

肖小君,罗 潼,王 芳. 木本植物组织培养过程中褐变现象及控制措施的研究进展[J]. 江苏农业科学,2017,45(16):20-24.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.16.004

# 木本植物组织培养过程中褐变现象 及控制措施的研究进展

肖小君,罗 潼,王 芳

(内江师范学院生命科学院,四川内江 641100)

**摘要:**褐变是组织培养过程中的一大难题,与草本植物相比,木本植物更易发生褐变。本文结合近年来的相关研究成果,对木本植物组培过程中褐变发生的机制、影响因素以及调控措施等问题进行综述,以期为今后木本植物组织培养方面的研究提供参考。

**关键词:**木本植物;组织培养;褐变;影响因素;控制措施

**中图分类号:** S184 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)16-0020-04

随着生物技术的发展,植物组培技术的应用也日渐成熟,尤其在快速繁殖优良品种、种质资源保存及基因工程等领域取得了较高成就,推动了社会经济的快速发展。尽管植物组培技术的研究已相当成熟,但在试验和生产过程中仍然存在三大难题<sup>[1]</sup>,其中褐变问题尤为突出。木本植物具有生长周期长、经济效益好、遗传杂合率高等特点,利用木本植物进行组织培养,不但促进了观赏苗木和果树等的脱毒及快速繁殖,同时在保护生态平衡、改良沙荒土壤及城市绿化等方面都起着重要作用。但在试验过程中发现,对木本植物进行组织培养时褐变现象尤为严重<sup>[2]</sup>,导致其产业化推广难度较大。本文结合近年来的相关研究成果,对木本植物组织培养过程中褐变发生的机制、影响因素及调控措施等研究进展进行综述。

## 1 褐变机制

接种材料被切割后,切口附近细胞受损,组织间的分隔效应消失,使酚类化合物、酚氧化酶释放溢出。在适宜的条件下,酚氧化酶、酚类物质(底物)和氧气聚合,发生氧化反应,生成褐色物质和水,褐色物质逐渐扩散至培养基,同时抑制其他酶的活性,使外植体组织被毒害并导致外植体发生死亡的现象即为褐变<sup>[3-4]</sup>。褐变可分为非酶促褐变、酶促褐变,其中酶促褐变为主要方式。

非酶促褐变。即没有酚类物质的产生,主要是由于植物体细胞在遇到失水、盐分过高、低温、衰老等不利条件的胁迫时,使细胞程序化死亡或自然死亡<sup>[5]</sup>。如采摘后的荔枝果皮

因失水使其 pH 值升高,引起果皮迅速褪色而导致的褐变<sup>[6]</sup>。

酶促褐变。酶促褐变主要是由酶的催化导致的,酶、底物和氧是酶促褐变的 3 个要素,酚类物质是其反应底物<sup>[7]</sup>。褐变的关键酶有多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)或苯丙氨酸解氨酶(PLA)。其中以 PPO 为主,可催化酚类物质形成醌类物质而引发褐变。酶促褐变的 3 种假说<sup>[8]</sup>认为:没有任何损伤的完好植物组织,酚类物质存在于液泡内,PPO 存在于各质体或细胞质内,PPO 区域性的存在将底物和 PPO 由质膜分隔开。当植物体受到机械损伤时,细胞膜结构被破坏,打破了区域性的限制,酚酶和酚类物质发生化学反应,生成醌类物质和水,经非酶促反应发生聚合,再形成黑褐色物质,使得外植体发生褐变。

## 2 影响褐变的因素

木本植物组织培养过程中,导致褐变发生的因素较多:外植体的取材部位和采集时间、基因型、材料大小、生理状态、酚类物质的含量、培养基与培养方式、条件,以及材料的预处理、外加激素配比差异等都会不同程度地导致褐变的发生<sup>[8]</sup>。

### 2.1 植物材料

2.1.1 外植体的种类或基因型 植物的不同品种、同一植物的不同部位在组织培养过程中会发生不同程度的褐变。由周俊辉等对园艺植物褐变现象的研究可知,存在褐变现象的木本植物有阿月浑子、东北红豆杉、软枣猕猴桃、牡丹、核桃、荔枝、苹果、无花果、银杏等<sup>[3]</sup>。

木本植物较易发生褐变,是因它们含有较高含量的木质素、单宁等物质。酚类的糖苷化合物的合成是以木质素、单宁或色素等物质为前体的,因木本植物含有较高含量酚类化合物,容易导致褐变发生。研究发现,对核桃外植体进行组织培养时,不仅在初代培养会发生褐变,在愈伤组织形成后也会发生褐变,严重时导致培养材料死亡<sup>[4]</sup>,究其原因,在于单宁含量较多。对柑橘胚性愈伤组织褐变的研究发现,宽皮橘类褐变严重,甜橙类次之,葡萄柚、橘橙介于两者之间,说明褐变发生与品种、基因型有一定关系;而对 9 种柑橘胚性愈伤组织的研究发现,不同种类的柑橘总酚含量不同,同一种类不同品种

