

观赏植物组织培养研究进展

唐道城, 梁顺祥

(青海大学高原花卉研究中心, 青海 西宁 810016)

摘要:文中从观赏植物组织培养的基本培养基、生长调节物质、外植体材料以及培养中温光条件的研究动态进行了归纳和总结, 并对观赏植物组织培养中存在的问题进行了剖析。

关键词:观赏植物; 组织培养; 研究现状; 存在问题

中图分类号:S68; Q813.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-8996(2006)04-0005-05

Research advance on tissue culture of ornamental plant

TANG Dao - cheng, LIANG Shun - xiang

(Plateau Flower Research Center of Qinghai University, Xining 810016, China)

Abstract: The paper summarized the research achievements on the basic culture medium, growth regulators, explants and temperature and light condition in tissue culture of ornamental plants, and analyzed problems and put forward the measure of further research in tissue culture.

Key words: ornamental plant; tissue culture; research status; exiting problems

观赏植物组织培养研究已涉及到蕨类植物门、裸子植物亚门、被子植物亚门、单子叶植物纲、双子叶植物纲。到目前为止, 已对 88 科, 619 个种或变种的观赏植物进行过组织培养技术的研究^[1,2]。其中 118 种植物能产生胚状体, 60 种植物能通过花药诱发花粉愈伤组织获得再生植株^[1,3,4]。尤其是在 1960 年 G. Morel 采用兰属(*cymbidium*) 茎尖培养获得成功, 将 66 属以上的兰花植物纳入了试管繁殖体系, 24 种兰花获得了花粉植株, 促进了我国观赏植物组织培养技术的研究^[1,3]。

1 观赏植物组织培养技术研究现状

1.1 基本培养基的研究与应用

基本培养基目前几十种, 并由广普型逐渐向专用型转化。多数植物和器官采用 MS 基本培养基, 部分植物和器官已经研究出专用型培养基。如杜鹃茎段培养的 kyte&Briggs 和 Athanasios&Read 培养基、兰属微繁殖的 Wimber 培养基、卡德兰微繁殖的 Knudon C 改良培养基等。不同种类的植物在培养过程中需要的营养不一致, 选用的培养基种类不同^[1,3,4], 不同外植体和不同培养目的的基本培养基也不相同, 如 Kyte&Briggs 用于杜鹃茎切段培养, 在启动与茎增殖阶段的各种无机物及激素含量均高于生根阶段的含量; 用于卡德兰微繁殖的培养基, 在启动、增殖和生根阶段, 其培养基的无机物、有机物、激素的种类及用量均不相同。用于植物茎尖培养的培养基, 目前使用频率最高的有 MS、Morel、Morel&Martin、Kassanis、Nilsen、Morel&Muller、Mori、Wang&Huang、Baker&Kinnaman 等; 用于花药培养的培养基有 MS、N₆、马铃薯-2、W₁₄、C₁₇; 用于大麦胚培养的培养基有 B-II、C-17、C-21、C-45; 以及适于低密度下培养原生质体的 KM₈P 培养基等^[1,3]。总之, 除个别植物或器官对基本培养基有特殊要求之外, 大多数用器官作外植体繁殖的培养基, 以 MS 使用频率最高, 多数是在无机盐、激素、有机物用量上稍有差异。

1.2 植物生长调节物质在组织培养中的地位与作用

植物生长调节物质能以微小的量影响细胞分化、分裂、发育等生理活动。常用于组织培养的生长调

收稿日期: 2006-03-10

作者简介: 唐道城(1954—), 男, 四川蓬安人, 教授, 硕士。研究方向: 球根花卉栽培生理。

节物质有生长素类、细胞分裂素类和赤霉素类。

1.2.1 生长素类 生长素类的生理作用主要是促进细胞伸长生长、细胞分裂、诱导愈伤组织形成和促进生根^[1,3,4]。常用的生长素有 IAA、IBA、NAA、NOA、P-CPA、2,4-D 和 2,4,5-T。其中 IBA 和 NAA 广泛用于生根,并能与细胞分裂素互作促进茎的增殖。尤其以 NAA 使用频率最高^[1,3,5,6]。2,4-D 药剂活性最强,IAA 活性最弱。在相同用量下,IBA、NAA 的活性相当于 IAA 的 3~4 倍,而 2,4-D 的活性却相当于 IAA 的 10~20 倍,因此在使用 2,4-D 时需要十分谨慎,它对芽形成有抑制作用,适宜用量范围狭窄,过量易产生毒害反应,一般用于细胞启动脱分化阶段,诱导分化阶段使用 NAA 或 IBA、IAA 较好,对于 NOA、P-CPA、2,4,5-T 用得比较少^[1,3]。不同植物和器官在用量上差异很大,一般用量 IAA 为 0.01~2.0 mg/L,IBA 为 0.05~5.0 mg/L,NAA 为 0.01~4.0 mg/L,2,4-D 为 0.1~5.0 mg/L。

