

山药生物技术研究概况

蔡月琴,陆奎眉,林莹,陈宗杨,王艳平,陈悦

(闽南师范大学 生物科学与技术学院,福建 漳州 363000)

摘要:为促进山药的快繁,对近年来国内外山药生物技术的研究成果进行综述,重点对山药的种质资源离体保存、遗传多样性和鉴定、组织培养、基因工程等方面的研究进行了评述,同时对今后山药生物技术的发展前景提出建议。

关键词:山药;生物技术;种质资源;基因工程;组织培养

中图分类号:S943 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)12-0165-05 **DOI:**10.11942/j.issn1002-2767.2015.12.0165

山药(*Dioscorea* spp.)为薯蓣科薯蓣属周生翅组薯蓣(*Dioscorea opposita*)及其近缘种一年生或多年生缠绕性藤本植物,广布于温带、热带和亚热带地区,在我国的东北、华北、华中、东南、西南等地区普遍有栽培,并形成许多地方品种^[1],是世界上十大食用块茎类作物之一^[2],其块茎中含有大量的黏蛋白、薯蓣多糖、皂苷、尿囊素、各种

维生素和有益的微量元素等,具有补脾健胃、降血脂血压、延缓衰老、抑制肿瘤等功效,是药食两用植物,已成为我国重要的保健品原料和出口特产蔬菜之一^[3-4]。长期以来,山药的种子很难获得,生产上主要依靠营养器官繁殖,使得品种退化、产量下降、病害传染等问题不断出现,甚至个别优良品种濒临灭绝。自20世纪80年代以来,国内外学者将生物技术应用于山药的组织培养研究中,促进了山药离体快繁技术的快速发展,并扩展到山药种质资源遗传多样性分析、基因工程等方面。本文就生物技术在山药研究中的应用进展进行了评述。

收稿日期:2015-10-16

基金项目:福建省科技厅重点资助项目(2013N0037);漳州市科技资助项目(ZZ2013052);闽南师范大学大学生创新训练资助项目(201410402007)

第一作者简介:蔡月琴(1980-),女,福建省漳州市人,硕士,讲师,从事园艺植物生物技术研究。E-mail:

蛤蟆通灌区节水工程改造,最终实现灌区设计灌溉面积2.047万hm²。水田灌溉面积为1.267万hm²,其中水田自流灌溉面积0.934万hm²,水田提水灌溉面积0.333万hm²。旱田喷灌面积0.809万hm²。调整水旱田灌溉面积比例,增加水田面积0.221万hm²,提高粮食产量。

参考文献:

[1] 黑龙江农垦勘测设计研究院.黑龙江垦区蛤蟆通灌区续建

配套与节水改造规划报告[R].佳木斯:黑龙江农垦勘测设计研究院,2000.

[2] 黑龙江农垦勘测设计研究院.黑龙江垦区蛤蟆通灌区节水改造工程二期可行性研究报告[R].佳木斯:黑龙江农垦勘测设计研究院,2009.

[3] 祝成功,母成波.黑龙江垦区大型灌区自动测报系统的建设[J].水利经济与管理,2003,9(3):168-169.

[4] 水利部农村水利司.灌溉管理手册[M].北京:水利水电出版社,1994:64-71.

Transformation of Water Saving Project in Hamatong Irrigation District

MU Yong-hong, WANG An-dong, DU Ming

(Rice Research Institute of Heilongjiang Academy of Land Reclamation Sciences, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: Hamatong irrigation district of Heilongjiang has been running for many years. In order to adapt to the planting industry and adjust the irrigation water use efficiency, the reform of large scale water saving projects was carried out in this region through the channel construction, maintenance buildings, engineering management and other measures. The coefficient of irrigation water use increased from 0.59 to 0.63. Irrigation quota by 10 305 m³·hm⁻² meters reduced to 7 575 m³·hm⁻². The above measures adjusted the area ratio of paddy field and dry farmland irrigation, increased 2 210 hm² of paddy field area and grain output.