收稿日期:2017-02-24

基金项目:四川省教育厅科研创新团队建设项目(编号:14TD0025);

国家级大学生创新创业训练计划(编号:201510640005);内江师范学院植物学重点学科。

作者简介:肖小君(1982—),女,四川岳池人,硕士,助理研究员,主要从事植物生理学相关领域的研究。Tel:(0826)2343020;E-mail:qianqianxxj@126.com。

通信作者:王 芳,硕士,高级实验师,主要从事生物试验技能研究。Tel:(0826)2343020;E-mail:mmxxwangfang@sina.com。

间也有差异,因而褐变程度也有差异<sup>[9]</sup>。

**2.1.2 外植体大小及受伤程度** 总体来说,外植体较小的材料相对较大的材料更易发生褐变。同时切口的大小也会影响褐变的程度,原因在于切口的大小决定酚类物质的被氧化面大小。金冠苹果茎尖在 0.5 mm 以下时发生严重的褐变,而长度达到 5 ~ 15 mm 时不易褐变,褐变死亡率低于 15%<sup>[10]</sup>。愈伤组织继代时培养材料过大或过小都易发生褐变,但以 0.7 ~ 0.8 cm<sup>3</sup> 大小效果最佳<sup>[11]</sup>。巨桉叶片切割时损伤面积大,所产生的酚类较茎节多,褐变较重<sup>[3]</sup>。

外植体组织受损害程度会直接影响褐变,处理时将伤口切割平整并减小受损面积可有效减轻褐变。除物理损伤会引起褐变外,在灭菌消毒处理时各种化学剂的使用也会引发外植体褐变。不同类别消毒剂对褐变发生的程度影响不一。氯化汞对外植体伤害比较轻,褐变率显著低于次氯酸钠处理的<sup>[11-12]</sup>。乙醇消毒灭菌效果较好,但对外植体伤害较大。此外,褐变与消毒时间有关,消毒时间越长,外植体材料越易发生褐变,因此控制好消毒时间,才能降低褐变发生的概率,保证外植体的存活率<sup>[13]</sup>。

**2.1.3 外植体的生理状态及取材时期** 酚类物质的含量及 PPO 的活性因外植体的生理状态有所差异<sup>[14]</sup>。一般情况下,褐变随植物材料的年龄增加或木质化程度加大而加重。幼龄外植体材料褐变程度较轻,茎尖、叶片等高度分化的组织与成龄材料容易褐变。这在桉树<sup>[15]</sup>、山核桃<sup>[16]</sup>、黄连木<sup>[17]</sup>等植物研究中得到了进一步证实。此外,取材时期会影响褐变。夏季的温度较高,植株代谢活动旺盛,PPO 的活性高,褐变率随之升高,秋冬季反之,褐变不易发生<sup>[18]</sup>。因此梨<sup>[19]</sup>、紫枝玫瑰<sup>[20]</sup>、阿月浑子<sup>[21]</sup>等木本植物的取材以温度低的冬春季较好,褐变率相对较低。

## 2.2 植物材料的预处理方式

如果在材料的生长季节取材,可经水培处理,随着培养时间的增加,褐变率呈下降态势<sup>[22]</sup>。也可用清水流动冲洗外植体,再经 5 ℃ 处理 12 ~ 24 h,消毒后将外植体接种于培养基上培养 5 ~ 7 d 后,再取出外植体,经适当的方式处理后,转入适宜的培养基上进行培养,可以降低褐变率。在外植体接入培养基之前,进行适当的低温处理可抑制苍溪梨组织培养褐变的发生<sup>[19]</sup>。

## 2.3 培养基

不同培养基的营养成分不同,同种外植体或不同外植体在同一培养基上的生长状态也有所差异。因此,培养基的种类、成分等选择对褐变的发生有一定影响。

**2.3.1 培养基的成分** 用于组织培养的基础培养基的种类各不相同,如 MS、WPM、DKW、B5、N6 因成分等特点各有所异,引起的组织褐变程度也有差异。当无机盐浓度过高时,会使酚类物质溢出,引起褐变的发生,乃至加剧褐变发生程度。通过降低离子浓度,尤其是  $Mn^{2+}$ 、 $Fe^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$  浓度,同时降低酶的活性、减少底物的溢出,可抑制酚类物质的氧化,降低褐变概率<sup>[23-24]</sup>。核桃<sup>[3]</sup>、苹果<sup>[22]</sup>、樱花<sup>[25]</sup>、桑树<sup>[26]</sup>等木本植物以 1/2MS 或 1/2DKW 培养基控制褐变最佳,但红豆杉<sup>[27-28]</sup>、银杏<sup>[29]</sup>等植物选择高盐的 MS 培养基较好。可见,抑制褐变可通过选择适当的培养基或盐浓度来控制。