1.2.2 细胞分裂素类 细胞分裂素的生理作用主要是促进细胞分裂和愈伤组织或器官分化不定芽。常用的细胞分裂素有 BAP、6-BA、ZT、Ad、2-ip、KT,其中 6-BA 和 KT 使用频率最高^[1,3,5-11]。几种主要细胞分裂素用量一般 6-BA 为 0.02~5.0 mg/L,KT 为 0.02~4.0 mg/L,ZT 为 0.1~3.0 mg/L。

1.2.3 赤霉素类 赤霉素的生理作用是能诱导茎的细胞伸长和形成层的细胞分化,并能刺激不定胚发育成小植株。赤霉素有 20 多种(外源赤霉素),在组织培养中常用 GA₃^[1,3,11],其用量一般在 0.01~3.0 mg/L 之间。

1.2.4 植物种类、器官不同,适宜的植物生长调节剂种类及搭配比例不同 生长素和细胞激动素对于郁金香鳞茎再生、不定芽分化是必不可少的^[9,12,13]。百合叶片在高浓度 NAA 和低浓度 BA 的培养基中,能形成完整植株,但幼苗根部出现肿胀现象;在高浓度 BA 和低浓度 NAA 培养基中能形成大量小鳞茎状突起,并分化出芽,但不长根;在 1mg/L IAA 和 0.2 mg/L BA 培养基中能形成许多正常的完整植株;根系小切段在 2 mg/L BA 和 0.2 mg/L NAA 培养基中,茎段、花柱、珠芽在 1 mg/L IAA 和 0.2 mg/L BA 的培养基中都能分化出苗;鳞茎盘在 1 mg/L KT 和 0.5 mg/L NAA 的培养基中能形成很多芽;鳞片在 0.03 mg/L NAA 培养基中的芽苗繁殖系数最高^[1,14-24]。木本花卉类,一般生长素为 0.01~3.0 mg/L,细胞分裂素为 0.1~3.0 mg/L;草本花卉类,一般生长素为 0.01~3.0 mg/L,细胞分裂素为 0.1~3.0 mg/L;如宿根花卉类,生长素一般在 0.01~4.0 mg/L,细胞分裂素在 0.1~10.0 mg/L 之间。

1.2.5 同一外植体,激素的种类及配合比例因培养目的而异 风信子的愈伤组织形成、生长与分化受生长素种类、含量以及培养物的影响,降低 BA 或 NAA 的浓度,小鳞茎形成明显增加,但 GA₃ 对风信子小鳞茎生长没有作用。PP₃₃₃对唐菖蒲根、叶生长有抑制作用,但对鳞茎形成有促进作用^[10,25-27]。郁金香以鳞片为材料,当只有 6-BA 而无 NAA 时,外植体可不经愈伤组织阶段直接诱导成苗;当只含 NAA 时,外植体只形成愈伤组织却不能分化苗;当既有 6-BA 又有 NAA 时,外植体先形成愈伤组织而后分化形成苗,说明直接诱导成苗,还是经愈伤组织分化成苗,6-BA 都是不可少的^[9]。郁金香小苗形成鳞茎有两条途径,一是小苗经一段时间培养,由茎基膨大分化小鳞茎;二是小苗培养一段时间后,在茎基先形成根茎,当根茎向下生长一定长度后,尖端膨大形成鳞茎,但低浓度 NAA(0.1 mg/L)和 KT(0.1 mg/L)为 1:1 时有利于茎基鳞茎形成,诱导率可达到 60%。当 KT 浓度升高时诱导率迅速降低,浓度达到 5 mg/L 时不能诱导茎基鳞茎形成。利用根茎末端形成鳞茎,IAA 和 IBA 无论是单独使用还是与 6-BA 结合使用都不能诱导小苗形成根茎鳞茎,唯有 GA₃ 无论是单独使用还是与 6-BA 结合使用都能诱导小苗先长出根茎,然后在根茎末端形成鳞茎,并以 2 mg/L 诱导率最高^[9]。直接用郁金香鳞片诱导鳞茎形成,单独使用 NAA 时,鳞茎形成率随着 NAA 浓度的升高而逐渐增加;单独应用 KT,其浓度与鳞茎形成率间的差异不显著;高浓度的 NAA 和 KT 结合则使鳞茎形成明显受阻,当 NAA 和 KT 以适当浓度相结合时,既能获得较高鳞茎形成率又能促进小鳞茎的生长^[9,12,28,29]。

