

## 药用菊花种质资源遗传多样性的 ISSR 分析

邵清松<sup>1,2</sup>, 郭巧生<sup>1\*</sup>, 张志远<sup>1</sup>

(1. 南京农业大学中药材研究所, 江苏 南京 210095; 2. 浙江林学院, 浙江 杭州 311300)

**摘要:**目的 分析药用菊花遗传多样性, 为其种质资源评价和合理开发利用提供分子佐证。方法 用 ISSR 分子标记对不同采集地的 31 份种源(菊花 29 份、野菊 1 份、菊花脑 1 份)进行遗传关系分析。结果 22 个引物共扩增出 182 个条带, 其中 149 条具有多态性, 多态位点百分率为 81.87%, 有效等位基因数( $N_e$ )为 1.348 1, Nei's 基因多样性指数( $H_e$ )为 0.219 1, Shannon 信息指数( $I$ )为 0.345 1。聚类分析和主坐标分析结果相近, 将 31 份种源大致分为野菊和菊花脑、北方药用菊花、南方药用菊花 3 个类群。结论 ISSR 分子标记适合于药用菊花的品种鉴定和遗传多样性分析。

**关键词:**菊花; ISSR 标记; 种质资源; 遗传多样性

中图分类号: R282.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)12-1971-05

ISSR Analysis for genetic diversity of *Chrysanthemum morifolium*SHAO Qing-song<sup>1,2</sup>, GUO Qiao-sheng<sup>1</sup>, ZHANG Zhi-yuan<sup>1</sup>

(1. Institute of Chinese Medicinal Materials, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. Zhejiang Forestry University, Hangzhou 311300, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the genetic diversity of *Chrysanthemum morifolium* and provide the evidence for evaluation and exploitation of *C. morifolium* germplasm. **Methods** The genetic diversities of 31 germplasm from different habitats were investigated with the technique of inter-simple sequence repeat (ISSR), which were 29 of *C. morifolium*, 1 of *C. indicum*, and 1 of *C. nankingense*. **Results** Twenty-two primers were selected to produce highly reproducible ISSR bands. Among 182 amplified bands, 149 showed polymorphism, the percentage of polymorphic bands (PPB) reached to 81.87%. Observed effective number of alleles ( $N_e$ ), Nei's gene diversity index ( $H_e$ ), and Shannon information index ( $I$ ) were 1.348 1, 0.219 1, and 0.345 1, respectively. **Conclusion** ISSR Method is suitable for identification and genetic diversity analysis of *C. morifolium*.

**Key words:** *Chrysanthemum morifolium* Ramat.; ISSR; germplasm resource; genetic diversity

菊花为菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序, 为常用中药, 具有散风清热, 平肝明目等功效, 用于风热感冒, 头痛眩晕, 目赤肿痛, 眼目昏花<sup>[1]</sup>。我国药用菊花具有悠久的历史, 分布广泛, 类型多样, 根据产地的不同, 主要有杭菊、贡菊、毫菊、滁菊、怀菊、济菊、祁菊和川菊等栽培类型。由于长期引种栽培和定向选择, 其进化速率快于自然条件下的进化, 许多性状的变化已经明显区别于原始野生种, 造成地区间药用菊花类型的混杂。据初步调查, 药用菊花种质资源在形态特征、内在质量和产量等方面均有较大差异, 但彼此间遗传背景、亲缘关系尚不清楚。近年来, 许多学者采用多种手段对不同栽培类型的药用菊花进行了研究和

探讨<sup>[2,3]</sup>。王德群等<sup>[4,5]</sup>对药用菊花的产地及品种演变等作了较为全面的调查; 徐文斌等<sup>[6,7]</sup>分别对各道地产地或不同栽培类型药用菊花进行了调查并对其内在质量进行了比较并采用 RAPD 技术对药用菊花 22 个栽培类型进行了遗传多样性研究。

ISSR 技术具有操作简单, 成本低, 快速, 灵敏, 检测多态能力强, 所需 DNA 模板量少等优点, 其产物的多态性比随机扩增多态 DNA (RAPD) 丰富, 而且比 RAPD 技术更为稳定可靠, 重复性更好<sup>[8]</sup>。目前, ISSR 分子标记已经用于栀子<sup>[9]</sup>、川乌<sup>[10]</sup>、鱼腥草<sup>[11]</sup>、草珊瑚<sup>[12]</sup>等药材的遗传多样性分析。本研究利用 ISSR 分子标记技术分析不同栽培类型的药用菊花 29 份种源及其近缘植物野菊

