

槟榔的研究概况

任军方^{1,2}, 王文泉³, 唐龙祥^{1,4}

(¹中国热带农业科学院椰子研究所, 海南文昌 571339;

²海南大学农学院, 海南儋州 571700;

³中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海南海口 571110;

⁴海南省热带棕榈植物研究重点实验室(筹), 海南文昌 571339)

摘要: 槟榔在中国是四大南药之一, 具有重要的医用价值。为了从整体上了解槟榔在中国的研究概况, 文章介绍了槟榔的生物学特性以及种质资源的研究现状, 重点阐述了组织培养技术、分子标记技术、蛋白质组学在槟榔研究中的应用, 并展望了现代生物技术在槟榔今后研究中的广阔前景。

关键词: 槟榔; 种质资源; 分子标记; 生物技术

中图分类号: S59

文献标志码: A

论文编号: 2010-1254

A survey of the studies on *Areca catechu* L.

Ren Junfang^{1,2}, Wang Wenquan³, Tang Longxiang^{1,4}

(¹Institute of coconut researches, Chinese academy of tropical agricultural sciences, Wenchang Hainan 571300;

²Agronomic college of Hainan university, Danzhou Hainan 571700;

³Institute of tropical bioscience and biotechnology, Chinese academy of tropical agricultural sciences, Haikou Hainan 571110;

⁴Key laboratory of Hainan tropical palmaceous plant researches (preparing), Wenchang Hainan 571339)

Abstract: *Areca catechu* L. is one of the four primary medicinal plants in south China, with valuable medical usefulness. In order to learn the general status in *Areca catechu* studies, we made a presentation of the biological characteristics and surveyed the researches in germplasm resources, with emphases on reviews of the tissue-culture technology, molecular markers and proteomics methods used at present. The broad prospects of applying modern bio-technologies in *Areca catechu* were presented.

Key words: *Areca catechu* L.; germplasm; molecular markers; biotechnology

0 引言

槟榔(*Areca catechu* L.)为棕榈科(Palmaceae)槟榔属(*Areca*)常绿乔木, 原产马来西亚, 主要分布于亚洲与美洲的热带地区^[1-2], 中国引种栽培槟榔已有2100多年历史, 主要种植在海南和台湾两省, 另外在广东、广西、福建及云南部分地区也有少量栽培^[3]。种子含单宁和多种生物碱, 居四大南药之首, 有重要的医用价值; 热带居民常以嫩果作嗜好品。同时, 又是观赏树木和果树。槟榔是中国热带亚热带地区仅次于橡胶的第二大产业, 农业产业结构调整中主要的栽培作物之一^[4]。

1 槟榔概述

1.1 生物学特性

槟榔属于湿热型阳性植物, 喜温、喜湿而忌积水、好肥。抗逆性强, 最适宜生长温度为23~26℃, 年降雨量1600~1800 mm, 相对湿度60%~70%, 荫蔽度40%~50%, 过度荫蔽则植株徒长导致生长不良, 结果会推迟。槟榔喜富含腐殖质的微酸性至中性砂质壤土, 底土为红壤或黄壤最为理想。花期一般是4~8月, 冬花不结果, 果期11月至次年5月; 一般定植后5~6年开花结果, 20~30年是盛产期, 寿命最高可达到100年以

基金项目: 国家科技基础条件平台重点项目(2005DKA21005); 公益性行业(农业)科研专项(200903026-01)。

第一作者简介: 任军方, 女, 1980年出生, 河北石家庄人, 在读硕士研究生, 研究方向为种质资源学。通信地址: 571101 海南省海口市龙华区学院路4号 热带生物技术研究所 A-601 室, Tel: 0898-66894313, E-mail: renjunfang808@163.com。

通讯作者: 唐龙祥, 男, 1964年出生, 研究员, 研究方向: 作物遗传育种与分子标记。通信地址: 571339 海南省文昌市文清大道椰子研究所, E-mail: tlx@china.com。