1.3 组织培养中外植体的使用

用于组织培养的外植体超过 104 种,其中用苗作外植体的使用频率最高,苗 > 茎部 > 芽部 > 花部 > 叶部 > 其他(同质配子体、孢子体、生长点、种子、嫩果、分生组织、雌配子体) > 根部。从器官使用频率来看,不定苗(含 C 不定苗) > 叶(含幼叶) > 茎段(含茎节、节间、茎基、幼茎) > 茎尖和小植株(含小苗) >

芽和不定芽^[1,4-10,12-17,30-34]。用花器官作为外植体,以花茎、花序使用频率最高。不同植物种类,培养成功率高的外植体也不相同,蕨类多用同质配子体或孢子体,球根花卉多用球根、鳞片、鳞茎、球茎、花茎和花器官,草花多用苗作外植体^[1,3]。同种植物不同器官作外植体成功率差异很大,郁金香栽培种‘Halcro’的花药、花丝和花瓣在离体培养中都不易诱导脱分化启动;幼叶和幼嫩子房虽然能诱导形成小苗,但诱导率太低;鳞片的诱导率稍高;花茎的诱导率最高^[9]。风信子以花蒂为材料培养小鳞茎,比花芽为材料要少。此外,外植体发育时期及大小对愈伤组织的诱导率也不一致,所以选择适当的外植体是组织培养成功与否的关键^[1,3,9]。

1.4 组织培养的环境条件

植物组织培养强烈地受培养温度、光照、湿度等因子的影响,本文主要选择温度和光照进行阐述。

1.4.1 温度对组织培养的影响 试管植物细胞生长的最适温度一般在 25~30℃,然而不同的品种却有相当大的差别^[4]。由表 1 可知,不同植物种类、不同外植体的培养温度、炼苗温度和定值温度差异很大。有些植物在组织培养中需要低温或变温处理,例如郁金香鳞片在 5℃下培养,愈伤组织形成少,不形成不定芽,主要是低温引起了鳞片中某种特殊蛋白质的活性消失,降低了鳞片组织的生理活性,导致鳞片不定芽形成受阻,但是将培养中的植物幼芽置于 5℃冷处理,可诱导新形成的不定芽近基部形成新的小鳞茎,而在 25℃左右的条件下培养,只形成不

定芽,小子球不能发育肥大^[2]。

表 1 不同观赏植物组培苗繁育过程中的适宜温度(单位:℃)

| 观赏植物类型 | 培养温度 | 炼苗温度 | 定植环境温度 |
|--------|-------|-------|--------|
| 多数植物 | 22~26 | 22~28 | 18~28 |
| 仙人掌类 | 24~26 | 22~26 | 18~28 |
| 喜温植物 | 26~28 | 26~30 | 18~30 |
| 蕨类植物 | 22~30 | 24~28 | 15~30 |
| 兰花 | 22~28 | 20~26 | 18~25 |
| 喜温球根花卉 | 24~26 | 20~25 | 15~25 |
| 冷凉球根花卉 | 10~20 | 12~18 | 10~20 |
| 木本花卉 | 23~26 | 22~28 | 15~28 |

注:资料来源由唐道城提供(2005年)。

1.4.2 光对组织培养的影响 影响组织培养的光照特性通常为光质、光强和光照时间^[35]。在花叶芋培养中不同光质处理对苗的形态没有明显影响,但对培养物总量、器官发生先后和多寡均产生影响^[36,37]。康乃馨在白光下的生物产量最高,其次是红光,而蓝光和绿光则有利于侧芽的形成^[9]。蓝光能促进唐菖蒲子球切块出苗和蹄纹天竺葵愈伤组织生长与侧芽的产生,并抑制胡萝卜和爬山虎愈伤组织生长,这种差异主要是蓝光谱区不同波长和不同辐射强度所致。此外,蓝光还有利于提高茎叶里还原糖含量,但对总糖含量影响不大,蓝光也有利于蛋白质含量的增加^[11]。黄光能提高茎叶的核酸含量和诱导芽的发生频率^[11]。其他光质对愈伤组织及芽的形成也有影响,爬山虎茎尖培养受近紫外光(360 nm)和绿光(550 nm)的抑制,近紫外光也抑制烟草愈伤组织生长和芽的发生,高波长紫外光和蓝光对愈伤组织分化和侧芽的形成有抑制作用,主要是降低 IAA 氧化酶活性,破坏了维生素 B₁₂等^[11]。长波光对愈伤组织和芽形成的促进或抑制,因植物种类而异,但都能增加绿色愈伤组织分离出单细胞的满皿效率和抑制无绿色愈伤组织分离出的细胞生长及原生质体培养的满皿效率^[11]。

