适培养基为 1/2MS+0.2 mg·L⁻¹ 6-BA+1.0 mg·L⁻¹ NAA+0.02% 活性炭, 平均生根天数为 12 d, 生根率达 100%, 根系最长为 1.04 cm。(2)用单芽带外植体的接种方式, 其珠芽诱导率及诱导的珠芽数显著高于只接单芽的接种方式, 珠芽诱导率达 88.9%, 平均珠芽数为 1.50, 大小为 0.38 cm×0.54 cm;蔗糖浓度为 1%~3% 有利于珠芽诱导, 珠芽整齐度好, 形状规则, 试管苗叶色浓绿;离体珠芽诱导的最适培养基为 MS+1.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA, 珠芽在 18~22 d 发芽, 30 d 后诱导率最高为 83.3%。该实验结果为铁棍山药试管苗的工厂化生产奠定了技术基础。

关键词:铁棍山药;组织培养;腋芽诱导;珠芽诱导;再生体系;快繁

中图分类号: Q813.1

文献标志码: A

Research on Tissue Culture for Rapid Propagation and *in vitro* Bulbils Regeneration System of *Dioscorea opposita* Thunb

HAN Xiaoyong, YAN Ruixia, YIN Jianmei*, ZHANG Peitong, GUO Wenqi, LI Chunhong

(Economic Plant Institute of Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: With the stem segments as explants, we studied the technique about the tissue culture for rapid propagation and *in vitro* bulbils regeneration system of *Dioscorea opposita* Thunb from Wen County, Henan Province. The results showed that: (1) The disinfection efficacy which combining 70% alcohol 30 s with 5% NaClO 15 min was the best. The optimal axillary buds induction medium was MS+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA with the maximum multiple buds ratio and buds height. After 20 d, the multiple buds ratio were 2.22 and buds height were 3.3 cm. The optimal subculture medium was MS+1.5 mg·L⁻¹ 6-BA and the propagation coefficient could reach 4.1. The optimal rooting medium was 1/2MS+0.2 mg·L⁻¹ 6-BA+1.0 mg·L⁻¹ NAA+0.02% activated carbon, with 12 d for the average rooting day, 100% rooting rate and 1.04 cm root length. (2) The cultural method of the explants with single bud, was significantly ($P<0.05$) higher than the cultural method of the single bud in the inductivity and average number of bulbils, which the inductivity, average number and size were 88.9%, 1.50 and 0.38 cm×0.54 cm, respectively. 1%~3% sucrose concentration was helpful to inducing the bulbils with had regular shape and the colour of the plantlets leaves were dark green. The optimal bulbils germination medium was MS+1.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA. The bulbils germinated at 18~22 d and inductivity reached 83.3% at 30 d.

收稿日期: 2013-07-04; 修改稿收到日期: 2013-09-03

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金[cx(13)2009]

作者简介: 韩晓勇(1983—), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事特色经济作物组织培养技术研究。E-mail: hanxy84@163.com

* 通信作者: 殷剑美, 博士, 副研究员, 主要从事特色经济作物研究。E-mail: yinjm77@yahoo.com.cn

These results had a great potential application value for test-tube plantlet factory production of *D. opposita* Thunb.

Key words: *Dioscorea opposita* Thunb.; tissue culture; the axillary buds induction; bulbils induction; regeneration system; rapid propagation

铁棍山药属于怀山药的一种,主要产区为河南温县。以其显著的滋阴补阳功能以及细长的块茎,深灰色厚实的表皮,形似棍棒且耐储存而获得“铁棍怀山药”、“怀参”的美称,畅销全国,远销国外,被视为山药中珍品^[1]。但铁棍山药长期进行营养繁殖,不仅用种量大、扩繁速度慢,还因连续种植病毒积累导致种性退化,使其种植面积逐年下降,严重影响了质量和产量的提高^[2]。而利用组织培养技术可以获得一批基因型、长相一致的无毒优良种苗,利于品种的更新复壮,但试管苗存在驯化要求严格、运输困难、成活率偏低等问题,离体试管珠芽的诱导及再生体系的建立可能是解决这一问题的一种好方法。因为试管珠芽对光、温度的变化抗性更强,易保存,运输方便,尤其是利用脱毒种苗获得的脱毒试管薯和试管珠芽,利于国际间种质交换^[3]。