收稿日期: 2009-02-21

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目 (2006BA106A12-11); 浙江省自然科学基金项目 (Y2090175)

作者简介: 邵清松 (1980—), 男, 浙江温州人, 博士研究生, 主要从事药用植物遗传多样性及中药资源开发与利用方面的研究。

E-mail: sqszjfc@126.com

\* 通讯作者 郭巧生 Tel: (025) 84396591 E-mail: gqs@njau.edu.cn

*Chrysanthemum indicum* L. 和野菊 (菊花脑) *Chrysanthemum nankingense* Hand.-Mazz. 各 1 份种源的遗传多样性,旨在为药用菊花遗传资源的鉴定,优良品质资源的发掘、改良提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料:供试材料为搜集到的我国不同栽培类型的药用菊花 29 份种源及其近缘植物野菊和菊花脑各 1 份种源,经郭巧生教授鉴定,材料来源和编号见表 1。材料取自南京农业大学中药材研究所药用菊花种质资源圃,每份种源随机选取 12 株幼苗的幼叶,液氮速冻后置于 -70℃ 冰箱保存备用。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取:采用改良的 CTAB 法<sup>[13]</sup>分别提取各单株基因组 DNA,0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测,Eppendorf 公司生产的 Bio Photometer 核酸检测仪检测 DNA 溶液浓度与纯度,并将质量浓度稀释至 30 mg/L。

表 1 供试材料的来源

| Table 1 Sources of materials tested |        |          |         |      |
|-------------------------------------|--------|----------|---------|------|
| 材料编号                                | 种源     | 经度       | 纬度      | 产地   |
| 1                                   | 早小洋菊   | 120°32'E | 30°38'N | 浙江桐乡 |
| 2                                   | 晚小洋菊   | 120°32'E | 30°38'N | 浙江桐乡 |
| 3                                   | 大洋菊    | 120°32'E | 30°38'N | 浙江桐乡 |
| 4                                   | 异种大白菊  | 120°32'E | 30°38'N | 浙江桐乡 |
| 5                                   | 小汤黄    | 120°32'E | 30°38'N | 浙江桐乡 |
| 6                                   | 小白菊    | 120°13'E | 33°38'N | 江苏射阳 |
| 7                                   | 红心菊    | 120°13'E | 33°38'N | 江苏射阳 |
| 8                                   | 大白菊    | 120°13'E | 33°38'N | 江苏射阳 |
| 9                                   | 长瓣菊    | 120°13'E | 33°38'N | 江苏射阳 |
| 10                                  | 黄菊     | 120°13'E | 33°38'N | 江苏射阳 |
| 11                                  | 大黄菊    | 120°13'E | 33°38'N | 江苏射阳 |
| 12                                  | 香溢菊    | 120°32'E | 30°38'N | 浙江桐乡 |
| 13                                  | 金菊 1 号 | 120°32'E | 30°38'N | 浙江桐乡 |
| 14                                  | 金菊 2 号 | 120°32'E | 30°38'N | 浙江桐乡 |
| 15                                  | 金菊 3 号 | 120°32'E | 30°38'N | 浙江桐乡 |
| 16                                  | 金菊 4 号 | 120°32'E | 30°38'N | 浙江桐乡 |
| 17                                  | 早贡菊    | 118°44'E | 29°88'N | 安徽歙县 |
| 18                                  | 晚贡菊    | 118°44'E | 29°88'N | 安徽歙县 |
| 19                                  | 黄药菊    | 118°44'E | 29°88'N | 安徽歙县 |
| 20                                  | 小毫菊    | 115°47'E | 33°52'N | 安徽亳州 |
| 21                                  | 大毫菊    | 115°47'E | 33°52'N | 安徽亳州 |
| 22                                  | 特种毫菊   | 115°47'E | 33°52'N | 安徽亳州 |
| 23                                  | 怀小白菊   | 113°12'E | 35°14'N | 河南武陟 |
| 24                                  | 怀大白菊   | 113°12'E | 35°14'N | 河南武陟 |
| 25                                  | 怀小黄菊   | 113°12'E | 35°14'N | 河南武陟 |
| 26                                  | 滁菊     | 118°31'E | 32°33'N | 安徽滁州 |
| 27                                  | 济菊     | 116°33'E | 35°23'N | 山东嘉祥 |
| 28                                  | 祁菊     | 115°20'E | 38°24'N | 河北安国 |
| 29                                  | 麻城菊    | 115°01'E | 31°10'N | 湖北麻城 |
| 30                                  | 野菊     | 118°46'E | 32°03'N | 江苏南京 |
| 31                                  | 菊花脑    | 118°46'E | 32°03'N | 江苏南京 |

