

无籽罗汉果选育的初步研究

蒋水元¹, 蒋向军², 覃吉胜², 黄夕洋¹, 刘凤英²

(1. 广西壮族自治区 广西植物研究所, 广西 桂林 541006; 2. 桂林亦元生现代生物技术有限公司, 广西 桂林 541004)

摘要: 采用多倍体诱导、不同倍性配子杂交和组织培养等技术方法, 培育出三倍体无籽罗汉果新种质类型。通过与当前罗汉果主要品种的对比栽培实验和观测, 表明无籽罗汉果优良株系花、叶等器官形体较大, 植株长势健旺, 现蕾开花较早, 果实无籽或极少籽, 甜苷 V 含量比其母本提高 36.28%。其生物学性状的变化, 尤其是甜甙含量的提高和抗性的增强, 表现出了重大的开发利用价值。就无籽罗汉果的生育周期、形态特征、生长发育规律以及果实品质进行初步报道。

关键词: 罗汉果; 三倍体; 无籽

中图分类号: Q949.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2009)04-0506-04

Preliminary study on selection of seedless *Siraitia grosvenorii*

JIANG Shui-Yuan¹, JIANG Xiang-Jun², QIN Ji-Sheng²,
HUANG Xi-Yang¹, LIU Feng-Ying²

(1. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China; 2. Guilin Sunnylife Modern Bio-Tech INC., Guilin 541004, China)

Abstract: Seedless triploid *Siraitia grosvenorii*, a kind of new germplasm, has been created via polyploid induction, tissue culture and crossing between diploid and tetraploid. It has been tested that the improved breed of seedless *S. grosvenorii* is quite different from the diploid cultivars which were grown at present. Some of its organs, such as flower and leaf, are larger. It grows more stalwart and blossoms earlier. The fruits have no seeds or very few seeds and 36.28% higher content of glycosides V than its diploid female parent. The improvement of biology characteristics of seedless *S. grosvenorii*, especially the raise of glycosides V and the enhance of resistance, is greatly valuable. This paper has reported the growth and development habits, growth stages, form characteristics and fruit quality of the improved breed of seedless *S. grosvenorii*.

Key words: *Siraitia grosvenorii*; triploid; seedless

罗汉果是我国著名中药材,不但具有止咳祛痰,润肠通便等功效(国家药典委员会,2005),而且是一种综合性状十分理想的天然甜味剂。

罗汉果所含的甜味物质主要为甜苷,其甜度高、热值低且稳定性好,因而在国际甜味剂市场备受重视。近年来,以甜苷提取纯化为主导的罗汉果加工

业迅速崛起、壮大,并带动了罗汉果种植业的空前发展。测定表明,罗汉果甜苷存在于果实的果皮和果肉中,而占果实重量 45%左右的种子不含甜苷。因此,通过种质改良,提高罗汉果甜苷含量和果实可利用率,将具有重大的经济价值和广阔的市场前景。

由于罗汉果分布区域较为狭小,种质资源相对

收稿日期: 2008-10-13 修回日期: 2009-04-07

基金项目: 广西科技攻关项目(桂科攻 5-2-2); 桂林市科技攻关项目(20080103-1)[Supported by Key Technologies Research and Development Program of Guangxi(5-2-2); Key Technologies Research and Development Program of Guilin(20080103-1)]