组织培养通常不进行自养生长(特殊情况例外),不需要很强的辐射^[11,35]。1/1 000 lx能诱导根的形成,300~500 lx可满足光周期的要求^[1],2 000~4 000 lx为组织培养适宜的光照强度。向日葵、爬山虎和胡萝卜等愈伤组织的生长最适照度为3 500 lx,1 000 lx也能维持生长^[1,11],但在培养系建立阶段和中间繁殖阶段以 500~1 000 lx为宜,在生根壮苗阶段以 3 000~5 000 lx为宜,最高可达10 000 lx^[1]。绝大多数植物组织培养的适宜光照强度在1 000~2 000 lx之间,植物种类间的差异相对较小,最低强度在 500~1 000 lx,最高强度可以达到2 000~6 000 lx。

光照时间的长短因植物的感光性及培养目的而异。每天大约1 000 lx冷荧光灯照射 16 h能满足石刁柏、非洲菊、虎耳草属和凤梨属培养的需要,12 h光照能促进菊芋块茎切段形成苗,15~16 h光照天竺葵愈伤组织形成的芽最多,16~24 h光照能诱导牵牛茎尖分生组织生长和形成小植株,但形态发生不受全光照的抑制,16 h光照和长期黑暗培养均能诱导花叶芋的幼叶切块形成胚状体和小植株。大多数植物在愈伤组织和芽诱导期间保持 10~12 h的光照即可,需要较长时间光照的可以达到 12~16 h,在培养期间需要较短光照的可以达到 8~10 h。多数植物也能适应 16 h光照,8 h黑暗的昼夜循环^[1,11]。

2 观赏植物组织培养存在的问题及其改进

2.1 研究范围广,系统性差 目前几乎所有观赏植物都曾进行过组织培养,但多数局限于培养的最终结果或围绕结果的几个重要因素的研究,如愈伤组织、脱分化、不定芽或小植株的培养基选用、激素种类与比例、外植体选择等,而对组织培养过程中的阶段性和各个阶段中环境因子,如温、光、湿、pH、CO₂/O₂等的协同性研究较少,所以对不同种类植物组培的系统化研究尤为重要。

2.2 侧重具有代表性的研究,提高精确度、减少重复性研究 有关组织培养方面的研究报道、重复性研究很多,但试验结果的可重复性较差,多数报道只有结果,对所采用的技术手段和原因分析较少。组织培养应注意植物种类、外植体、基本培养基、激素类型与配比、环境因子和培养方式的代表性,能量化指标,提高量化指标的精确度、实验结果的可重复性和应用性,确保研究项目的先进性和成果的真实性。

2.3 简化组织培养常规程序,降低生产成本 组培繁殖的常规程序是外植体→脱分化→分化→芽苗→生根苗→异养与自养过渡期→自养型生产。表现出环节多、耗时长、消费大。为了提高效率,应根据培养目的,研究出相应简化的培养程序和低成本的培养基。

2.4 理论研究要与生产应用相结合 在二十世纪 70 年代,我国曾掀起过花粉培养的热潮,近几年受基因工程、分子生物学研究的引导,出现了单细胞、分子水平方面的组织培养研究热潮。具备技术条件的研究部门攻克尖端性的理论研究很有必要,多数研究部门和研究工作者要立足于应用技术的研究。尽管已对 88 科,619 个种或亚种的观赏植物进行过组织培养,但 90% 以上的成果仅局限于实验室,而用于工厂化规模生产的观赏植物种类不足 10%。因此,必须加强和重视应用成果的研究与转化。