Keywords: irrigation district reformation; water saving; water use coefficient of canal system; irrigation quota

1 山药种质资源离体保存与鉴定

1.1 种质资源离体保存

长期以来,山药传统的种质保存方法主要依靠田间留种保存,需要大量的土地和人力,同时面临各种自然灾害、病虫害和人为失误的威胁,导致一些特有种质遗失或混杂。利用组织培养技术进行山药的超低温离体保存,具有长期、安全、经济、稳定等优点,是一种与野外保存并行互补的有效保存途径^[5]。山药种质资源的超低温保存一般是在液氮处理下进行的。Sonali 等^[6]用高效液相色谱法证实了经超低温保存的山药茎尖再生植株的薯蓣皂苷含量的稳定性,指出超低温保存不会改变山药的生物化学稳定性。Sangeeta 等^[7]对玻璃化超低温保存山药茎尖进行研究,获得了 87% 的存活率和 30% 的植株再生率,并证实了超低温保存能确保山药分子、表型、生物合成的稳定性。E. R. J. K 等^[8]和李海兵等^[9]对山药不同品种进行包埋玻璃化超低温保存研究,提出基因型是决定山药再生植株成活率的关键因素。洪森荣等^[10]以 B 号怀山药带芽茎段为材料进行玻璃化超低温保存,获得 75% 的成活率,且再生苗与常温苗形态差异不大。此外,缓慢生长保存法也是有效的离体保存方法,适用于中短期种质保存,主要通过改变培养基成分或外界环境条件使培养物生长速率降至最低,以达到延长继代培养时间、减少工作量、降低变异几率的目的^[11]。山药的种质资源缓慢生长保存方法常采用降低培养温度和常温下在培养基中添加植物生长延缓剂,赵喜亭等^[12]认为在相同培养基条件下,保存 180 d 的山药各试管苗在 4℃ 低温下的保存率明显比 25℃ 常温下高;低温保存 6 个月时,在 MS + KT 2 mg·L⁻¹ + NAA 0.02 mg·L⁻¹ 培养基上的铁棍山药试管苗的存活率仅有 15%,而在该培养基上分别添加 B₉ 5.0 mg·L⁻¹ 和 PP₃₃₃ 5.0 mg·L⁻¹ 时,试管苗均保持绿色,发现培养基中添加 B₉ 5.0 mg·L⁻¹ 的生长量较大不适宜长期保存,培养基出现褐化,保存率较低为 60%,而添加 PP₃₃₃ 5.0 mg·L⁻¹ 的培养基生长量适宜,保存率达 100%。

1.2 种质资源的遗传多样性及鉴别

我国是山药的原产地,山药种质资源丰富,有些种或品种在形态上非常相似,很难区别,且在长期栽培过程中,因人为相互引种、自然环境变化等因素的影响,出现了同名异物、同物异名等混乱现象。近年来,RAPD、ISSR、SRAP 等分子标记技

术已被广泛应用于山药不同居群和不同栽培品种的遗传多样性、亲缘关系的研究^[13-16]。张晓娟等^[17]认为改良 CTAB 比较适合山药叶片总 RNA 的提取,试验中对新开封的离心管、枪头进行二次高压灭菌,能获得质量较好的总 RNA 样品。李明军等^[18]研究了山药基因组 DNA 的提取方法并优化了 RAPD 的反应条件。刘娟等^[19]利用 RAPD 标记技术分析穿龙薯蓣与山药、盾叶薯蓣的亲缘关系,认为不同居群的穿龙薯蓣具有丰富的遗传多样性。雷伏贵等^[20]运用 ISSR 标记分析了 94 份山药材料的亲缘关系及遗传多样性,将其分为 4 类群,认为参薯与山薯的亲缘关系最近,与薯蓣较远,与褐苞薯蓣最远。华树妹等^[21]运用 SRAP 技术对 90 份山药种质资源构建的 DNA 指纹图谱,可鉴定区别其中的 82 份资源。吴志刚等^[22]运用 SRAP 分子标记进行部分山药品种遗传多样性研究,结果表明山药居群间遗传变异大于居群内遗传变异;8 个居群间的遗传距离在 0.049 8~0.487 9,山药品种呈现较高遗传多样性,4 种基原山药种间遗传差异较大。郭文等^[23]利用 AFLP 标记构建了小花盾叶薯蓣、盾叶薯蓣、黄独和山药 4 种薯蓣属植物 22 份材料的指纹图谱,指出该 4 种植物种间、种内均存在较大差异,认为黄独与山药的亲缘关系较近,小花盾叶薯蓣与盾叶薯蓣亲缘关系较近,而黄独与山药和小花盾叶薯蓣与盾叶薯蓣亲缘关系较远。

