

不同倍性栝楼生长发育及果实糖酸含量的研究

杨福红¹, 吴玉香², 赵晓明²

(¹山西农业大学研究生学院, 山西太谷 030801; ²山西农业大学农学院, 山西太谷 030801)

摘要: 为了进一步培育栝楼优良品种, 也为药用植物多倍体诱变育种提供依据, 以天然二倍体和笔者所在课题组人工诱变成的四倍体栝楼为材料, 对其生长发育和果实中总糖和总酸含量进行测定研究。利用蒽酮法和酸碱滴定法测定天然二倍体和四倍体栝楼果实中的糖和酸含量。研究表明: 四倍体栝楼的长势快于二倍体; 叶片中叶绿素含量明显高于二倍体; 四倍体栝楼果实大小、重量、结实率和百粒重明显小于二倍体; 果实中总糖和总酸的含量四倍体明显高于二倍体。由 DPS 软件分析可知: 在 0.05 水平下, 四倍体和二倍体栝楼总糖和总酸的含量有显著的差异; 在 0.01 水平下, 总糖和总酸的含量有极显著差异。

关键词: 栝楼; 糖酸比; 多倍体

中图分类号: S335.1 **文献标识码:** A

Studies on the Growth and Sugar/Acid Contents between Autotetraploid and Diploid of *Trichosanthes Kirilowli* Mamm

Yang Fuhong¹, Wu Yuxiang², Zhao Xiaoming²

(¹College of Graduate, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801;

²College of Agronomy, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801)

Abstract: In this paper, the growth and sugar/acid contents were studied between our obtained autotetraploid and diploid of *Trichosanthes Kirilowli* Mamm for the breeding of new herb cultivar. The anthrone method and acid-base titration were used to mensurate sugar/acid contents between autotetraploid and diploid of *Trichosanthes Kirilowli* Mamm. It showed that the growth vigor of tetraploid is faster than diploid; chlorophyll content in leaf of tetraploid was higher than that in diploid. The fruit size and weight, seed setting rate and the weight of 100 seeds of tetraploid were all much lower than diploid. Sugar content and acid content in tetraploid fruits were all higher than that in diploid fruits. By statistical analysis of DPS software, it showed that the differences of sugar content and acid content in tetraploid fruits were significant at 0.01 level and significant at 0.05 level when comparing with that in diploid fruits.

Key words: *Trichosanthes Kirilowli* Mamm, ratio of sugar and acid, Polyploid

栝楼又称瓜蒌、天瓜、苦瓜、药瓜, 是葫芦科栝楼属的一种多年生缠绕性藤本植物。全世界栝楼属植物有 80 余种, 中国就有 40 多种^[1], 是栝楼属的主要分布区域。栝楼的果实、种子和根等都可入药^[2]。杨廷桢、高敬东^[3]等的研究表明: 栝楼的果实中含有糖类、有机酸和三萜皂甙、色素以及钾、钙、镁、铁等。具有清热化痰、宽

胸散结, 润燥滑肠、消肿排脓等功效。因此栝楼是一种具有很高开发利用价值的中草药。目前, 对栝楼方面的研究主要集中在天花粉蛋白及其药理方面的研究, 关于栝楼多倍体诱变和其果实方面的研究报道较少。近年来, 在生产中应用的栝楼抗病性差, 产量低。导致栝楼在市场上供不应求, 因此通过诱导栝楼多倍体, 有望

基金项目: 山西农业大学科技创新基金“药用植物多倍体诱变育种研究”(200144), 山西省高校高科技开发项目(20081010)资助。

第一作者简介: 杨福红, 男, 1982 年出生, 汉族, 甘肃平凉人, 在读硕士, 作物遗传育种药用植物染色体工程。E-mail: yangfuhong2003@yahoo.com.cn。

