

蝴蝶兰组织培养中褐变发生及控制的研究进展

赵 滢, 杨树华, 葛 红

(中国农业科学院 蔬菜花卉研究所, 农业部园艺作物遗传改良重点开放实验室, 北京 100081)

摘 要: 综述了蝴蝶兰组织培养褐变的发生机理, 以及相关褐变控制措施的研究进展, 并提出热激处理可以作为抑制蝴蝶兰组织培养褐变的有效途径, 从而为解决蝴蝶兰组培褐变问题提供更多理论参考。

关键词: 蝴蝶兰; 组织培养; 褐变机理; 抗褐变措施; 综述

中图分类号: S 682.31; Q 943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)11-0110-05

蝴蝶兰 (*Phalaenopsis* spp.) 观赏价值极高, 在热带兰中素有“兰花皇后”之美誉, 倍受国内外消费者青睐^[1]。蝴蝶兰为单茎气生兰, 分株繁殖系数很低, 组织培养是蝴蝶兰的主要繁殖手段^[2]。但在蝴蝶兰组培过程中普遍存在着褐变现象, 褐变产物抑制了原球茎的启动、生长和小苗的再生, 严重时会导致整个外植体变褐死亡^[3], 给生产上造成了极大的经济损失。

近年来, 研究者从不同角度对蝴蝶兰组培褐变现象进行了研究, 以探明褐变发生机理, 寻求切实有效的抗褐变方法, 并取得了一定的研究成果。现主要围绕蝴蝶兰组培褐变发生及控制方面的研究进展进行综述, 以便为更好的控制蝴蝶兰组培褐变, 提高蝴蝶兰组织培养的成功率, 降低生产成本提供参考。

1 蝴蝶兰组织培养中褐变及其机理研究进展

当植物组织受伤时, 物理性伤害引发了植物体内许多重要的变化, 如呼吸作用的增强、活性氧的产生、膜的瓦解、乙烯含量的增加及次生代谢物的形成等^[4], 这些体内变化最终普遍表现为切口附近褐变的发生^[5], 植物组培过程也不例外。外植体组织被切割和接种时, 酚、酶的区域化分布被打破, 在有氧条件下, 释放或合成的酚氧化酶将组织切口表面的酚类物质氧化成醌, 这些褐色或黑色物质逐渐扩散到整个培养基中, 抑制了其它酶的活性, 毒害整个外植体组织^[6]。通过对蝴蝶兰褐变外植体的显微结构观察发现, 褐变叶片外植体的上表皮已

变形, 维管束完全破坏, 被有毒的鞣质填充, 有些薄壁细胞中发现有不明物质沉积^[7]。

1.1 褐变与酚类物质及其合成代谢酶活性的关系

酚类物质是植物体内一类非常重要的次生代谢产物, 是引起褐变的天然酶促底物。酚类物质在相关合成酶的作用下被形成, 在氧化酶的作用下被氧化成醌, 从而导致褐变发生。

1.1.1 酚类物质 酚类物质由苯丙烷代谢途径合成, 它的合成和积累与 PAL 活性密切相关。有关酚类物质的含量与蝴蝶兰组培褐变的关系存在着 2 种不同的结论: 第 1 种认为蝴蝶兰组培褐变程度与外植体总酚含量呈正相关, 即在蝴蝶兰组培褐变过程中, 总酚含量越高, 褐变程度越严重^[7]。第 2 种结论则认为蝴蝶兰组培褐变程度与外植体内总酚含量没有必然的联系, 可能与褐变前后总酚含量的变化有关^[8]。因此, 褐变与总酚含量的关系还有待进一步的研究。酚类物质的种类与蝴蝶兰组培褐变的关系可能更为密切。通过对褐变程度不同的 3 个蝴蝶兰品种进行 9 种酚酸的定性定量分析表明: 绿原酸、邻苯二酚、儿茶酚、咖啡酸、没食子酸、对羟基苯甲酸、香豆酸可能与蝴蝶兰组培褐变有关; 苯甲酸对蝴蝶兰组培褐变影响较小^[9]。所以, 不同蝴蝶兰品种引起褐变的酚类物质的种类不同, 可能是导致褐变程度差异的内在原因。

