

罗汉果主要性状遗传效应研究

莫长明¹, 马小军^{1,3*}, 刘为军², 白隆华¹, 唐 其³, 冯世鑫¹

(1. 中国医学科学院 药用植物研究所 广西分所, 南宁 530023; 2. 广西大学 农学院, 南宁 530005; 3. 中国医学科学院 药用植物研究所, 北京 100193)

摘 要: 罗汉果近交后代发生明显衰退, 花和果实变小甚至畸形, 种子活力降低, 品种间衰退速度不同; 杂交 F₁ 后代果实形状、大小、颜色、总苷含量、甜苷 V 含量和雌花柱头生长方式产生严重分离变异, 其中果实大小、总苷含量、甜苷 V 含量表现出明显杂种优势; 雄性败育系的花粉败育是由遗传决定的, 其败育性可通过杂交传递给雌性系产生无籽果实; F₁₇ 芽变枝条所得雌雄同花两性突变属于遗传变异。

关键词: 罗汉果; 主要性状; 遗传效应; 育种

中图分类号: Q943.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2009)06-0899-06

Genetic effects of the main characteristics of *Siraitia grosvenorii*

MO Chang-Ming¹, MA Xiao-Jun^{1,3*}, LIU Wei-Jun²,
BAI Long-Hua¹, TANG Qi³, FENG Shi-Xin¹

(1. Guangxi Branch Institute, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Nanning 530023, China; 2. College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, China; 3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: Inbreeding of *Siraitia grosvenorii* could lead to depression of its progeny plants, their flowers and fruits became smaller or malformed, seed activity would decrease. Depression speed was different for varieties. Fruit shape, size, color, total mogrosides content, mogrosides V content and female stigma growth mode greatly separated among F₁ hybrid progenies. Fruit size, total mogrosides content and mogrosides V content occurred heterosis. Pollen abortion of male abortive lines was determined by gene. Female plants could inherit the abortive character by cross and its fruits were seedless. Amphoterism of monoclinal flower branch were belonged to genetic variation.

Key words: *Siraitia grosvenorii*; main characters; genetic effect; breeding

罗汉果(*Siraitia grosvenorii*)为我国特有药用植物, 主要分布于广西北部地区, 是广西的道地药材, 具止咳祛痰、凉血舒胃、润肠通便等作用, 被卫生部、国家中医药管理局列入第一批“既是食品又是药品”的中药名录。罗汉果含多种甜苷有效成分, 其中罗汉果甜苷 V 为世界上最强的甜味物质之一, 成为国际上竞相研发的新一代天然甜味剂。

长期以来, 罗汉果人工栽培不加选择进行人工授粉和无性繁殖, 品种严重混杂退化, 急需提纯复壮, 通过提纯建立营养系, 选择具有某种优异经济性状的母株, 采用实生繁殖, 累代选择, 提高生活力, 活化种性, 培育新品种, 促进品种更新换代(周良才等, 1980)。这是保持产业可持续发展的必然途径。罗汉果通常为雌雄异株, 双受精属于有丝分裂前配子

收稿日期: 2009-06-09 修回日期: 2009-08-31

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2006BAI09B01-07); 广西卫生厅计划项目(Z2009347); 广西药用植物园青年基金(桂药基 200805)[Supported by National Science and Technology Development Supporting Program of China(2006BAI09B01-07); Program of Health Department of Guangxi (Z2009347); Youth Foundation of Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plant(200805)]

作者简介: 莫长明(1977-), 男, 广西南宁人, 硕士, 主要从事植物遗传育种, (E-mail) mochangming@126.com.

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: xjma@public.bta.net.cn)

融合类型(薛妙男,1995),推广品种人工授粉才能结果,需要大量劳力,种子实生苗雄性植株数量是雌性植株数量的两倍多,且雌雄性别早期无简便实用的鉴别方法,每株占地面积大,种植和杂交选育良种,雄性植株浪费大量资金和土地。罗汉果种子占果实质量的 29.29%~37.56%,不含有效成分甜苷 V(苏小建等,2007),培育无籽罗汉果品种,降低甜苷提取的加工难度和成本,推动罗汉果加工业大规模发展,是罗汉果研究的热点。栽培品种仍存在较高的遗传多样性(周俊亚等,2005),具有良好育种基础。因此,本研究组对罗汉果育种中性别、败育性和果实形状、大小、甜苷含量等一些主要性状的遗传效应进行报道,为罗汉果育种提供参考依据,提高新品种培育的预见性和效率。

