

# 我国果树玻璃化试管苗特征、成因、机理及控制研究进展

王菲,冯立娟,杨雪梅,武冲,尹燕雷

(山东省果树研究所,山东 泰安 271000)

**摘要:**该研究统计了我国已报道的出现玻璃化试管苗的果树种类多达 50 种,并基于近年果树工作者的相关研究,总结并系统论述了玻璃化试管苗的生理生化特性、形态解剖学特征、DNA 的 MSAP 分析、成因、发生机理及控制措施,对系统研究果树试管苗玻璃化现象、增加转基因植株的遗传稳定性、保存和恢复珍贵材料无性系、提高次生代谢物产量和消除毒性及工厂化育苗都具有十分重要的意义。

**关键词:**果树;试管苗;玻璃化;发生机理;控制措施

**中图分类号:**S 66.603.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)23-0195-05

玻璃化试管苗的研究始于 20 世纪 60 年代,最早是英国人 PHILLIPS 等<sup>[1]</sup>在草本观赏植物石竹茎尖培养过程中发现的,他们对这种异常、半透明的试管苗首次进行了阐述,随后 HACKET 等<sup>[2]</sup>在同种植物组织培养研究中也发现这一现象。DEBERGH 等<sup>[3]</sup>在 1981 年提出“玻璃化”一词,并对这种异常现象作了系统研究和阐释,随后越来越多的学者投入玻璃化现象的研究之中,对其发生原因、发生特点、预防措施等深入研究并取得很大进展。

玻璃化苗是异常的试管苗,透明或半透明<sup>[4]</sup>、绿水浸状,生长缓慢,叶片细长且卷曲,质地瘫软或脆弱易碎,生命活力降低,不易生根或移栽<sup>[5]</sup>、难成活。果树玻璃化苗的出现,会浪费生产资源、损失珍贵科研材料,经济、科研和生态损失不可估量。基于近年果树工作者的相关研究,现总结并系统论述了中国果树玻璃化试管苗的生理生化特性、形态解剖学特征、DNA 的 MSAP 分析、成因、发生机理及控制措施,对系统研究果树试管苗玻璃化现象、增加转基因植株的遗传稳定性、保存和恢

复珍贵材料无性系、提高次生代谢物产量和消除毒性<sup>[6-8]</sup>及工厂化育苗都具有十分重要的意义,同时也为其它材料玻璃化的研究提供了方法及理论基础。

## 1 存在玻璃化现象的果树种类汇总

在植物组培过程中,玻璃化现象非常普遍。21 世纪初,整个植物界(包括草本植物和木本植物)发生玻璃化现象的物种数量超过 70 个<sup>[4]</sup>。近年来,以组织培养为手段的生物技术研究不断深入和发展,产生玻璃化试管苗的物种数量也越来越多。2016 年课题组对国内已报道的出现玻璃化试管苗的果树种类做了统计,包括草本果树(如蓝莓)、木本果树(如苹果)、落叶果树(如梨)和常绿果树(如香蕉)等,数量已超过 50 种(表 1)。

## 2 玻璃化苗的生理生化特性、形态解剖学特征及 DNA 的 MSAP 分析

### 2.1 生理生化特性

与正常苗相比,玻璃化苗的生理生化特性变化明显。研究发现,“黄冠”梨玻璃化苗的组织含水量高于正常苗,干物质积累能力下降,可溶性糖含量增加,淀粉、叶绿素、可溶性蛋白质含量减少;GA<sub>3</sub>、IAA、ZR 含量增加,ZR/GA 值降低,ZR/IAA 和 GA/IAA 值升高<sup>[9]</sup>;草莓玻璃化苗的过氧化物酶(POD)活性升高,过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性降低<sup>[10]</sup>。

### 2.2 形态解剖学特征

玻璃化苗与正常苗的显微结构和超微结构有很大差异。研究发现,苹果玻璃化苗的叶片增厚,表皮细胞液泡化且体积变大但密度减小,海绵组织增厚,栅栏组织变薄,气孔排列紧密,气孔器变宽,淀粉粒消失,导管

