

# 荸荠组织培养研究进展

蔡佳燕, 寿森炎

(浙江大学 农业与生物技术学院园艺系, 浙江 杭州 310029)

**摘要:**总结了荸荠组织培养研究进展,旨在使组织培养技术在荸荠植物上得到更广泛的关注和应用。

**关键词:**荸荠;组织培养;茎尖培养;褐变

**中图分类号:**S 682.32 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)06-0072-03

荸荠(*Eleocharis dulcis*),莎草科多年水生草本植物,原产我国南部和印度,是一种药、食兼用的果蔬。因其口感爽脆,其清热解火的功效,深受消费者的喜爱,近年来除了供应国内市场鲜销,还加工成罐头或冷藏,远销世界各国。

荸荠多采用无性繁殖,所以种球退化问题比较突出,会出现球茎不圆整,大小参差不齐,带菌严重,品质下降,产量低而不稳定等问题,而且在生产上还常出现雄荸荠,植株矮化且不生球。利用组织培养的方法解决品种退化问题,这在许多园艺作物上都得到了成功应用。虽然荸荠球茎退化的原因尚不明确,但一些研究表明将组织培养技术应用在荸荠栽培中,不仅可以保留荸荠优良品种的种性,而且种苗不带病,生长势旺盛,抗病力强,产量高,品质整齐。现就荸荠组织培养研究进展作一总结,旨在使组织培养技术在荸荠植物上得到更广泛的关注和应用。

## 1 荸荠组织培养的意义

### 1.1 繁殖系数高,缩短育种周期

荸荠育种一般通过选择自然变异种球,再经无性繁殖通过人工选择来实现的,鲜有使用其他育种方法,如杂交、实生苗选育等。荸荠为多年生草本,一年一茬,因此繁育时间长,要选育一个好品种周期很长。通过茎尖培养,一个不到1 mm的茎尖,经扩繁可以获得多株无菌苗,繁殖系数非常高,这样就可以用较少的种球获取更多的小苗。而且通过组织培养,可以模拟球茎形成的环境条件,曹碚生<sup>[1]</sup>等已在离体条件下成功诱导球茎形成。这一技术将大大缩短育种周期。

### 1.2 获取无菌苗

荸荠长期无性繁殖种球退化很严重,虽然目前尚无法证明是否因为病毒病导致退化,但是通过组培获取无菌苗,经实际栽种比较,明显可以改善种球退化的问题。陈利萍<sup>[2]</sup>等利用茎尖培养获得试管苗,与大田苗进行栽培比较试验,发现无论在单芽重、直径、整齐度还是产量上均优于对照。

## 2 应用

目前有关荸荠组织培养的研究,主要集中在两方面,一是利用茎尖获取无菌苗,二是球茎的再生研究。

### 2.1 茎尖培养

茎尖是荸荠组织培养中选用最多的材料,其优点是组织幼嫩,易消毒,易成活,易获取脱毒苗。李良俊等<sup>[3]</sup>利用荸荠的饱满芽进行组织快繁,成功培育出无菌苗。试验中,还研究了增殖培养中外植体大小对分蘖形成的影响,发现以主芽作为外植体的平均分蘖系数高于侧芽,且培养苗更壮。经移栽驯培之后,试管苗的生长势明显强于对照,并且产量提高17.9%。杭玲等<sup>[4]</sup>在荸荠继代培养过程中,对固体培养基和液体培养基进行了增值率的比较。结果表明,同一配方及培养条件下,液体培养的幼芽增殖系数高达6~10,远高于固体培养基中幼芽3~5的增殖系数,并且经由液体培养的幼苗生长健壮,叶色青绿,叶状茎长,小芽生长整齐,长势好。大田试验中试管苗表现为抗病性强,大果率高,增产明显,品种性状保持良好等优点。曹健等<sup>[5]</sup>在茎尖培养对荸荠产量及球茎大小的改良效果研究中,利用茎尖培育出多个优良荸荠新株系,田间试种表明,E12、G25等新株系产量和球茎大小均比原官窑马蹄有明显提高,改良效果明显。

