

组培芋苗不同世代的差异研究^①

汤青林¹, 王小佳¹, 宋明¹, 王志敏¹,
牛义¹, 刘建福², 湛吉红¹

1. 西南大学 园艺园林学院, 重庆 400716; 2. 华侨大学 生物工程系, 福建 泉州 362021

摘要: 实验以“绿杆芋”的茎尖为外植体, 经脱毒快繁后将组培芋苗入土种植, 作为组培苗第1代(T_1), 以 T_1 的球茎作繁殖器官于第2年种植入土, 作为组培苗第2代(T_2). 将 T_1 , T_2 以及普通苗(CK)栽植在温室中, 待芋苗抽生侧芽时, 测定叶片中游离脯氨酸、超氧化物歧化酶、丙二醛、过氧化氢酶、叶绿素、可溶性糖、淀粉和蛋白质等生理指标. 因子分析表明: 8个指标被分成了3个主成分; T_1 , T_2 , CK 在3个主成分上的综合得分分别是-0.448, 0.517, -0.069, 其大小顺序为 T_2 , CK, T_1 . 同时, 测定了不同芋苗产量, T_1 , T_2 , CK 单株平均产量分别是 1.392 kg, 1.748 kg, 0.960 kg, 其大小顺序为 T_2 , T_1 , CK, 且 T_2 显著高于 T_1 和 CK. 综合评价考虑, 组培2代 T_2 要优于组培1代 T_1 和普通苗 CK, 是大面积推广栽植的种源.

关键词: 组织培养; 芋头; 因子分析

中图分类号: S632.3

文献标识码: A

芋(*Colocasia esculenta* Schott.) 别名芋头、芋艿, 为天南星科芋属蔬菜作物, 其产品器官为地下球茎, 生产上由于常年采用球茎繁殖, 往往易受病毒感染、种性退化, 从而导致球茎大小和数量等下降^[1]. 茎尖脱毒培养不仅可以解决以上问题, 而且可以提纯复壮. 但是, 通过组织培养获得的优质芋苗, 是立即投入大面积生产推广, 还是在推广前先经历一定的培育复壮期呢? 这一问题的解决将对生产实践有着重要的指导意义. 在抽生子芋时, 地上部分叶片和地下部分球茎有着库源关系, 地上部分光合作用强, 抗逆性好, 有利于地下部分子芋的形成. 因此, 本试验在芋离体快繁体系建立的基础上^[2], 首先研究了经组织培养后栽植不同世代芋苗的生理差异, 其次研究了其球茎产量的差异等, 从而为组培芋苗在生产上最佳推广世代的确定及其生理机制的探索提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

2003年9月从育苗室取“绿杆芋”茎尖离体培养($MS+BA\ 4.0\ mg/L+NAA\ 0.2\ mg/L$)^[1], 组培后的芋芽一部分用于继代培养扩繁, 另一部分经生根炼苗后于2004年春定植温室, 成熟后收获芋种, 并于2005年春定植, 这部分材料记作组培第2代(T_2); 同时, 将组培室继代培养的试管苗生根炼苗后定植, 记作组培第1代(T_1); 未经组织培养的“绿杆芋”种苗作对照 CK. T_1 , T_2 , CK 芋苗大小一致时(6片叶), 同时移栽到温室(20~25℃)中, 按照随机区组设计, 每小区种植30株, 3次重复.

1.2 方法

在 T_1 , T_2 , CK 子芋叶片抽生出土后, 取其子芋

① 收稿日期: 2006-10-17

基金项目: 重庆市农业局资助项目“蔬菜营养体快繁技术研究”.

作者简介: 汤青林(1976-), 男, 重庆万州人, 助理研究员, 博士研究生, 从事遗传育种与生物技术研究.

幼叶, 实验室洗净后, 滤纸吸干水分后, 分别测定叶绿素、可溶糖、可溶性蛋白质、淀粉、丙二醛、过氧化物歧化酶、过氧化氢酶、游离脯氨酸^[3,4]。等到芋产品器官球茎收获期从每小区随机选取 15 株, 统计不同世代芋 T_1 , T_2 , CK 产生的子芋数量和产量, 试验 3 次重复。

2 结果与分析

2.1 不同世代芋苗生理差异的因子分析

试验共有 3 种芋头材料(T_1 , T_2 , CK)、8 个生理指标(叶绿素、可溶糖、可溶性蛋白质、淀粉、丙

二醛、过氧化物歧化酶、过氧化氢酶、游离脯氨酸)、3 次重复, 共 72 个样本。将试验数据用软件 SPSS 11.0 进行因子分析。

2.1.1 生理指标分析

由表 1 可知, 计算总方差分解可以得出各成分对总方差的贡献。将特征值大于 1 的提取出来, 得到 3 个主成分。其中第 1 主成分贡献率为 38.550%, 第 2 主成分贡献率为 28.276%, 第 3 主成分贡献率为 16.283%。前 3 个主成分对总方差的累积贡献已达 83.109%, 具有较高的信息涵盖量。