**第一作者简介:**王菲(1983-),女,硕士,助理研究员,现主要从事果树栽培生理与生物技术等研究工作。E-mail:yuanyi-fei@163.com.

**责任作者:**尹燕雷(1976-),男,硕士,副研究员,现主要从事果树与园林植物栽培与育种等研究工作。E-mail:yylei66@sina.com.

**基金项目:**山东省自然科学基金资助项目(ZR2015YL056, ZR2014YL022);山东省星火科技示范资助项目(2015XH002);山东省果树研究所所长科研基金资助项目(2016KY04)。

**收稿日期:**2016-08-04

表 1

发生玻璃化化现象的果树种类名录

Table 1

Directories of vitrified fruit trees

编号 No.	果树类别 Fruit trees category	科名 Family	种名 Species name	种拉丁名 Latin name	作者 Author
1	仁果类	蔷薇科	苹果	<i>Malus pumila</i> Mill.	欧春青等;果树学报,2008
2			梨	<i>Pyrus</i>	常有宏等;园艺学报,2011
3			山楂	<i>Crataegus pinnatifida</i> Bge.	王秋竹等;现代农业科学,2009
4			木瓜	<i>Chaenomeles sinensis</i> (Thouin) Koehne	孟强;西北农林科技大学,2006
5	核果类	蔷薇科	桃	<i>Amygdalus persica</i> Linn.	李佳莹等;江苏农业科学,2009
6			樱桃	<i>Cerasus pseudocerasus</i> (Lindl.) G. Don	宋常美等;西南大学学报(自然科学版),2015
7			杏	<i>Armeniaca vulgaris</i> Lam.	周黎等;北方园艺,2010
8			李子	<i>Prunus salicina</i> Lindl.	浦艳吉等;华中农业大学学报,2009
9	鼠李科	鼠李科	梅	<i>Armeniaca mume</i> Sieb.	胡淑英等;中国南方果树,2013
10			枣	<i>Ziziphus jujuba</i> Mill.	王娜等;果树学报,2006
11			酸枣	<i>Ziziphus jujuba</i> Mill. var. <i>spinosa</i> (Bunge) Hu ex H. F. Chow.	孙清荣等;西北植物学报,2010
12			核桃	<i>Juglans regia</i> Linn.	李好先;中国农业科学院,2013
13	落叶果树	蔷薇科	巴旦木	<i>Amygdalus communis</i> Linn.	肖巍等;新疆农业科学,2014
14			板栗	<i>Castanea mollissima</i> Blume	侯竟薇;北京林业大学,2010
15			榛子	<i>Corylus heterophylla</i> Fisch. ex Trautv.	周亚琦等;中国农学通报,2013
16			蓝莓	<i>Vaccinium</i> Spp.	毕云等;西南农业学报,2015
17	浆果类	蔷薇科	草莓	<i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i> Duch.	周书利;四川农业大学,2013
18			树莓	<i>Rubus corchorifolius</i> Linn. f.	陈琦等;西北植物学报,2007
19			石榴	<i>Punica granatum</i> Linn.	王菲等;山东农业科学,2013
20			无花果	<i>Ficus auriculata</i> Lour.	李金凤等;江苏农业科学,2014
21	浆果类	葡萄科	葡萄	<i>Vitis vinifera</i> Linn.	李桂荣;西北农林科技大学,2013
22			猕猴桃	<i>Actinidia chinensis</i> Planch	王爱连等;西北农业学报,2012
23			黑莓	<i>Ribes nigrum</i> Linn.	徐洪国等;果树学报,2009
24			君迁子	<i>Diospyros lotus</i> Linn.	谢启鑫;中国农业科学,2008
25	浆果类	茄科	柿子	<i>Diospyros kaki</i> Thunb.	郑广顺等;西北林业学报,2012
26			人参果	<i>Solanum muricatum</i> Ait.	邓才生;云南农业科技,2009