近年来,关于铁棍山药组织培养的研究较多^[4-6],建立了铁棍山药的繁殖体系。但这些研究主要是围绕不同外植体的愈伤诱导和植株再生,而愈伤诱导过程中易发生变异,不利于保持品种的优良特性。本实验旨在建立一种从芽到多芽体、多芽体到试管苗、试管苗到珠芽、珠芽再到试管苗的繁殖方式。这种繁殖方式不仅可以提高繁殖系数和繁殖速度,而且利于保持品种的优良特性,保护具有地方特色的种质资源,提升离体试管苗的实用性。

1 材料和方法

1.1 材料处理

将河南温县产铁棍山药的块茎浅埋在细沙中,栽培在恒温(25℃)培养室中,长出幼苗时备用。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的灭菌 取铁棍山药的嫩茎,去掉叶片,用剪刀截成2~3 cm带腋芽的茎段,流动水冲洗10 min左右。在超净台上用75%酒精浸泡30 s,用5% NaClO分别灭菌10、15和20 min,无菌水漂洗5~7次,用解剖刀切去末端留下约1.5~2 cm左右的茎段接种在MS培养基中,5 d后观察杀菌效果。

1.2.2 腋芽诱导分化 外植体经灭菌后接种在添加不同质量浓度的6-BA和NAA的MS培养基(表1)中,接种20 d后统计芽数,换算成多芽体倍数、芽

的诱导率、芽高度及芽的长相长势等确定适宜芽分化的培养基。激素浓度设置6个处理,每个处理设3次重复,每次重复9个茎段。

1.2.3 继代增殖 诱导培养基上萌发出的不定芽长到带2片和2片以上叶时,切取单个不定芽接种在添加不同质量浓度的6-BA和NAA的MS培养基(表2)中,30 d后观察增殖倍数。激素浓度设置8个处理,每处理3次重复,每次重复8个茎段。

1.2.4 生根培养 将高2.0 cm以上、带有2片或2片以上叶的健壮小苗切下,转入生根培养基上进行培养。生根培养基添加质量浓度为0.02%活性炭作为对照。调查不同处理的平均生根天数、45 d的生根苗数、生根率、根系平均长度及根系形态。生根培养基设置6个处理(表3),每个处理设3次重复,每次重复8个小苗。

1.2.5 离体珠芽的诱导及相关因素研究 采用外植体带单芽直接生根和将外植体上的单芽切下来生根2种方式观察其对珠芽的诱导影响。每种接种方式设3次重复,每次重复9个小苗。45 d后调查珠芽的诱导率、数目及大小;将高2.0 cm以上、带有2片或2片以上叶的健壮小苗切下,接种于蔗糖的质量浓度水平分别为1%、3%、5%和8%的生根培养基上进行培养,培养45 d后观察各处理珠芽的诱导率、数目、大小以及试管苗的长相长势等。每个蔗糖浓度设3次重复,每次重复9个小苗。

1.2.6 离体珠芽诱导成苗 将诱导的试管珠芽接种在添加不同质量浓度的6-BA和NAA的MS培养基(表6)中,30 d后调查发芽情况。激素浓度设4个处理,每处理3次重复,每次重复6个珠芽。

1.2.7 培养基灭菌及培养条件 高压灭菌前调整培养基pH 5.8,保持121℃灭菌20 min。培养室温度为(25±2)℃,光照度2 500~3 000 lx,每天光照12 h。培养基中琼脂的质量分数为7 g·L⁻¹,除特殊标明外蔗糖的质量分数为30 g·L⁻¹。

2 结果与分析

2.1 不同灭菌时间对外植体灭菌效果的影响

不同灭菌时间对外植体灭菌效果的影响表明,外植体(图版I,A)经5% NaClO灭菌15 min效果

较好,灭菌成功率达 85.2%,死亡率仅为 3.7%。灭菌时间太长会增加死亡数,时间太短则会使污染数增加,影响灭菌成功率。

2.2 铁棍山药腋芽诱导分化的最佳激素浓度配比

由表 1 可以看出,MS+0.5 mg · L⁻¹ 6-BA+0.1 mg · L⁻¹ NAA、MS+0.5 mg · L⁻¹ 6-BA+0.0 mg · L⁻¹ NAA 和 MS+1.0 mg · L⁻¹ 6-BA+0.1 mg · L⁻¹ NAA 培养基诱导的不定芽数和芽的长势优于其他几个培养基,其中以 MS+0.5 mg · L⁻¹ 6-BA+0.1 mg · L⁻¹ NAA 培养基诱导的芽数最多(60 个),多芽体倍数最高(2.22),与其他处理差异显著($P<0.05$),芽高度最高,为 3.3 cm(图版 I,B)。随着 6-BA 与 NAA 配比浓度的提高,诱导的芽数、多芽体倍数及多芽体高度都呈下降趋势,并且叶片会逐渐发生卷曲,出现变态性状。各处理间腋芽诱导率无显著差异。