作者简介: 蒋水元(1972-),男,广西全州人,副研究员,从事中药材良种繁育研究。

匮乏,采用选优、杂交和物理诱变等常用育种方法至今未能取得有价值的突破。当前所利用的栽培品种依然为 20 世纪 70 年代形成的青皮果、红毛果等农家品种,虽然脱毒、组培等现代生物技术手段在罗汉果种质复壮过程中发挥了重要作用,但无法进一步改良其品种特性。多倍体育种是加大植物遗传变异、改良作物品性的重要手段。多倍体植株与二倍体植株相比,具有形态上的巨大性,可大幅提高相应部位的产量,增强抗逆性,提高活性成分含量,其中三倍体植株还具有无籽的特性。该技术已在黄芩(陈柏君等,2000;高山林等,2002)、宁夏枸杞(安巍等,1998)、百合(刘选明等,1996)、丹参(高山林等,1992;艾建国等,2003)等多种药用植物新品种的培育过程中得以应用,其中多数同源多倍体品系的主要化学成分均高于原品种,三倍体的无籽宁夏枸杞含籽量和饱籽数大幅降低。近年来,罗汉果多倍体诱导和细胞学鉴定技术也取得了一定进展,采用组织培养和秋水仙素诱变相结合的方法培育出了罗汉果同源四倍体植株,并对其形态特征和生育特性进行了初步观测(莫海萍,2004;张穗生,2002)。

本研究依据多倍体育种原理方法,通过种质优选、同源四倍体和二倍体大花粉诱导、不同倍性亲本间杂交、组培扩繁、大田栽培等系统实验,初步筛选出具有长势健旺、果实无籽或极少籽、甜苷含量较高等优良性状的三倍体无籽罗汉果植株,从而使新型罗汉果品种资源的培育和推广应用进入了一个新的阶段。

1 材料与方法

1.1 实验材料

母本为青皮罗汉果优株,表现抗逆性强、管理容易、不易徒长、坐果率高、丰产性强、果形整齐美观,有效成分含量较高;父本为红毛罗汉果优株,表现开花早、花期长、花粉多且萌芽率高、抗逆性强。均取自于桂林兴安罗汉果种质资源圃。

1.2 实验方法

1.2.1 三倍体繁育方法 用一定浓度的秋水仙素对母本组培瓶苗进行瓶内多倍体诱导,经过染色体鉴定,确定四倍体植株;所获四倍体植株大田栽培至花期,与父本组培株系杂交,待果实发育成熟后,获取三倍体种子。将父本组培株系种植于大田,现蕾后,应用变温培养或秋水仙素处理雄株,诱导产生 2x 雄

配子(二倍体大花粉),并通过对花粉形态学与染色体检测确定 2x 雄配子的花粉直径范围,而后用大花粉筛选器将 2x 雄配子分离出来,经花粉发芽溶液处理后与母本组培株系杂交,果实成熟后获取三倍体种子。将上述两种方法获得的三倍体种子繁育成无茵苗。

1.2.2 品比方法 按照随机区组实验设计,每个小区 10 株,重复 3 次,将获得的三倍体株系、母本株系与品种 I~IV 4 个罗汉果组培苗推广品种,采用相同的管理技术措施,种植于桂林兴安罗汉果品种选育基地,进行品种性状特征的比较观测。

1.2.3 甜苷检测方法 分别采集三倍体无籽罗汉果和各参比品种(株系)成熟果实适量,经冷冻干燥后,磨成粉备用。精密称取罗汉果样品各 3 份,采用 HPLC 法进行 3 次平行测定,计算出甜苷含量。

2 结果与分析

2.1 生物学特性

三倍体无籽罗汉果的植株健壮,主蔓直径为 7.00~11.60 mm,一级蔓直径为 5.70~6.80 mm,二级蔓直径为 3.50~4.60 mm。叶片呈心脏形,叶基半闭合,叶大而肥厚,长 15.3~18.2 cm,宽 13.5~15.8 cm,叶柄长 4.0~4.5 cm,柄粗 0.25~0.35 cm。花期为 7 月初至 10 月初,子房被红色腺毛,子房横径 7.50~8.20 mm,纵径 16.00~18.50 mm,花瓣为黄色,长 26.20~28.10 mm,宽 10.90~14.50 mm。11 月初果实开始成熟,果皮青绿色,韧性较强,果皮纵纹清晰,被细短柔毛,果实长圆形,整齐美观,果肉饱满。