1.2.2 ISSR-PCR 扩增与检测:从 80 个 ISSR 引物 (上海英俊生物技术有限合成) 中筛选出 22 个扩增条带较多、信号强、背景清晰的引物用于 ISSR 分析 (表 2)。PCR 反应体系的总体积为 20 μL,包括 60 ng 模板 DNA, *Taq* 酶 1.00 U,  $Mg^{2+}$  2.00 mmol/L, dNTP 0.20 mmol/L, 引物 0.50 μmol/L 以及 1×PCR buffer。PCR 扩增在 MJ Research 公司生产的 PTC-200™ 型扩增仪上进行,扩增程序为:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 45 s,55℃ 退火 40 s,72℃ 延伸 70 s,循环 45 次;72℃ 延伸 7 min;4℃ 保存。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,EB 染色,电泳结束后在上海培清科技有限公司生产的 JS-380 型凝胶成像分析仪上观测并照相。

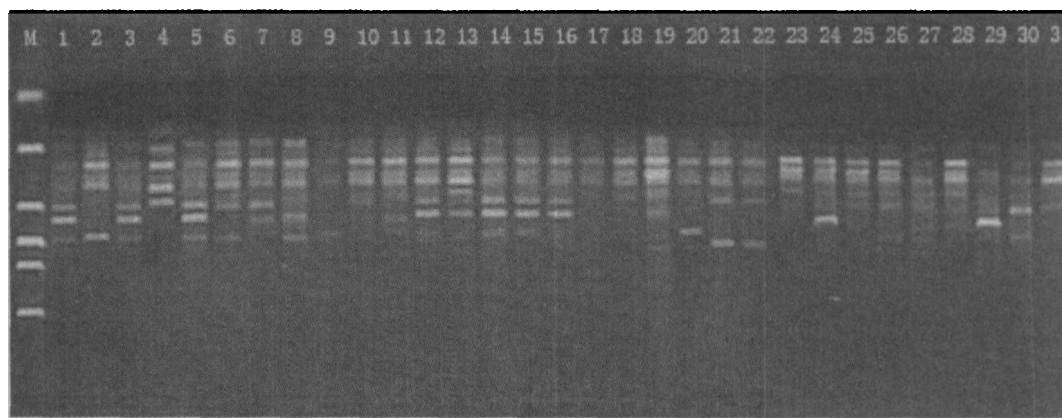
1.2.3 数据统计与分析:ISSR 为显性标记,电泳图谱中的每一条带均视为一个分子标记,并代表一个引物的结合位点。采用人工读带法,根据条带的迁移率 and 有无记录二元数据,有带记 1,无带记 0,构成原始数据矩阵。用 POPGEN32 软件计算多态位点百分率 (PPB)、有效等位基因 ( $N_e$ )、*Nei's* 基因多样性指数 ( $H_e$ ) 和 Shannon 信息指数 ( $I$ )。根据 *Nei's* 的遗传距离,利用 NTSYS-pc2.10 软件对不同采集地的 31 份种源进行聚类分析和主坐标分析。