2.3 继代增殖

由表 2 可以看出,诱导丛生芽增殖最适宜培养基为 MS+1.5 mg · L⁻¹ 6-BA+0.0 mg · L⁻¹ NAA,丛生芽的长势正常,增殖倍数可达 4.1(图版 I,C),与其他处理差异显著($P<0.05$)。降低或升

高培养基中激素浓度均能降低丛生芽的数量。培养基中单独添加 6-BA 时,随着 6-BA 浓度的升高诱导丛生芽增殖倍数逐渐提高,但高浓度(2.0 mg · L⁻¹)容易造成叶片黄化(图版 I,D),两种激素组合,增值效果不理想。

2.4 生根培养

由表 3 可以看出,在培养基中添加 0.02%活性炭后,试管苗的平均生根天数和生根率显著($P<0.05$)高于未添加活性炭的试管苗,根系长度也优于未添加活性炭的试管苗,即活性炭利于铁棍山药根系的形成(图版 I,E)。添加活性炭后,试管苗在 12~18 d 左右基部开始出现白色根点,随后根系逐渐伸长,45 d 后平均根系长度在 0.76 cm 左右。未添加活性炭处理,试管苗在 1 个月后才出现白色根点且试管苗褐化严重。不同浓度 6-BA 和 NAA 组合对铁棍山药生根的影响较大,其中激素浓度为 6-BA:NAA=0.2:1,同时添加 0.02%活性炭生根效果最好,平均生根天数为 12 d,45 d 后生根率达 100%,形成完整的组培苗(图版 I,F),且根系长而粗,根系长度为 1.04 cm,与其他处理间差异显著。随着 NAA 浓度增大,根系会逐渐缩短变粗,生根率

表 1 不同激素浓度对芽诱导的影响

Table 1 Effect of axillary buds induction for different hormone concentrations

6-BA /(mg · L ⁻¹)	NAA /(mg · L ⁻¹)	接种数 Inoculation numbers	总芽数 Total bud numbers	多芽体倍数 Multiple buds ratio	诱导率 Inductivity /%	平均长度 Average buds length/cm	生长描述 Growth description
0.5	0.1	27	60	2.22a	100a	3.3a	生长正常 Normal growth
0.5	0.0	27	48	1.78cd	100a	3.0ab	生长正常 Normal growth
1.0	0.1	27	51	1.89bc	100a	2.8b	生长正常 Normal growth
1.0	0.0	27	54	2.00b	100a	1.6c	叶变态 Leaves abnormal
2.0	0.1	27	43	1.59e	96.3a	1.0d	叶变态 Leaves abnormal
2.0	0.0	27	45	1.67de	100a	1.0d	叶变态 Leaves abnormal

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平上的差异显著性;下同。
Note: The different normal letters within the same column mean the significance at the 0.05 level; The same as below.

表 2 不同激素浓度对芽增殖的影响

Table 2 Effect of buds propagation for different hormone concentrations

6-BA /(mg · L ⁻¹)	NAA /(mg · L ⁻¹)	继代数 Subculture numbers	不定芽总数 Total bud numbers	增殖系数 Propagation coefficient	生长描述 Growth description
0.5	0.1	24	48	2.0c	易生根 Rooting easily
0.5	0.0	24	51	2.1c	芽细长 Buds long and thin
1.0	0.1	24	42	1.8d	生长正常 Normal growth
1.0	0.0	24	30	3.8e	生长正常 Normal growth
1.5	0.1	24	59	2.5b	生长正常 Normal growth
1.5	0.0	24	98	4.1a	生长正常 Normal growth
2.0	0.1	24	42	1.8d	叶片易黄化 Leaves become yellow easily
2.0	0.0	24	24	1.0f	叶片易黄化 Leaves become yellow easily

