

冰灯玉露愈伤组织诱导再生体系及组培苗形态建成研究

杨玉珍, 张耀武 (南阳农业职业学院植物组织培养中心, 河南南阳 473000)

摘要 [目的]建立高效的愈伤组织诱导不定芽离体再生体系。[方法]以多肉植物冰灯玉露叶片为外植体试材,探究不同激素浓度处理对其松散型胚性愈伤组织诱导、不定芽分化、丛生芽增殖及正常形态建成、炼苗硬化的影响。[结果]冰灯玉露愈伤组织诱导最佳培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+2,4-D 0.8 mg/L+NAA 1.0 mg/L,愈伤组织诱导分化不定芽最佳培养基为 MS+6-BA 0.6 mg/L+NAA 1.0 mg/L,不定芽增殖倍数达到 4.7 倍,增殖苗形态健壮;在 20 °C 的培养温度、2 500 lx 的光照强度下,采用 1/2MS+IBA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 为形态建成壮苗培养基,可获得生长形态正常(与品种特性相一致)的组培苗,减少畸形苗的产生,同时也会缩短组培苗移栽成苗的时间。[结论]该研究可为冰灯玉露的快繁技术提供支持。

关键词 冰灯玉露;愈伤组织;不定芽;形态建成;畸形苗

中图分类号 S 682.33 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)18-0085-05

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2022.18.021



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on Callus Induction and Regeneration System and Morphogenesis of Tissue Culture Seedlings of *Haworthia cooperi*

YANG Yu-zhen, ZHANG Yao-wu (Center of Plant Tissue Culture, Nanyang Vocational College of Agriculture, Nanyang, Henan 473000)

Abstract [Objective] To establish an efficient regeneration system of callus induced adventitious buds *in vitro*. [Method] The leaves of the succulent plant *Haworthia cooperi* were used as explants to explore the effects of different stimulants, concentrations and treatments on the induction of loose embryogenic callus, adventitious bud differentiation, cluster bud proliferation, normal morphogenesis, seedling refining and hardening. [Result] The results showed that the best medium for callus induction was MS+6-BA 0.5 mg/L+2,4-D 0.8 mg/L+NAA 1.0 mg/L, and the best medium for adventitious bud differentiation was MS+6-BA 0.6 mg/L+NAA 1.0 mg/L. The multiplication ratio of adventitious buds reached 4.7 times, and the morphology of proliferating seedlings was robust. Under the conditions of 20 °C culture temperature, 2 500 lx light intensity, using 1/2 MS+IBA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L as the strong seedling culture medium was established, the tissue culture seedlings with normal growth morphology (consistent with the variety characteristics) can be obtained, which can reduce the generation of *Haworthia cooperi* abnormal seedlings in tissue culture rapid propagation and shorten the time of *Haworthia cooperi* tissue culture seedlings transplanting into seedlings. [Conclusion] This study can provide technical support for the rapid propagation technology of *Haworthia cooperi*.

Key words *Haworthia cooperi*; Callus; Adventitious bud; Morphogenesis; Deformed seedling

冰灯玉露为百合科十二卷属中软叶类多肉植物,原产于南非,植株低矮,叶片呈莲座状紧凑排列,叶色碧绿,叶片顶端具晶莹剔透的透明窗,“窗”大而透亮,具有较高的观赏价值,故名为“玉露”^[1-2],是百合科具有代表性的花卉品种,具有良好的市场前景,受到园艺工作者和花卉爱好者的青睐。近年来,我国和日本园艺工作者将从海外引进的玉露品种通过筛选,选择特征明显的优秀良种,再经过不同品种间相互授粉、育苗、选种的过程培育出冰灯玉露、紫肌玉露等精品玉露^[1-5],为保证这些精品玉露的优良性状,通常采用叶插和底座繁殖等无性繁殖方式,这些繁殖方法易损害母本,然而玉露本身生长速度慢,繁殖系数小,繁殖速度极慢,难以满足市场需求,导致其价格居高不下。近年来,采用组培快繁技术对多肉植物进行繁殖的研究较多,而由于常规育种一些新的性状很难通过杂交的方法获得,通过组织培养诱导愈伤组织建立遗传转化体系进行诱变育种、体细胞杂交、转基因技术等种质变异研究,是培育新品种的重要途径,因此,获得胚性愈伤组织是种质创新育种的关键。