2.2 器官外部形态特征

三倍体无籽罗汉果与其他罗汉果品种(株系)器官的外部形态相比,显得更为健壮(表 1):各级蔓直径较粗,叶片大而肥厚,叶色较深,叶柄较短,花瓣阔而长,子房粗大。各器官特征与母本没有明显的相关性,如母本植株叶片厚度较小,而三倍体植株叶片显著增厚;母本植株叶形为长心形,而三倍体植株叶形钝心形。因此,就茎叶与花器等外部性状而言,三倍体无籽罗汉果不但在体积上明显增大,而且在形态上有着一定程度的变异,表现出染色体组增加和亲本间杂交共同作用的效果。

2.3 植株生长发育

三倍体无籽罗汉果生育期较其他罗汉果品种

(株系)提早一些(表2)。其自苗高1 m至上棚所需时间为10~11 d、上棚至现蕾盛期为28~32 d、现蕾盛期至开花初期为5 d。母本株系相应的时间分别为12~13 d、37~43 d、11 d;其他品种生育期较早的是品种I,相应的时间分别为11 d、36~40 d、5~

8 d。由此可见,三倍体无籽罗汉果在上棚期及其之前的营养生长各阶段,生长速度较其他罗汉果品种(株系)没有明显差异,表现出与罗汉果组培苗一致的生长健旺的特性;在生理转化期和现蕾开花期,其发育进程较其他罗汉果品种(株系)快,展现出良好

表1 三倍体无籽罗汉果与其他罗汉果品种(株系)的形态特征

Table 1 Morphological characteristic of seedless triploid *Siraitia grosvenorii* and other cultivars

形态特征 Mmorphological characteristic	无籽株系 Seedless	母本株系 Mother	品种 I Cultiver I	品种 II Cultiver II	品种 III Cultiver III	品种 IV Cultiver IV
主蔓粗 Main vine diameter (mm)	7.78	7.47	7.06	7.53	7.08	7.12
一级蔓粗 First grade branches diameter (mm)	6.23	5.91	5.83	5.72	5.66	5.66
二级蔓粗 Second grade branches diameter (mm)	5.19	4.33	4.28	4.03	4.19	4.16
叶长 Leaves length (cm)	16.53	15.02	14.91	15.11	15.26	15.02
叶宽 Leaves width (cm)	14.60	13.14	12.76	12.06	12.55	12.68
叶厚 Leaves thickness (mm)	0.41	0.29	0.35	0.32	0.34	0.29
叶柄长 Petioles length (cm)	4.75	6.34	6.02	5.11	5.44	5.98
叶色 Leaves colour	深绿	绿色	绿色	绿色	绿色	绿色
叶形 Leaves shape	钝心形	长心形	长心形	心三角形	钝心形	钝心形
子房纵径 Ovary length(mm)	17.39	14.85	12.86	13.37	14.53	14.65
子房横径 Ovary diameter(mm)	7.76	5.99	6.20	5.63	5.84	6.06
花瓣长 Petal length(mm)	27.32	23.85	24.29	24.53	25.01	23.68
花瓣宽 Petal width(mm)	12.48	10.53	11.67	10.82	11.34	11.06

表2 三倍体无籽罗汉果与其他罗汉果品种(株系)的生育期

Table 2 Phenophase of seedless triploid *Siraitia grosvenorii* and other cultivars

项目 Items	无籽株系 Seedless	母本株系 Mother	品种 I Cultiver I	品种 II Cultiver II	品种 III Cultiver III	品种 IV Cultiver IV
生育期 Phenophase						
高1 m期 One meter high Period (day/month)	06-08/6	08-10/6	09-12/6	05-06/6	07-08/6	09-10/6
上棚期 Period on shelf (day/month)	17-18/6	20-23/6	20-23/6	14-15/6	18-20/6	20-22/6
现蕾初期 Early squaring period (day/month)	13-18/7	22-26/7	23-26/7	02-04/8	28-30/7	26-28/7
现蕾盛期 Maximum squaring period (day/month)	15-20/7	27/7-05/8	26/7-02/8	07-11/8	03-07/8	02-06/8
开花初期 Early flowering period (day/month)	20-25/7	07-16/8	03-07/8	13-20/8	08-15/8	02-07/8
甜苷 V 含量 Glycocides V content (%)	1.54	1.13	1.16	1.03	1.24	1.36