**2.3.2 培养基的状态** 就防褐变的效果来说,纸桥培养基的

效果优于液体培养基,液体培养又比半固体培养基好,固体培养基效果最差<sup>[22]</sup>。液体培养基能够高速扩散褐变产生的有毒物质,及时减缓有毒物质对培养材料、培养基的毒害,因而减轻褐变。纸桥培养基表面的滤纸可在一定程度上隔离外溢的毒害物质,从而达到清洁培养基、减轻褐变的目的<sup>[30]</sup>。半固体培养基中则是使用低浓度琼脂,使愈伤组织位于培养基表面,通过这种培养系统使褐变产生的毒害物质得到扩散,从而减轻毒害作用。用低氧的半固体培养基培养酚类化合物含量较高的核桃外植体,发现核桃外植体的褐变得到有效的抑制<sup>[2]</sup>。

**2.3.3 培养基的硬度** 培养基硬度随琼脂用量的加大而增加,而适当的硬度可降低褐变率。在桑树、华盖木的组织培养中,培养基硬度大,褐变率显著偏低;随着培养基硬度的减小,组织褐变现象加重<sup>[26,31-32]</sup>。因此可知,可通过调节培养基的 pH 值降低 PPO 的活性以及对底物的利用率来减轻褐变。

**2.3.4 激素** 各种激素的种类、浓度也会使外植体发生一定程度的褐变。细胞分裂素 KT、BA 等不仅可以促进酚类化合物的合成,还会激发多酚氧化酶的活性,加剧褐变<sup>[33]</sup>。在茶树的组织培养<sup>[34]</sup>、薄壳核桃的茎尖培养<sup>[35]</sup>中,用高浓度的细胞分裂素接种外植体的褐变率较低浓度的高,差异极显著。而生长素类如 NAA、2,4-D 等可阻碍多酚的合成,延迟褐变的出现。生长调节剂的适当配比或不同浓度生长调节剂对外植体褐变有不同程度的减轻或抑制作用,如 1.0 mg/L BA、0.5 mg/L IAA 配比的生长调节剂可有效控制沙棘组织培养过程中的褐变<sup>[36]</sup>。

## 2.4 培养条件

**2.4.1 温度** 对玫瑰的研究显示,经过低温处理后,在外植体的启动率不受影响的基础上,褐变可得到有效的抑制<sup>[20]</sup>。此外,温度变化可调控酶的活性,温度较低时褐变现象显著减轻,例如板栗的愈伤组织在 19 ℃ 下培养时褐变较轻<sup>[37]</sup>,无花果在 10 ℃ 培养条件下外植体褐变率最低<sup>[38]</sup>。可能是因为低温在一定程度上降低了 PPO 的活性,同时控制了酚类物质的氧化。

**2.4.2 光照** 将桉树的外植体通过全光照、全暗培养处理 10 d,结果表明,全光照处理下褐变率较高,暗培养处理效果较好<sup>[15]</sup>。研究发现,麻栎经过 7 d 遮光培养后截取的茎段外植体褐变率最低,萌发率最高<sup>[39]</sup>。而不经光照处理的情况下,黄连木茎段培养第 2 天即有褐变现象发生,但经过暗处理 3 d 后,再进行光照培养,褐变则在第 6 天出现<sup>[17]</sup>,说明暗处理的方式对外植体褐变起到了有效的抑制作用。暗处理之所以能控制外植体褐变,其原因可能是光照使 PPO 的活性提高,促进多酚物质的氧化,而暗处理在一定程度上降低 PPO 活性,使褐变现象的出现得到推迟或减轻。

## 3 褐变的控制措施

植物组织培养过程中的褐变现象是普遍的,而木本植物组织培养中的褐变问题最严重。因而在可见,控制或消除褐变是组织培养成功的关键。从理论上讲,酶促褐变是外植体发生褐变的主要类型,可通过除去氧、减少中间产物、抑制相关酶活性等措施来控制酶促褐变的发生。在培养过程中,也可向培养基中加入一些化学添加剂来抑制褐变,但不同种类或