2.5 加强培养物进入自养阶段的环境协同性研究 培养物的异养阶段在室内比较优越的条件下完成。从室内转移到室外,由无土栽培转到有土栽培,由异养到自养,是一个质变过程。对于组织培养,仅注意前一个阶段,而忽视后一个阶段,致使许多研究成果仅局限于实验。如香石竹在进入自养阶段后,仍然需要经历过渡圃→母本圃→母本圃→生产苗;球根类花卉需要在优越的温、光、水、土、肥、气等条件下进行体积上的多年增长,这些过程都在一个开放或半开放的环境系统中进行,需要较长的时间才能成为生产用材,如果不加强这一阶段的环境协调性研究,室内研究成果在未进入大田生产之前就有可能夭折或遭到病原菌的再侵染。所以只有充分认识到自养增殖阶段的重要性,并加强在运用技术方面的研究,才能使组织培养技术的优越性得到充分发挥。

参考文献:

- [1] 谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991.
- [2] Stimart D P, Ascher D P. Foliar Emergence from Bulblets of *Lilium longiflorum* Thunb. as related to in Vitro Generation Temperatures [J]. Amer Soc Hort Sci, 1981, 106: 446 - 450.
- [3] 李浚明.植物组织培养教程[M].北京:北京农业大学出版社,1991.
- [4] 罗士韦.植物组织与细胞培养研究工作进展及其应用[J].植物生理学报,1978,4(1):91 - 112.
- [5] 陈扬春.不同激素对非洲紫罗兰体细胞培养中形态发生途径的影响[J].园艺学报,1987,14(1):57 - 59.
- [6] 黄济明.百合的组织培养和试管内诱发多倍体试验[J].园艺学报,1983,10(2):125 - 127.
- [7] 刘敏,舒金生.垂笑君子兰的组织培养[J].园艺学报,1984,11(1):47 - 49.
- [8] 李招文,唐道一.水仙组织培养的研究[J].园艺学报,1982,9(4):65 - 68.
- [9] 陆文梁,王雪洁,宋慧芬.郁金香组织培养及器官分化的研究[J].园艺学报,1986,13(1):55 - 60.
- [10] 金波,王纪方,贾春兰.唐菖蒲组织培养研究初报[J].园艺学报,1984,11(2):123 - 128.
- [11] Saga wa Y. 花卉作物的微繁殖[J].国外作物组织培养,1992,30:71 - 102.
- [12] 谢亚红,吴雪萍,宋慧芬.郁金香的组织培养[J].植物生理学通讯,1985,(4):36.
- [13] 杨乃博.试管植物名录(增补一)[J].植物生理学通讯,1985,(3):53 - 73.
- [14] 若祝平,郑国辑.从百合花诱导花粉植株的研究[J].植物学报,1982,24(1):28 - 32.
- [15] 陈为民,宋为民.卷丹和青岛百合的组织培养及植分化[J].植物生理学通讯,1982,(2):35 - 36.
- [16] 陈为民.百合立体培养再生植株[J].植物生理学通讯,1983,(3):44.
- [17] 解继能.宜昌百合的快速繁殖[J].植物生理学通讯,1987,(3):41.