1.1.2 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性 PAL 是连接初生代谢和苯丙烷代谢, 催化苯丙烷代谢的关键酶和限速酶^[10]。它的活性受多种因素影响, 其中包括信号转导因子的调控^[11]。组织被切割后, 伤害信号诱导的最初反应是组织内 PAL 的合成及活性的增加, 这也是褐变发生的前提^[12]。有研究发现, 蝴蝶兰叶片外植体在整个褐变过程中其 PAL 基因表达出现差异, 在离体培养第 3 天时表达明显提高, 直到第 8 天还维持较高表达水平, 以后随着外植体褐变的加重, PAL 基因表达水平逐渐降低。可见, 蝴蝶兰外植体褐变过程与 PAL 基因表达相关^[13]。

第一作者简介: 赵滢(1981-), 女, 吉林省吉林市人, 硕士, 研究方向为花卉组织培养与生理生化。E-mail: zhaoying8107@yahoo.com.cn.

通讯作者: 葛红(1964-), 女, 浙江平湖市人, 研究员, 研究方向为花卉遗传育种与组织培养。E-mail: gehong@mail.caas.net.cn.

基金项目: 国家“863”计划资助项目(2004AA241200); 国家“十五”科技攻关计划资助项目(2004BA521B02)。

收稿日期: 2009-06-20

印芳等从生理的角度研究指出蝴蝶兰组培褐变程度随 PAL 活性的增加而增加,同时提出外植体被切割后刺激了酚合成酶不断合成酚类物质来应对外界伤害,这种应激反应不单纯地表现为褐变的加重,可能在其它逆境生理方面也有重要作用,还需进一步研究^[4]。通过干扰伤害诱导的 PAL 活性的增加,抑制酚类化合物的合成与积累,可降低褐变的发生^[15]。蝴蝶兰组培苗经热激处理后,外植体中的 PAL 活性明显低于未经处理的,显著地减轻了蝴蝶兰组培过程中的褐变程度^[6]。

1.1.3 酚氧化酶(PPO、POD)活性 PPO 是一类催化氧化一元酚或多元酚的含铜质体金属酶。细胞化学和细胞免疫化学分析表明,PPO 位于细胞的质体内,通常与膜结合呈潜伏状态,当植物体受到机械损伤等逆境胁迫时,膜结构瓦解,潜伏状态 PPO 被活化,活性增加,催化褐变反应发生^[17]。普遍认为 PPO 是引起褐变发生的主要原因。除 PPO 氧化酚类物质外,POD 也可利用切割等胁迫释放的 H_2O_2 来催化酚类物质氧化,引起褐变发生^[18]。在接种后发现,蝴蝶兰叶片外植体内 PPO 和 POD 活性显著增加;褐变发生后,活性开始降低。同工酶分析也表明,离体培养前 PPO 和 POD 几乎没有酶带出现,活性很低;离体培养后,PPO 和 POD 都出现新的酶带,且活性增强,说明接种后外植体内有新的 PPO 和 POD 合成。褐变发生后,PPO 和 POD 活性降低,说明它们参与了蝴蝶兰组培褐变的开始^[19]。酚氧化酶活性受光照、温度、培养基 pH 等因素影响,从而影响蝴蝶兰的组培褐变。光能促进多种植物组织培养中酚类物质的氧化,光照强度增加,外植体褐变程度严重^[20]。在 1 000 L 和 3 000 L 光强下培养的蝴蝶兰外植体褐变较轻,2 000 L 光强培养的外植体褐变严重且 PPO 活性高于其他 2 处理,差异显著^[21]。赵伶俐以蝴蝶兰品种 R4 为材料发现,当培养基 pH 6.5 或培养温度为 20℃时外植体褐变率最低;pH 6.0 时,温度越高,PPO 活性越强,褐变率则越高^[21]。