通过组织培养技术繁殖的商品苗,在外观形态上与分株或播种繁殖苗存在明显差异,其中组培苗基部叶片细长畸形,观赏效果差,将这些叶片去除后导致植株整体形态不完

整,从而失去观赏价值。这是由于瓶中移栽出的组培苗叶片细长,厚度不足,整体植株细弱,生长势不强,有些组培苗不生根,即使生根也很细弱,且容易烂掉,导致组培苗需要数月乃至更长时间的驯化硬化阶段,新生叶才能恢复其正常的品种特征,呈现出观赏特征^[1,3,6-7],这种情况不仅增加了培养时间,提高了生产成本,还影响了商品价值,从而使这一技术的应用受限。然而,探索在组培增殖阶段和壮苗阶段克服这项技术难题,目前在该领域鲜见报道。笔者以冰灯玉露叶片作为外植体,诱导产生松散的胚性愈伤组织^[2],进行离体再生,研究不同激素组合、培养方式对诱导松散型愈伤组织、诱导不定芽建立再生体系及建成促进正常形态的影响,建立一套完整的组织培养植株再生体系,旨在为冰灯玉露遗传变异、转基因育种及快速繁育优良新种质提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料 供试材料为冰灯玉露。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的选取和预处理。将冰灯玉露基部成熟叶片摘下,用洗涤剂溶液浸泡 5 min 左右,用软毛刷仔细清洗,用自来水冲洗 1 h。

1.2.2 外植体的灭菌与初代培养。在超净工作台上,将预处理的外植体叶片用 75% 乙醇溶液灭菌 10 s,然后将 0.1% HgCl₂ 溶液倒入烧杯中灭菌 14 min,再用无菌水冲洗 5 遍后,将叶片接种在不同初代培养基上。选取 MS 培养基为基本培养基,3% 蔗糖,0.5% 琼脂,pH 5.6。以 6-BA、2,4-D 和 NAA 3

基金项目 南阳市百项科技创新项目(2014-64-94);河南省教育厅科研项目(2021SJGLX911);南阳市科技攻关项目(KJGG138)。

作者简介 杨玉珍(1972—),女,河南南阳人,副教授,硕士,从事农林专业教学与植物组培科研工作。

收稿日期 2021-11-17

种激素的较低水平进行组合试验^[2-4,8],每处理10瓶。接种25 d后观察愈伤组织诱导情况。培养条件:光照强度2 500 lx,光照时间12 h,温度(23±1)℃。

1.2.3 不定芽诱导培养。愈伤组织培养一段时间后,自叶片基部切下转入不定芽诱导培养基中,选取6-BA和NAA进行不同浓度的组合配比试验^[1-2,6-9],以MS培养基为基本培养基。每处理20瓶,20 d后观察不定芽诱导情况,筛选最佳增殖培养基。不定芽增殖到一定数量后,转入丛生芽增殖培养基。

1.2.4 丛生芽增殖培养。当丛生芽长到1.5~2.5 cm,具3~4片叶时自底部切下,转入生根增殖培养基上进行继代增殖,每瓶接种5株小苗。选择1/2MS为基本培养基,以不同浓度的NAA和NAA进行增殖培养试验^[1,7,9-10],附加0.3%活性炭,接种30 d后调查幼苗生长情况。