- [18] Matsuo E. Cultural Practices Influencing Premature Daughter Leaf and/or Shoot Emergence in Scale-propagated Easter Lily[J]. HortScience, 1982, 17:196-198.
- [19] Matsuo E. Scale Bulblet Malformations Seen in Liliium Longiflorum during Scale Propagation[J]. HortScience, 1986, 21(1): 150.
- [20] Novak F J. Tissue Culture Propagation of Liliium Hybrids[J]. Scientia Hort, 1981, 14(2): 191-199.
- [21] Stimart D P, Ascher P D. Tissue Culture of Bulb Scale Sections for Asexual Propagation of Liliium Longiflorum Thunb[J]. Amer Soc Hort Sci, 1981, 103: 182-184.
- [22] Takayama S. Differentiation in Liliium Bulb Scale Grown in Vitro[J]. Physiologia Plantarum, 1979, 46: 184-190.
- [23] Takayama S, Misawa M. Differentiation in Liliium Bulb Scales Grown in Vitro, Effect of Activated Charcol, Physiological Age of Bulbs and Sucrose Concentration on Differentiation and Scale Leaf Formation in Vitro[J]. Physiol Plant, 1980, 48: 121-125.
- [24] Takayama S. Cultivation on in Vitro-Propagated Liliium Bulbs in soil[J]. Amer Soc Hort Sci, 1982, 107(5): 830-834.
- [25] 李 洲. 唐菖蒲叶片、花轴立体培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯, 1982, (4): 33-34.
- [26] 王庆云. 唐菖蒲球茎芽的立体培养[J]. 植物生理学通讯, 1983, (6): 40-41.
- [27] Hussey G. In Vitro Propagation of Gladiolus by Precocious Axillary Shoot Formation[J]. Sci Hort, 1977, (6): 237.
- [28] 杨乃博. 郁金香鳞茎、心叶的不定芽分化[J]. 植物生理学通讯, 1985, (4): 37.
- [29] Wright N A, Alderson P G. The Growth of Tulip Tissue in Vitro[Z]. Acta Horticulturae, 1980, 109: 263-270.
- [30] 顾亨森, 高翠华. 植物激素对水仙鳞茎切块愈伤组织的诱导、保持和器官分化的影响[J]. 园艺学报, 1987, 14(1): 53-56.
- [31] 徐玉冰. 麝香石竹的花器培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯, 1986, (3): 42.
- [32] 刘继红. 大花君子兰叶片培养成苗[J]. 植物生理学通讯, 1987, (5): 46.
- [33] 陈为民. 大花君子兰子房、花托和花丝培养再生植株[J]. 植物生理学通讯, 1986, (3): 46.
- [34] 刘 敏, 舒金生. 君子兰未成熟胚的试管培养[J]. 植物生理学通讯, 1983, (4): 43.
- [35] Appelgren M. Effects of Supplementary Light to Mother Plants on Adventitious Shoot Formation in Flower Peduncle Segments of Begonia \times hiemalis Fotsch in Vitro[J]. Scientia Horticulturae, 1985, 25(1): 77-83.
- [36] 谭文澄, 载策刚. 花叶芋的液体静置培养快速繁殖[J]. 云南植物研究, 1987, 9(3): 348-352.
- [37] 王绶衍. 彩叶芋的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 1985, (3): 26-27.

(责任编辑 杨君丽)

(上接第 4 页)

- [8] Kumar S, Tamura K, Jakobsen B I, et al. MEGA 2: Molecular evolutionary genetics analysis software[M]. Tempe: Arizona State University, 2001.
- [9] Schneider S, Roessli D, Excoffier L. ARLEQUIN Version 2.000: A software for population genetic data analysis[M]. Switzerland: University of Geneva, 2000.
- [10] Nei M. Molecular evolutionary genetics[M]. New York: Columbia University Press, 1987.
- [11] Cantatore P, Roberti M, Pesole G, et al. Evolutionary analysis of cytochrome b sequences in some perciformes: evidence for a slower rate of evolution than in mammals[J]. J Mol Evol. 1994, 39: 589-597.
- [12] Kocher T D, Thomas W K, Meyer A, et al. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers [J]. Proc Natl acad sci, USA, 1989, 86: 6196-6200.
- [13] Cassel A, Tammaru T. Allozyme variability in central, peripheral and isolated populations of the scarce heath (Coenonympha hero: Lepidoptera, Nymphalidae): implications for conservation[J]. Conservation Genetics, 2003, 4: 83-93.
- [14] 赵 凯, 李俊兵, 杨公社, 等. 青海湖及其相邻水系特有裸鲤属鱼类的分子系统发育[J]. 科学通报, 2005, 50(13): 1348-1355.
- [15] 王基琳, 郑英明, 邢定介. 青海湖裸鲤饵料基础调查报告[A]. 青海省生物研究所. 青海湖地区的鱼类区系和青海湖裸鲤的生物学 [C]. 北京: 科学出版社, 1975. 77-102.
- [16] Alves M J, Coelho H, Collares-pereira M J, et al. Mitochondrial DNA variation in the highly endangered cyprinid fish *Anaecypris hispanica*: importance for conservation[J]. Heredity, 2001, 87: 463-473.
- [17] Mesquita N, Carvalho G, Shaw P, et al. River basin-related genetic structuring in an endangered fish species, *Chondrostoma lusitanicum*, based on mtDNA sequencing and RFLP analysis [J]. Heredity, 2002, 86: 253-264.
- [18] Billington N, Hebert P D N. Mitochondrial DNA diversity in fishes and its implications for introductions[J]. Can J Fish Aquat Sci, 1991, 48(suppl. 1): 80-94.
- [19] 李吉钧, 方小敏, 潘保田, 等. 新生代晚期青藏高原强烈隆起及其对周边环境的影响[J]. 第四纪研究, 2001, 21(5): 381-391.

(责任编辑 杨君丽)