通讯作者: 吴玉香, 女, 1969 年出生, 汉族, 山西神池人, 副教授, 博士, 从事作物遗传育种研究。Tel: 0354-6289102, E-mail: wuyuxiang89@sina.com。赵晓明, 男, 1945 年出生, 汉族, 山西忻州人, 教授, 博导, 从事作物遗传育种, 药用植物染色体工程研究。Tel: 0354-6288133, E-mail: songyun0283@126.com。

收稿日期: 2008-09-23, **修回日期:** 2008-10-20。

增加栝楼的有效成分,培育优良的栝楼新品种,从根本上解决栝楼在市场上供不应求这一矛盾,也为培育栝楼新品种提供中间材料。

笔者以栝楼二倍体和笔者所在课题组已经诱变得到的四倍体栝楼为材料,对二者的生长发育情况进行跟踪观察比较,对其果实中糖酸含量也进行了测定比较,为进一步培育栝楼优良品种提供依据,也为药用植物育种开辟新的途径。

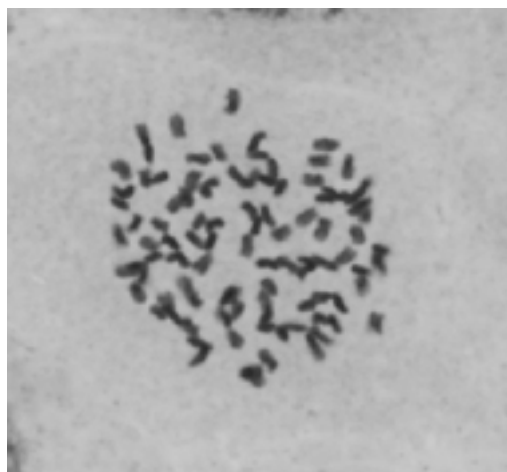


图1 二倍体染色体 $2n=2x=66$

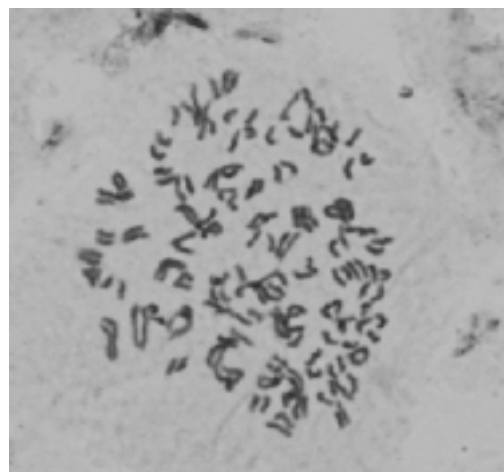


图2 四倍体染色体 $2n=4x=132$

1.2 实验方法

1.2.1 同源四倍体和二倍体栝楼植株田间动态调查 2007年4月20日,待栝楼的出苗率达到80%以上时,分别随机选择多倍体和二倍体植株各15株,挂牌标号,从2007年4月27日—6月6日期间,每隔7d分别测量记录其株高、叶片数和主茎的直径。

1.2.2 同源四倍体和二倍体栝楼叶片中叶绿素含量的比较 2007年7月4日,选择已标号的二倍体和四倍体植株相同部位的叶片,每个叶片选取6个点,用叶绿素仪测量叶片中的叶绿素含量,并记录。

1.2.3 同源四倍体和二倍体栝楼果实的比较 2007年10月23日,将标号植株上已成熟的栝楼果实采收,并测量其重量、大小、果皮厚度。并用蒽酮法和酸碱滴定法测量其含糖量和有机酸的含量(设3次重复)^[6,7]。所

1 材料与方法

1.1 实验材料和实验时间

栝楼(*Trichosanthes Kirilowli Mamm*)为葫芦科栝楼属品种短把栝楼,天然二倍体栝楼和诱变得到的四倍体栝楼均种于山西天然药用生物研究所试验基地^[4,5](四倍体栝楼已通过根尖有丝分裂染色体鉴定,见图1和2)。田间实验于2007年4—11月期间在山西天然药用生物研究所完成。室内实验于2007年10—12月在山西农业大学中草药育种实验室完成。