1.2.5 不同激素对冰灯玉露形态建成的影响。经过增殖培养获得的冰灯玉露组培苗在移栽前形态与自然生长苗存在较大差异。为了在移栽前对组培苗进行形态重建,将组培苗转移至含有不同激素的培养基上进行培养^[3,7,9-10],以获得生长外形与自然状态下一致的幼苗。每瓶加入50 mL培养基,每处理20瓶,每瓶接种2个再生苗。培养条件:25℃,24 h连续光照,光照强度2 000 lx。接种后每天观察再生苗的生长情况,经过约40 d培养,观察再生苗在不同培养基上的形态变化情况。

1.2.6 不同光照强度对冰灯玉露形态建成的影响。冰灯玉露形态重建苗在炼苗移栽阶段温度和光照都会影响其性状,通常在温室温度保持在20~28℃时进行炼苗移栽,这时光照强度对组培苗的形态影响较大。先带瓶置于加盖遮阳网的大棚中不开盖进行过渡炼苗,7 d后逐步开盖,清洗培养基,栽植到蛭石、小石子、草炭土、粗沙混合培养土上,防止强光照射。

对比炼苗阶段不同光照强度对提高形态重建率的影响,采用4 000、3 000、2 500、2 000、1 500 lx的光照强度对冰灯玉露小苗进行炼苗硬化。

2 结果与分析

2.1 不同激素对比对愈伤组织诱导的影响 外植体叶片在愈伤组织诱导培养基上培养25 d后,观察统计愈伤组织生长情况,结果见表1。由表1可知,使用低浓度6-BA和NAA组合愈伤组织诱导率低,愈伤组织较硬,不利于下一阶段不定芽的诱导;添加2,4-D后诱导率较高,2,4-D浓度≥0.8 mg/L时,更有利于疏松愈伤组织的诱导,浓度越高,愈伤组织越疏松,颜色越淡,甚至出现玻璃化现象。通过图1对比分析发现,添加低浓度6-BA有利于愈伤组织的形成,但浓度为1.0 mg/L时有部分不定芽萌出。综合分析可知,冰灯玉露愈伤组织最佳诱导培养基为MS+6-BA 0.5 mg/L+2,4-D 0.8 mg/L+NAA 1.0 mg/L,愈伤组织分割后继续培养能增殖出大量疏松的愈伤组织,是后期遗传转化研究和离体再生植株的最佳材料。

表1 愈伤组织诱导培养基激素配比

Table 1 Hormone ratio of medium for inducing callus

| 配方编号 Recipe number | 不同激素配比 Different hormone ratios//mg/L | | | 诱导率 Induction rate//% | 愈伤组织诱导情况 Growth of the callus |
|-----------------------|---------------------------------------|-------|-----|--------------------------|----------------------------------|
| | 6-BA | 2,4-D | NAA | | |
| 1 | 0.2 | — | 1.0 | 40 | 愈伤组织质地硬,呈黄白色 |
| 2 | 0.2 | — | 0.5 | 52 | 愈伤组织质地较致密,后期由绿色变成白色 |
| 3 | 0.2 | 0.5 | 0.5 | 86 | 愈伤组织质地较疏松,部分白色至黄褐色 |
| 4 | 0.5 | 0.5 | — | 72 | 愈伤组织较疏松,呈黄绿色 |
| 5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 90 | 愈伤组织较疏松,呈淡绿逐渐转黄色 |
| 6 | 0.5 | 0.8 | 1.0 | 100 | 愈伤组织质地松散,一触即碎,呈淡绿色 |
| 7 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 100 | 愈伤组织质地较疏松,呈淡黄色,有不定芽形成,轻度玻璃化 |
| 8 | 1.0 | 1.5 | 0.5 | 100 | 愈伤质地松散,有不定芽形成,呈黄白色后期变褐,玻璃化较严重 |