1 材料与方法

1.1 材料

以青皮果(F07)、红毛果(F02)、长滩果(F12)三大栽培品种为亲本(F_0),在种子繁殖实生后代群体中,选择雄性和雌性姊妹植株连续近交三代(F_3),近交后代 F_3 群体与 F_0 亲本按随机试验设计,各 30 株,同期种于田间进行性状观测比较。

选择推广品种青皮果(F07)、农院 B6(F14)、白毛果(F16)、青皮 3 号(F17)、伯林 3 号(F18)、永青 1 号(F20)、红毛果(F32)、野红 1 号(F42)为母本,冬瓜果雄性无性系(M02)、ND 雄性无性系(M19)、长滩果雄性无性系(M30)、ID 雄性无性系(M32)为父本,进行配组杂交,杂交 F_1 后代通过种子组培繁殖成实生苗群体,按随机试验设计,每个组合 30 株,种植于田间进行性状分离变异观察。变异植株通过现蕾茎段组培繁殖成单株无性系,再与亲本按随机区组试验设计,重复 3 次,每个小区 10 株,同期种植于田间,进行变异性状遗传稳定性观察。

剪取青皮 3 号(F17)雌雄同花突变枝条组培繁殖成无性系 F56,再将无性系 F56 与 F17 按随机区组试验设计,重复 3 次,每个小区 10 株,同期种植于田间进行性状观察比较。

1.2 方法

试验材料田间栽培管理按杭玲等(2003)的方法。开花结果期,随机选取 15 片二级蔓叶片测量叶长、宽,15 个子房测量子房纵径、横径。果实成熟期,随机选取 15 个成熟果测量果实纵径、横径,然后

按钟仕强(1999)的新变温方法,烤干进行甜苷含量测定。总苷含量测定采用香草醛—浓硫酸法(李锋等,2003)。甜苷 V 含量测定采用马少妹(2006)流动相 0.05%三氟乙酸水溶液-乙腈系统 b 方法。

每个雄无性株系取 10 朵即将开的罗汉果雄花,每朵随机取其中 1 个花药浸入装有 9.8 mL 蒸馏水+0.2 mL 吐温 20 的试管中,用竹片在试管内刮下花粉后取出花药,再充分振荡使花粉分布均匀。用移液枪吸取 50 μ L 花粉悬浮液分置在 5 个凹形载玻片内,在 60 倍光学显微镜下计数花粉量,3 次重复。

滴数滴 10%蔗糖+60 μ g/L 赤霉素的液体培养基在凹形载玻片内,再用竹签刮落少量花粉于液体培养基上,并搅拌均匀,把载玻片放在装有湿润滤纸的培养皿中,在室温培养 7h 后取出在 100 倍显微镜下随机抽取 100 粒花粉测定花粉萌发率,3 次重复。

2 结果与分析

2.1 近交遗传效应

表 1 表明,栽培品种 F02、F07、F12 姊妹交 F_3 后代叶长、叶宽与 F_0 世代亲本相近,子房纵径、子房横径、果实纵径、果实横径则明显小于 F_0 世代亲本。甜苷 V 含量,除 F02 姊妹交 F_3 后代与 F_0 世代亲本相近外,F07、F12 姊妹交 F_3 后代明显小于 F_0 世代亲本。此外,F12 姊妹交 F_3 后代成年植株花冠和叶片均出现严重畸形(图 1:a、b)。F07 姊妹交 F_3 后代均种子生活力明显降低,萌发率仅 30%~40%,幼苗均变得细弱,茎细长,叶子小而畸形(图 1:c)。

2.2 杂交遗传效应

2.2.1 主要质量性状 杂交分离出变异株后,通过组培无性系变异性状遗传稳定性重复验证观察,圆形果品种 F07 和矩圆形果的冬瓜果品种 M02 杂交, F_1 后代雌性植株果实分离出圆形、矩圆形、卵圆形 3 种果形(图 2:a、b、c)。红色腺毛、扁圆形果品种 F42 与银色腺毛、卵圆形果的长滩果品种 M30 杂交, F_1 后代雌性植株除红色腺毛、扁圆形果的母本型外,还分离出红色腺毛、梨形果和银色腺毛、椭圆形果 2 种杂交新类型(图 3:a)。青色果皮品种 F17 与青色果皮的冬瓜果品种 M02 杂交, F_1 后代雌性植株果皮分离出青色和浅绿色 2 种颜色(图 3:b)。柱头合生、圆形果品种 F18 与来源柱头裂生、矩圆形果品种 M19 杂交, F_1 后代雌性植株除柱头裂生、矩圆形果的父本型外,还分离出柱头合生、矩圆形果的杂交