得结果利用DPS统计软件进行分析。

1.2.4 同源四倍体和二倍体栝楼籽的比较 2007年10月23日,将标号植株上已成熟的栝楼果实采收,10月24日收籽,晒干后,11月4日测量种子的大小、百粒重等,并记录。

2 结果与分析

2.1 同源四倍体栝楼和二倍体栝楼植株田间动态调查结果

对同源四倍体和二倍体栝楼植株进行田间动态调查,结果列于表1,从表1可知:在栝楼田间生长期间,四倍体与二倍体相比,四倍体植株生长明显快于二倍体植株;四倍体栝楼株高明显高于二倍体;四倍体叶片数多于二倍体;主茎直径四倍体粗于二倍体;四倍体栝楼长势快而且强健,具有明显的多倍体优势。

表1 同源四倍体和二倍体栝楼植株生长情况比较

处理		4/27	5/5	5/13	5/21	5/29	6/6
株高/cm	二倍体	43.18	85.22	140.42	217.82	364.42	490.91
	四倍体	51.10	96.55	175.82	264.00	394.00	496.92
叶片数/个	二倍体	3.8	6.9	11	17.5	25.1	34.6
	四倍体	6.45	11	15.73	22.64	29.9	36.27
主茎直径/cm	二倍体	0.467	0.513	0.533	0.545	0.565	0.604
	四倍体	0.508	0.577	0.604	0.624	0.649	0.671

表2 同源四倍体和二倍体栝楼叶片中叶绿素含量的比较

处理	幼苗期	生殖生长期
二倍体	29.67	50.48
四倍体	45.92	56.70
变化幅度	54.76%	13.32%

2.2 同源四倍体和二倍体栝楼叶片中叶绿素含量的比较结果

对不同倍性的多年生栝楼的幼苗期和生殖生长期植株叶片中叶绿素的含量进行测定分析,结果列于表2,由表2可以看出:在幼苗期和生殖生长期中,四倍体叶片中的叶绿素含量均高于二倍体植株,幼苗期高出了54.76%;生殖生长期高出了13.32%。

2.3 同源四倍体和二倍体栝楼果实的比较

对同源四倍体和二倍体栝楼的果实进行比较,结

果列于表3,比较分析表明:四倍体栝楼的果实明显小于二倍体,栝楼果实长减小26.79%;果实直径减小21.69%;果皮厚度也比二倍体薄,减小了18.85%;单果重也急剧下降,减小了36.29%;果形由二倍体的纺锤形变成了四倍体的椭圆形,且大多数四倍体果实变畸形(见图5、6和7)。

2.4 同源四倍体和二倍体栝楼籽的比较

对不同倍性的栝楼种子进行比较,结果列于表4,结果分析表明:四倍体栝楼的种子明显小于二倍体,种子的长减小了19.16%,宽度减小了10.54%,厚度减小12.39%;百粒重、结实率和发芽率也明显低于二倍体,百粒重减小40.87%,结实率减小了53.21%,发芽率减小44.75%;并且部分种子发育不完全,多倍体种子部分畸形,有少部分出现空瘪(见图3、4)。

表3 同源四倍体和二倍体栝楼果实的比较

处理	果实大小		果皮厚度/cm	果重/g	果形
	长度/cm	直径/cm			
二倍体	14.061	9.020	0.955	347.93	纺锤形
四倍体	10.293	7.064	0.775	221.64	椭圆形
变化幅度	26.79%	21.69%	18.85%	36.29%	

表4 同源四倍体和二倍体栝楼籽的比较

处理	种子大小			百粒重/g	结实率/%	发芽率/%
	长度/cm	宽度/cm	厚度/cm			
二倍体	1.644	0.958	0.363	30.56	92.36	96.32
四倍体	1.329	0.857	0.318	18.07	43.21	53.22
变化幅度	-19.16%	-10.54%	-12.39%	-40.87%	53.21	44.75