27			西瓜	<i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. et Nakai	阎志红等;园艺学报,2008
28			甜瓜	<i>Cucumis melo</i> Linn.	高宁宁等;西北植物学报,2011
29	仁果类	蔷薇科	枇杷	<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	周红玲等;江西农业学报,2011
30			荔枝	<i>Litchi chinensis</i> Sonn.	桑庆亮;福建农林大学,2002
31			龙眼	<i>Dimocarpus longan</i> Lour.	陈春玲等;福建农林大学学报(自然科学版),2002
32			红毛丹	<i>Mangifera indica</i> Linn.	张越阳;海南大学,2010
33	核果类	无患子科	杨梅	<i>Myrica rubra</i> Siebold et Zuccarini	廖雪竹等;中国南方果树,2015
34			芒果	<i>Nephelium lappaceum</i> Linn.	EVA, et al; Fruits, 2004
35			橄榄	<i>Canarium album</i> (Lour.) Rauesch.	李周岐等;西南林学院学报,2004
36			香蕉	<i>Musa nana</i> Lour.	胡春华等;分子植物育种,2010
37	浆果类	仙人掌科	火龙果	<i>Hylocereus undatus</i> (Haw.) Britt. et Rose	刘洪章等;天津农业科学,2012
38			椰子	<i>Cocos nucifera</i> Linn.	VERDEIL, et al; Plant Cell Reports, 1994
39			菠萝	<i>Ananas comosus</i> (Linn.) Merr.	许早时等;安徽农业大学学报,2011
40			番木瓜	<i>Carica papaya</i> Linn.	何玮毅等;果树学报,2010
41	常绿果树	桃金娘科	番石榴	<i>Psidium guajava</i> Linn.	MOURA, et al; Revista Brasileira De Fruticultura, 2009
42			番荔枝	<i>Ammona squamosa</i> Linn.	SREELATA, et al; Plant Cell Reports, 1986
43			人心果	<i>Manilkara zapota</i> (Linn.) van Royen	DAVE, et al; Biologia Plantarum, 2004
44			蒲桃	<i>Syzygium jambos</i> (Linn.) Alston	NEERU, et al; Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2003
45	浆果类	酢浆草科	杨桃	<i>Averrhoa carambola</i> Linn.	刘建福等;热带亚热带作物学报,2004
46			橘	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	陈菁瑛等;福建省农科院学报,1994
47			柑	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	MUHAMMAD, et al; LAP Lambert Academic Publishing, 2013
48			橙	<i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck	杨莉;湖南农业大学,2012
49	柑果类	芸香科	柚	<i>Citrus maxima</i> (Burm.) Merr.	毛艳萍等;广西植物,2010
50			柠檬	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. F.	PÉREZ, et al; Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2010
51			黄皮	<i>Clausena lansium</i> (Lour.) Skeels	王瑞霞等;果树学报,2006
52			腰果	<i>Anacardium occidentale</i> Linn.	OLAWALE; African Journal of Biotechnology Impact Factor & Information, 2006