收稿日期: 2010-04-23, **修回日期:** 2010-06-03。

上。果实采收后种子有果内后熟的特点。黄色成熟果实的发芽率64.3%^[5-6]。

槟榔属热带多年生常绿乔木,树高10~20 m,最高可达30 m,干直立,单轴不分枝,茎干有明显的环状叶痕,树皮灰褐色,叶丛生茎顶,羽状复叶,全裂,叶长1.3~2 m;叶柄三棱形,具长叶鞘,叶鞘抱茎,基部具黄绿色佛焰苞;肉穗花序,多分枝,成圆锥形;花单性,雌雄同株,花被6;雄花2列,花小而生,互生于花序小穗上部;雌花大而少,着生于总轴或分枝基部,子房上位,1室。坚果卵圆形,红色,有宿存花萼及花瓣;种子一粒,扁球形或圆锥形,直径1.5~3 cm。表面淡黄棕色或淡红棕色,有稍微凹下的网状沟纹,底部凹陷的珠孔,旁边有种脐。质地坚硬,不易破碎,断面呈现棕色种皮与白色胚乳相间的大理石样花纹。味涩、微苦^[7]。

槟榔的花粉在湿润时呈近球形,干燥后皱缩如扁球形。具有内外两层壁,表面隐约粒状,花粉壁除富含纤维素外,还含有果胶质、原生质、去氢酶、脂类、孢粉素和维生素C等生理活性物质。内孔横长,有孔室,由内向外穿插于整个壁层。槟榔花粉的这种微型结构,有利于风和昆虫的传粉^[8]。

1.2 槟榔的种质及栽培品种

槟榔的栽培历史悠久,分布地域广泛,在自然选择和人工栽培驯化下,形成许多变种、品种,仅印度就收集有128份种质^[9-10],有四大主栽培品种。中国对槟榔的种质还没有系统的研究,对槟榔的种质资源收集也正在进行中。历史上栽培仅以海南当地种为主,自上世纪以来逐渐出现泰国种、越南种、台湾种等^[11]。但是泰国种、越南种由于品质差、产量低,不太适合中国消费者的口味,已经逐渐被淘汰;台湾口味甜,多为台商种植,主要供应台湾和香港市场。

1.3 槟榔细胞学

槟榔的染色体数是 $2n=32$,而且大部分是二价染色体,有极少的四价染色体。经后来确定槟榔的染色体是基数为7的次级异源四倍体^[12-13]。

2 现代生物技术在槟榔研究上的进展

2.1 组织培养技术的发展

槟榔一般用种果繁殖,繁殖系数低。槟榔为异花授粉植物,且生长年限比较长,杂种后代性状分离严重,个体差异较大,难于形成遗传性一致的群体,一些具有优良抗逆性和高产性状的品种,用种果繁殖的后代绝大部分不能保持亲本优良性状。无性繁殖是优良品种进行高效繁殖的重要手段,不仅节约种果,在短期内能大量繁殖出保持亲本性状的苗木,而且采用组织培养脱毒技术还可以获得无病毒苗木,从而有效控制

病害的蔓延。槟榔的组织培养研究工作始于1996年,目前胚培养已获得成功。Karun等利用7个月龄的槟榔种子胚成功地诱导出试管苗并已移栽成功^[14]。但是利用体细胞诱导槟榔幼苗的技术尚在逐步完善之中。Karun等利用Mangala等主栽品种的幼嫩叶片和未成熟的花序研究诱导幼苗,成功获得槟榔组织培养幼苗^[15]。2006年,台湾学者Wang等^[16]利用槟榔的叶、根及茎成功诱导出槟榔幼苗。黄丽云等^[17]利用槟榔幼胚成功诱导出槟榔幼苗,成活率达75%以上,是中国首次对槟榔进行组织培养研究。