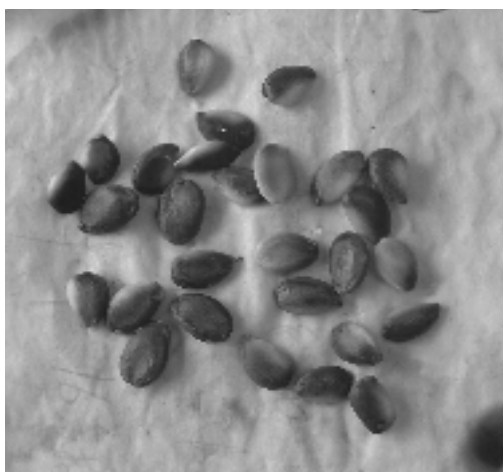


图3 四倍体种子



图4 二倍体种子

2.5 同源四倍体和二倍体栝楼果实中糖酸含量的比较

对不同倍性的栝楼果实中糖酸含量进行比较测定,结果列于表5,由表5分析表明:四倍体比二倍体栝楼果实中总含糖量和总酸含量都高,总糖含量高出了5.46%;总酸含量高出了0.026%。用DPS软件进行分析,

结果表明:在0.05水平下,四倍体和二倍体栝楼果实中的总糖含量和总酸含量具有显著差异;在0.01水平下,四倍体和二倍体栝楼果实中的总糖含量和总酸含量具有极显著差异。糖酸比四倍体小于二倍体,四倍体为268.87,而二倍体为290.14。

表5 同源四倍体和二倍体栝楼果实中糖酸含量的比较

处理	含糖量/%			平均数 /%	0.05 水平 下	0.01 水平 下	含总酸量/%			平均数 /%	0.05 水平 下	0.01 水平 下	糖酸比
	I	II	III				I	II	III				
四倍	27.56	26.37	25.13	26.35	a	A	0.107	0.089	0.098	0.098	a	A	268.87
二倍	21.90	21.13	19.65	20.89	b	B	0.073	0.071	0.071	0.072	b	B	290.14



图5 四倍体(右2~11)和二倍体(左1)果实



图6 二倍体果实

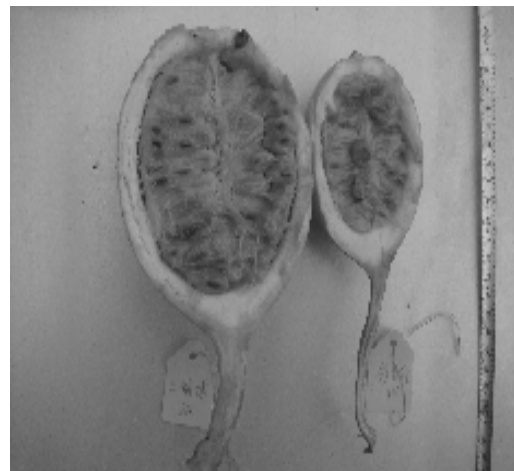


图7 四倍体

3 讨论

以天然二倍体和该课题组已经诱变得到的四倍体栝楼为材料,对其生长发育和果实中总糖和总酸的含量进行进一步的研究,结果表明:四倍体栝楼的长势快于二倍体,植株强健;这是多倍体巨大性和抗逆性增强的表现;叶片中叶绿素的含量明显高于二倍体,这是因为叶绿体遗传属于细胞质遗传,细胞质遗传主要是由它自己的基因所决定的(DNA 和 RNA),但是也受核基因的控制,染色体加倍以后,随着核基因的增加(剂量效应),就会影响到叶绿体遗传,因此增加了叶绿体的数目,表现为叶色深绿,叶绿素的含量增加;四倍体栝楼的果实变小,这与一般情况下多倍体的果实增大相悖,如乔传卓^[9]等人研究表明:崧蓝同源四倍体较原植物叶子宽大而肥厚,茎秆粗壮,花和果实也明显增大,王娜,刘孟军等人^[9]研究表明:多倍体枣的果实明显大于二倍体的果实。这可能是由于多倍体的巨大性是有一定限制的,当达到一定的倍性时果实不增大而是