松弛皱缩,维管组织发育不良有缺陷<sup>[11]</sup>;蓝莓玻璃化苗的叶肉细胞膨大,细胞壁变薄,细胞质稀薄,溶质外渗,内膜系统不完善,叶绿体和线粒体等细胞器数量减少,部分细胞无核,淀粉体和类囊体少或无<sup>[12]</sup>。这些结构变化减弱了光合作用,加剧了水分吸收,影响干物质的积累。

### 2.3 DNA的MSAP分析

MSAP即甲基化敏感扩增多态性技术,能够揭示特异位点的甲基化程度和状态,是DNA甲基化重要检测方法之一。研究发现,豆梨玻璃化苗甲基化比率下降,且多为多态性变化,其中又以去甲基化和双链内侧超甲基化为主<sup>[13]</sup>;蓝莓玻璃化苗甲基化比率升高,去甲基化类型比例低于超甲基化类型<sup>[12]</sup>;苹果玻璃化苗甲基化程度增加,且多为半甲基化即单链外侧胞嘧啶甲基化<sup>[14]</sup>;红樱桃甲基化率随继代次数的增加而升高<sup>[15]</sup>。

## 3 玻璃化苗的成因

### 3.1 外植体生理状态

外植体的大小、取材部位和幼嫩程度均影响玻璃化现象的发生频率,通常幼叶>老叶、茎尖留取大>茎尖留取小、项芽和茎中段>茎基部;可能与抗玻璃化物质存在于较老的组织中有关,或较大外植物体旺盛生长部分远离培养基表面,水分状况<sup>[16]</sup>和呼吸(光呼吸)<sup>[17]</sup>代谢都得到改善。另有研究发现,多倍体西瓜玻璃化发生频率低于二倍体,四倍体玻璃化程度最轻,原因尚需进一步研究<sup>[18]</sup>。

### 3.2 培养基成分

培养基的渗透势高低、细胞分裂素类浓度大小、氮素含量高低和抗玻璃化物质的有无都会影响玻璃化发生频率。蔗糖和琼脂浓度决定了渗透势,进而影响试管苗被动吸收水分的生理过程;BA和TDZ的过量使用致使芽增殖过度、影响干物质积累而加重玻璃化;抗玻璃化物质(如聚乙烯醇、活性炭、青霉素、氯化胆碱、 $H_2O_2$ 、 $AgNO_3$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $GA_3$ 、多效唑等)的加入能减缓玻璃化的发生;高铵培养基影响木质素和细胞壁的合成也会加重玻璃化<sup>[19]</sup>。研究发现,甜瓜试管苗的玻璃化与琼脂浓度过高、BA浓度太低和继代次数增加有关<sup>[20]</sup>;核桃愈伤组织和秋子梨叶片再生芽的玻璃化均与高浓度TDZ有关<sup>[21-22]</sup>;草莓玻璃化畸形苗的出现是因IBA和BA浓度分别超过 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[23]</sup>;酸枣在富氮培养基上生长,木质素和纤维素合成被抑制,氨基酸合成加剧,导致玻璃化<sup>[24]</sup>。

### 3.3 培养条件

培养条件主要包括光照、温度和透气性等。不适宜的光照强度、光照时间和光周期会减弱试管苗的光合作用能力、降低其量子效率而产生玻璃化<sup>[25]</sup>;多数植物如

草莓、西瓜<sup>[26]</sup>、软枣猕猴桃<sup>[27]</sup>等光照强度一定范围内增加时会降低玻璃苗发生频率,因为光合作用能力的提高有助于有机物的积累;光质对玻璃化影响也很大,红光、蓝光、白光、绿光、紫外线在不同植物上会产生不同的效应,可能与发挥作用的光受体类型(光敏色素、隐花色素或称UV-A、向光素和UV-B等)有关<sup>[28]</sup>,哪种光质利于减少玻璃化需要根据果树种类具体分析。25℃以下低温会加重软枣猕猴桃<sup>[27]</sup>和西瓜<sup>[18]</sup>玻璃化发生频率,分别以25℃和25~35℃为最佳培养温度。使用透气性封口材料有助于防止石榴试管苗玻璃化<sup>[29]</sup>,这种材料使组培瓶内的 $O_2$ 、 $CO_2$ 、乙烯等达到动态平衡。