1.2 褐变与活性氧清除机制的可能关系

细胞膜系统普遍被认为是植物受伤害的敏感部位。膜系统损伤与细胞内活性氧引发的膜脂过氧化有关^[23]。逆境胁迫可诱发活性氧(ROS)迅速过量产生,组培切割也不例外。过剩的 ROS 对植物组织造成氧化胁迫,导致膜脂过氧化,丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的产物,其含量多少是膜损伤程度的标志。MDA 的积累会对细胞膜造成进一步的伤害,破坏膜系统,引起细胞内区域化功能丧失,使得酶与底物接触,导致褐变发生^[24]。Niki 等^[25]对山茱萸细胞低温培养 48h 后,发现前质体、粗面内质网和液泡膜破裂,酶与底物的细胞间隔被打破,褐变发生。因此,有学者提出褐变发生的关键原因在于细胞膜完整性被破坏^[29]。

抗氧化系统的启动对于清除过剩的 ROS,抑制膜脂过氧化,维持膜系统的稳定,进而控制褐变的发生至关重要^[27]。植物细胞的抗氧化系统由抗氧化酶系统(如 SOD、CAT、GPX、APX、GR 等)和抗氧化小分子物质(A_sA 和 GSH)组成。罗建平^[28]研究发现培养基中加入 A_sA 可显著提高 SOD 尤其是 APX 活性,减轻膜脂过氧化,减轻沙打旺原生质体的褐变,改善原生质体的培养状况。目前,蝴蝶兰组培褐变与膜脂过氧化作用关系的研究仅见一篇报道,认为:蝴蝶兰外植体在褐变过程中,SOD 和 CAT 活力降低,MDA 含量显著上升^[29]。因此,从膜系统的角度对蝴蝶兰组培褐变机理进行进一步的研究,有可能为控制组培褐变提供有力依据。

2 控制蝴蝶兰组织培养褐变的措施

目前,控制蝴蝶兰组培褐变的研究多集中在外植体、培养基及培养条件的选择,吸附剂、抗氧化剂的使用,连续转移外植体等方面。

2.1 外植体的选择

一般外植体应选择生长旺盛的组织或器官,这样的外植体有很强的分生能力,抵抗褐变的能力强^[30]。蝴蝶兰组培快繁多以根尖、茎尖、叶片、花梗芽、花梗节间等器官为外植体^[31-32]。刘真华^[33]认为,根尖外植体虽不容易褐变但也不容易分化;李进等^[34]也认为根尖不易褐变,但可较好的分化,所用培养基 B5+NAA 1.5 mg/L+KT 0.2 mg/L+CM 150 mg/L+3%蔗糖。相比较,茎尖分生较强,容易脱分化并再分化成完整植株,组培褐变较轻,其中以 0.3 cm 长的茎尖效果最佳^[33]。但蝴蝶兰为单茎性植物,取茎尖可能损伤母株。以蝴蝶兰叶片为外植体研究发现,1.0 cm×1.0 cm 大小的叶块褐变较轻,分化也较佳,是比较好的外植体材料。而 0.5 cm×0.5 cm 大小的叶块为外植体,接种后褐变速度很快,培养到第 50 天时褐变率 100%^[35]。可见,外植体的大小会影响褐变程度。Bonga^[36]认为,外植体越小,切面与体积的比率越大,伤害及褐变的程度就越大。另外,杨海芸等^[37]以不同叶龄的叶片为外植体接种后发现,取叶龄 45 d 的试管苗为外植体,组培褐变最轻,30 d 次之,60 d 褐变最重。对于花梗芽的取材要合适的时间,张忠和^[38]研究指出,6~8 月份高温季节采芽进行组织培养褐变严重,组培成功率很低。