基因型植物的 PPO 具有或多或少的差异,因此应用于植物材料的抗褐变剂种类不同。在实际的操作中,可从以下几个方面进行考虑。

### 3.1 选择适当的外植体

引起褐变的因素很复杂,植物类别、外植体的生长部位、取材季节及生理状态的不同,褐变程度也会有所区别。4 年生的元宝枫外植体存活率为 48.0%,而 20 年生的存活率为 47.7%;10 月采集的当年生的已木质化枝条接种后的褐变率为 100%,而在 4 月枝条生长旺季取材的褐变率相对较低,6 月次之<sup>[40]</sup>。酚类物质含量因外植体类型的不同而有所差别,树龄越小,越嫩的组织酚类物质含量越少,培养时越不易褐变。茎段褐变率最高,嫩芽的褐变率最低,嫩叶几乎不存在褐变现象<sup>[41]</sup>。材料的生理状态不同,接种后的褐变程度也不同,应尽量避免高温季节取材<sup>[20]</sup>,以春季具有较强分裂能力的外植体较为适宜,这与多酚氧化酶的活性有关。取材时,还应注意外植体的基因型,在平阴玫瑰的组织培养中,不同品种或同一品种不同部位的褐变程度也有显著差别<sup>[42]</sup>,因此选择较难发生褐变的植物种类作为外植体较好。

### 3.2 对外植体材料进行预处理

通过预处理可减轻酚类对外植体的毒害<sup>[31]</sup>,如采用低温培养或处理<sup>[20,39]</sup>。还有利用抗氧化剂进行预处理也可减轻酚类的毒害:山茶花用 1% 维生素 C(VC)浸泡后,无论是茎段还是茎尖均比对照褐变程度轻<sup>[43]</sup>;白玉兰用 1 000 mg/L 柠檬酸处理的褐变率为 10%,用 1 000 mg/L  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  处理的褐变率为 30%<sup>[18]</sup>。此外,还可对外植体进行适时的水培处理<sup>[22]</sup>,也可根据不同的材料,选择不同的消毒处理时间<sup>[34,44]</sup>,但消毒时间过长,会使细胞死亡而发生褐变<sup>[45]</sup>。不同的消毒剂对外植体褐变程度也会有影响,具有氧化性的  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{NaClO}$  引起的褐变程度较重,非氧化性的  $\text{AgNO}_3$ 、 $\text{HgCl}_2$  引起的褐变程度较轻<sup>[46]</sup>。在常规的灭菌消毒过程中,褐变的发生程度随着  $\text{HgCl}_2$  处理时间的延长而加重,浓度升高,褐变率也增大<sup>[15,47]</sup>,而对于不同时期的外植体,消毒处理时间也不同<sup>[48]</sup>。

### 3.3 选择适宜的培养基和条件

通过使用适当的无机盐和蔗糖浓度、生长调节剂的合理配比等,选出适合组织培养的最优培养基,调控培养条件、培养方法及继代周期等防控褐变。

对漆树外植体进行组织培养,在低盐的 White 培养基中添加 100 mg/L 半胱氨酸,可使其褐变率降到 1.15%<sup>[49]</sup>。在无花果的组织培养中,不论是高盐的 MS 培养基还是相对低盐的 WPM 培养基,褐变率及其褐变程度均较高,而通过提高琼脂含量,会使褐变程度减轻,褐变率为 5%<sup>[38]</sup>。有研究表明,B5 培养基也较适宜木本植物的组织培养<sup>[50]</sup>,通过在 DKW 培养基中加入激素组合,核桃茎尖生长良好,褐变程度减轻<sup>[16]</sup>。对于同种外植体,采用不同的激素组合或浓度配比,对外植体的褐变影响程度也不同<sup>[45]</sup>。无论在何种培养基上,外植体为幼嫩组织的褐变死亡率高于成熟组织,愈伤组织出现也较晚<sup>[51]</sup>。此时可通过调节培养条件<sup>[37-38]</sup>、培养方式<sup>[22]</sup>来控制褐变的发生。相对于正常光照条件,暗处理更适合防止褐变的发生,其原因是一些酶系统受光诱导。低温、高温都可影响褐变的程度,低温影响程度较轻,高温影响较严重。