## 4 玻璃化苗的发生机理

### 4.1 酶活与生理代谢途径改变

逆境胁迫引起相关酶活性和生理代谢途径改变,致使细胞壁和光合结构被破坏,细胞过度吸水膨胀,光合作用和光呼吸作用减弱,激素代谢紊乱,毒害物质累积,最终形成玻璃化苗,生长速度和增殖能力下降<sup>[30]</sup>。高浓度的细胞分裂素、低浓度的 $NH_4^+$ 和低渗透势,使苯丙氨酸解氨酶(PAL)和酸性过氧化物酶活性降低,阻碍木质素和纤维素形成,不利于木质化和细胞壁的形成,壁压降低促进被动吸水,木质化程度低形成玻璃苗<sup>[31]</sup>;丰锋等<sup>[32]</sup>则认为草莓玻璃苗的出现与碱性过氧化物酶活性增强有关,该酶抑制了木质素和酚类等物质的交联,影响细胞壁的合成,引起壁压降低。试管苗通气状况不良时,磷酸戊糖(HMP)和光呼吸途径不同程度地受到抑制,核酸、蛋白质、叶绿素、细胞壁的合成均受阻,光合细胞器受损,光合作用下降,乙醇酸和乙烯过剩产生毒害作用<sup>[33]</sup>,导致形成玻璃苗。酶活性变化情况和具体代谢途径会因果树种类不同而有差异,需经具体研究而确定。

### 4.2 DNA甲基化

DNA甲基化参与调节高等植物重要的生命过程,如抵御逆境、生长发育和基因表达等<sup>[34-35]</sup>,其表观遗传效应成为遗传学领域研究的热点。有研究认为,培养基中生长调节物质的使用,外界培养条件的变化等能使DNA发生超甲基化或去甲基化,是试管苗玻璃化现象产生的分子机理<sup>[36]</sup>之一。王宏伟<sup>[13]</sup>认为豆梨玻璃化苗的去甲基化位点与衰老基因密切相关,使试管苗丧失正常的生长和增殖能力;吕敏等<sup>[12]</sup>则发现蓝莓基因组甲基化的模式和水平决定了试管苗是否出现玻璃化。此外,田田等<sup>[15]</sup>发现继代次数过多会引起红樱桃基因组发生甲基化,改变试管苗遗传性状,由正常苗转为玻璃化等异常苗。

## 5 玻璃化苗的控制措施

控制措施包括前期预防和后期恢复(逆向生长),传

统研究以前者为主,而后者成为近年研究的热点,使试管苗由原来的预防为主变为现在的防治结合,不仅减少了资源浪费,而且对重要材料的保存具有重要意义。热击处理、提高渗透势、减少细胞分裂素类用量、添加抗玻璃化的物质(聚乙烯醇、活性炭、青霉素、氯化胆碱、 $H_2O_2$ 、 $AgNO_3$ 等)、变温处理、调节光照强度和时间、改善通气状况等措施都有助于减轻玻璃化,而且多种措施结合使用效果更好<sup>[16]</sup>;另外,降低或消除  $NH_4^+$ 、对培养物进行抗性锻炼等对前期预防效果明显<sup>[31]</sup>,脱水处理和紫外线照射处理常用于恢复培养。

有关前期预防的研究发现,将琼脂用量提高至  $6.0\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,加入活性炭  $0.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,降低 ZT 用量,可以有效防止蓝莓玻璃化<sup>[37]</sup>;增加蔗糖用量至  $30.0\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、减少大量元素用量、增加光强至  $3\ 000\text{ lx}$  能明显降低草莓玻璃苗比例<sup>[38]</sup>;  $20\sim 25\text{ }^\circ\text{C}$  低温培养<sup>[39]</sup>、培养基中加入  $2.0\sim 2.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  聚乙烯醇和变温处理(白天  $28\text{ }^\circ\text{C}$ 、夜晚  $23\text{ }^\circ\text{C}$ )<sup>[40]</sup> 及使用透气性塞作封口材料<sup>[41]</sup> 能够分别有效防止或减缓枣、西瓜和甜瓜试管苗的玻璃化。

在恢复培养方面,也有很多成功的例子:继代培养基中加入钙离子  $166\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、聚乙烯醇  $2.0\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、活性炭  $1.0\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  能使玻璃化的草莓试管苗恢复为正常苗,恢复率为  $89.07\%$ <sup>[10]</sup>;昼夜变温处理  $23\text{ }^\circ\text{C}/20\text{ }^\circ\text{C}$ 、减少 ZT 用量至  $0.1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,对蓝莓玻璃化试管苗的恢复效果最好,不同品种间恢复时间差异显著,以 Bluecrop 用时最短<sup>[42]</sup>;在培养基中加入番木瓜营养液,能使  $80\%$  仅叶片玻璃化的试管苗恢复为正常苗<sup>[43]</sup>;提高琼脂用量至  $8.0\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  可将  $68.22\%$  的毛桃玻璃化苗恢复为正常苗<sup>[44]</sup>;苹果 M7 砧木玻璃化试管苗在减少 BA 用量、以  $0.1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 替代  $0.3\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA 的培养基上生长一段时间能转变为正常苗<sup>[45]</sup>。