也呈下降趋势。

2.5 铁棍山药离体试管珠芽的诱导

2.5.1 不同接种方式对试管珠芽诱导的影响 表 4 显示,单芽带外植体的接种方式珠芽的诱导率及平均珠芽数显著高于($P<0.05$)只接单芽的接种方式,珠芽也较大。单芽带外植体接种方式珠芽的诱导率为 88.9%,平均珠芽数为 1.50,大小为 0.38 cm×0.54 cm,珠芽的形状较规则(图版 I,G)。

2.5.2 不同蔗糖浓度对试管珠芽诱导的影响 表 5 显示,1%~3%蔗糖对珠芽的诱导率显著高于 5%~8%,且珠芽整齐度好,形状规则,叶色浓绿,试管苗长相长势正常。其中,蔗糖浓度为 1%时,珠芽的诱导率最高(74.1%),平均珠芽数最多(1.45),并与蔗糖浓度为 3%珠芽的诱导率差异不显著,但珠芽大小较蔗糖浓度为 3%小,为 0.33 cm×0.45 cm。随着蔗糖浓度的升高,珠芽的诱导率显著下降,但大小会增大,出现不规则形状,珠芽偏长,而且蔗糖浓度的提高易造成叶片和茎的黄化,最终导致死亡。

2.6 离体珠芽诱导成苗

由表 6 可知,在培养基 MS+1.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA 中试管珠芽的芽诱导率最高(83.3%),与其他处理差异显著。随着 6-BA 与 NAA 配比浓度的提高,试管珠芽的诱导率呈上升趋势。不同培养基芽诱导率不同,通常培养 18~22 d 会诱导出芽,发芽后继续培养,离体珠芽直接长出新的根系,30 d 后成山药试管苗(图版 I,H)。

表 6 不同激素浓度对离体珠芽诱导的影响

Table 6 Effects of buds induction of *in vitro* bulbils for different hormone concentrations

6-BA /(mg·L ⁻¹)	NAA /(mg·L ⁻¹)	接种数 Inoculation numbers	发芽数 Germination numbers	诱导率 Inductivity /%
0.5	0.2	18	6	33.3b
1.0	0.2	18	6	33.3b
1.5	0.2	18	15	83.3a
2.0	0.2	18	2	11.1c

表 3 不同激素浓度和活性炭对生根的影响

Table 3 Effect of roots growth for activated carbon and different hormone concentrations

6-BA /(mg·L ⁻¹)	NAA /(mg·L ⁻¹)	活性炭有无 Add activated carbon or no	接种数 Inoculation numbers	生根天数 Rooting day/d	生根苗数 Rooting numbers	生根率 Rooting rate/%	平均根长 Average root length/cm	表现 Performance
0.5	0.2	+	24	14	24	100a	0.80a	根系细长 Roots long and thin
1.0	0.2	+	24	12	24	100a	1.04a	根系长而粗 Roots long and thick
1.5	0.2	+	24	18	15	63b	0.44c	根系短粗 Roots thick and short
0.5	0.2	—	24	28	12	43c	0.35d	培养基褐化轻 Media little brown
1.0	0.2	—	24	35	9	38d	0.50bc	培养基褐化较轻 Media a little brown
1.5	0.2	—	24	30	9	38d	0.57b	培养基褐化重 Media serious brown

注: +表示添加活性炭;—表示不添加活性炭。

Note: + show add activated carbon;— show not add activated carbon.

表 4 不同培养方式对珠芽诱导的影响

Table 4 Effects of bulbil induction for different cultural methods

接种方式 Cultural method	接种数 Inoculation numbers	出现珠芽的单芽数 Single bud numbers with bulbils	诱导率 Inductivity /%	珠芽总数 Total bulbil numbers	平均珠芽数 Average number of bulbils	珠芽大小 Bulbil size /cm
单芽 Single bud	27	18	66.7b	20	1.11b	0.31×0.53
单芽带外植体 Explant with single bud	27	24	88.9a	36	1.50a	0.38×0.54