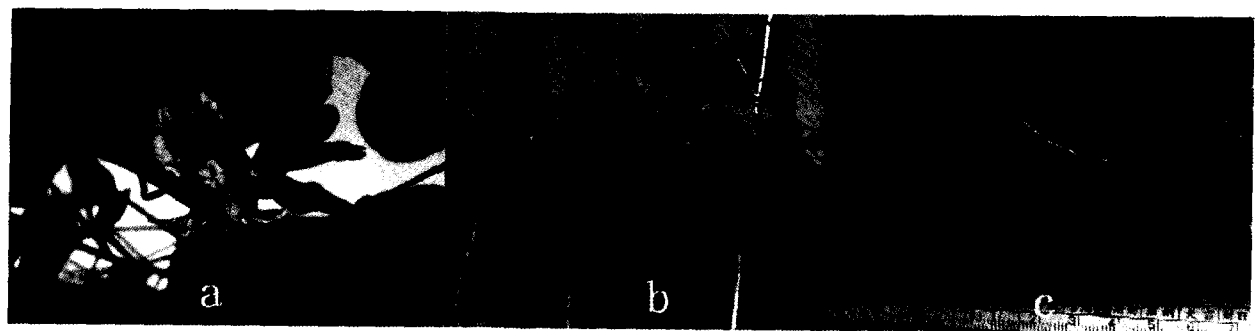


图 1 近交 F₃ 后代畸形花、叶和幼苗
Fig. 1 Anamorphic flowers, leaves and seedlings of inbred F₃ generations

表 1 近交 F₃ 后代与亲本性状比较
Table 1 Characteristic comparison of inbred F₃ and parents

品种 Varieties	世代 Generations	叶长(cm) Leaf length	叶宽(cm) Leaf width	子房横径 Ovary transverse diameter(cm)	子房纵径 Ovary vertical diameter(cm)	果横径 Fruit transverse diameter(cm)	果纵径 Fruit vertical diameter(cm)	甜苷 V 含量 Mogroside V content(%)
F02	F ₀	15.17	12.78	0.61	1.39	5.12	5.54	0.85
	F ₃	15.06	12.63	0.49	1.15	4.42	4.53	0.87
F07	F ₀	14.91	12.76	0.65	1.36	5.46	6.11	1.07
	F ₃	14.86	12.63	0.51	1.11	4.67	4.83	0.57
F12	F ₀	16.05	13.39	0.63	1.79	4.78	7.11	1.06
	F ₃	15.41	13.02	0.49	1.31	4.04	5.53	0.96



图 2 杂交 F₁ 代果实形状分离变异
Fig. 2 Characteristic separation of hybrid F₁ generations in fruit shape

新类型(图 3:c,d)。

2.2.2 主要数量性状 罗汉果按果实横径大小分级定价进行销售。果实横径 5.25~5.75 cm 为中果, 5.75~6.35 cm 为大果。母本 F17 与父本 M02 杂交选育新品种, 杂交 F₁ 后代 F38 果实横径、纵径和单果重均超过母本, 二者的果实横径、果实纵径、单果重差异分别达到显著或极显著水平。杂交 F₁ 后代 F38 果实增大到大果等级(表 2)。

为选育果大、甜苷高含量品种, 以 F20 为母本与 M32 为父本进行杂交。图 4 显示, 母本 F20 总苷含量为 4.1%。18 个杂交 F₁ 后代总苷含量变异范围为 4.54%~6.54%, 均高于母本。其中, H17 总

苷含量最高, 为 6.54%, 高于母本 59.51%。

图 5 显示, 母本 F20 甜苷 V 含量为 0.84%。18 个杂交 F₁ 后代甜苷 V 含量变异范围为 0.41%~1.13%, 7 个(H2、H5、H8、H12、H13、H15、H17)高于母本, 占杂交 F₁ 后代数的 38.89%, 其余 11 个(H1、H3、H4、H6、H7、H9、H10、H11、H14、H16、H18)低于母本。其中, H12 甜苷 V 含量最高, 为 1.13%, 高于母本 34.52%。