### 3.4 培养基中的添加物

当以上措施达不到消除或控制褐变的效果时,可向培养基中添加适当的抗褐变剂来进一步防止褐变的发生。常用的抗褐变剂有吸附剂、抗氧化剂等。

**3.4.1 抗氧化剂** 在培养基中加入抗氧化剂,可以抑制酚类氧化,达到防止褐变的目的。目前,应用于培养基的抗氧化剂有维生素 C、硫代硫酸钠( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ )、柠檬酸(CA)、二硫苏糖醇(DTT)、植酸(PA)、半胱氨酸(CYS)、硝酸银( $\text{AgNO}_3$ )、螯合剂有乙二胺四乙酸二钠(EDTA)等<sup>[52]</sup>,不同的抗氧化剂及同种氧化剂的不同浓度对植物材料的褐变抑制作用均不同。在葡萄的愈伤组织继代培养<sup>[53]</sup>过程中,抗褐变效果依次为甘露醇(20.0 g/L) >  $\text{AgNO}_3$ (0.02 g/L) > VC(0.006 g/L) > 柠檬酸(0.6 g/L),而  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  不仅不能防止褐变,反而会促进褐变的发生。在外植体茎段的处理中,VC 抗褐变效果最佳,其次为聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、 $\text{AgNO}_3$ ,而  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  没能达到预期效果<sup>[17]</sup>。前人研究发现,2.0 mg/L  $\text{AgNO}_3$  对牡丹的褐变控制较佳<sup>[54]</sup>。

在实际生产中,对外植体的培养可结合多种抗氧化剂来减轻培养过程中的褐变,如白玉兰的芽接种前用相同浓度的柠檬酸、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  浸泡后,褐变率均低于 30%<sup>[18]</sup>。

**3.4.2 吸附剂** 活性炭(AC)和 PVP 可通过氢键和分子间的作用力将培养材料周围的酚类化合物吸附。但是活性炭缺乏吸附选择性,除了吸附培养基中的有毒物质以减轻褐变以外,还能够吸附培养基中的营养物质从而给植物生长造成竞争性抑制。研究表明,当在培养基中添加 1.5 g/L 活性炭时,茶树外植体褐变率较对照降低 22%<sup>[34]</sup>。还有研究表明,0.3% 活性炭对红叶杨外植体的褐变起到较好的抑制作用,当活性炭含量达到 0.5% 时,植株生长缓慢<sup>[55]</sup>。因此,在培养基中添加活性炭时,可适当提高激素配比,也可进行阶段培养,以保证植株的正常生长。PVP 可耐受高温,且是酚类物质的专一吸附剂<sup>[14]</sup>,从理论上讲作为防褐变剂是可行的。研究表明,麻栎<sup>[39]</sup>、阿月浑子<sup>[56]</sup>的外植体培养中 PVP 为最佳褐变抑制剂。在银杏的愈伤组织培养中,光照条件下 PVP 的抑制褐变效果为 25%,而黑暗条件下抑制褐变率则为 0<sup>[57]</sup>。

### 3.5 培养方式

可通过选择适当的培养方式来降低褐变发生的概率。在黄连木茎段接种的 3 种方式,即平放、斜插、直插中,平放接种可以减轻褐变的发生<sup>[58]</sup>。此外,通过连续多次转瓶或缩短转瓶周期可减轻褐变。另外,对植物材料进行茎尖培养时,接种后 24 h 便将其转到液体培养基中,之后每天转 1 次,持续 7 d,褐变基本不发生<sup>[59]</sup>。还可采用固体培养基和液体培养基交替使用的方法防止褐变的发生,因为液体培养基可有效冲洗外植体内溢出的毒害物质。

## 4 结语

植物组织培养过程中褐变现象已有较长的研究历史并积累了大量的数据资料。通过对褐变的了解与剖析,可知 PPO 是褐变发生的重要促进物质。导致褐变的内因有取材时期的选择、基因类型、同品种外植体的培养条件、培养材料的大小及部位等;外因有培养基种类及状态、化学添加物的含量和比例等。不同植物间基因型的差异与外植体酚类物质的产生

量、相关酶含量、基因表达均有关系<sup>[54,56,60]</sup>,因此褐变是由多种因素共同作用而产生的。对褐变现象进行更深一步的研究并防控木本植物发生褐变,能大大提高组培效率,减少经济损失。在实际生产过程中,可综合运用多种防褐变的控制措施,减轻或消除褐变,提高生产效益。