2.2 培养基的选择

蝴蝶兰组织培养采用的基础培养基有多种,如 MS、1/2MS、KC、改良 KC、B5、改良 Kyoto、N6、改良 VW 等。蝴蝶兰在不同基础培养基上培养,组培褐变程度有差异。研究基本培养基对叶片不定芽分化的影响时发现,MS 培养基上的叶片外植体褐变最轻,改良 VW 最重^[37]。培养基的状态对组培褐变程度也会产生一定的影响。在几种不同的培养方式中,褐变程度从小到大依

次为: 纸桥培养基<液体培养基<固体培养基^[39]。许传俊等^[20]比较了纸桥培养基和固体培养基上培养的蝴蝶兰叶片外植体的褐变情况, 结果表明, 在 MS 纸桥培养基上培养的外植体褐变程度比固体培养基 MS、B5、N6 上的轻。陈菁瑛等^[40]认为培养叶片最好使用液体培养基, 这样有毒物质可以很快扩散, 减少对组织的毒害, 减轻褐变。

培养基中外源激素、矿质元素及蔗糖浓度也会影响蝴蝶兰的组培褐变程度。与添加 6-BA 相比, 添加 TDZ 的基础培养基上的外植体褐变较少, 培养 2 个月后外植体仍能保持鲜绿色^[37]。在蝴蝶兰初代培养过程中, 不同浓度的矿质元素对褐变的影响不同, 培养基中 Fe、Cu 浓度越高, 褐变越严重, 但随培养基中 K、Ca、Zn 浓度升高褐变减轻^[41]。陈之林等发现, 用含 30 g/L 蔗糖的 MS 培养基接种的蝴蝶兰花萼切片褐变较严重, 部分外植体生长停滞, 并逐渐坏死; 而将 MS 培养基中的蔗糖浓度降至为 15 g/L 时外植体褐变程度减轻, 诱导率显著升高^[42]。

2.3 培养条件的选择

从培养条件看, 初期暗培养、适当降低培养温度或 pH 值等都可以起到减轻褐变的作用。黑暗预处理能减轻蝴蝶兰组培外植体褐变, 其中以预处理 10 d 的褐变最轻, 未经暗处理的褐变最重且 PPO 活性最大^[43]。Bhat 等^[44]将外植体用流水冲洗后, 放置在 5℃左右的冰箱内低温处理 12~24 h, 消毒后先接种在只含蔗糖的琼脂培养基中培养 5~7 d, 使组织中的酚类物质先部分渗入培养基中, 取出外植体用 0.1%漂白粉溶液浸泡 10 min, 再接种到合适的培养基上, 发现这样能显著减轻褐变的发生。适当降低 pH, 可抑制外植体内 PPO 活性, 控制褐变发生^[18]。

2.4 培养基中抗褐变剂的加入

研究发现, 培养基中加入吸附剂和抗氧化剂可较好的控制褐变现象的发生。刘真华等^[45]研究了吸附剂(活性炭、PVP)和 5 种抗氧化剂(柠檬酸、半胱氨酸、谷胱甘肽、维生素 C 和硫代硫酸钠)对蝴蝶兰组培褐变的影响, 结果表明, 活性炭能有效控制褐变和促进生长, 但不利于分化; 谷胱甘肽控制褐变效果虽不及活性炭, 但综合效果最佳。但许传俊等^[20]认为, 添加活性炭、维生素 C 或 PVP 对减轻褐变无显著作用, 而添加柠檬酸可减轻外植体褐变。卜朝阳^[46]在蝴蝶兰花梗培养基中加入 PVP 并进行暗培养, 发现抗褐变效果较好。另外, 培养基中加入 10%椰子水也能减少原球茎增殖过程中的褐变^[47]。

2.5 连续转移外植体

目前生产中仍采用频繁将外植体转入新鲜培养基中的办法来减轻褐变, 目的是为了减少分泌物对蝴蝶兰

外植体的毒害作用, 从而提高外植体分化率和组培成功率^[48,49]。但也有报道指出频繁的继代会影响愈伤组织的生长分化与发育, 使分化缓慢, 延迟生长^[50]。所以还应根据具体培养情况选择适当的继代时间。