表 5 不同蔗糖浓度对珠芽诱导的影响

Table 5 Effects of bulbil induction for different sucrose concentrations

蔗糖浓度 Sucrose concentration /%	接种数 Inoculation numbers	出现珠芽的单芽数 Single bud numbers with bulbils	诱导率 Inductivity /%	珠芽总数 Total bulbil numbers	平均珠芽数 Average number of bulbils	珠芽大小 Bulbil size /cm	植株长相 Plant appearance
1	27	20	74.1a	29	1.45a	0.33×0.45	叶色浓绿 Leaves dark green
3	27	19	70.4a	27	1.42a	0.38×0.56	叶色浓绿 Leaves dark green
5	27	10	37.0b	10	1.00b	0.38×0.91	部分茎和叶片呈黄色,易死亡 A few stems and leaves were yellow,easy death
8	27	9	33.3b	12	1.33b	0.21×0.75	大部分茎和叶片呈黄色,易死亡 Most stems and leaves were yellow,easy death

3 讨 论

本研究初步筛选出适宜铁棍山药带腋芽的茎段芽分化的培养基为 $MS+0.5\sim 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA $+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA, 其中以 $MS+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA $+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA 的培养基诱导的多芽体倍数和芽的高度方面表现最好, 这与苗丽娟等^[5]的结果不同。苗丽娟等认为 $MS+1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA $+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA 是铁棍山药茎段快繁最理想的培养基, 且 6-BA 与 NAA 各种配比浓度组合下, 腋芽诱导率几乎未达到 100%。而本研究认为 6-BA 与 NAA 配比浓度不同, 腋芽诱导率无显著差异, 这可能与茎段灭菌方法的选择有关。HgCl₂ 虽然灭菌效果好于 NaClO, 但对外植体的伤害也大^[7]。随着 6-BA 与 NAA 配比浓度的提高, 叶片会逐渐发生卷曲, 出现变态性状, 这与苗丽娟等^[5]观察结果一致。当培养基为 $MS+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA $+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA 时, 腋芽诱导率为 96.3%, 可能是实验误差所致。继代增殖培养中, 单独添加 6-BA, 随着 6-BA 浓度的逐渐增加, 丛生苗增殖倍数逐渐提高, 但两种激素组合, 增殖效果不理想, 这可能与铁棍山药的增殖系数取决于培养基中 6-BA 的浓度有关。当 6-BA 浓度达到 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 易造成叶片黄化, 可能是高浓度的 6-BA 促进细胞衰老所致。

活性炭作为吸附物质一方面可以吸附外植体培养过程中产生的有害物质, 降低盐离子浓度减少褐化, 另一方面可以模拟根系生长的黑暗环境, 提高生根率^[8]。在培养基中添加 0.02% 活性炭后, 试管苗的平均生根天数和生根率显著高于未添加活性炭的试管苗, 根系长度也优于未添加活性炭的试管苗。彭琴等^[9]在瑞昌山药组培快繁研究和瞿宏杰等^[10]在花籽山药组织培养快繁研究中添加活性炭后都认为活性炭可以缩短山药试管苗的生根时间, 增加根数和根长, 促进组培苗上部叶片浓绿, 生长旺盛。至于活性炭的浓度, 通常认为, 使用浓度在 0.02%~1.0%, 尤以 0.1%~0.5% 最常用^[11]。在一定的浓度范围内, 提高 NAA 的浓度有利于山药试管苗生根。但 NAA 浓度不能太高, 当 NAA 浓度达到 $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 生根率反而下降。这说明高浓度的 NAA 对诱导生根会产生抑制作用^[12]。蔗糖浓度对试管珠芽诱导起着决定性的作用, 高浓度蔗糖有利