## 6 展望

几乎每种果树在再生体系建立过程中都会发生玻璃化,以往的研究重在预防,即通过选择合适的外植体、调节培养基成分及改善培养条件等方法来防止玻璃苗的发生,但这也不能保证组培过程中会完全消除玻璃化。玻璃化现象的普遍性不仅表现在果树种类上,还表现在某一树种组织培养不同的生长阶段上。继代次数的增加,为获得新的遗传性状、保存种质、生产次生代谢物等目的所进行的药物处理、常规条件或极端条件处理等都有可能玻璃化,甚至玻璃化状态会作为整个研究过程的中间转化阶段而存在。随着植物生理学、分子生物学和生物化学等多学科的结合,研究玻璃化现象发生机理和发生规律的方法已比较成熟和先进,但仍有许多果树树种在这方面未有报道,具有很大的研究空间。另外,玻璃化作为一种表型特征是可以逆转的,这也是

近年研究的热点,获得简便有效、经济可行的玻璃苗转为正常苗的恢复技术,在遗传工程研究、工厂化育苗和次生代谢物生产中都是很有必要的,研究前景广阔。

## 参考文献

- [1] PHILLIPS D J, MATHEWS G J. Growth and development of carnation shoot tips *in vitro* [J]. Bot Gaz, 1964, 125: 7-12.
- [2] HACKET W P, ANDERSON J M. Aseptic multiplication and maintain of differential carnation shoot tissue derived from shoot apices [J]. Proc Amer Soc Hort Sci, 1967, 90: 365-369.
- [3] DEBERGH P, HARBAOUI Y, LEMEURE R. Mass propagation of globe artichoke (*Cynara scolymus*): Evaluation of different hypothesis to overcome vitrification with special reference to water potential [J]. Physiol Plant, 1981, 53: 181-187.
- [4] 陶铭. 组织培养中畸形形状体及超度含水态苗的研究 [J]. 西北植物学报, 2001, 21(5): 1048-1058.
- [5] 邱运亮, 段鹏慧, 赵华. 植物组织快繁技术 [M]. 北京: 北京化学工业出版社, 2010: 58.
- [6] 赵春梅. 植物组织培养方法生产药用次生代谢产物研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2008(8): 790-795.
- [7] 张真. 葡萄细胞培养及其次生代谢产物白藜芦醇的代谢调控 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2008.
- [8] 丰锋. 试管苗玻璃化现象的研究进展 [J]. 北方园艺, 2003(3): 71-73.
- [9] 常有宏, 张玉娇, 李晓刚, 等. ‘黄冠’梨正常试管苗与玻璃化苗生理生化及超微结构的比较研究 [J]. 园艺学报, 2011, 38(2): 225-232.
- [10] 周书利, 汤浩茹, 代利娟, 等. 不同因素对草莓试管苗玻璃化的影响 [J]. 北方园艺, 2013(13): 131-134.
- [11] 葛红娟, 梁美霞, 戴洪义. 玻璃化与正常苹果试管苗的叶片和茎的显微结构比较 [J]. 植物生理学报, 2010, 46(3): 223-227.
- [12] 吕敏, 夏秀英, 徐品三, 等. 蓝莓玻璃化试管苗的显微结构及生理生化特性变化 [J]. 植物生理学报, 2014, 50(4): 453-460.
- [13] 王宏伟. 豆梨组织培养过程中玻璃化形成机理及其恢复技术研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [14] 葛红娟. 苹果玻璃化试管苗的特征特性、形成原因及 DNA 的 MSAP 分析 [D]. 青岛: 青岛农业大学, 2011.
- [15] 田田, 刘鹏飞, 乔光, 等. 玛瑙红樱桃离体快繁及组培苗的变异检测 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2015, 37(10): 30-37.
- [16] 陈兵先, 黄宝灵, 吕成群, 等. 植物组织培养试管苗玻璃化现象研究进展 [J]. 林业工程学报, 2011, 25(1): 1-5.
- [17] 李云, 田砚亭, 罗晓芳. 珠美海棠试管苗玻璃化发生机理的初步研究 [J]. 北京林业大学学报, 1996, 19(1): 52-57.
- [18] 余彭娜, 周启贵, 龙云, 等. 降低西瓜试管苗玻璃化因素的优化 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2009, 31(10): 35-38.
- [19] 李佳莹, 俞明亮, 马瑞娟, 等. 桃组织培养中影响玻璃化产生的因素分析 [J]. 江苏农业科学, 2009(5): 47-49.
- [20] 朱新霞, 孙黎, 陶春萍. 甜瓜离体再生继代培养中玻璃化现象的研究 [J]. 西北植物学报, 2006, 26(7): 1468-1472.
- [21] 李好先, 曹尚银, 薛辉, 等. ‘绿波’核桃叶片愈伤组织的诱导研究 [J]. 分子植物育种, 2015, 13(5): 1060-1066.
- [22] 王德芬, 张梅, 李鼎立, 等. 秋子梨叶片高效再生体系的构建 [J]. 北方园艺, 2016(4): 97-101.
- [23] 张春芬, 潘天任, 邓舒, 等. 草莓茎尖快速繁殖体系的研究 [J]. 山西农业科学, 2016, 44(3): 291-293, 299.
- [24] 孙清荣, 孙洪雁, 张力思, 等. 酸枣叶片不定梢形成及玻璃化的影响因素 [J]. 西北植物学报, 2010, 30(5): 1039-1044.