表 2 ISSR 所用的引物序列及多态性分析

| Table 2 Primer sequence and diversity analyses of ISSR-generated banding patterns |                   |     |        |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-----|--------|------------|
| 引物                                                                                | 序列                | 条带数 | 多态性条带数 | 多态性条带百分率/% |
| ISSR-3                                                                            | ACACACACACACACTT  | 12  | 10     | 83.33      |
| ISSR-4                                                                            | ACACACACACACACAG  | 11  | 11     | 100.00     |
| ISSR-5                                                                            | ACACACACACACACTG  | 10  | 9      | 90.00      |
| ISSR-33                                                                           | AGAGAGAGAGAGAGAT  | 7   | 6      | 85.71      |
| ISSR-35                                                                           | AGAGAGAGAGAGAGTA  | 8   | 6      | 75.00      |
| ISSR-42                                                                           | ACACACACACACACCG  | 7   | 5      | 71.43      |
| ISSR-43                                                                           | ACACACACACACACCT  | 7   | 5      | 71.43      |
| ISSR-44                                                                           | ACACACACACACACGA  | 11  | 9      | 81.82      |
| ISSR-45                                                                           | ACACACACACACACGC  | 7   | 7      | 100.00     |
| ISSR-46                                                                           | ACACACACACACACGG  | 10  | 9      | 90.00      |
| ISSR-52                                                                           | TGTGTGTGTGTGTGGA  | 6   | 5      | 83.33      |
| ISSR-55                                                                           | TGTGTGTGTGTGTGGG  | 7   | 5      | 71.43      |
| ISSR-57                                                                           | AGAGAGAGAGAGAGTG  | 9   | 9      | 100.00     |
| ISSR-58                                                                           | AGAGAGAGAGAGAGGA  | 8   | 4      | 50.00      |
| ISSR-60                                                                           | AGAGAGAGAGAGAGGG  | 6   | 5      | 83.33      |
| ISSR-61                                                                           | AGAGAGAGAGAGAGGT  | 8   | 5      | 62.50      |
| ISSR-64                                                                           | AGAGAGAGAGAGAGCG  | 6   | 6      | 100.00     |
| ISSR-65                                                                           | AGAGAGAGAGAGAGCC  | 9   | 9      | 100.00     |
| ISSR-67                                                                           | TCTCTCTCTCTCTCC   | 8   | 5      | 62.50      |
| ISSR-Y5                                                                           | CTCTCTCTCTCTCTAC  | 7   | 6      | 85.71      |
| ISSR-Y10                                                                          | AGAGAGAGAGAGAGAGT | 7   | 4      | 57.12      |
| ISSR-Y11                                                                          | AGAGAGAGAGAGAGAT  | 11  | 9      | 81.82      |
| 总计                                                                                |                   | 182 | 149    |            |

## 2 结果与分析

2.1 ISSR 扩增产物的多态性分析:22 条引物对不同栽培类型的药用菊花 29 份种源及其近缘植物野菊和菊花脑各 1 份种源进行扩增,共扩增出 182 条重复性高、清晰的条带,扩增片段大小在 200~2 000 bp,平均每个引物扩增出 8.27 条带,其中多态性条带 149 条,多态性比率为 81.87%。图 1 为引物 ISSR-Y11 对 31 份菊花种源 ISSR 扩增的结果。



1~31-同表 1 M-Marker

1—31-same to Table 1 M-Marker

图 1 31 份供试材料 ISSR 扩增的结果 (引物 ISSR-Y11)

Fig. 1 Amplification of ISSR-PCR of 31 materials tested (primer ISSR-Y11)

似矩阵,经聚类分析构建亲缘关系树状图(图 2)。聚类分析表明,29 份药用菊花种源间的遗传相似系数为 0.615 4~0.983 5。其中,早小洋菊和晚小洋菊间遗传一致度最高为 0.983 5,早贡菊与黄菊间的遗传一致度最低为 0.615 4。在相似系数 0.71 处可将供试的 31 份种源划分为 3 个类群,第 I 类群包括野菊和菊花脑,经 II 类群包括北方药用菊花种源,第 III 类群包括南方药用菊花种源。聚类分析结果表明,大部分产自北方的菊花种源的遗传关系较近,大部分产自南方的菊花种源也具有较近的遗传关系,与传统的菊花分类结果一致。

2.3 主坐标分析:对 ISSR 标记的结果进行主坐标分析,前 2 个主坐标解释的变异分别为 19.06% 和 11.97%,对 31 份种源做第 1、第 2 主坐标二维图的排序(图 3),从图中可以看出 31 份种源在第 1 主坐标方向上被分为 2 个类群,在第 2 主坐标方向上被分为 2 个类群,将第 1 和第 2 主坐标结合起来考虑共分成 4 个类群。第 I 类群包括野菊和菊花脑。第 II 类群包括小毫菊、怀小白菊、怀大白菊、济菊、祁菊。第 III 类群包括早小洋菊、晚小洋菊、异种大白菊、小汤黄、香溢菊、金菊 1 号、金菊 2 号、金菊 3 号、金菊 4 号。第 IV 类群包括小白菊、大白菊、长瓣菊、黄菊、大黄菊、大洋菊、滁菊、麻城菊、早贡菊、晚贡