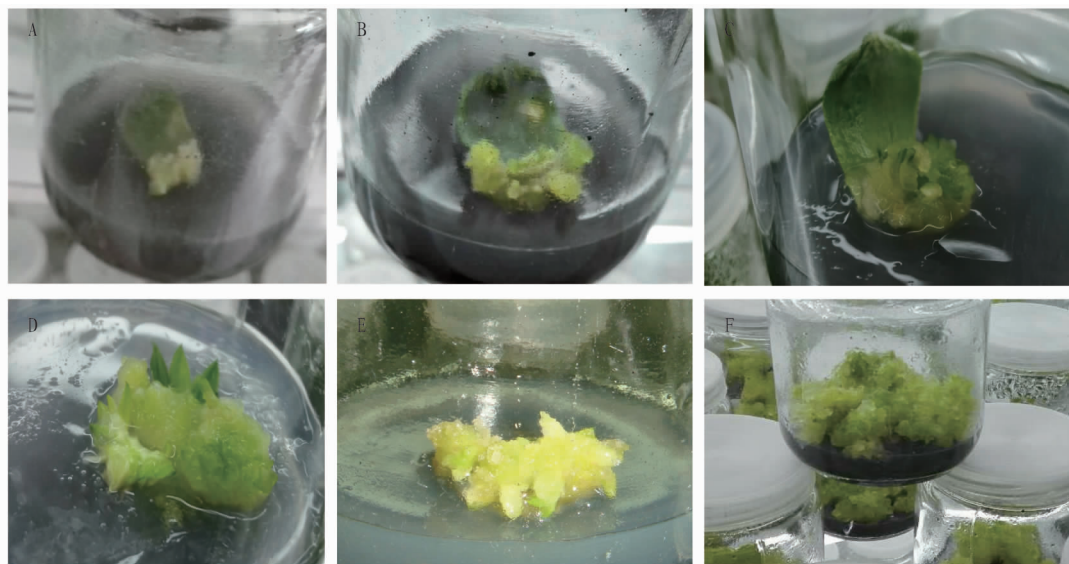
2.2 不定芽诱导培养中激素配比的选择 将诱导出的松散愈伤组织转移到不同浓度组合的不定芽诱导培养基中,接种

后20 d调查丛生芽诱导生长情况,结果见表2。由表2可知,6-BA浓度在1.0 mg/L以下对不定芽的诱导作用不明

表2 不同激素对比对诱导不定芽的影响

Table 2 Effects of different hormone ratio on inducing adventitious bud formation

| 配方编号 Recipe number | 不同激素配比 Different hormone ratios//mg/L | | | 不定芽增殖倍数 Adventitious bud multiplication multiple | 丛生芽生长情况 Growth of cluster buds |
|-----------------------|---------------------------------------|-----|-----|---|-----------------------------------|
| | 6-BA | NAA | IBA | | |
| 1 | 0.2 | 0.5 | 0.2 | 1.2 | 丛生芽少,愈伤组织继续生长 |
| 2 | 0.4 | 0.5 | 0.5 | 2.4 | 丛生芽分化率低,生长慢 |
| 3 | 0.6 | 0.5 | 1.0 | 4.3 | 丛生芽分化率高,低矮 |
| 4 | 1.0 | 0.2 | — | 1.7 | 丛生芽畸形,芽少或无 |
| 5 | 0.6 | 0.5 | — | 3.4 | 丛生芽分化率稍低,叶色淡绿,低矮 |
| 6 | 0.6 | 1.0 | — | 4.7 | 丛生芽较多,芽丛低矮健壮,绿色 |
| 7 | 1.0 | 0.5 | — | 5.2 | 丛生芽分化多,细弱畸形,颜色淡绿 |
| 8 | 2.0 | 0.5 | — | 5.4 | 丛生芽分化多,细长畸形 |
| 9 | 2.0 | 1.0 | — | 4.5 | 丛生芽分化率高,黄色,细长畸形 |