槟榔组织培养的成功对开展槟榔的生物学研究有很重要的意义,组织培养是开展生物工程的基本技术,各种基因转移和基因重组技术是组织培养基础上建立的;组织培养可以快速繁殖大量植物种苗,可以培育无病毒种苗,对新品种的选育也有很大的帮助等。

2.2 分子标记在槟榔研究上的应用

DNA分子标记(DNA molecular markers)是以基本遗传物质脱氧核糖核酸(DNA)的分子差异为基础的一种标记技术。是继形态标记、细胞标记和生化标记之后发展起来的一种较为理想的遗传标记形式^[18]。由于DNA分子标记具有快速、微量、特异性强、准确可靠等优点,且不受生育阶段、供试部位、环境条件等因素的影响,近年来对其研究及运用十分活跃。从第一代分子标记诞生以来,到现在已经发展到几十种,最常用的方法包括限制性片段长度多态性(RFLP)、随机扩增多态性DNA标记(RAPD)、简单序列重复标记(SSR)、重复序列之间长度多态性标记(ISSR)、扩增片段长度多态性标记(AFLP)等,目前被广泛应用于棕榈科植物的遗传多样性研究、品种鉴别、良种选育、基因定位、图谱构建等方面^[19-23]。

DNA是分子生物学研究的基础,DNA质量会直接影响到分子生物学的后续工作,摸索合适的槟榔DNA提取方法是开展槟榔分子工作的前提。槟榔含有较多的多酚、多糖等次生物质,这些次生物质对DNA纯度会有很大程度的影响。曾莉娟等^[24]利用槟榔黄化病植株叶片摸索出了一套适合于槟榔DNA提取的方法,并获得了质量很好的DNA样品。这对槟榔从基因组角度研究奠定了基础。在分子标记开发方面,台湾学者Hu Cheng-Heng等人利用9条SSR引物对采自台湾屏东县的36份槟榔材料进行PCR扩增,结果在36份材料中共扩增103条带,每条引物扩增出5~15条带,平均可达10条,扩增条带在107~304 bp, H_e 在0.74~0.94之间,平均0.87, H_o 在0~0.88之间,平均0.36,除了AC30外,其他8个引物都偏离了HWE平

衡,可能是因为长期的人工选择,或存在过多的无效等位基因位点^[25]。王春路^[26]通过叶绿体 *trnK* 基因的内含子 *matK* 序列及核糖体转录间隔区(ITS)序列研究分析了中国原生棕榈科 18 属间的系统发生,结果表明槟榔与椰子有较近的亲缘关系。

分子标记方面的初步研究,使槟榔的研究已经发展到了一个新的阶段,它将推动槟榔今后在品种鉴定、遗传多样性、构建图谱等方面的研究,从而加快生物技术 在 槟 榔 研 究 中 的 应 用。

2.3 蛋白组学的研究

蛋白质组学(Proteomics)是 1994 年澳大利亚 Macquarie 大学的 Wilkins 和 Williams 等^[27]首次提出蛋白质组(Proteome)这个概念,被定义为“蛋白质组是一个基因组所表达的蛋白质”,这个术语很快在国际生物界得到认可。它是以蛋白质组为研究对象的新的研究领域,分为:(1)表达蛋白质组学(expression proteomics),即把细胞、组织中的蛋白建立蛋白定量表达图谱或扫描 EST 图;(2)细胞图谱蛋白质组学(cell-map proteomics)即确定蛋白质在亚细胞结构中的位置,通过纯化细胞器或用质谱仪鉴定蛋白复合物组成等,来确定蛋白质-蛋白质的相互作用。蛋白质组学是作为功能基因组学研究的重要支柱应运而生,因此被称为后基因组学^[28-30]。目前蛋白质组学已在转基因生物检测、植物的叶绿体、疾病、抗病、不育性等方面应用^[31-35]。