果。利用 POPGEN32 软件对各位点的  $N_e$ 、 $H_e$  以及 Shannon 信息指数进行计算,结果表明,平均有效等位基因数为 1.348 1,平均 Nei's 基因多样性指数为 0.219 1,平均 Shannon 信息指数为 0.345 1。各位点遗传多样性程度也存在较大差别, $N_e$  有效等位基因数最大值为 1.997 9,最小值为 1.000 0,说明不同菊花栽培类型间存在丰富的遗传变异。

2.2 聚类分析:利用 149 条多态性条带建立遗传相

菊、黄药菊、红心菊、大毫菊、特种毫菊、怀小毫菊。通过对图 2 和 3 的比较可知,对 31 份种源所进行的系统聚类分析和主坐标分析的结果基本一致。但是,主坐标分析可以从不同方向、不同层面更加直观地显示种源间的遗传关系。

## 3 讨论

菊花是菊属部分野生种天然杂交再经人工选育形成的,由于长期的人工栽培和定向选择以及小群体的基因漂变,菊花的种下变异和进化速率大大高于自然群体<sup>[14~16]</sup>。本试验选取 22 条引物对不同栽培类型的药用菊花 29 份种源及其近缘植物野菊和菊花脑各 1 份种源进行扩增,结果表明,平均每个引物扩增的多态带数为 6.77 条,多态性条带比率为 81.87%,材料间遗传相似系数范围在 0.615 4~0.983 5。不同菊花种源间存在丰富的遗传变异,可能是在长期的进化过程中分子水平上形成并保持了较高的遗传变异,还可能与菊花存在自交不亲和性及长期无性繁殖有关。

ISSR 分子标记理论上检测区域可覆盖整个基因组,扩增的多态性条带能较全面地反映群体变异。从本试验结果来看,ISSR 技术能有效地检测不同菊花种源间的遗传变异,对菊花的遗传多样性分析是完全可行的。通过系统聚类分析将供试的 31 份种

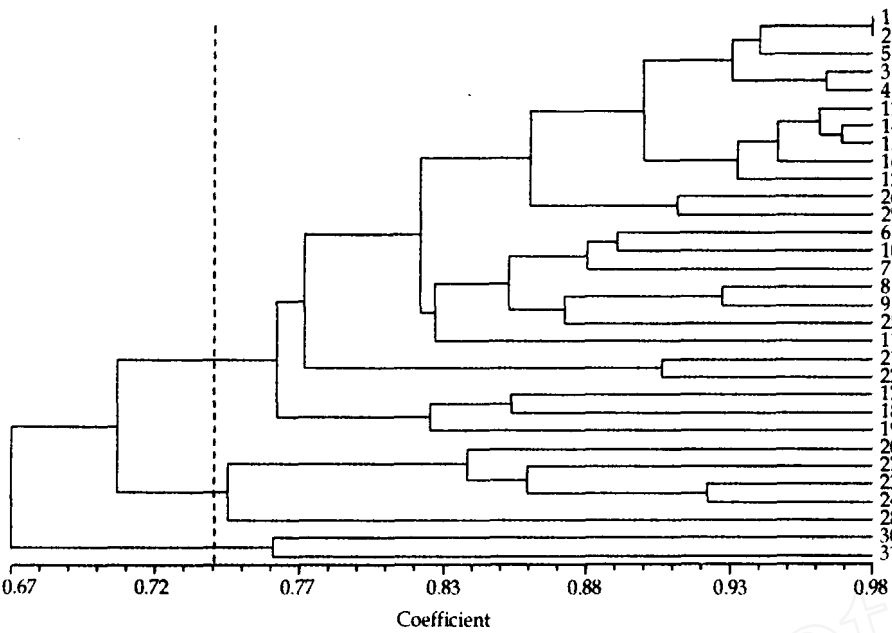


图 2 31 份供试材料的 UPGMA 聚类结果图  
Fig. 2 UPGMA Dendrogram of 31 materials tested based on ISSR data