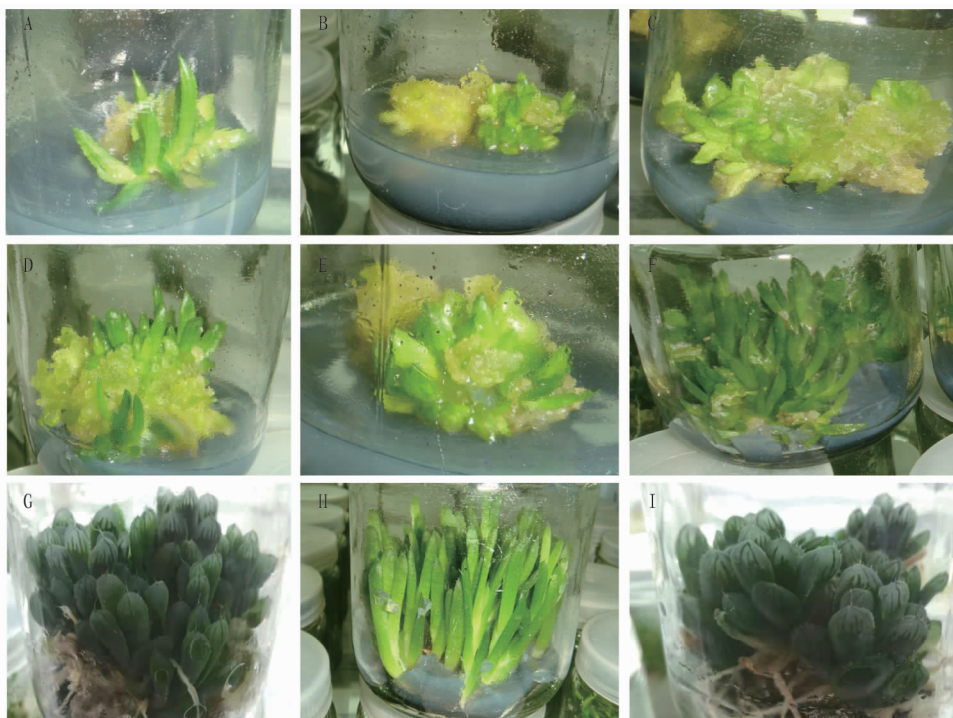
注:A 为配方 1 叶片基部长出少量愈伤组织;B 为配方 3 叶片基部长出较大愈伤组织;C 为配方 4 叶片基部长出淡绿色愈伤组织;D 为配方 8 愈伤组织分割后继续培养有不定芽萌出,出现玻璃化现象;E 为配方 2 愈伤组织颜色发黄、质地硬;F 为配方 4 淡绿色愈伤组织分割后继续生长
 Note:A is formula 1, a small amount of callus grows from the leaf base; B is formula 3, the leaf base grows large callus;C is formula 4, with pale green callus on the leaf base; D is formula 8,after the callus was divided and continued to be cultured, adventitious buds sprouted and vitrification occurred; E is formula 2, callus color is yellowish and hard;F is formula 4, the light green callus continued to grow after segmentation

图 1 成熟叶片诱导愈伤组织比较

Fig.1 Comparison of callus induction from mature leaves

显,添加 IBA 后对不定芽诱导也没有明显的促进作用,低浓度 6-BA 和较高浓度的 NAA 配比对丛生芽诱导生长有利,较高浓度的 6-BA 导致丛生芽分化率过高,细弱畸形,失去观

赏性。从图 2 可以看出,配方 6 的生长情况最好,当 6-BA 浓度为 0.6 mg/L, NAA 为 1.0 mg/L 时,较有利于不定芽的分化,芽增殖倍数较高,苗健壮,叶色浓绿。因此,不定芽诱导



注:A 为配方 1 诱导丛生芽生长情况;B 为配方 2 丛生芽诱导生长情况;C~E 为配方 4~6 丛生芽生长情况;F~H 分别为配方 7、6、8 增殖阶段苗 25 d 生长情况;I 为配方 6 增殖阶段苗 40 d 生长情况
 Note:A is the growth of induced cluster buds in formula 1; B is the induced growth of cluster buds in formula 2; C~E are the growth of cluster buds in formula 4~6; F~H are the 25 days growth of seedlings in the proliferation stage of formula 7, 6 and 8, respectively; I is the 40 day growth of the multiplication stage seedlings in formula 6