#### 参考文献:

- [1] 高国训. 植物组织培养中的褐变问题[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(6): 501-506.
- [2] 陈正华. 木本植物组织培养及其应用[M]. 北京: 高等教育出版社, 1986: 456-466.
- [3] 周俊辉, 周家容, 曾浩森, 等. 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(增刊1): 481-486.
- [4] 刘兰英. ‘薄壳香’核桃组培中的褐化及防止措施研究[J]. 园艺学报, 2002, 29(2): 171-172.
- [5] 蔡琼, 岳素青, 姬爱国. 植物组培过程褐变现象及抗褐技术研究进展[J]. 黑龙江生态工程职业学院学报, 2012, 25(1): 32-33.
- [6] 庞学群, 张昭其. 荔枝果皮褐变机理与防褐技术[J]. 食品科学, 2001, 22(1): 94-97.
- [7] 袁江, 张绍铃, 曹玉芬, 等. 梨果实酚类物质与酶促褐变底物的研究[J]. 园艺学报, 2011, 38(1): 7-14.
- [8] 叶梅, 王伯初, 段传人. 植物组织培养外植体褐变的研究进展[J]. 生物技术通讯, 2004, 15(4): 426-428.
- [9] 段艳欣, 郭文武. 多酚含量及多酚氧化酶活性与柑橘胚性愈伤组织褐化的关系[J]. 中国农学通报, 2009, 25(15): 117-120.
- [10] 蒋迪军, 牛建新. 苹果茎尖快速繁殖研究[J]. 新疆农业科学, 1992(4): 171-173.
- [11] 李冬杰, 张进献, 魏景芳, 等. 培养基和培养条件与红豆杉细胞培养中褐化的关系[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(1): 95-98.
- [12] 韦凤娟, 廖克波, 杨梅, 等. 擎天树组培外植体消毒与褐化抑制的研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(31): 18-22.
- [13] 曾镭, 刘燕. 植物组织培养中褐化问题的研究进展[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(14): 49-50.
- [14] 吴晓霞, 陈刚, 张彪, 等. 植物组织培养中褐变的研究进展[J]. 河北林果研究, 2002, 17(3): 284-288.
- [15] 李海玲, 朱艳. 桉树外植体诱导褐变原因初探[J]. 湖北林业科技, 2007(5): 20-21.
- [16] 章铁, 汪莹. 大别山山核桃组培中防褐变措施的研究[J]. 经济林研究, 2005, 23(1): 21-23.
- [17] 程世平, 施江, 史国安, 等. 黄连木茎段组织培养中防褐化技术研究[J]. 河南农业科学, 2010, 39(8): 110-113.
- [18] 周丽艳, 郭振清, 秦子禹, 等. 白玉兰组织培养中的褐化控制[J]. 河北科技师范学院学报, 2008, 22(4): 19-22.
- [19] 李焕秀, 乔霓娇. 降低苍溪梨外植体组培褐变途径的研究[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2001, 23(6): 524-526.
- [20] 于守超, 张秀省, 杨重军. 紫枝玫瑰组织培养中抑制褐化措施的研究[J]. 浙江林业科技, 2007, 27(5): 41-43.
- [21] 刘洋, 苏淑钗, 冷平生, 等. 阿月浑子外植体褐变抑制方法[J]. 果树学报, 2007, 24(3): 393-396.
- [22] 陈蕾, 曹后男, 宗成文, 等. 降低苹果梨组培过程中外植体褐化的研究[J]. 北方园艺, 2008(10): 139-142.
- [23] 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.
- [24] 谢丽霞, 社建伟, 李海杰, 等. 植物组织培养中的褐变现象及解决途径[J]. 垦殖与稻作, 2006(6): 61-62, 72.
- [25] 王永清, 汤浩茹, 邓群仙, 等. 樱花离体培养芽外植体的建立[J]. 四川农业大学学报, 1997, 15(3): 314-334.
- [26] 邱璐, 陈善娜, 夏跃明, 等. 桑树组织培养中褐化问题的研究[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2000, 22(1): 76-78.
- [27] 李景原, 王太霞, 张晋豫, 等. 红豆杉愈伤组织诱导及细胞培养的研究[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 1997, 25(1): 104-106.
- [28] 赵芳, 倪良, 耿征, 等. 南方红豆杉组织培养研究 I. 愈伤组织诱导和培养条件优化[J]. 中草药, 1999, 30(3): 213-215.
- [29] 张明文, 陈力耕. 银杏组织培养中控制褐化的研究[J]. 中国南方果树, 2003, 32(3): 51-52.
- [30] 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.
- [31] 崔堂兵, 郭勇, 张长远. 植物组织培养中褐变现象的产生机理及克服方法[J]. 广东农业科学, 2001(3): 16-18.
- [32] 刘均利, 马明东. 华盖木组织培养中褐化控制研究[J]. 浙江林业科技, 2007, 27(1): 20-23.
- [33] 曹昆, 李霞. 木本植物组织培养不定芽诱导研究进展[J]. 江苏林业科技, 2008, 35(5): 43-48.
- [34] 黄燕芬, 周国兰, 赵华富. 降低茶树组织培养中外植体褐化程度的研究[J]. 西南农业学报, 2009, 22(5): 1492-1495.
- [35] 张卫, 高疆生, 欧勇慧, 等. 抑制核桃组培中的褐化现象[J]. 落叶果树, 2003, 35(3): 4-7.
- [36] 吴瑕, 姜继龙, 刘芳, 等. 降低沙棘组培过程中外植体褐化的研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2009, 21(5): 10-13.
- [37] 罗丽华, 陈建华, 苏冬梅, 等. 板栗组培过程中褐变研究初探[J]. 经济林研究, 2003, 21(4): 30-31.
- [38] 李景蕻, 刘艳丽. 无花果组培中培养条件对外植体褐化的影响[J]. 北方园艺, 2015(14): 99-101.
- [39] 于艳, 夏兴宏, 石淑萍, 等. 减少多年生麻栎茎段外植体褐化的材料采集与组织培养条件优化[J]. 蚕业科学, 2015, 41(5): 793-800.
- [40] 李艳菊, 陶加洪, 王兰珍, 等. 元宝枫组织培养研究[J]. 北京林业大学学报, 2005, 27(3): 104-107.
- [41] 吴群英, 徐庆, 李丽亚, 等. 青钱柳不同外植体组织培养及褐变防止的研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 1872-1874.
- [42] 卢绪娟, 招雪晴, 邵大伟, 等. 平阴玫瑰组织培养褐变控制研究[J]. 山东林业科技, 2007(2): 34-35.
- [43] 张志兰. 山茶花组织培养过程中的防外植体褐化试验[J]. 西部林业科学, 2007, 36(2): 118-121.
- [44] 王娟, 田建保, 贺小红, 等. “金薄香”核桃组培中灭菌及防止褐变的研究[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2008, 28(3): 290-292.
- [45] 和风美, 朱永平, 杨晓红, 等. 冬樱花愈伤组织诱导和抑制褐化初探[J]. 中国农学通报, 2010, 26(12): 130-134.
- [46] 梁明勤, 姚丽娟, 周云帆, 等. 绿香椿组织培养外植体褐变现象的研究[J]. 安徽农学通报, 2015, 21(22): 37-38.
- [47] 李俊强, 林利华. 银叶杜鹃组织培养抑制褐变研究[J]. 现代园艺, 2015(24): 9-10.
- [48] 王尚堃, 全瑞霞, 翟宝黔, 等. 博爱八月黄柿组织培养影响因素研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2010, 36(2): 176-180.
- [49] 赵月明, 赵雁鸣, 何承忠, 等. 漆树组织培养中污染与褐变的防