- [25] LEES R P, EVANS E H, NICHOLAS J R. Effects of the light environment on photosynthesis and growth *in vitro* [M]. Dordrecht (The Netherlands): Kluwer Academic Publishers, 1994: 31-46.
- [26] 李竹梅, 王果萍. 西瓜试管玻璃苗的成因及防止[J]. 山西农业科学, 2008, 32(3): 43-46.
- [27] 郑小华, 廖明安, 李明章, 等. 不同培养条件对软枣猕猴桃试管苗玻璃化的影响[J]. 资源开发与市场, 2008, 24(5): 394-396.
- [28] 林小苹, 赖钟雄, 黄浅. 光质对植物离体培养的影响[J]. 亚热带农业研究, 2008, 4(1): 73-80.
- [29] 王菲, 苑兆和, 招雪晴, 等. ‘三白’石榴再生体系的构建[J]. 中国农学通报, 2013, 29(19): 125-133.
- [30] 周书利, 汤浩茹, 陈清, 等. 不同因素对草莓玻璃化试管苗恢复的影响[J]. 生物技术通报, 2013(9): 89-93.
- [31] 刘霞, 孙冲. 木本植物试管苗玻璃化成因与控制研究进展[J]. 西南林业大学学报, 2013, 33(5): 93-97.
- [32] 丰锋, 陈厝边. 草莓离体培养中玻璃化的发生及克服措施研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2007, 29(4): 78-82.
- [33] 郭玉朋. 植物光呼吸途径研究进展[J]. 草业学报, 2014, 23(4): 322-329.
- [34] LU G Y, WU X M, CHEN B Y. Detection of DNA methylation changes during seed germination in rapeseed (*Brassica napus*) [J]. Chinese Sci Bull, 2006, 51(2): 182-190.
- [35] 杨金兰, 柳李旺, 龚义勤, 等. 锦肋迫下萝卜基因组 DNA 甲基化敏感扩增多态性分析[J]. 植物生理与分子生物学报, 2007, 33(3): 219-226.
- [36] ZILBEMAN D, GEHRING M, TRAN R K. Genome-wide analysis of *Arabidopsis thaliana* DNA methylation uncovers a interdependence between methylation and transcription[J]. Nat Genet, 2007, 39(1): 61-69.
- [37] 毕云, 苏艳, 张艺萍, 等. 蓝莓组织培养过程中玻璃化现象的防止技术研究[J]. 西南农业学报, 2014, 27(6): 2539-2542.
- [38] 曹善东. 组培条件对草莓脱毒试管苗玻璃化影响的研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2006, 37(2): 172-174.
- [39] 任东植, 李峰, 曲运琴, 等. 影响枣组培苗玻璃化的几个因素及其防治[J]. 植物生理学报, 2000, 36(1): 21-23.
- [40] 石晓云. 防止小果型西瓜组培苗玻璃化的研究[J]. 北方园艺, 2011(9): 152-154.
- [41] 齐红岩, 贾卓男, 陈岩. 网纹甜瓜试管苗玻璃化成因研究[J]. 河南农业科学, 2009(3): 86-92.
- [42] 孙阳, 魏海蓉, 程淑云, 等. 蓝莓组培苗玻璃化及恢复的研究[J]. 山东农业科学, 2008(3): 61-63.
- [43] 林贵美, 李小泉, 邹瑜, 等. 番木瓜玻璃化组培苗逆向生长培养[J]. 中国南方果树, 2009, 38(2): 23-24.
- [44] 马永利. 毛桃玻璃化试管苗恢复及叶柄再生研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2015.
- [45] 段艳欣. 苹果 M<sub>7</sub> 砧木组织培养与抗性筛选[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(10): 52-54.