图 2 不同激素配比丛生芽生长情况

Fig.2 Growth of cluster buds with different hormone ratios

最佳激素配比为配方 6 的 6-BA 0.6 mg/L + NAA 1.0 mg/L。丛生芽在诱导培养基中生长 25 d 左右,将丛生芽切分后转入新鲜的增殖培养基中培养。继续移入附加 6-BA 0.6 mg/L + NAA 1.0 mg/L 的培养基中进行增殖培养,增殖倍数达 4.7,每 25 d 左右继代 1 次。

2.3 形态建成阶段壮苗培养基的筛选 在前期不定芽诱导阶段控制增殖苗增速与培养时间,培养时间过长,增殖过多,密集苗后期形态受影响,因此培养时间掌握在 25~40 d 全部转接完毕,然后单株分栽到形态建成壮苗阶段培养基中,每瓶接种 2 株,个别大苗每瓶单株接种。每瓶培养基 50 mL 左右,以 1/2MS 培养基添加不同浓度和比例的 NAA 与 IBA 进行幼苗生根试验,结果见表 3。由表 3 可知,添加不同浓度、不同比例的 NAA 与 IBA 对冰灯玉露幼苗形态建成、生根壮苗具有显著影响,单独添加一种激素如 NAA 或 IBA 时,冰灯玉露组培苗基本是形态不正常苗,这种苗的叶片较自然条件下细长,向上生长,植株过高,且形状与自然状态下的苗不同,叶片分布不规则,叶片上端具有观赏价值的“窗”不明显。该研究早期多批次试栽组培苗,移栽后需要很长时间的硬化

阶段,重建自然形态,而且组培苗肥大的肉质根,导致植株生长缓慢,移栽时肥大根易脱落。组合后的生长素以 IBA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 为最佳,利于组培苗的形态重建,叶片圆钝,排列整齐(图 3),外观上与自然条件下一致。

表 3 生长素种类和浓度对组培苗形态建成的影响

Table 3 Effects of auxin species and concentrations on morphogenesis

| 配方编号 Recipe number | 生长素 Auxin | 诱导生根情况 Induction and rooting |
|--------------------------|---------------------------|------------------------------------|
| 1 | IBA 0.5 mg/L | 叶片细长,叶片分布不规则,叶色淡绿,叶尖,“窗”不明显,生根细弱 |
| 2 | IBA 0.2 mg/L | 叶片细长,畸形,叶色深绿,叶尖,“窗”明显,生根细弱 |
| 3 | NAA 0.5 mg/L | 叶片向上生长较长,呈莲座状,植株细弱,叶色浅绿,根肥大、粗壮 |
| 4 | NAA 0.2 mg/L | 叶片向上生长较长,呈莲座状,植株较细弱,叶色浅绿,根正常 |
| 5 | IBA 1.0 mg/L | 形态正常,呈莲座状,叶色深绿,叶较尖,“窗”明显,15 d 左右生根 |
| 6 | IBA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L | 形态正常,呈莲座状,叶色深绿,叶圆钝,“窗”明显,15 d 左右生根 |



注:A~D 为配方 1、2、4、5 的形态重建苗生长情况;E 为配方 6 形态重建苗生长情况;F 为配方 6 形态重建苗从瓶中取出的生长情况

Note: A~D are to the growth of morphological reconstruction seedlings of formula 1, 2, 4 and 5; E is the growth of morphological reconstruction seedlings in formula 6; F is the growth of the morphological reconstruction seedlings of formula 6 taken out of the bottle