刘 嫻, 吴伟文, 贺 振, 等. 莲藕常见病虫害的发生与防治研究进展[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(16): 24–28.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.16.005

# 莲藕常见病虫害的发生与防治研究进展

刘 嫻, 吴伟文, 贺 振, 李良俊  
(扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏扬州 225009)

**摘要:** 莲藕是我国种植面积最大的水生蔬菜, 本文就莲藕腐败病、褐斑病、病毒病、莲缢管蚜、斜纹夜蛾、稻根叶甲等常见病虫害的危害症状、发生规律及防治措施进行综述, 旨在为今后莲藕生产中病虫害的防控提供理论和技术指导。

**关键词:** 莲藕; 病虫害; 危害症状; 发生规律; 防治措施; 技术指导

**中图分类号:** S436.45 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)16-0024-05

莲藕 (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) 是睡莲科莲属多年生水生草本植物, 在我国有三千多年的栽培历史, 目前莲藕的栽培面积约为 33.3 万  $\text{hm}^2$ <sup>[1]</sup>。莲藕主要以根状茎进行无性繁殖, 腐败病、褐斑病、病毒病、莲缢管蚜、食根金花虫、斜纹夜蛾等病虫害发生较为严重, 影响莲藕的产量和品质<sup>[2-3]</sup>。本研究就莲藕常见病虫害的危害症状、发生规律及防治措施进行总结, 以期对莲藕生产中病虫害的防控提供理论和技术指导。

## 1 莲藕主要病害

### 1.1 腐败病

又称枯萎病, 主要危害莲藕的地下茎部及根部, 并造成地上部叶片和叶柄的枯萎, 是莲藕生产上的主要病害之一。腐败病一般可致藕田减产 20%~30%, 严重时可达 60% 以上, 甚至绝收<sup>[4]</sup>。

病原菌: 大多数学者认为引起莲藕腐败病的病原菌主要

是尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*)<sup>[5-7]</sup>, 也有研究认为缺性腐霉 (*Pythium elongatum*)<sup>[8]</sup>、串珠镰刀菌 (*Fusarium moniliforme*)<sup>[9]</sup>、腐皮镰刀菌 (*Fusarium poae*) 及接骨木镰刀菌 (*Fusarium sambucinum*)<sup>[10]</sup> 也是引起莲藕腐败病的致病病因。