## Advances in the Characteristics, Causes, Mechanisms and Controls of Vitrified Fruit Trees *in vitro* in China

WANG Fei, FENG Lijuan, YANG Xuemei, WU Chong, YIN Yanlei  
(Shandong Insititute of Pomology, Tai'an, Shandong 271000)

**Abstract:** In this study, statistic suggested that vitrification phenomenon existed in more than 50 fruit tree species reported in China. Based on previous research about fruit trees, the study introduced physiobiochemical characteristics, morphological and anatomical characteristics, MSAP analysis of DNA, causes, mechanisms and controls of vitrification. It had significance to the research of vitrified fruit trees *in vitro*, improvement of the genetic stability of transgenic plants, restoration of precious material clones and industrialized breeding. Besides, it was also important to eliminate toxicity and increase output of the secondary metabolites.

**Keywords:** fruit trees; tube seedlings; vitrification; mechanisms; controls

## 苹果树冬剪要五看

知识窗

- 1 看树龄 幼树、初结果树修剪量要小,修剪程度要轻,注意培养树型和结果枝组;盛果期树要适当重剪,注意轮换结果枝组;衰老期树重剪,更新结果枝组。
- 2 看花芽量 花芽量大的果树修剪量要大些,修剪程度适当加重。严格控制花芽总量和花、叶芽比例,花、叶芽比例一般为 1:20。对花芽少的小年树,要轻剪多留花芽,对没有花芽的枝和枝组要重剪更新结果枝组。
- 3 看树体 强壮树要轻修剪,去直立强壮枝,留侧立枝和中庸枝,以缓和树势,进而促进花芽形成;弱树要重修剪,剪去弱枝和下垂枝,更新衰老结果枝组。
- 4 看品种特性 萌芽力和成枝力强的品种,如“富士”“国光”等品种,易造成树冠郁闭,内膛光照不良,修剪量宜大,修剪时要多疏少截留中庸枝。
- 5 看栽培管理条件 土、肥、水管理条件好、树体强健的树,修剪程度要轻;相反,山坡薄地、管理条件差的树,修剪量要大些,修剪程度应适当重些,少疏多剪,每次修剪后给伤口都涂抹愈伤防腐膜,使其伤口快速愈合。全园喷施护树将军,安全越冬。

(来源:百度学术)