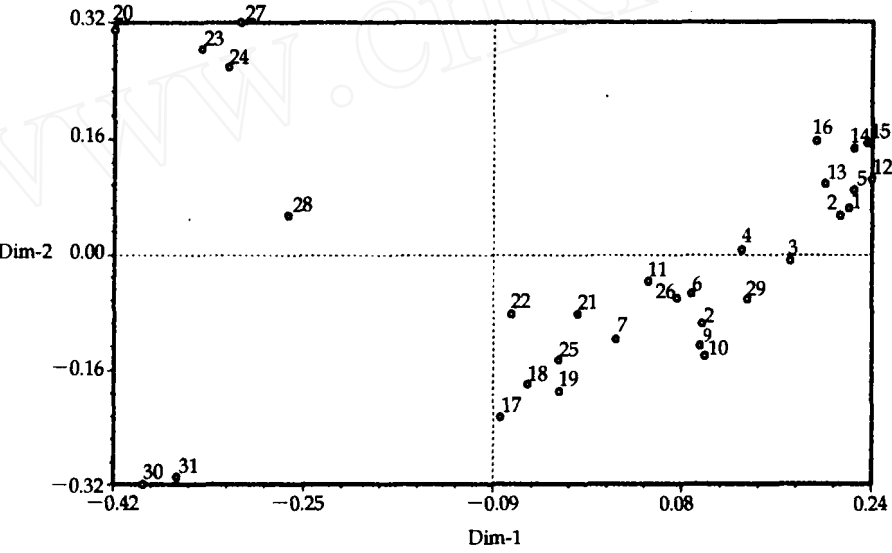


图 3 31 份供试材料的主坐标散点图  
Fig. 3 Scatterplot of principal coordinates analyses for 31 materials tested based on ISSR data

源划分为 3 个类群,第Ⅰ类群包括野菊和菊花脑,第Ⅱ类群包括北方药用菊花种源,第Ⅲ类群包括南方药用菊花种源。对于药用菊花来说,野菊和菊花脑可被看作外类群,从聚类图上可以看出,野菊和菊花脑得到了明显的区分,表明 ISSR 分子标记可以作为其种的分子鉴定依据。前人通过对药用菊花的本草考证认为茶菊发源于浙江,原产于余杭的白茶菊逐渐北移至桐乡,形成现在的杭白菊,原产于德清的德菊被引入安徽歙县形成贡菊,原产于海宁的茶菊被引入江苏射阳形成射阳菊;药菊发源于河南,原产于焦作的怀菊逐渐南移至安徽亳州,形成亳菊,亳菊被引入山东嘉祥形成济菊;滁菊形态与南北菊花有

较大差异,可能为独立品种。聚类分析结果显示,第Ⅱ类群包括小亳菊、怀小白菊、怀大白菊、济菊和祁菊等北方药用菊花,第Ⅲ类群包括早小洋菊、晚小洋菊、大洋菊、异种大白菊、小汤黄、小白菊、红心菊、大白菊、长瓣菊、黄菊、大黄菊、香溢菊、金菊 1 号、金菊 2 号、金菊 3 号、金菊 4 号、早贡菊、晚贡菊、黄药菊、麻城菊等南方药用菊花,聚类分析结果与前人本草考证的结果基本一致。但其中也存在某些特例,大亳菊、特种亳菊、怀小黄菊、滁菊归入第Ⅲ类群,其原因还有待进一步的研究。通过主坐标分析将供试的 31 份种源划分为 4 个类群,野菊花、菊花脑被看作外类群归入第Ⅰ类群,第Ⅱ类群包括小亳菊、怀小白

菊、怀大白菊、济菊、祁菊等北方药用菊花,通过主坐标分析将南方药用菊花进一步细分,可分为 2 个类群包括桐乡菊系列和其他菊系列。

本试验中采用系统聚类分析和主坐标分析所获得的结果基本一致,两种分析所表达的信息各有特点:系统聚类分析能提供丰富的数量信息,量化地体现种源之间的关系。主坐标分析能从不同的方向和层面更直观地提供更多的关于各种源或群体的关系。因此,两种方法并不重复,将系统聚类分析和主坐标分析结合起来使用,可以互相印证和补充。