图 3 不同激素组合组培苗形态建成情况

Fig. 3 Morphogenesis of different hormone combinations

2.4 不同炼苗光照强度对组培苗形态建成的影响 从图 4 可以看出,在不同光照强度条件下,组培苗在生长速度与形态上出现较大变化,炼苗过程中光照过强或过弱都会出现畸形苗^[11-12]。在光照强度为 4 000 lx 时叶片易失水,边缘皱缩,在光照强度为 2 500 lx 时效果最好,组培苗叶色正常,形态饱满,炼苗 20 d 后组培苗达到自然状态。光照强度 2 500 lx 以下时,形态开始变薄变长,向高处生长,观赏价值低。因此,在炼苗硬化阶段,需要根据天气和遮阳网材料及时测定光照强度,调整措施,保证观赏性状最佳。

3 结论

该试验研究了不同激素配比对冰灯玉露愈伤组织诱导、

不定芽诱导、增殖比率和单株形态重建和炼苗硬化阶段光照强度的影响,形成了一套完整的繁育体系,获得了与自然条件下形态一致的组培苗,结果表明:不定芽诱导增殖和单株形态建成阶段的激素配比决定了冰灯玉露组培苗硬化移栽前的植株形态,光照环境是造成组培苗炼苗畸形的主要因素。冰灯玉露愈伤组织诱导最佳培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+2,4-D 0.8 mg/L+NAA 1.0 mg/L,愈伤组织最佳分化不定芽培养基为 MS+6-BA 0.6 mg/L+ NAA 1.0 mg/L,分化时间短且不定芽增殖倍数较高,为 4.7;采用 1/2MS+ IBA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 为形态建成壮苗生根培养基,可以获得生长形态正常(与品种特性相一致)的组培苗,按照该方

案系统培养,冰灯玉露组培苗移栽到 20~28℃ 温室环境下时,选择在光照强度为 2 500 lx 时,能够在短期内恢复其自然

生长莲座状的特性,叶片肥厚圆钝,窗体透亮。



注: A~E 分别为 4 000、3 000、2 500、2 000、1 500 lx 光照条件下组培苗生长情况

Note: A~E are the growth of tissue culture seedlings under 4 000, 3 000, 2 500, 2 000, 1 500 lx light, respectively