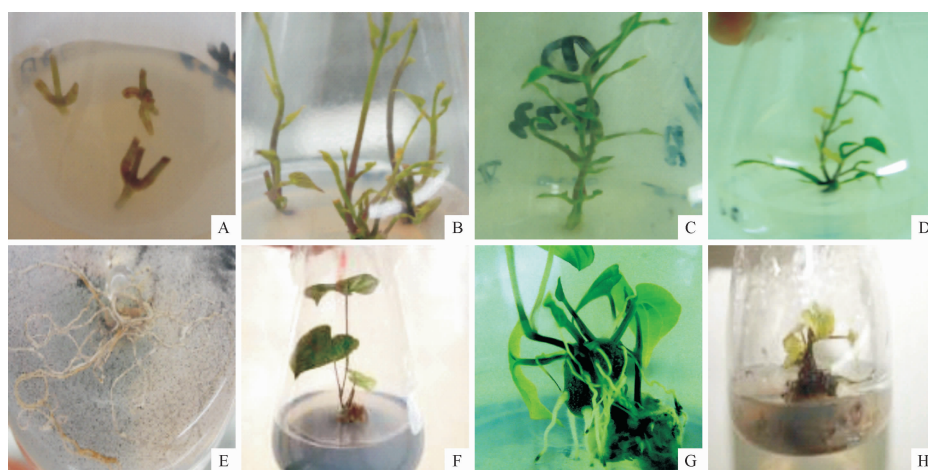
于试管珠芽的发生和形成, 低浓度蔗糖和液体培养基则有利于试管薯的诱导形成^[13-14]。李明军等^[15]曾对铁棍山药微型块茎的形成进行研究, 认为 6% 的蔗糖利于铁棍山药微型块茎的形成。本研究对铁棍山药试管珠芽诱导发现, 1%~3% 的蔗糖浓度有利于试管珠芽的形成和生长, 虽然 5%~8% 的蔗糖浓度下诱导的试管珠芽较大, 但是形状不规则, 珠芽的诱导率也显著下降, 并且易造成叶片和茎的黄化, 最终导致死亡。这一结果与前人研究结论不一致, 可能是由于高浓度蔗糖对试管珠芽诱导的正效应和对试管苗根系生长的负效应相互作用的结果, 低浓度的蔗糖利于根系的生长, 高浓度的蔗糖有利于珠芽诱导^[16]。不同研究对象对蔗糖浓度敏感度不同, 都有各自的适应范围, 超出范围就不再利于试管苗的生长。此外, 我们还发现单芽带外植体的接种方式珠芽的诱导率及诱导的平均珠芽数显著高于只接单芽的接种方式。两种接种方式显著差异的原因可能是单芽从外植体切取的时候, 不可避免会伤害到单芽, 腋芽已经适应了外植体的生长状态。但带有单芽的外植体通常只有一个, 因此, 在切取单芽的过程中, 应尽量小心, 避免伤害单芽。

段廷碧等^[17]曾利用禄丰县勤丰镇地方山药品种带芽茎段诱导出珠芽并发芽, 她认为 NAA 与 6-BA 在诱导珠芽的发芽中具有一定的互作效应, 当 6-BA 为 $0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, NAA 由 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加至 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 出芽率有所降低, 当 6-BA 为 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, NAA 由 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加至 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时出芽率显著增加。而本研究认为, NAA 与 6-BA 在离体试管珠芽的发芽过程中可能存在互作效应, 但主要取决于培养基中 6-BA 浓度。随着 6-BA 与 NAA 配比浓度的提高, 试管珠芽诱导率呈上升的趋势, 这与 6-BA 促进细胞的分裂和芽的形成^[18]的观点一致。导致这一差异的原因可能是由于不同的品种基因型不同, 其内源激素含量也不同, 需要添加的外源激素自然也不同。

总之, 山药组织培养和试管薯诱导是受多种因素共同调控的, 基因型、光照强度、光照时间、温度和激素等因素都相互影响试管苗的生长及试管薯的结薯情况。在植物组织培养中, 培养基中添加的生长调节剂的绝对浓度和配比及培养基的状态等研究上仍存在较大分歧。因此, 应结合各方面的参考资料去找寻最佳的诱导条件, 来获得最大的生产效益。

参考文献:

- [1] ZHOU Y(周 玥), GUO H(郭 华), ZHOU J(周 洁). Study on main nutrients in iron *Dioscorea opposita* Thunb[J]. *Food and Nutrition in China* (中国食物与营养), 2011, **17**(3): 69—71(in Chinese).
- [2] 潘衍庆. 中国热带作物栽培学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 325.
- [3] GUO J L(郭君丽), CHEN M X(陈明霞), *et al.* The effect of combination of light quality and plant growth substance on dedifferentiation and redifferentiation in the bulbil of *Dioscorea opposita* [J]. *Henan Normal University* (河南师范大学学报), 2003, **31**(2): 99—102(in Chinese).
- [4] LI M J(李明军), ZHANG J B(张嘉宝), ZHANG H B(张海波). Study on the callus induction and plantlet regeneration from the bulbil of *Dioscorea opposita* [J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2000, **20**(5): 772—777(in Chinese).
- [5] MIAO L J(苗娟娟), HAN S Y(韩锁义), ZHANG X Y(张新友), *et al.* The establishment of the system for detoxified Huai yam by stem tip culture and stem cut rapid propagation[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences* (河南农业科学), 2011, **40**(11): 123—125(in Chinese).
- [6] ZHANG X L(张晓丽), WANG Y P(王医鹏), LIU W(刘 雯), *et al.* Effect of plant growth regulators on rapid propagation of virus-free *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun[J]. *Journal of Henan Normal University* (河南师范大学学报), 2013, **41**(2): 124—126(in Chinese).
- [7] YANG Y(杨 宇), JIN Q(金 强), WANG X J(王新建). Application of two-step asepsis in plant tissue culture[J]. *Northern Horticulture* (北方园艺), 2010, (7): 143—144(in Chinese).
- [8] LIU G L(刘根林), LIANG ZH H(梁珍海), ZHU J(朱 军). Effects of activated charcoal on plant tissue cultures; a review[J]. *Jiangsu Forestry Science & Technology* (江苏林业科技), 2001, **28**(5): 46—48(in Chinese).
- [9] PENG Q(彭 琴), XIE X W(谢星文), LI Q M(李秋明). Research on the tissue culture and rapid propagation of Ruichang Yam[J]. *Anhui Agricultural Sciences* (安徽农业科学), 2009, **37**(32): 15 713—15 714(in Chinese).
- [10] QU H J(瞿宏杰), WANG H(王 会). Tissue culture and rapid propagation techniques of Huazi yam[J]. *Hubei Agricultural Sciences* (湖北农业科学), 2010, **51**(21): 4 894—4 895(in Chinese).
- [11] LIU Y SH(刘用生), ZENG ZH Y(曾兆运), WANG X Q(王秀芹), *et al.* The biological assay for the adsorption of activated charcoal[J]. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯), 1995, **31**(2): 123—126(in Chinese).
- [12] TANG H(唐 虹), WU J L(吴佳丽), ZHANG L(张 领), *et al.* The establishment of *in vitro* regeneration system for *Dioscorea batatas* [J]. *Guizhou Agricultural Sciences* (贵州农业科学), 2009, **37**(9): 31—33(in Chinese).
- [13] YAN H B(严华兵), LIANG CH X(梁春秀), YANG L T(杨丽涛), *et al.* Induction of *in vitro* bulbils of *Dioscorea fordii* Prain et Burk [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops* (热带作物学报), 2009, **30**(11): 1 642—1 645(in Chinese).
- [14] PENG X Y(彭晓英), ZHOU P H(周朴华), ZHANG L B(张良波), *et al.* The induction of bulbils of *Dioscorea zingiberensis* [J]. *Tropical and Subtropical Botany* (热带亚热带植物学报), 2005, **13**(4): 319—323(in Chinese).
- [15] LI M J(李明军). Callus induction and multi-bud body formation from stem segment of *Dioscorea opposita* [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica* (华北农学报), 2000, **15**(2): 85—88(in Chinese).
- [16] SHEN L Q(申丽琼), LÜ CH W(吕长文), WANG J CH(王季春), *et al.* Effects of sucrose and exogenous hormones on plantlets *in vitro* in potato [J]. *Chinese Potato* (中国马铃薯), 2009, **23**(2): 68—71(in Chinese).
- [17] DUAN T B(段廷碧), GUO H CH(郭华春). Preliminary study on the tissue culture of *Dioscorea opposita* [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences* (西南农业学报), 2006, **19**(S): 59—62(in Chinese).
- [18] LE W D(勒文东). Coleus potted flowers production [J]. *China Flowers & Horticulture* (中国花卉园艺), 2005, (8): 30(in Chinese).



图版 I A. 外植体; B. 培养 20 d 丛生芽; C. 继代增殖; D. 继代增殖中叶片黄化现象; E. 生根培养; F. 组培苗; G. 培养 45 d 的试管珠芽; H. 试管珠芽诱导成苗。

Plate I Fig. A. Explants; Fig. B. Multiple buds after 20 d of culture; Fig. C. Subculture; Fig. D. Leaves became yellow in the subculture; Fig. E. Rooting culture; Fig. F. Test-tube plantlet; Fig. G. *In vitro* bulbil of culture for 45 d; Fig. H. *In vitro* bulbils cultured for plantlet.