2.3 败育性遗传效应

F16 与 M19 杂交 F₁ 后代雄性无性株系 M39、M40、M41 的花粉数量和花粉萌发率均存在极显著差异。其中,



图 3 杂交 F₁ 代腺毛、果颜色和雌性柱头分离变异
Fig. 3 Characteristic separation of hybrid F₁ generations in tentacle color, fruit color and female stigmas

表 2 杂交 F₁ 后代果实大小分离
Table 2 Characteristic separation of hybrid F₁ generations in fruit size

品种 Varieties	果实横径 Fruit transverse diameter(cm)	果实纵径 Fruit vertical diameter(cm)	单果重 Weight per fruit(g)
F17	5.60a	6.46 A	80.45A
F38	5.82b	7.13 B	91.37B

注：小写字母表示显著差异，大写字母表示极显著差异，以下同。
Nonte: Minuscles indicate significant difference, majuscules indicate great significantly difference, the same below.

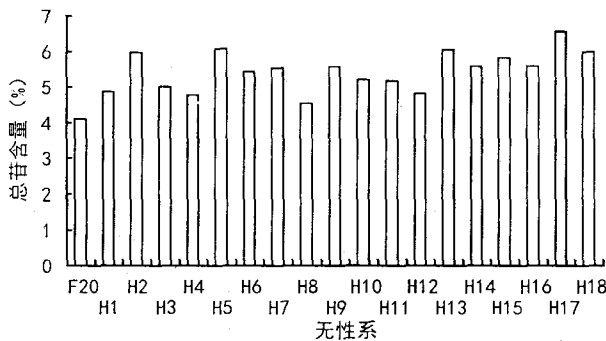


图 4 F₂₀ 杂交 F₁ 后代总苷含量分离变异
Fig. 4 Characteristic separation of hybrid F₁ generations in total mogroside

M40、M41 花粉萌发率极低，分别为 13.6% 和 24.0% (表 3)。电镜显微观察发现，M40、M41 大量花粉发育不良，花粉粒皱缩，甚至空瘪(图 6:a)。以雄性败育系 M40 与正常雌性品种 F14 进行杂交授粉，F₁ 后代群体中，雄性植株全部败育，雌性植株也全部果实种子发生败育，形成无籽果实(图 6:b)。

2.4 性别遗传效应

单性花雌性品种 F14 与单性花雄性品种 M19 杂交，F₁ 后代出现雌雄同株异花植株(图 7:a)。雌花花柱异化为两裂、呈线状、弯向花药退化的雄蕊突起(图 7:b)，子房内部发育有正常胚珠(图 7:c)。雄花结构与正常的单性雄花一样。

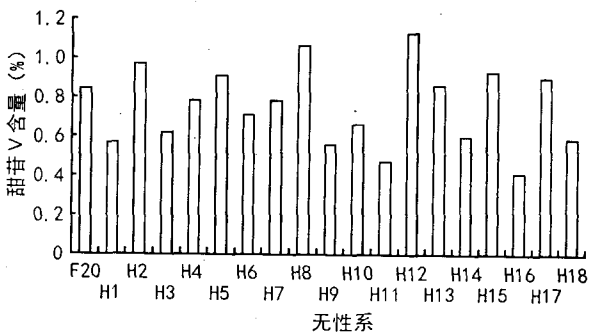


图 5 F₂₀ 杂交 F₁ 后代甜苷 V 含量分离
Fig. 5 Characteristic separation of hybrid F₁ generations in mogroside V

表 3 M36、M37、M38 雄性无性株系花粉比较
Table 3 Pollen comparison of M36, M37 and M38 male clones

品种 Varieties	花粉量(粒/50μL) Pollen amount	花粉萌发率(%) Pollen germination rate
M39	1563.00aA	65.67A
M40	1536.67aA	24.00B
M41	2081.00bB	13.67C