生物的染色体数目一般是相当稳定的,一个种内的各个植株,通常具有相同的染色体数目,所以染色体的数目、大小和形态都可应用于分类学。山药为多倍体植物,其染色体小,进化历程复杂,对其的染色体研究相对落后,多数只是进行了染色体计数,曾被认为不适合核型分析,尤其是染色体数目众多的薯蓣^[24]。杨明^[25]对 25 个山药材料进行根尖压片染色体观察,发现不同来源的山药材料染色体数目、形态存在明显差异,并将其分为 8、10、12 和 14 倍体。周翼虎等^[26]研究表明河南铁棍山药的体细胞染色体数目为 $2n=120$ 条,其染色体核型公式为 $2n=96m(6SAT)+18sm(4SAT)+4st+2T$,绝对长度范围 0.688~2.628 μm,属于微小型染色体或小型染色体。

2 组织培养

山药传统繁殖种植方法是利用其块茎进行繁殖,用种量大、成本高,易造成病害严重、品种退化、品质下降,利用组织培养技术进行山药优良品

种脱毒复壮、人工快繁,则是解决山药种质退化,推广优良品种的有效途径,目前已有大量关于山药组织培养方面的研究报道。

2.1 外植体的选择

山药组织培养外植体来源广泛,一般采用茎段、零余子、块茎、叶片等作为外植体。应用最为广泛的是茎段,在离体条件下,茎段可诱导长出腋芽形成幼苗,也可诱导形成愈伤组织,再由愈伤组织分化发育形成幼苗。王红娟等^[27]在怀山药不同外植体诱导不定芽的研究中,发现茎蔓通过叶腋形成零余子再生长成苗,零余子或块茎则大部分先形成愈伤组织,再分化成不定芽。刘金英等^[28]以佛手山药的茎段、叶片、块茎为外植体进行组织培养研究,结果表明以茎段为外植体能直接萌发出芽,获得较高的萌芽率,未经过愈伤组织阶段,有利于保持该品种遗传性状稳定,而叶片和块茎只有少部分形成愈伤。金密等^[29]发现不同外植体对圆山药愈伤组织的诱导效果差异显著,以带腋芽的茎段的愈伤组织诱导率最高,而块茎则没有愈伤形成。梁方刚等^[30]在怀山药不同外植体对愈伤组织形成和植株再生的影响试验中,发现在适宜培养基上零余子愈伤组织分化成苗率最高,叶片愈伤组织不能成苗。胡选萍等^[31]研究了山药不同外植体愈伤组织的出愈方式,结果表明,山药零余子较叶片、茎段出愈速度稍慢,不同外植体所诱导的愈伤组织发生位置、愈伤组织颜色、质地、形态等不尽相同。Hiroyuki 等^[32]以山药未成熟的叶子为外植体获得不定芽,经过 6 个月的继代培养,不定芽形成的植株产生了大量的微型块茎。蔡建荣^[33]指出山药在组培过程中容易发生褐化反应,不同的外植体褐化程度不同,零余子褐化最严重,幼嫩茎段褐化程度最轻。潘梅等^[34]的研究也表明在淮山药组织培养中,茎段外植体的褐变程度最轻,薯块外植体褐变严重。