3 展望

蝴蝶兰组培褐变是一个复杂的生理代谢过程, 其调控涉及多个方面。现有研究结果说明, 伤害信号分子也可能参与了褐变反应^[51], 但伤害信号的确切特性以及其如何将物理伤害转变成生理反应的目前尚未研究清楚, 这可能会为蝴蝶兰组培褐变的深入研究提供了一条新途径。

另外, 目前常用的控制蝴蝶兰组培褐变的方法在使用上都存在着一定的局限性, 如 Michio-Tanaka 等^[52]指出, 在培养基中加入活性炭或 PVP 会抑制蝴蝶兰外植体的分化和芽的产生。抗氧化剂的加入还可能增加组培过程中的污染率。而频繁将外植体转入新的培养基中进行培养则大大增加了组培过程中的劳动量, 增加了组培苗的生产成本, 不利于组培苗规模化和商品化生产。近几年随着对褐变研究的不断深入, 利用多种作物研究发现适当的热激处理能够不同程度地减轻褐变^[53,54], 并且这种方法安全、操作简便, 多用来防止果蔬贮藏加工过程中的褐变^[55], 而在防止植物组培褐变上的应用却少见研究报道。仅见夏铭等^[56]报道了 45℃热激预处理红豆杉外植体 45 min 对于克服红豆杉组培褐变是有效的。最新研究发现, 45℃热激处理 6 min 恢复 48 h 后再切割接种能显著减轻蝴蝶兰的组培褐变程度^[19]。可见, 运用热激预处理来抑制植物组培褐变的发生是可行的, 而这种方法在组培中的应用还有待进一步的研究证明, 包括热激处理适用的范围、热激处理的条件及相关机理等内容。未来如能将热激处理这种更为低廉便捷的抗褐方法广泛应用于组培生产实践中, 对于提升蝴蝶兰组培快繁的产业化步伐将具有重要的意义。

参考文献

- [1] 陈心启, 吉占和. 中国兰花全书[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998: 217-218.
- [2] 胡松华. 热带兰花[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 48-50.
- [3] Sgarbi E, Fornasiero R B, Lins A P. Phenol metabolism is differentially affected by ozone in two cell lines from grape (*Vitis vinifera* L.) leaf[J]. Plant Sci, 165: 951-957.
- [4] Brecht J K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables[J]. Hortscience, 1995, 30: 18-21.
- [5] Thomas P, Ravindra M B. Shoot tip culture in mango: influence of medium, genotype, explant factors, season and decontamination treatments on phenolic exudation, explant survival and axenic culture establishment[J]. J Hort Sci, 1997, 72: 713-722.
- [6] 李俊明. 植物组织培养教程[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 345.
- [7] 许传俊, 李玲, 李红, 等. 蝴蝶兰褐变外植体的显微结构观察及褐变

成分的初步分析[J].园艺学报, 2005, 32(6): 1111-1113.

[8] 杨玲. 应用热激处理抑制蝴蝶兰组培褐变[D]. 华南热带农业大学硕士论文, 2007.

[9] 印芳, 葛红, 彭克勤, 等. 酚类物质与蝴蝶兰褐变关系初探[J]. 园艺学报, 2006, 33(5): 1137-1140.

[10] Dixon R A, Paiva N L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism[J]. Plant Cell, 1995(7): 1085-1097.

[11] 赵心清, 白凤武, 张晓慧, 等. 水杨酸信号转导因子对高山红景天悬浮细胞苯丙氨酸解氨酶及红景天甙生产的影响[J]. 精细与专用化学品, 2002(增刊): 74-77.

[12] Campos-Vargas R, Nonogaki H, Suslow T, et al. Isolation and characterization of a wound inducible phenylalanine ammonia-lyase gene (LsPAL1) from Romanine lettuce leaves[J]. Physiol Plant, 2004, 121: 429-438.