图 4 不同光照强度对炼苗的影响

Fig. 4 Effects of different light intensity on seedling refining

参考文献

- [1] 周陆平,孔雪迪,陈建中,等.多肉植物科冰灯玉露组培快繁技术研究[J].湖州师范学院学报,2021,43(2):39-42.
- [2] 严小峰,刘艳军,黄俊轩,等.冰灯玉露松散型胚性愈伤组织的诱导方法[J].天津农业科学,2017,23(7):21-24,36.
- [3] 陈娟,刘琪,张定珍,等.玉露的组培快繁与变异研究[J].园艺与种苗,2019,39(11):18-21.
- [4] 段鹏慧,焦茹,马娟.姬玉露组织培养体系的建立[J].山西农业科学,2019,47(1):12-15,81.
- [5] 邢海,闻秀娟,杨萌,等.瓦苇属蓝镜玉露的离体培养与快速繁殖[J].安徽农业科学,2018,46(31):42-44.
- [6] 张海龙,刘艳军,黄俊轩,等.影响冰灯玉露组培苗形态建成因子的研究[J].天津农业科学,2017,23(7):17-20.
- [7] 曾卫静,王健,单义翔.玉露组培增殖培养基配方研究[J].热带林业,2018,46(4):4-7.
- [8] 杨玉珍,胡如善,申光豫,等.河南石斛的组织培养与快速繁殖技术研究[J].江苏农业科学,2011,39(4):40-42.
- [9] 杨玉珍,雷呈,胡如善,等.文心兰的组织培养和快速繁殖技术[J].江苏农业科学,2003,31(6):77-79.
- [10] 张波,荣立苹.珍稀多肉植物霓虹灯玉露组培技术[J].江苏农业科学,2018,46(24):71-72.
- [11] 杨玉珍,孙天洲,孙廷,等.大花蕙兰组织培养和快速繁殖技术研究[J].北京林业大学学报,2002,24(2):88-90.
- [12] 秦李缘,任改婷,张黎.宫灯玉露愈伤组织诱导及快速繁殖技术探析[J].分子植物育种,2018,16(4):1257-1263.
- [13] 张年国,潘桂平,周文玉.池塘养殖条件下当年口虾蛄生长特性的研究[J].中国农学通报,2020,36(32):147-152.
- [14] 毛江静,童巧琼,曹潇,等.厚壳贻贝人工促熟与自然成熟亲贝的肥满度与营养成分比较[J].生物学杂志,2017,34(5):53-56.
- [15] 程亮,徐善良,刘飞,等.厚壳贻贝性腺不同发育时期肥满度与生化成分分析[J].海洋学研究,2013,31(4):68-73.
- [16] 张永普,应雪萍,贾守菊,等.橄榄蚶含水量、肥满度和生化成分的周年变化[J].温州大学学报(自然科学版),2008,29(6):26-31.
- [17] 张永普,应雪萍,贾守菊.泥蚶肥满度、含水量和生化成分的周年变化[J].河南科学,2004,22(1):57-59.
- [18] 陈利雄,吴进锋,陈素文,等.中国紫蛤的栖息环境及肥满度研究[J].南方水产,2010,6(6):60-64.
- [19] 孙虎山,王宜艳.芝罘湾长竹蛏肥满度的研究[J].海洋湖沼通报,1995(3):63-68.
- [20] 张涛,杨红生,王萍,等.烟台四十里湾养殖海区影响栉孔扇贝肥满度和生长因素的研究[J].海洋水产研究,2001,22(1):25-31.
- [21] 何苗,周凯,么宗利,等.饵料浓度、温度对缢蛏能量代谢的影响[J].海洋学报,2017,39(8):129-135.
- [22] 彭剑,张奥,李由明,等.影响贝类摄食的主要因素分析[J].南方农业,2017,11(24):77-78.
- [23] 杨创业,杜晓东,王庆恒,等.双壳贝类营养需求及人工饵料的研究进展[J].动物营养学报,2016,28(11):3422-3428.
- [24] 王庆志,张明,滕炜鸣,等.不同饵料对魁蚶稚贝生长和存活的影响[J].应用生态学报,2014,25(8):2405-2410.
- [25] 许巧倩,刘俊,黄华伟.温度对橄榄蛭蚌耗氧率和排氨率的影响[J].湛江海洋大学学报,2005,25(1):51-55.
- [26] 许巧倩,刘俊,冯抗抗.温度对橄榄蛭蚌滤水率的影响[J].中国水产科学,2005,12(2):207-210.
- [27] 危延庭,张楚河,何兵波.橄榄蛭蚌增殖技术研究初报[J].科学养鱼,2003(12):23.
- [28] 董波,薛钦昭,李军.滤食性贝类摄食生理的研究进展[J].海洋科学,2000,24(7):31-34.
- [29] 王扬才,叶显峰.饵料藻类对贝类育苗的影响[J].齐鲁渔业,2003,20(11):6-8,12.
- [30] 黄海立,杜晓东,周银环.2种底栖硅藻饲养杂色鲍幼体和稚贝的饵料效果[J].南方水产科学,2011,7(1):32-38.
- [31] 王金秋,李德尚,曹吉祥.5种淡水浮游藻对萼花臂尾轮虫饵料效果的比较研究:藻的最适投喂密度及轮虫相应的种群增长[J].海洋与湖沼,1998,29(1):15-21.
- [32] 邱楚雯,王韩信.饵料藻类的研究进展[J].水产科技情报,2018,45(3):127-132.
- [33] HAILAT I A, PARRISH C C, HELLEUR R J. Sterol composition of blue mussels fed algae and effluent diets from finfish culture[J]. Journal of shellfish research, 2016, 35(2):429-434.
- [34] 刘其根,张明星,陈丽平,等.藻种、贝类密度和大小对背角无齿蚌和河蚬摄食率的影响[J].上海海洋大学学报,2020,29(3):331-338.

(上接第 84 页)