茎尖培养技术在荸荠快繁应用上,根据植株不同的生长阶段配合不同的培养基,一般分为诱导、增殖、生根三类培养基,据报道,多采用MS为基本培养基。诱导茎尖生长,会在MS培养基中添加一定比例的生长素和细胞分裂素。蓝实<sup>[6]</sup>等通过不同激素配比进行荸荠试管苗配方试验后指出,NAA与6-BA配合为最佳。茎尖诱

**第一作者简介:**蔡佳燕(1983-),女,硕士,研究方向为植物生理调控。E-mail:syshou@zju.edu.cn。

**基金项目:**浙江省政府扶贫办公室2007重点资助项目(浙扶2007-15)。

**收稿日期:**2008-02-30

导培养基以 MS+NAA 0.1~0.3 mg/L+6-BA 1.0~2.0 mg/L 为佳。增殖培养基,通过切割丛生芽,来增殖试管苗。陈利萍<sup>[2]</sup> 等认为,6-BA 与 CPPU [苯脲, N-(Chloro-4-Pyridyl) Phcnylurea] 的增殖效果相似,但是 CPPU 浓度仅为 6-BA 的 1/10,可以说 CPPU 的活性是 6-BA 的 10 倍。王碧琴<sup>[7]</sup> 研究 PP<sub>333</sub> 对荸荠试管苗增殖调控时发现,PP<sub>333</sub> 诱导不定芽的能力很强,浓度越高形成不定芽越多,而且密集成块很难分割。PP<sub>333</sub> 对植株的影响比较长久,经 PP<sub>333</sub> 培养过的植株,转移 2 次不添加 PP<sub>333</sub> 的培养基之后,还有较强的不定芽分生能力。PP<sub>333</sub> 有效提高植株形态发生能力,在生根培养基中添加一定 PP<sub>333</sub>, 出根时间比对照明显提前。植株生根不需要太高的盐浓度,因此采用 1/2 MS,添加低浓度 NAA 或 PP<sub>333</sub> 即可。

## 2.2 球茎再生

在离体条件下诱导荸荠球茎形成,这一技术不仅解决了试管苗驯化难度大的问题,而且也研究荸荠球茎形成期间的生理变化提供了一个途径。荸荠试管苗移栽到大田中,驯化难度较高,一般成活率在 80% 左右<sup>[8]</sup>。因此,可以借组织培养技术,利用茎尖培养形成无菌苗,继而在离体条件下诱导形成球茎,再将小球茎种于大田中,不仅出苗率高,苗壮,解决了试管苗难驯化的问题,同时也可解决长期无性繁殖引起的品种退化问题。蔡玲<sup>[8]</sup> 等研究了丛生芽、球茎再生诱导和培养的培养基、光照、培养条件等关键要素,提出 N<sub>6</sub>+BA 1.5 mg/L+KT 0.1 mg/L+NAA 0.2 mg/L 诱导丛生芽效果最好,不仅芽多,且浓绿,生命力强。以此诱导出的丛生芽,转接到 N<sub>6</sub>+BA 0.5 mg/L+IAA 0.2 mg/L 诱导小球茎,培育出的小球茎发芽率高,且再次栽培后育出的荸荠在单茎重、茎径均明显优于对照。

荸荠球茎的形成与膨大是匍匐茎顶端膨大以及营养物质填充积累的综合过程<sup>[9]</sup>。这一过程与气温和日照长度均呈负相关,这也说明了球茎的形成与膨大需要低温和短日照的刺激<sup>[10]</sup>。蔡玲等在培养小球茎时,选用 6 h 的自然光照可明显提高小球茎的鲜重,而曹碚生等<sup>[1]</sup> 在研究荸荠试管球茎形成时,提出了 18℃、光照 8 h/d 是试管球茎形成的最适条件,以上结果均证实了荸荠球茎形成需要较低温和短日照。另外,曹碚生等还提出,在球茎诱导培养基中添加大量蔗糖(90 g/L)可以提高球茎诱导成功率。这也说明,在球茎形成过程中是营养物质填充积累的过程,蔗糖为小球茎的形成提供了足够的碳源。