2.2 植物生长调节剂的应用

植物器官的分化是受生长素和细胞分裂素的互作控制的,当细胞分裂素对生长素的比率较高时,可促进茎芽的形成,当生长素对细胞分裂素的比例较高时,有利于根的分化。在山药组织培养中,使用的细胞分裂素有 6-BA、KT 等,生长素类有 NAA、IBA、2,4-D 等。李明军等^[35]认为在怀山药愈伤组织诱导形成中,培养基中无植物激素或仅添加细胞分裂素(KT 或 6-BA)都不能诱导愈伤组织形成,生长素 NAA 与细胞分裂素 6-BA 或 KT 组合使用,愈伤组织诱导效果较好,生长素

与细胞分裂素的种类、浓度配比不同,愈伤组织诱导率也有差异。郭君丽等^[36]研究了光质与生长物质组合对怀山药零余子生长脱分化与再分化的影响,指出同一光质条件下的不同的生长物质浓度对铁棍山药零余子愈伤组织的诱导表现出差异性,在愈伤组织诱导过程中 6-BA 与 NAA 的组合优于 6-BA 与 2,4-D 的组合,张丽霞^[37]也指出光照下,花籽山药的茎段和叶片在 MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 2.0 mg·L⁻¹培养基上,愈伤组织诱导率高,出愈量较多。张晓丽等^[38]研究不同植物生长调节剂浓度及其组合对铁棍山药试管苗快繁的影响,认为 KT 与 NAA 组合的培养基中,试管苗生长缓慢,较早出现黄叶,且茎段易老化;6-BA 与 NAA 组合的培养基中,试管苗生长最为缓慢,最早出现黄叶,且茎段细弱;TDZ 与 NAA 组合的培养基中,试管苗生长旺盛,有类原球茎形成。唐君等^[39]进行怀山药离体繁殖研究,结果表明 TDZ 浓度为 0.002~0.020 mg·L⁻¹时,促进腋芽萌发和生长;TDZ 浓度为 0.2~2.0 mg·L⁻¹时抑制淮山药腋芽萌发或者刺激水山药腋芽形成芽球或愈伤组织;TDZ 0.002 mg·L⁻¹与 NAA 0.200 mg·L⁻¹配合使用,能促进腋芽萌发和长高,并促进生根。苏超等^[40]指出细毛山药茎尖在 MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹培养基上愈伤组织诱导率最高,以培养基 MS+KT 2.00 mg·L⁻¹+NAA 0.03 mg·L⁻¹最有利于诱导出的愈伤组织芽苗的分化及生长,腋芽在 MS+KT 1.50 mg·L⁻¹+NAA 0.02 mg·L⁻¹培养基上增殖系数最高,而培养基 MS+KT 1.50 mg·L⁻¹+IAA 0.2 mg·L⁻¹最适合芽苗作继代培养。

2.3 培养条件的选择

山药试管苗的生长与繁殖速度不仅受植物生长调节剂的影响,还与培养条件,如温度、光照、培养基蔗糖浓度等密切相关。光、暗条件对山药愈伤组织的诱导效果不同。李明军等^[35]认为,在相同培养基条件下,暗处有利于零余子愈伤组织的诱导,出愈率达 100%,光照有利于叶片愈伤组织的诱导,出愈率也达 100%;零余子和叶片在光下褐化严重,在暗处褐化不明显或无褐化。光质还会影响植物组织培养物的生长和发育,郭君丽等^[41]认为红光下试管苗的根粗壮,但侧根极少,而黄光、白光下侧根较多,白光和红光有利于铁棍山药试管苗的生根。蔗糖能为淮山药试管薯膨大提供碳源,蔡国红等^[42]在蔗糖对淮山薯试管芽诱导影响试验中发现珠芽诱导率和珠芽数量均随