[13] 许传俊, 李玲, 李红. 蝴蝶兰叶片外植体褐变过程中 PAL 基因的表达变化[J]. 热带亚热带植物学报, 2007, 15(1): 50-54.

[14] 印芳, 葛红, 彭克勤, 等. 蝴蝶兰组培褐变与酚酸类物质及相关酶活性的关系[J]. 中国农业科学, 2008, 41(7): 2197-2203.

[15] Peiser G, López-Gálvez G, Cantwell M, et al. Phenylalanine ammonia-lyase inhibitors control browning of cut lettuce[J]. Postharvest Biol Tec, 1998, 14: 171-177.

[16] 杨玲, 葛红, 黄绵佳, 等. 热激处理对蝴蝶兰组培褐变的影响[J]. 园艺学报, 2008, 35(1): 143-146.

[17] Mayer A M, Harel E. Polyphenol oxidases in plant[J]. Phytochemistry, 1979, 18: 193-215.

[18] Degl'Innocenti E, Pardossi A, Tognoni F, et al. Physiological basis of sensitivity to enzymatic browning in 'lettuce', 'escarole' and 'rocket salad' when stored as fresh-cut product[J]. Food Chem, 2007, 104: 209-215.

[19] 许传俊, 李玲. 蝴蝶兰外植体褐变发生与总酚含量、PPO、POD 和 PAL 的关系[J]. 园艺学报, 2006, 33(3): 671-674.

[20] 许传俊, 李玲. 几种培养基及光照对蝴蝶兰叶片外植体褐变的影响[J]. 亚热带植物科学, 2006, 35(1): 9-12.

[21] 赵伶俐, 葛红, 范崇辉, 等. 不同光照强度对蝴蝶兰组培中外植体褐化的影响[J]. 北方园艺, 2006(4): 160-161.

[22] 赵伶俐, 葛红, 范崇辉, 等. 蝴蝶兰组培中 pH 和温度对外植体褐化的影响[J]. 园艺学报, 2006, 33(6): 1373-1376.

[23] 马德华, 孙其信. 温度逆境对不同品种黄瓜幼苗膜保护系统的影响[J]. 西北植物学报, 2001, 21(4): 656-661.

[24] 申琳, 生吉萍, 罗云波. 运输中的机械损伤对贮藏初期苹果活性氧代谢的影响[J]. 中国农业大学学报, 1999(5): 107-110.

[25] Niki T, Yoshida S, Sakai A. Studies on chilling injury in plant cells. I. Ultrastructural changes associated with chilling injury in callus tissues of *Cornus stolonifera*[J]. Plant Cell Physiol, 1978, 19: 139-148.

[26] Jiang Y M, Fu J R. Postharvest browning of litchi fruit by water loss and its prevention by controlled atmosphere storage at high relative humidity[J]. Lebensmittel Wissenschaft Tec, 1999, 32: 278-283.

[27] León J, Rojo E, Sánchez-Serrano J J. Wound signaling in plant[J]. J Exp Bot, 2001, 52: 1-9.

[28] 罗建平, 顾月华, 王圣兵, 等. 抗坏血酸对沙打旺原生质体分离和培养中膜损伤及相关酶活性的影响[J]. 植物生理学报, 1999, 25(4): 343-349.

[29] 许传俊. 蝴蝶兰外植体褐变机理的研究[M]. 华南师范大学学位论文, 2004: 16-18.

[30] 林宗铿. 蝴蝶兰花梗的组织培养及快速繁殖[J]. 福建热作科技, 2001, 26(1): 6-9.

[31] 陈之林, 叶秀, 梁承邨, 等. 蝴蝶兰花萼的离体培养[J]. 园艺学报, 2003, 30(2): 242-244.

[32] 范成明, 李枝林, 何月秋. 兰花组织培养及分子生物学研究进展[J]. 园艺学报, 2003, 30(4): 487-491.

[33] 刘真华. 蝴蝶兰(*phalaenopsis* spp.)组织培养过程中褐化问题的研究[D]. 莱阳农学院硕士学位论文, 2005.