2007 年，在单性花雌性品种 F17 田间一组培育成年植株上，本研究组发现一枝连续 3 朵花突变为雌雄同花的变异枝条(图 8:a)，并采集其繁殖成组育苗无性系 F56。2008 年，研究组将无性系 F56 种植于大田，植株均为两性植株，花朵全为雌雄同花的两性花，稳定保持了变异母性枝条的两性花特性，雌雄蕊基部合生、等高，雄蕊花药无花粉、背向雌蕊而生(图 8:b)，授粉子房可发育成果实(图 8:c)。与母株相比，无性系 F56 主茎、叶片、子房、花冠均有所变大(表 4)。

3 讨论

(1) 罗汉果近交后代出现明显衰退，不同品种衰



图 6 雄性败育系花粉及其杂交后代无籽果实
Fig. 6 Pollens and hybrid seedless fruits of male abortive lines



图 7 雌雄同株异花突变植株
Fig. 7 Diclinism variance plants

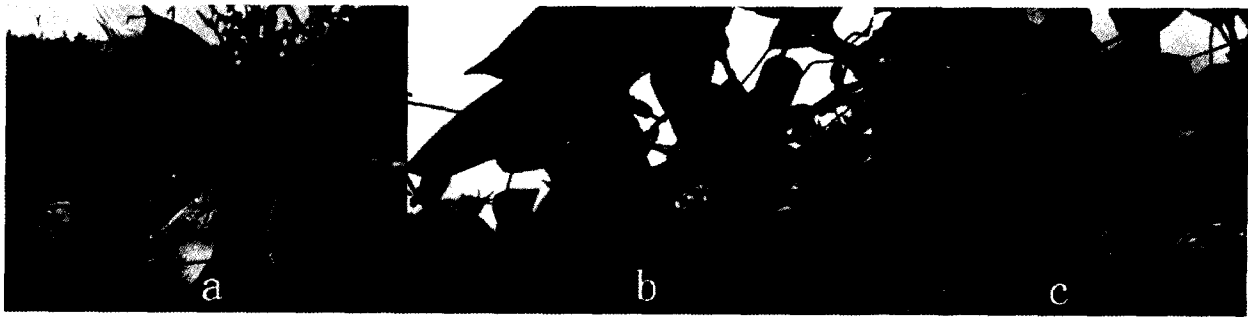


图 8 雌雄同花突变植株
Fig. 8 Monoclinous variance plants

表 4 雌雄同花变异植株与母本性状比较

Table 4 Characteristic comparison of monoclinous variance plants and its female parent								
品种 Varieties	主茎粗 Stem transverse diameter (cm)	叶长 Leaf length (cm)	叶宽 Leaf width (cm)	子房横径 Ovary transverse diameter(cm)	子房纵径 Ovary vertical diameter(cm)	花冠宽 Corolline width(cm)	花瓣长 Petal length(cm)	花瓣宽 Petal width(cm)
F56	0.85 A	16.27 A	14.55 A	0.71 A	1.91 A	2.01 a	3.30 A	1.26 a
F17	0.74 B	15.02 B	13.41 B	0.63 B	1.55 B	2.19 b	2.69 B	1.19 a

退速度不同;近交衰退是指近交导致后代适合度下降的现象,对后代的影响体现在植物生活史的各个阶段,种子质量下降(王峥峰等,2005),长势、抗性变弱和形态出现畸形等是植物近交衰退的明显特征。

3个栽培品种姊妹交 F_3 后代花和果均变小,其中长滩果品种(F_{12})成年植株花冠、叶片出现严重畸形,青皮果品种(F_{07})实生幼苗变得明显细弱畸形,红毛果品种(F_{02})则未有明显畸变,表明罗汉果近交会出现明显衰退,不同品种衰退快慢不同。

(2)罗汉果杂交 F_1 后代性状分离变异严重,存在杂种优势,品种改良潜力巨大:杏卵形与扁圆果杂交 F_1 后代分离出 68%椭圆形,38%圆形个体,葡萄和苹果杂交后代果实大小出现一定比例超高亲类型(刘平等,2002)。枇杷橙红色品种与橙黄色品种杂交后代分离出黄白色杂种后代,果实可溶性固形物含量超高亲的占杂种后代 50.75%(余东等,2008)。各杂交组合 F_1 后代分别在果实形状、大小、皮色、总苷含量、甜苷 V 含量和雌花柱头生长方式等性状产生严重分离,并分离出亲本型以外的杂合新类型。其中,果实大小、总苷含量、甜苷 V 含量性状表现出明显超亲优势。果实形状、大小、皮色、总苷含量、甜苷 V 含量是罗汉果主要果实品质。雌花柱头生长方式与人工授粉效率密切相关。这些性状遗传多样性丰富,果实大小、甜苷含量相差达 1~3 倍(莫长明等,2008)。通过杂交利用杂种优势,聚合优良性状改良现有品种,培育适宜药材加工的果实大、果形美观、皮色深、甜苷含量高、柱头合生和适宜甜苷提取的果实甜苷含量高、瓢多、皮色浅、柱头合生的优质、高效新品种是罗汉果育种的一个重要方向。