着蔗糖浓度的提高而增加,认为蔗糖对块茎发育过程中一些重要酶的基因表达和部分贮藏蛋白积累有影响。Edison 等^[43]认为每天 8 h 的光照培养有利山药品种大量叶子的产生,并能促进珠芽和微型块茎的形成,且试管苗的叶片数量与蔗糖浓度密切相关,以 3%~5% 为最适合的蔗糖浓度。山药组培快繁过程中易发生褐化现象,潘梅等^[34]认为在培养基中添加 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ AC 能有效抑制外植体的褐化,褐化率降为 70%,采用液体培养能显著降低褐化程度;向发云等^[44]在蕪山药离体再生及试管微块茎的形成研究中也指出培养基中添加 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ PVP 能有效防止褐化现象,褐化率可降到 33.51%。

3 基因工程

山药的地下块茎除积累大量碳水化合物外,还富含抗氧化的酚类物质,其中部分品种地下块茎还含有花青素,这些产物需要经过复杂的代谢途径,并受代谢途径中合成的关键酶与限速酶的调控合成^[45]。周生茂等^[46-47]利用 RT-PCR 和 RACE 技术克隆到影响参薯块茎花青素形成的一个 ANS 基因,该基因可评价属、种间植物的亲缘关系,并运用普通 PCR、RACE 和 TAIL-PCR 技术克隆到调控大薯地下块茎酚类物质积累的一个 PAL 基因,该基因在进化表达上相对保守,且表达丰度在收获前逐渐降低。目前国内外有关薯蓣属植物的遗传转化研究报道不多,尤其是有关山药的遗传转化研究还很少,仅见 Mahmut 等^[48]将带有 nptII 和 uidA 嵌合基因质粒包被的钨颗粒轰击紫参薯茎节分生组织细胞,两个月后,转化的组织经 GUS 活性检测表明已经转化成功,同时 Southern 杂交也证明转入的基因已经整合到植物基因组,成功建立了紫参薯稳定的遗传转化体系;夏赞^[49]进行紫参薯遗传转化的初步研究,以茎段愈伤组织为受体,探讨农杆菌介导的紫参薯遗传转化的各种影响因素,认为紫参薯愈伤组织用 OD 值为 0.5 的农杆菌菌液侵染 30 min,共培养 4 d 后转到 $\text{MS} + 6\text{-BA } 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.06 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{潮霉素 } 40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{头孢霉素 } 300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上选择培养后存活率最高达 42.5%,经 PCR 检测分析表明,获得 4 株呈阳性的紫参薯苗,这为紫参薯品种改良研究奠定基础。

4 展望

综上所述,近年来有关山药的生物技术研究

取得了重要进展,特别是在山药组培快繁和种质资源遗传多样性方面。但山药组培快繁及种质离体保存的研究主要集中在铁棍山药等品种上,因此不同基因型高频有效的植株再生体系的建立仍是研究的重点。此外,山药体细胞无性系突变体筛选和遗传转化体系有待进一步研究。今后,有必要加强各地区主栽优良品种的组培快繁和离体保存研究,进一步开展山药重要性状的基因定位与克隆方面的研究,将生物技术与常规育种相结合,为山药良种选育与种质创新提供理论基础与技术依据。

参考文献:

- [1] 中国植物志编委会. 中国植物志第 16(1)卷[M]. 北京:科学出版社,1985:54-103.
- [2] 李月仙,黄东益,黄小龙,等. 山药的研究进展[J]. 中国农学通报,2009,25(9):91-96.
- [3] 孙晓生,谢波. 山药药理作用的研究进展[J]. 中药新药与临床药理,2011,22(3):353-355.
- [4] 赵宏,谢晓玲,万金志,等. 山药的化学成分及药理研究进展[J]. 今日药学,2009,19(3):49-52.
- [5] 陈晓玲,张金梅,辛霞,等. 植物种质资源超低温保存现状及其研究进展[J]. 植物遗传资源学报,2013,14(3):414-427.
- [6] Sonali D S, Sangeeta A G, Binay B M, et al. Metabolic stability of plants regenerated from cryopreserved shoot tips of *Dioscorea deltoidea* - an endangered medicinal plant[J]. Science Horticulturae. Scientia Horticulturae, 2005, 105: 513-517.
- [7] Sangeeta A, Binay B M, Sonali D, et al. Molecular, phenotypic and biosynthetic stability in *Dioscorea floribunda* plants derived from cryopreserved shoot tips[J]. plant science, 2002, 163: 971-977.
- [8] E R J K, Angelika S, Samuel L, et al. Slow growth storage and cryopreservation—tools to facilitate germplasm maintenance of vegetatively propagated crops in living plant collections[J]. International Journal of Refrigeration, 2006, 29: 411-417.
- [9] 李海兵,周娜,赵姣,等. 怀山药种质资源的包埋玻璃化超低温保存与植株再生[J]. 植物学报,2010,45(3):379-383.
- [10] 洪森荣,李明军. 玻璃化法超低温保存怀山药种质的技术研究[J]. 中草药,2006,37(11):1715-1718.
- [11] 徐刚标. 植物种质资源离体保存研究进展[J]. 中南林学院学报,2000,20(4):81-87.
- [12] 赵喜亭,邵娟娟,李明军,等. 植物生长延缓剂多效唑和比久对怀山药离体保存的影响[J]. 河南农业科学,2012, 41(3):120-124.
- [13] 华树妹,涂前程,雷伏贵. 福建山药种质资源遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 植物遗传资源学报,2009, 10(2): 195-200.
- [14] 周延清,景建洲,李振勇,等. 用 ISSR 标记技术分析山药品种遗传多样性[J]. 实验生物学报,2005,38(4): 324-330.
- [15] 黄玉仙,黄姗,梁康迳,等. 基于 SRAP 标记的山药种质资源遗传多样性分析[J]. 中国野生植物资源,2011,30(6): 48-54.
- [16] 侯进慧,陈宏伟,高兆建,等. 山药分子分类研究[J]. 徐州