[34] 李进进, 廖俊杰, 柯丽婉, 等. 蝴蝶兰根段的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(1): 37.

[35] 杨美纯, 周岐伟. 外部因子对蝴蝶兰叶片原球茎状体发生的影响[J]. 广西植物, 2000, 2(1): 42-46.

[36] Bonga J M, Durzan D J. 树木组织培养[M]. 北京: 中国林业出版社, 1988: 25-26.

[37] 杨海芸, 吴震, 王广东, 等. 不同培养条件对蝴蝶兰离体叶片不定芽发生的影响[J]. 南京农业大学学报, 2007, 30(1): 44-49.

[38] 张忠和. 蝴蝶兰的组织培养技术[J]. 现代园艺, 2008(8): 18-19.

[39] 梅兴国, 董研玲. 红豆杉细胞继代培养防褐措施的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(4): 8-11.

[40] 陈菁瑛, 蓝贺胜, 陈雄鹰, 等. 兰花组织培养与快速繁殖技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 68.

[41] 印芳, 彭克勤, 葛红, 等. 矿质元素对蝴蝶兰组培褐变的影响[J]. 北方园艺, 2006(6): 137-139.

[42] 陈之林, 叶秀, 梁承邨, 等. 蝴蝶兰花萼的离体培养[J]. 园艺学报, 2003, 30(2): 242-244.

[43] 赵伶俐, 葛红, 范崇辉, 等. 黑暗预处理对蝴蝶兰组培中外植体褐化的影响[J]. 西北农业学报, 2006, 15(5): 248-250.

[44] Bhat S R, Chandel K P S. A novel technique to overcome browning in tissue culture[J]. Plant Cell Rep, 1991(10): 358-361.

[45] 刘真华, 葛红, 郭绍霞. 蝴蝶兰组织培养中的褐化控制研究[J]. 园艺学报, 2005, 32(4): 732-734.

[46] 卜朝阳. 蝴蝶兰高校离体繁殖途径的研究[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2004, 30(4): 387-392.

[47] 姚丽鹃, 林绍生, 徐晓薇, 等. 蝴蝶兰褐化技术探讨[J]. 广西热带农业, 2004, 92(3): 12-13.

[48] Duan J X, Chen H, Yazawa S. In vitro propagation of *Phalaenopsis* in culture of cytokinin-induced nodes[J]. Plant Growth Regul, 1996(15): 133-137.

[49] Ernst R. Effect of thidiazuron on in vitro propagation of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis*(Orchidaceae)[J]. Plant Cell Tiss Org, 1994, 39: 273-275.

[50] 徐振彪, 傅作申, 原亚萍, 等. 植物组织培养过程中的褐变现象[J]. 国外农学杂粮作物, 1997(1): 55-56.

[51] Ke D, Saltveit M E. Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce[J]. Phys Plant, 1989, 7: 412-418.

[52] Michio T, Munenori K. Optimal conditions for shoots production from *Phalaenopsis* flower-stalk cuttings cultured in vitro[J]. Sci Horti, 1988, 35: 117-126.

[53] Julio J L, Loaiza-Velarde M E. Heat shock reduces browning of fresh-cut celery petioles[J]. Postharvest Biol Tec, 2003, 27: 305-311.

[54] 张兰, 郑永华, 汪峰, 等. 热激处理对冷藏蚕豆种子褐变和有关酶活性的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2003, 29(4): 327-331.

[55] Saltveit M E. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock[J]. Postharvest Biol Tec, 2000, 21: 61-69.

[56] 夏铭, 吴锋云, 张丽梅. 红豆杉组织培养中褐变问题的研究[J]. 生物技术, 1996, 6(3): 18-20.