危害症状: 由于该病的初侵染源主要是种藕带菌和土壤带菌, 因此发病初期地下部分最先受到危害, 但随着病情的发展, 地上部分的叶片、叶柄和花蕾也呈现出症状<sup>[6]</sup>。在发病早期, 病藕的地下茎外观通常与正常藕无明显差异, 但其维管束变淡褐色或褐色, 且随着病情不断扩展, 可由地下茎逐渐蔓延至新藕<sup>[11]</sup>; 病害严重时可在病茎上看见丝状菌丝体和粉红色黏稠物, 即为病菌分生孢子堆; 在发病后期, 莲藕地下茎呈现褐色或紫黑色不规则病斑, 严重时出现纵皱状病斑或腐烂<sup>[4-6]</sup>。病茎初生的叶片呈淡绿色, 从叶缘开始干枯变褐, 随后叶片呈反卷青枯状 (图 1-A、图 1-B); 其叶柄顶端易呈现弯曲状, 叶柄维管束褐色干枯 (图 1-C、图 1-D); 病茎抽生的花蕾形体瘦小, 花瓣尖缘干枯, 最终导致花蕾枯死。发病严重时, 全田一片枯黄, 似火烧状<sup>[12]</sup>。

发生规律: 莲藕腐败病病原菌能在种藕及土壤中以菌丝体、厚垣孢子和分生孢子的形式越冬, 翌年再度成为侵染源<sup>[13]</sup>。通常, 长期连作的藕田, 腐败病发生严重, 其次, 连续阴雨天气, 日照时间不足, 或暴风雨频繁天气等也极易诱发莲藕腐败病的发生<sup>[14]</sup>。另外, 藕田土壤酸性较大、水质污染、田间通风透光性差以及单施化肥或偏施氮肥等也会引发腐败病

收稿日期: 2016-12-20

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 31601604); 江苏省高校自然科学基金 (编号: 16KJB210015); 江苏省农业自主创新资金 [编号: CX(16)1011]。

作者简介: 刘 嫻 (1992—), 女, 江苏镇江人, 硕士, 主要从事水生蔬菜栽培与育种研究。E-mail: 18252715593@163.com。

通信作者: 李良俊, 教授, 主要从事水生蔬菜栽培与育种研究。E-mail: ljli@yzu.edu.cn。

治[J]. 中国农学通报, 2015, 31(10): 33-38.

[50] 杨亚萍, 郑新强. 茶树组织培养中的褐化控制研究[J]. 茶叶, 2013, 39(1): 3-7.

[51] 高 蓉, 赵博光. 防止黑松外植体及其愈伤组织褐变的方法[J]. 南京林业大学学报 (自然科学版), 2001, 25(5): 75-77.

[52] 汤绍虎, 孙 敏, 周启贵, 等. 降低“雪青”梨的外植体褐化研究[J]. 西南农业大学学报 (自然科学版), 2005, 27(2): 231-233.

[53] 饶慧云, 邵祖超, 柳海宁, 等. 抗褐化剂对葡萄愈伤组织继代培养过程中酚类物质、相关酶及其基因表达的影响[J]. 植物生理学报, 2015, 51(8): 1322-1330.

[54] 李 萍, 成仿云, 张颗星, 等. 防褐剂对牡丹组培褐化发生、组培苗生长和增殖的作用[J]. 北京林业大学学报, 2008, 30(2):

71-76.

[55] 李树丽. VC 液和活性炭对中华红叶杨外植体褐变的影响[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(26): 11232-11233.

[56] 魏 芳, 苏淑钗, 丰富珍, 等. 阿月浑子总酚含量与褐变关系研究[J]. 河北林果研究, 2007, 22(1): 50-53.

[57] 王义强, 蒋舜村, 石明旺, 等. 不同抗氧化剂对银杏愈伤组织褐变影响的研究[J]. 经济林研究, 2003, 21(4): 21-23.

[58] 何敬方, 肖 平, 苏淑钗, 等. 黄连木茎段启动与增殖培养中防褐化技术研究[J]. 河北林果研究, 2011, 26(3): 280-285.

[59] 付 影, 荣俊冬, 陈礼光, 等. 植物组织培养中褐变问题研究进展[J]. 亚热带农业研究, 2007, 3(3): 190-195.

[60] 刘 芳, 赵金红, 朱明慧, 等. 多酚氧化酶结构及褐变机理研究进展[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(6): 113-119.