#### 参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 盛 蒂,郭亚勤,王旭东,等. 七种栽培类型菊花的植物学特征、产量及有效成分比较研究[J]. 中草药,2006,37(6): 914-917.
- [3] 刘大会,朱端卫,周文兵,等. 氮、磷、钾配合施用对福田白菊产量和品质的影响[J]. 中草药,2006,37(1): 125-129.
- [4] 王德群,梁益敏,刘守金. 中国菊花品种演变[J]. 中国中药杂志,1994,24(10): 584-587.
- [5] 王德群,刘守金,梁益敏. 中国药用菊花的产地考察[J]. 中国中药杂志,1999,24(9): 522-525.
- [6] 徐文斌,郭巧生,李彦农,等. 药用菊花不同栽培类型内在质量的比较研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(21): 1645-1648.
- [7] 徐文斌,郭巧生,王长林,等. 药用菊花遗传多样性的 RAPD 研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(1): 18-21.
- [8] Gibert J E, Lewis R V, Wilkinson J, et al. Developing an appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 98: 1125-1131.
- [9] 雷 果,王 益,赵阿曼,等. 梔子道地药材遗传关系的 ISSR 证据[J]. 中草药,2009,40(1): 116-120.
- [10] 罗 群,马丹炜,王跃华. 川乌遗传多样性的 ISSR 鉴定[J]. 中草药,2006,37(10): 1554-1557.
- [11] 吴 卫,郑有良,陈 黎,等. 利用 ISSR 标记分析鱼腥草种质资源的遗传多样性[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2003,5(1): 70-77.
- [12] 倪开诚,闵 芳,郭卫东,等. 采用 ISSR 分子标记进行草珊瑚 8 个种源的遗传多样性分析[J]. 中草药,2008,39(9): 1392-1396.
- [13] 邹喻苹,葛 颂,王晓东,等. 系统与进化植物学中的分子标记[M]. 北京:科学出版社,2001.
- [14] 戴思兰,王文奎,黄家平. 菊属系统学及菊花起源的研究进展[J]. 北京林业大学学报,2002,24(5): 230-234.
- [15] 陈发棣,陈佩度,房伟民,等. 栽培小菊与野生菊间杂交一代的细胞遗传学初步研究[J]. 园艺学报,1998,25(3): 308-309.
- [16] 陈发棣,陈佩度,李鸿渐. 几种中国野生菊的染色体组分析及亲缘关系初步研究[J]. 园艺学报,1996,23(1): 67-72.

## 黄独脱毒苗快繁技术的研究

尹明华,洪森荣\*

(上饶师范学院 生命科学系,江西 上饶 334001)

**摘 要:**目的 以黄独脱毒苗为试材,研究不同因素对黄独带芽茎段芽增殖和生根的影响,以期对黄独脱毒苗的快繁技术进行优化。方法 采用植物组织培养的方法进行茎尖培养和快繁研究,采用 RT-PCR 法对茎尖脱毒植株进行病毒检测。结果 黄独脱毒苗带芽茎段的最佳培养基是 MS+KT 2 mg/L+6-BA 1 mg/L+NAA 0.5 mg/L;黄独脱毒苗带芽茎段增殖的最佳蔗糖质量浓度和琼脂质量浓度分别是 30 和 0 g/L;黄独脱毒苗带芽茎段生根的最佳培养基是 1/2 MS+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.5 mg/L+PP<sub>333</sub> 1 mg/L;黄独试管苗移栽的最好基质是珍珠岩:蛭石(2:1);黄独试管苗移栽时最佳的 PP<sub>333</sub> 质量浓度是 50 mg/L。结论 首次成功建立了黄独脱毒苗的快繁技术,为黄独脱毒苗的工厂化生产奠定了技术基础。

**关键词:**黄独;脱毒苗;快繁技术;优化

中图分类号:R282.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)12-1975-05

### Rapid propagation technology of *Dioscorea bulbifera* virus-free plantlets

YIN Ming-hua, HONG Sen-rong

(Department of Life Sciences, Shangrao Normal University, Shangrao 334001, China)

**Abstract: Objective** Effects of different factors on proliferation and rooting of stems with a bud were studied by using *Dioscorea bulbifera* as test material to optimize the rapid propagation system of *D. bulbifera* virus-free plantlets. **Methods** Plant tissue culture method was used in shoot tip culture and rapid

收稿日期:2009-02-05

基金项目:江西省教育厅科技一般项目(GJJ09374);上饶师范学院 2009-2010 年度院级科技项目(SR0911)

作者简介:尹明华,女,硕士,讲师,研究方向为生物技术。

\* 通讯作者 洪森荣