堇菜属植物的研究进展

杨 珊 珊, 明 晓, 朱 蕊 蕊, 高 亦 珂

(北京林业大学 园林学院 北京 100083)

摘 要: 对堇菜属植物的开花生理、繁殖方法、分子生物学、育种学研究及园林园艺的应用研究等方面进行了简要的综述。提出目前中国堇菜的研究工作需要更加注重新的园林园艺上的应用方式和新品种的培养。

关键词: 堇菜属; 开花生物学; 分子生物学; 育种; 应用

中图分类号: S 681.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)11-0114-04

堇菜属(*Viola*)植物多年生,少数为2 a 生草本植物,稀为半灌木,具根状茎。地上茎发达或缺少,有时具匍匐枝。单叶,互生或几生,全缘、锯齿或分裂;托叶小或大,呈叶状,离生或不同程度地与叶柄合生。花两性,两侧对称,单生,稀为2 花。花分为开放花和闭锁花,开放花开放具花冠生于春季,闭锁花不具花冠生于夏季^[1]。

世界上约有堇菜属植物 525 ~ 600 种(Ballard^[2], 1996), 其中中国约 110 种^[1]。堇菜属植物广布于世界温带地区,欧洲的阿尔卑斯(Alps)及地中海、亚洲的喜马拉雅(Himalayas)及东亚和南美洲的安地斯(Andes)及巴塔哥尼亚(Patagonia)为该属的分布和演化中心^[3];我国南北各省区均有分布,以西南的种类最多,其中四川省及云南省均分布有 54 种;东北地区的种类次之,有 42 种;华北、华中及华南地区各有 20 余种;新疆产 22 种^[3]。

第一作者简介: 杨珊珊(1987-),女,在读本科,现从事野生宿根花卉堇菜与耧斗菜的育种研究。E-mail: isaiah77@163.com。

通讯作者: 高亦珂(1966-),女,博士,副教授,现主要从事园林植物应用与园林植物资源育种工作。E-mail: gaoykcn@yahoo.com.cn。

基金项目: 国家大学生创新性实验计划资助项目(GCS07013)。

收稿日期: 2009-06-20

堇菜属植物用途广泛,不仅具有观赏价值,可作为地被盆栽以及森林美化,而且具有止痛消炎、清热解毒、抗氧化、抗免疫缺陷等药理作用。由于堇菜属植物具有综合性开发利用价值,其经济利用和学术研究越来越受到人们的关注^[4]。近年来,堇菜属植物的研究在中国已逐渐受到重视。

1 堇菜属植物的研究

在国外,堇菜是最早用于商业性种植的植物之一。大约公元前 400 年,人们已经在 Attica(希腊的一座城市)建造专类苗圃来培育堇菜,然后在雅典的市场中出售。英国的冰冻果子露(Sherbet)中加入了堇菜,亚洲的医生用堇菜种子榨油来解蝎子毒。堇菜的花被用来装饰房间,叶子被用来做成沙拉和食物,人们也用堇菜来造酒。

由于受到皇室的喜爱,堇菜属植物的栽培和育种在 18 世纪的欧洲就已经得到了空前的发展。仅 1881 年巴黎市场 1 a 出售约 60 亿束堇菜价值约 577 000 法郎。堇菜香精的提取技术以及如何收获堇菜的花来制成酸碱指示剂(Syrup of Violets)促进了堇菜种植在欧洲的进一步发展。19 世纪 40 ~ 50 年代,随着俄国堇菜(*Russian violet*)的引种,布里斯托尔(Bristol)和巴斯(Bath)地区的

Advances in Emergence and Inhibition in The Tissue Culture Browning of *Phalaenopsis*

ZHAO Ying, YANG Shu-hua, GE Hong

(Key Laboratory of Horticultural Crops Genetic Improvement, Ministry of Agriculture, Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: The advances in Browning mechanisms and the related anti-browning techniques in tissue culture of *phalaenopsis* were reviewed. Furthermore, heat-shock treatment was mentioned as a new effective method for browning inhibition, which providing more theoretical references to resolve the tissue culture browning of *phalaenopsis*.

Key words: *Phalaenopsis*; Tissue culture; Browning mechanism; Anti-browning techniques; Review