(3)罗汉果雄性败育性和两性突变属于遗传变异,可培育特异品种提供新途径:雄性败育系 M40 与正常雌性品种 F_{14} 杂交 F_1 后代,雄性植株全部发生花粉败育,雌性植株全部发生种子败育,形成无籽果实,表明该雄性败育特性是由遗传决定的,可作为一条有效新途径深入开展无籽罗汉果品种培育研究。罗汉果通常为雌雄异株。无性系 F_{56} 稳定保持了其母株变异枝条雌雄同花的两性特性,证明母株枝条的雌雄同花两性变异属于遗传变异,与正常单性雄株花粉杂交后代仍然可分离出雌雄同花的两

性植株。利用该优异种质能否杂交培育可自花授粉的两性品种,有待进一步研究探索。

参考文献:

- 李锋,李典鹏,蒋水元,等. 2003. 罗汉果栽培与开发应用[M]. 北京:中国林业出版社,1-4
- 周良才,张碧玉,覃良,等. 1980. 罗汉果品种混杂种性退化及提纯复壮措施[J]. 广西植物, (1):5
- 钟仕强. 1999. 罗汉果加工的新变温曲线试验[J]. 中国中药杂志, 24(1):31
- Hang L(杭玲), Su GX(苏国秀), Xia YS(夏阳升), et al. 2003. Cultivation of tissue cultured seedlings of *Momordica grosvenori* (罗汉果组培苗栽培技术)[J]. Guangxi Agric Sci(广西农业科学), (6):70-72
- Liu P(刘平), Peng SQ(彭士琪), Guo ZH(郭振怀). 2002. Genetic characteristics of several major economic characters in fruit trees(果树主要经济性状的遗传动态)[J]. Hebei J Fore Orch Res(河北林果研究), 17(3):267-274
- Ma SM(马少妹). 2006. Separation of Luohanguo glucoside by HPLC(罗汉果甜苷的 HPLC 法分析)[J]. Fujian Anal Test(福建分析测试), 15(4):3-6
- Wang ZF(王峰峰), Peng SL(彭少麟), Ren H(任海). 2005. Genetic variation inbreeding depression in small populations(小种群的遗传变异和近交衰退)[J]. 6(1):101-107
- Mo CM(莫长明), Ma XJ(马小军), Qi LW(齐力旺), et al. 2008. Genetic variation, correlation and path analysis of *Siraitia grosvenorii* germplasm characters(罗汉果遗传性状变异、相关及通径分析)[J]. J Beijing Fore Univ(北京林业大学学报), 30(4):131-134
- Su XJ(苏小建), Liu GX(刘国雄), Nie X(聂晓), et al. 2007. Study on the content distribution of mogroside V in each part of *Grosvenor momordica* (罗汉果甜苷 V 在各部位的含量分布)[J]. Food Sci Tech(食品科技), (5):76-78
- Xue MN(薛妙男), Yang XH(杨小华). 1995. Cytological observation of the double fertilization in *Siraitia grosvenorii* [J]. Guihaia(广西植物), 15(4):358-362
- Yu D(余东), Xu JH(许家辉), Wei XQ(魏秀清), et al. 2008. Target characters performance of hybridism offspring loquat fruit breeding(枇杷果实育种目标性状在杂种后代中的表现)[J]. Chin Agric Sci Bull(中国农学通报), 24(11):324-327
- Zhou JY(周俊亚), Tang SQ(唐绍清), Xiang WS(向悟生), et al. 2005. Genetic diversity of cultivated Luohanguo(*Siraitia grosvenorii*), based on ISSR marker(栽培罗汉果遗传多样性的 ISSR 分析)[J]. Guihaia(广西植物), 25(5):431-436