减小。

多倍体栝楼结实率降低,分析其原因可能与多倍体减数分裂过程异常有关:(1)联会:同源四倍体的每个同源组有四个同源染色体,由于在任何同源区段只能有两条染色体联会,所以每个同源组的四条同源染色体的联会,由于联会力的削弱,会发生不联会和四价体提前解离情况,在中期 I,除四价体外,还有一个三价体和一个单价体,两个二价体及一个二价体和两个单价体。(2)分离:在后期 I,除两个二价体的联会只发生 2/2 的均衡分离外,其它三种联会形式可能是 2/2 分离,也可能是 3/1 的不均衡分离,一个同源组可能是这种分离方式,另一个同源组是另一种分离方式,如果每个同源组都发生不均衡分离,染色体桥和落后染色体的出现等都会造成同源四倍体的配子内染色体数和组成成分的不均衡。但在同源四倍体中,理论上主要是以 2/2 方式分离,因此绝大多数多倍体是正常的,但有部分以其它方式分离,从而造成同源四倍体栝楼部分不

育,导致结实率下降;部分四倍体栝楼种子出现空瘪,这是因为种皮是由珠被发育而来,同源四倍体在双受精时,部分只发生授粉过程但没有受精,在发育时由于花粉的刺激珠被发育成种皮,但由于没有受精,因此胚和胚乳不能发育形成,因而形成空壳。

果实中总糖和总酸的含量四倍体栝楼明显高于二倍体,这是多倍体中有效成分增加的表现,表现出了明显的多倍体优势,与许多其他学者的报道相符。如赵晓明^[10]等通过比较天然蒲公英发现:四倍体比二倍体类黄酮增加 46%;异黄酮增加 38%;V-c 增加 54%;可溶性糖增加 50%;SOD 增加 29%;POD 增加 45%;CAT 增加 40%。吕世民^[11]等人研究表明:人工诱导的怀牛膝同源四倍体中蜕皮激素较原植物高出 10 倍多。乔传卓^[9]等人研究表明:崧蓝四倍体中靛兰和靛玉红及根中游离氨基酸含量均有显著提高。

有关四倍体和二倍体栝楼生长过程中表现的其它差异以及果实中其他种类物质和有效成分含量的测定,有待笔者所在课题组进一步的研究。

参考文献

- [1] 宋振巧,王洪刚,王建华.栝楼的研究进展.山东农业科学,2005,5:72-74.
- [2] 张洁,周立人,李德庆.栝楼遗传育种及种质鉴定的研究进展.安徽农业科学,2006,34(23):6223-6224.
- [3] 杨廷桢,高敬东,杨明霞,等.栝楼的经济价值及栽培技术要点.甘肃农业科技,2003,10:48-50.
- [4] 朱军.遗传学(第三版).北京:中国农业出版社,2001:14-21.
- [5] 张贵友.普通遗传学实验指导.北京:清华大学出版社,2003:1-12.
- [6] 孙平.食品分析.北京:化学工业出版社,2005:101-105.
- [7] 侯曼玲.食品分析.北京:化学工业出版社,2004:65-70.
- [8] 乔传卓,吴美枢,戴富宝,等.崧蓝四倍体高产品系试种报告.中药材,1994,17(12):678-679.
- [9] 王娜,刘孟军,代丽,等.秋水仙素离体诱导冬枣和酸枣四倍体.园艺学报,2005,32(6):1008-1012.
- [10] 田永生,赵晓明.蒲公英二倍体与四倍体的几个生理指标比较.中国农学通报,2007,(6):345-348
- [11] 吕世民,梁可钧,葛传吉,等.怀牛膝多倍体育种的研究.中药通报,1988,13(7):395-396.