双向电泳是蛋白质组学研究中主要蛋白质分离技术,而双向电泳的第一步也是很关键的一步,就是蛋白样品制备,李涛等^[36]利用 3 种方法提取了槟榔叶片的总蛋白质以及对它的双向电泳条件作了初步的研究,通过 3 种方法的比较,最后确立 TCA/丙酮沉淀法效果比较好,是槟榔叶片总蛋白质提取的适用方法,并优化了双向电泳的条件和上样量。近些年,海南槟榔的黄化病发生已经非常严重,造成大面积槟榔绝产或大面积槟榔被砍,而仍没有有效的方法治疗。为了进一步探索槟榔黄化病病害发生的本质,提供有效的治疗方法,有必要从蛋白质组学的角度来研究这个问题,蛋白质组学能鉴定各种器官、组织和细胞在病变过程中发生变异的蛋白,为功能基因组学提供科学的信息。

3 现代生物技术在槟榔种质资源研究领域的应用前景

随着现代生物技术的不断发展和成熟,组织培养、分子标记等技术在槟榔研究上的应用也会更为广泛深入。槟榔的资源丰富,但是利用和开发有限,可以在资源的鉴定、分类、遗传多样性、种质资源保护、辅助选择育种和品种改良等方面展开研究。在分子育种过程

中,通过对某些重要的优良性状如高产、抗黄化病等相关的标记进行筛选,可以在杂交早代进行分子选择,缩短育种年限。目前仍没有人对海南的槟榔类型提出系统的分类方法。有以果实形状和以果核大小来分,如果大核小味甘者称为“山槟榔”,果小核大味苦涩者称为“猪槟榔”。有以花穗大小及长短,分为长蒂种和短蒂种。在印度是以槟榔开花的早晚,果穗的疏密,果实的大小,种子的大小、形状、硬度及味道等来分门别类的。主要分为红色品种和白色品种 2 个主要的种^[37]。这种分类命名缺乏科学依据,分子标记技术则为品种鉴定和分类开辟了广阔的前景。

参考文献

- [1] 全国中草药汇编编写组.全国中草药汇编(上册).北京:人民卫生出版社,1978:898.
- [2] 陈鹏.东南亚的槟榔[M].世界民族,1996,1:66-69.
- [3] 陈良秋,万玲.我国引种槟榔时间及其它[M].中国农村小康科技,2007,(2):48-50.
- [4] 杜道林,甘炳春,王有生,等.槟榔种质初步评价研究[M].中国种业,2005,(7):37-38.
- [5] 何和明,梁学琛,符气浩.槟榔生物学和生态特性的研究,海南大学学报:自然科学版,1995,15(3):216-220.
- [6] 何和明.海南岛槟榔开花习性、花粉特征及花器生理脱落的原因,蜜蜂杂志,2005,(3).
- [7] Staples G W, Bevacqua R F. *Areca catechu* (betel nut palm),[EB/OL].www.traditionaltree.org,August,2006,ver,1.3.1-17.
- [8] 邱启雄,何和明.槟榔花生物学特点及单宁酸含量分析,中国野生植物资源,2006,25(3):47-48.
- [9] 陈良秋.印度槟榔种质资源概述,工作研究[J].现代农业科技,2007,(5).
- [10] Balasimha D, Rajagopal V. Arecanut,Central Plantation Crops Research Institute,Kasaragod,October 2004:1-301.
- [11] 范海阔,黄丽云,周焕起,等.槟榔及其栽培技术[J].中国南方果树,2007,36(4):27-29.
- [12] Ananda K S. Improved varieties and promising traditional cultivars of arecanut. Technical Bulletin (ATIC series of Publication). Central Plantation Crops Research Institute, Kasaragod, September 2002: 1-9.
- [13] Murthy K N.Variety Improvement in Arecanut,Journal of Plantation Crops,Volume17(Supplement)April,1990,64-71.
- [14] Karun A, Siril E A, Radha E, et al. *In vitro* embryo retrieval technique for arecanut (*Areca catechu* Linn.). Proceedings of the 15th Plantation Crops Symposium Placrosym XV, Mysore, India, 10-13 December, 2002.
- [15] Karun A, Siril E A, Radha E, et al. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from leaf and inflorescence explants of arecanut (*Areca catechu* L.)[J]. Current Science,2004,86:1623-1628.
- [16] Wang H C, Chen J T, Chang W C. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf, root, and stem-derived callus cultures