试管球茎相对于试管苗更容易储存,小球茎保持含水量 60% 时,在 5~8℃ 低温黑暗条件下储存 6 个月,发芽率仍在 90% 以上,这非常有利于提高快速繁殖设备的周年利用率和种质资源的保存<sup>[8]</sup>。

## 3 问题和展望

### 3.1 褐变现象

褐变现象在组织培养频繁出现,其产物不仅使培养基褐化变质,而且毒害植物组织,抑制某些酶的活性,严重影响植物组织的分化再生能力,甚至导致材料死亡。荸荠是一种极易褐变的植物材料,鲜切荸荠的保鲜防褐一直是采后生理研究的重点。在组培过程中,荸荠的褐变率也很高,如何克服和减少褐变发生也是一项关键技术,但是目前尚无荸荠组培褐变现象的系统研究,这也是亟需填补的一个空缺。

组培上较常见的是酶促褐变,其产生的原因主要是外植体细胞代谢发生变化,产生了一些植物碱,主要是单宁、酚类化合物,这些酚类物质受多酚氧化酶(PPO)激活,被氧化后产生醌类物质。醌类物质又再经非酶促聚合,形成深色物质,逐渐扩散到培养基中抑制其它酶的活性,并对外植体材料产生毒害作用,甚至导致材料死亡<sup>[11]</sup>。因此,要关注 2 种关键物质,PPO 和酚类物质。目前尚无荸荠组培褐变研究的相关文章,因此可以借鉴其他植物在组培上遇到的褐变问题,做出有针对性研究计划。

PPO 是一种质体铜金属酶<sup>[12-13]</sup>,与植物抗性有着紧密联系。PPO 将酚类物质氧化为醌,形成黑色素聚合物,以阻碍感染。这一机制导致伤口处发生褐变,也是组培过程中褐变发生的根本机理。利用反义 RNA<sup>[14]</sup> 技术可以有效抑制 PPO 活性,从而控制褐变发生。但是也会破坏植株的酶促防御体系,增加植株受病虫害感染的几率<sup>[15]</sup>。转基因技术可以改变 PPO 基因的表达效率,但同时也会造成植株抗性降低,因此在两者之间寻求一个平衡点是很重要的。在无法下调基因表达的情况下,通过化学方法控制褐变是最有效可行的。Chevre 在板栗组织培养中发现产生的酚类有浓缩型和水解型两种,水解型在水中会分解。因此,可以参考 Chevre 的研究,如果荸荠中存在大量水解型的酚类物质,那么在组织培养中采用浅液层培养明显可能抑制褐变的产生,同时这也能解释液体培养褐变率比固体培养低的原因。

### 3.2 展望

荸荠目前在我国的桂东北区、滇西区、浙皖赣区、鄂中区优势发展,作为我国的特色水生蔬菜,其产品出口量大,国际、国内市场广阔,加强对荸荠的研究有其重要的现实意义。目前对荸荠的研究多集中在采后保鲜,少有涉及组织培养方面,而加深荸荠组培研究是十分必要而迫切的,这不仅为荸荠实际生产提供参考数据,为研究荸荠生理提供更便捷途径,更能为培育荸荠优良品种、增加产量、提高品质提供强有力的技术支持,从而使菜农获得更大的经济效益。

荸荠组培褐变的系统性研究将有助于荸荠组培的发展,控制 PPO 活性来抑制荸荠褐变的发生,不仅对于

# 论果树在观光果园中的景观功能

周 恒<sup>1,2</sup>

(1. 贵州大学 农学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州省铜仁职业技术学院 生物工程系, 贵州 铜仁 554300)

**摘要:**从果树的种类特点、果树的景观元素以及果树的景观设计三方面阐述了果树在观光果园中的造景作用。以果树自身具有的观赏性为基础,提出了果树景观设计的一些思路,希望能对从业者有所启示。

**关键词:**果树; 观光果园; 景观

**中图分类号:**S 66-33 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2008)06-0074-03

观光果园在我国兴起已有十多年的历史,它集果品生产、游憩观光和生态防护等多项功能于一体,是果园新的经营模式。由于它契合了当代人渴望自然、回归自然的想往,因此成为当今旅游的一大亮点。虽然,果树作为园林植物应用在我国由来已久,但是,在观光果园的经营中,过多的注重果树的的生产性而忽视其景观功能却已成为观光果园发展的“瓶颈”。现以果树的生物、生态学为基础,以景观、景观生态学为指导,阐述了果树群体的空间格局、季相变化、斑块镶嵌在观光