的开花结实品性。

2.4 果实及其甜苷含量

三倍体无籽罗汉果果实无籽或极少籽且瘪子率极高,果皮较厚而韧,果肉饱满。经测定,甜苷V含量较其他罗汉果品种(株系)高(表2)。与母本株系相比高出36.28%,与含量最高的品种IV相比高出13.24%,与含量最低的品种II相比高出49.51%。由此证实采用多倍体育种方法培育三倍体无籽罗汉果,是较大幅度提高甜苷V含量的有效途径。

3 结论

三倍体无籽罗汉果的基本生物学特性与现有罗汉果组培苗栽培品种较为一致,在试验地自然条件下,采用与其他罗汉果组培苗栽培品种相同的种植

管理方法,表现出良好的适应性和生长发育状况,因此在农业生产上可推广性较强。

从植株外部形态看,三倍体无籽罗汉果在体积上增大,在形状上也有变异,这说明染色体组的增加与亲本间的杂交均对其表现产生影响;同时由于三倍体内父母本遗传物质具有不等性,亲本间的杂交途径也对其表现产生重要作用。因此按照本项研究之原理与方法,可望选育出系列的无籽罗汉果品种。

三倍体无籽罗汉果长势健旺,在生理转化期和现蕾开花期的发育进程较快,符合早实丰产的必要条件。果实无籽或极少籽,果肉饱满,口感醇香甘甜,甜苷含量和整果利用率相应增加,从而使产品制备工艺简化,加工难度和生产成本降低;如在加工鲜罗汉果速溶粉产品时,收得率由常规罗汉果的8%以内提高到12%,口感更好,价格优势明显,提高了

产品的核心竞争力。此外,无籽罗汉果植株的叶片、藤蔓均具有形态上的巨大性,增加了其有效成分的利用;因此无籽罗汉果在提取加工行业应用前景十分可观,对整个产业具有重要的推动作用。

参考文献:

- 中华人民共和国药典委员会. 2005. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社
- Ai JG(艾建国),Gao SL(高山林). 2003. Induction and identification of autotetraploid of *Salvia miltiorrhiza* Bunge and determination of effective constituents in autotetraploid(丹参同源四倍体的诱导、鉴定及有效成分的含量测定)[J]. *Pharm Biotechnology*(药物生物技术),10(6):372-376
- An W(安巍),Li YX(李云翔),Jiao EN(焦恩宁),et al. 1998. Breeding of triploid seedless variety of wolfberri(*Lycium barbarum*)(三倍体无籽枸杞新品种的选育研究)[J]. *J Ningxia Agric Coll*(宁夏农学院学报),19(3):41-44
- Chen BJ(陈柏君),Gao SL(高山林),Bian YY(卞云云). 2000. The inducing of autotetraploid of *Scutellaria baicalensis* by tissue culture(黄芩组织培养同源四倍体的诱导)[J]. *Plant Res Environ*(植物资源与环境学报),9(1):9-11
- Gao SL(高山林),Liu J(刘峻),Xie XQ(谢小群). 2002. Determination of baicalin content in polyploid lines of *Scutellaria baicalensis* by MEKC method(高效毛细管电泳法测定黄芩多倍体株系中黄芩苷的含量)[J]. *Pharm Biotechnology*(药物生物技术),9(6):349-352
- Gao SL(高山林),Xu DR(徐德然),Cai CH(蔡朝晖),et al. 1992. Studies on the breeding of autotetraploid of *Salvia miltiorrhiza*(丹参同源四倍体新物种的培育)[J]. *J China Pharm Univ*(中国药科大学学报),12(4):38-42
- Liu XM(刘选明),Zhou PH(周朴华),He LZ(何立珍),et al. 1996. Studies on the induction of autotetraploid of lily“Nongya Baihuo”by cell engineering technique(应用细胞工程技术选育四倍体龙牙百合的研究)[J]. *Chin J Biotechnology*(生物工程学报),12(增刊):197-200
- Mo HP(莫海萍). 2004. The induction of autotetraploid of *Siraitia grosvenorii* via tissue culture(利用组织培养诱导罗汉果同源四倍体)[D]. 中国优秀硕士学位论文全文数据库
- Zhang SS(张穗生). 2002. Studies on induction of Polyploid in *Siraitia grosvenorii*(罗汉果多倍体诱导的研究)[D]. 中国优秀硕士学位论文全文数据库
- Reichard,Sarah H. 2001. Horticultural Introductions of Invasive Plant Species:A North American Perspective[M]//McNeely JA (ed). The Great Reshuffling; Human Dimensions of Alien Invasive Species IUCN,Switzerland,Gland,224
- Shaima BM,Oshode OO. 1991. Effect of nutrients on the biomass of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*)[J]. *Hydrobiologia*,38:401-408
- Song QS(宋启示),Fu J(付俊),Tang JW(唐建维),et al. 2000. Allelopathic potential of eupatorium adenophorum(紫茎泽兰的化学互感潜力)[J]. *Acta Phytocool Sin*(植物生态学报),24(3):362-365
- Tang JL(唐季林),Ou GG(欧国管). 1995. Influence of fire on soil property under the canopy of Yunnan Pine(林火对云南松林土壤性质的影响)[J]. *J Beijing Fore Univ*(北京林业大学学报),19(2):44-49
- Wang B(王斌),Liang YB(梁玉波). 2001. Alien marine species and their impacts in China(中国外来海洋生物及其影响)[J]. *Biodiversity Sci*(生物多样性),4:458-465
- Wang FH(万方浩),Guo JY(郭建英),Wang DH(王德辉). 2002. Alien invasive species in China: their damages and management strategies(中国外来入侵生物的危害与管理对策)[J]. *Biodiversity Sci*(生物多样性),10(1):119-125
- Wang W(王伟),Lu JJ(陆健健). 2004. Aquatic vascular plants and their flora characteristics in Shanghai area(上海地区湿地水生维管束植物及其区系特征)[J]. *Wetland Sci*(湿地科学),2(3):171-175
- Wang YM(王亚民),Cao WX(曹文宣). 2006. The strategies of aquatic invasive alien species (IAS) in China(中国水生外来入侵物种对策研究)[J]. *J Agro-Environ Sci*(农业环境科学学报),25(1):7-13
- Wu HR(吴海荣),Qiang S(强胜),Lin JC(林金成). 2004. Quantitative survey on spring exotic weeds and the niche characteristics of dominant species in Nanjing(南京市春季外来杂草调查及生态位研究)[J]. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*(西北植物学报),24(11):2 061-2 068
- Yao CY(姚成芸),Zhao HR(赵华荣),Xia BC(夏北成). 2004. Invasion by alien species in China and ecological safety in China(我国外来生物入侵现状与生态安全)[J]. *Acta Univ Sun-Yatseni (Sci Nat)*(中山大学学报·自然科学版),43(增刊1):221-224
- Yu J(俞建),Ding BY(丁炳扬),Yu MJ(于明坚),et al. 2004. The seasonal dynamics of the submerged plant communities invaded by *Cabomba caroliniana* gray(水盾草入侵沉水植物群落的季节动态)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报),24(10):2 149-2 156
- Zavaleta E. 2000. Valuing ecosystem services lost to Tamarix invasion in the United States[M]//Mooney HA,Hobbs RJ(eds). Invasive Species in a Changing World. Washington. O. C; Island Press,117
- Zhu L(朱琳),Tong YJ(佟玉洁). 2003. Case research and issue discussion of ecological risk assessment(中国生态风险评估应用探讨)[J]. *J Safety Environ*(安全与环境学报),3(3):22-24

(上接第 492 页 Continue from page 492)