- 工程学院学报:自然科学版,2011,26(4):51-55.
- [17] 张晓娟,胡选萍.山药叶片总 RNA 提取方法的比较[J].安徽农业科学,2010,38(33):18728-18729.
- [18] 李明军,徐鑫,张晓丽,等.山药基因组 DNA 的提取和 RAPD 反应条件的优化[J].河南师范大学学报:自然科学版,2007,35(1):140-143.
- [19] 刘娟,张春辉,张博.应用 RAPD 技术探讨穿龙薯蓣遗传多样性及亲缘关系[J].时珍国医国药,2007,18(12):2908-2909.
- [20] 雷伏贵,华树妹,涂前程,等.山药种质资源亲缘关系的 IS-SR 分析[J].福建农业学报,2013,28(1):27-32.
- [21] 华树妹,贺佩珍,陈芝华,等.应用 SRAP 标记构建山药种质资源 DNA 指纹图谱[J].植物遗传资源学报,2014,15(3):597-603.
- [22] 吴志刚,范传颖,包晓青,等.山药种质资源核糖体 rDNA-ITS 区序列分析[J].中草药,2014,45(8):1136-1142.
- [23] 郭文,李婉琳,肖继坪,等.利用 AFLP 标记构建 4 种薯蓣属植物的指纹图谱[J].分子植物育种,2015,13(3):547-555.
- [24] 周翼虎.山药的染色体制片技术优化与核型分析[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2014.
- [25] 杨明.山药种质资源遗传多样性的研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2012.
- [26] 周翼虎,霍秀文,刘向宇,等.山药染色体制片技术的优化[J].中国园艺文摘,2014(8):7-10.
- [27] 王红娟,王天亮,白自伟,等.激素配比对怀山药不同外植体诱导不定芽的影响[J].河南农业科学,2006(12):73-74.
- [28] 刘金英,徐有明,李双来,等.佛手山药组织培养的研究[J].植物研究,2006,26(3):323-328.
- [29] 金密,彭晓英,周双德,等.圆山药的离体培养[J].湖南林业科技,2010,37(6):1-4.
- [30] 梁方刚,马克莉,李明军,等.怀山药不同外植体对愈伤组织形成和植株再生的影响[J].河南职业技术学院学报,2001,29(1):24-27.
- [31] 胡选萍.山药不同外植体诱导愈伤组织研究[J].江苏农业科学,2009(4):75-76.
- [32] Hiroyuki K, Hajime A, Masashi I. Micropropagation of 'Yamatoimo' Chinese yam (*Dioscorea opposita*) from immature leaves[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1995,40:271-276.
- [33] 蔡建荣.山药组织培养褐化反应的研究[J].中国农学通报,2008,24(8):118-120.
- [34] 潘梅,黄赛,王景飞,等.山药茎段的离体培养与育苗基质筛选[J].贵州农业科学,2014,42(3):125-129.
- [35] 李明军,薛建平,陈明霞,等.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.
- [36] 郭君丽,王俊甫,李明军,等.光质对怀山药微型块茎诱导形成的影响[J].浙江万里学院学报,2006,19(2):91-93.
- [37] 张丽霞,王毅彰.植物生长调节剂对花籽山药愈伤组织诱导形成的影响[J].北方园艺,2013(14):115-118.
- [38] 张晓丽,王医鹏,刘雯,等.铁棍山药试管苗快繁培养基的优化[J].河南师范大学学报:自然科学版,2013,41(2):123-126.
- [39] 唐君,周志林,张允刚,等.怀山药离体繁殖的研究[J].江西农业科学,2008,20(9):49-50.
- [40] 苏超,刘盼娜,袁金红,等.影响细毛山药离体快繁和再生因素的研究[J].种子,2012,31(2):48-50.
- [41] 郭君丽,王俊甫,张晓丽,等.光质对铁棍山药试管苗生根的影响[J].河南农业科学,2013,42(2):101-104.
- [42] 蔡国红,杨泉,李洪波,等.蔗糖、多效唑、ABA、KT 对淮山薯试管珠芽诱导的影响[J].热带作物学报,2010,31(9):1458-1463.
- [43] Edison P Chu, Rita de C L F R. Growth and carbohydrate changes in shoot cultures of *Dioscorea species* as influenced by photoperiod, exogenous sucrose and cytokinin concentrations[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2002, 70: 241-249.
- [44] 向发云,曾祥国,韩永超,等.'蕲山药'离体再生及试管微块茎的形成[J].中国农学通报,2014,30(10):111-117.
- [45] Teranchi R, Kahl G. Rapid isolation of promoter sequences by TALL-PCR: the 5' flanking regions of Pal and Pgi genes from yams (*Dioscorea*) [J]. Molecular And General Genetics, 2000, 263(3): 554-560.
- [46] 周生茂,王玲平,向珣,等.山药 ANS 基因的克隆和分子特性及其与花青素积累的关系[J].园艺学报,2009,36(9):1317-1326.
- [47] 周生茂,王玲平,向珣,等.山药 PAL 基因全长 cDNA 序列的克隆、表达与分析[J].核农学报,2008,22(6):781-788.
- [48] Mahmut T, Charles A, Sinclair H. Mantell Stable transformation of the food yam *Dioscorea alata* L. by particle bombardment[J]. Plant Cell Reports, 1993, 12: 468-473.
- [49] 夏赞.紫参薯再生体系的建立及遗传转化的初步研究[D].海口:海南大学,2012.

General Research of Biotechnology on Chinese Yam

CAI Yue-qin, LU Luan-mei, LIN Ying, CHEN Zong-yang, WANG Yan-ping, CHEN Yue

(College of Biological Sciences and Technology, Min Nan Normal University, Zhangzhou, Fujian 363000)

Abstract: In order to promote the rapid propagation of Chinese Yam, the research of biotechnology about Chinese Yam both here and abroad were reviewed. The research progress on biotechnology in Chinese Yam was summarized which focused on germplasm conservation, genetic diversity and identification, tissue culture and genetic engineering. Some suggestions about the prospect of biotechnology on Chinese Yam for the future were presented.

Keywords: Chinese Yam; biotechnology; germplasm resources; genetic engineering; tissue culture