果园中的造景功能,以期取得更好的经济、社会和生态效益。

## 1 果树的种类和特点

### 1.1 栽培果树

我国幅员辽阔,自然条件极其复杂,跨越了3个气候带,可分为8个果树生态分布带,果树种类繁多,资源十分丰富,涵盖了50个科,300多个树种,万余个品种,其中经济栽培的树种几十个,形成种类丰富的南方果树群和北方果树群。如在南方广泛栽培的柑橘、枇杷、龙眼、荔枝;在北方广泛栽培的苹果、梨、枣;南北皆宜的桃、李、葡萄、樱桃等。栽培果树以色泽鲜艳、富有营养的果品丰富市场、满足广大消费者的需要,推动着我国果业的不断发展;同时也为调整农业产业结构、增加农民收入作出了贡献。

**作者简介:**周恒(1969-),女,贵州省松桃县人,本科,在读硕士,副教授,现从事园艺园林专业教学工作,研究方向为观赏园艺。E-mail:gzzhouheng@163.com。

**收稿日期:**2008-02-02

鲜切荸荠,对组培过程中发生的褐变一样具有重要作用。进一步探究PPO的基因定位,以期揭示PPO的作用机理、表达规律,利用基因工程技术创造新的荸荠良种。发展荸荠组培的规模化生产,为生产提供优质苗,提高荸荠的质量。

### 参考文献

- [1] 曹砾生,蔡汉,李良俊,等.荸荠球茎离体诱导技术的研究[J].园艺学报,1999,26(5):335-336.
- [2] 陈利萍,吕家龙,唐永红,等.荸荠离体培养技术的初步研究[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),1999,25(5):524-526.
- [3] 李良俊,何小弟.荸荠的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,1994,30(4):275-280.
- [4] 杭玲,苏国秀,蒋慧萍,等.荸荠的组织培养和快速繁殖[J].广西农业科学,2005,36(4):306-307.
- [5] 曹健,李宝庆.茎尖培养对荸荠产量及球茎大小的改良效果研究[J].广东农业科学,1999(6):20-21.
- [6] 蓝实,张慧英.荸荠试管苗配方试验[J].广西热带农业,2006(1):5-6.
- [7] 王碧琴. PP<sub>333</sub>对荸荠试管苗增殖调控的研究[J].江西科学,2006,24(2):136-138.

- [8] 蔡玲,王以红,吴幼媚,等.荸荠再生球茎繁殖的研究[J].广西林业科学,2005,34(4):184-187.
- [9] 朱世东,李曙轩.荸荠球茎的形成与膨大[J].中国蔬菜,1987(2):1-4.
- [10] 朱世东.荸荠球茎膨大生理研究[J].安徽农业科学,1996,24(1):50-53.
- [11] 王玉英,高新一.植物组织培养技术手册[M].北京:金盾出版社,2006:3.
- [12] 田俊辉,周家容.园艺植物组织培养中的褐化现象及抗褐化研究进展[J].园艺学报,2000,27:481-486.
- [13] Lei Dongfeng, Feng Yi, Jiang Dazong. Characterization of polyphenol oxidase from plants[J]. Progress in natural science,2004,14(7):553-561.
- [14] Coetzer. Control of enzymatic browning in potato (*Solanum tuberosum* L.) by sense and antisense RNA from tomato polyphenol oxidase Polyphenol oxidase (PPO) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(2):652.
- [15] Thomas-Berberan F A. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables[J]. Sci. Food Agric, 2001, 81: 853.
- [16] Chevre A M. In vitro vegetative multiplication of chestnut[J]. J. Hort. Sci., 1983, 58(1):23-29.