- of *Areca catechu*[J]. *Biologia Plantarum*,2006,50(2):279-282.
- [17] 黄丽云,周焕起,唐龙祥,等. 槟榔胚培养[J]. *植物生理学通讯*,2007,43(4):737.
- [18] 黎裕,贾继增,王天宇. 分子标记的种类及其发展[J]. *生物技术通报*,1999(4),19-22.
- [19] Manimekalai R, Nagarajan P. Assessing genetic relationships among coconut (*Cocos nucifera* L.) accessions using inter simple sequence repeat markers[J]. *Scientia Horticulturae*,2006,108(1):49-54.
- [20] 杨华,黄藤和单叶省藤遗传多样性与早期性别鉴定的研究[D]. 北京:中国林业科学研究院,2004.
- [21] Moretzsohn M C, Nunes C D M, Ferreira M E, et al. RAPD linkage mapping of the shell thickness locus in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*,2000,100(1):63-70.
- [22] Cardena R, Ashburner G R, Oropeza C. Identification of RAPDs associated with resistance to lethal yellowing of the coconut (*Cocos nucifera* L.) palm[J]. *Sci. Hortic*,2003,98:257-263.
- [23] Billotte N, Mareillac N, Risterucci AM, et al. Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) [J]. *Theor Appl Genet* 2005,110(4):754-765.
- [24] 曾莉娟,李涛,张雨良,等. 槟榔基因组DNA的高效提取方法. *江西农业学报*,2010,22(2):58-59.
- [25] Hu Cheng-heng, Huang Chi-chun, Hung Kuo-hsiang, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci from *Areca catechu* (Arecaceae) using PCR-based isolation of microsatellite arrays[J]. *Molecular ecology resources*, 2009,9:658-660.
- [26] 王春路. 利用ITS序列和matK序列探讨中国部分原生棕榈科植物的亲缘关系[D]. 厦门大学, 2007:63-65.
- [27] 李伯良. 功能蛋白组学[J]. *生命的化学*,1998,189(6):1-4.
- [28] 王志珍,邹承鲁. 后基因组-蛋白质组研究[J]. *生物化学与生物物理学报*,1998,30(6):533-539.
- [29] 李林,吴家睿,李伯良. 蛋白质组学的产生及其重要意义[J]. *生命科学*,1999,11(2):49-50.
- [30] 焦素敏. EDA应用技术[M]. 北京:清华大学出版社,2005.
- [31] Badri M A, Riard D, Coenen K, et al. A SELDI-TOF MS procedure for the detection quantitation, and preliminary characterization of low-molecular-weight recombinant proteins expressed in transgenic plants [J]. *Proteomics*,2009,9(2):233-241.
- [32] Plomion C, Pionneau C, Brach J, et al. Compression wood-responsive proteins in developing xylem of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) [J]. *Plant Physiology*,2000,123(3):959-970.
- [33] Keegstra K, Cline K. Protein import and routing systems of chloroplasts[J]. *Plant cell*,1999,11:557-570.
- [34] Xie J Y, Li X L, Chen P. Preliminary proteomic analysis of thermo-sensitive genetic sterile rice anther[J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*,2003,19(2):215-221.
- [35] 张娴,李伟,曾星,等. 高血压肝阳上亢大鼠模型单个核细胞蛋白质组的二维电泳分析[J]. *中华实用中西医杂志*,2003,4(13):1929-1931.
- [36] 李涛,曾莉娟,王健华,等. 槟榔叶片总蛋白质提取及双向电泳条件初探[J]. *热带作物学报*,2009,3(6):746-750.
- [37] 覃伟权,范海阔. 槟榔[J]. 北京:中国农业大学出版社,2010:1.