表 1 总方差分解
Table 1 Total Variance Explained

成 分	初始特征值			提取特征值		
	特征值	贡献率/%	累计贡献率/%	特征值	贡献率/%	累计贡献率/%
1	3.084	38.550	38.550	3.084	38.550	38.550
2	2.262	28.276	66.826	2.262	28.276	66.826
3	1.303	16.283	83.109	1.303	16.283	83.109
4	0.728	9.098	92.207			
5	0.479	5.991	98.198			
6	8.520 E-02	1.065	99.263			
7	4.679 E-02	0.585	99.848			
8	1.217 E-02	0.152	100.000			

进一步计算出主成分载荷矩阵(表 2), 由此可以分析各生理指标在各主成分上的分布情况。第 1 主成分上有: 淀粉、蛋白质、叶绿素、可溶性糖; 第 2 主成分上有: 脯氨酸、丙二醛; 第 3 主成分上有超氧化物歧化酶、过氧化氢酶。由 8 个生理指标经主成分分析降解后, 形成 3 个综合指标, 即: 第 1 主成分可以看成是光合作用及其代谢产物的综合指标; 第 2 主成分可以看成是抗逆物质的综合指标; 第 3 主成分可以看成是自由基清除相关的酶系统。可由这 3 个综合指标来衡量芋苗的生长状态及抗逆性强弱, 为进一步分析不同世代芋苗综合指标的情况, 还需计算因子得分。

表 2 主成分载荷矩阵
Table 2 Component Matrix

指标 x_i	主成分 1	主成分 2	主成分 3
叶绿素	0.723	-0.266	0.295
可溶性糖	-0.601	-0.477	-0.385
淀粉	0.839	-0.198	0.472
蛋白质	-0.722	0.525	0.153
脯氨酸	6.711E-02	-0.801	0.498
超氧化物歧化酶	0.258	-0.470	0.735
丙二醛	0.391	0.862	-0.165
过氧化氢酶	0.372	-6.84E-02	0.828

2.1.2 因子得分分析

由主成分分析可得因子得分系数矩阵(表 3), 从而可知各主因子得分模型, 并计算出不同世代芋苗在 3 个主因子上的得分, $F = \sum_{i=1}^3 (f_i \times x_i)$ 。

例如: $F_1 = \text{叶绿素} \times 0.286 - \text{可溶性糖} \times 0.121 - \text{淀粉} \times 0.058 + \text{蛋白质} \times 0.322 + \text{脯氨酸} \times 0.413 + \text{超氧化物歧化酶} \times 0.158 - \text{丙二醛} \times 0.233 - \text{过氧化氢酶} \times 0.008$

表 3 因子得分系数矩阵
Table 3 Component Score Coefficient Matrix

指标 x_i	得分系数 f_i		
	主因子 1/ F_1	主因子 2/ F_2	主因子 3/ F_3
叶绿素	0.286	0.279	0.030
可溶性糖	-0.121	-0.354	-0.197
淀粉	-0.058	0.122	0.441
蛋白质	0.322	0.114	-0.081
脯氨酸	0.413	-0.022	0.208
超氧化物歧化酶	0.158	-0.030	0.585
丙二醛	-0.233	0.255	-0.067
过氧化氢酶	-0.008	0.362	-0.142

$$\text{综合得分 } F_{\text{总}} = \frac{\sum_{j=1}^3 F_j \times \text{贡献率}_j}{\text{累计贡献率}}$$

$$\text{即 } F_{\text{总}} = (F_1 \times 38.55\% + F_2 \times 28.276\% + F_3 \times 16.283\%) / 83.109\%$$

最后得出不同世代芋苗的得分情况(表 4)。

表 4 不同世代芋苗的因子得分

Table 4 Factors Scores of Difference Generational Taro

芋苗时代	主因子 1	主因子 2	主因子 3	综合得分
T ₁	-0.329	-1.104	-0.454	-0.448
T ₂	1.192	0.157	0.410	0.517
CK	-0.863	0.947	0.044	-0.069

在主成分 1 上, 组培 2 代 T₂ 的得分值为 1.192, 远比组培 1 代 T₁ 和普通苗 CK 要高, 表明组培 2 代的芋苗生长状态好, 光合作用等强于 T₁ 和 CK; 在主成分 2 上, 组培 2 代 T₂ 的得分为 0.157, 大于组培 1 代, 但小于普通苗 CK, 表明组培 2 代在经过 1 个世代的复壮期后抗逆性逐渐加强; 在

主成分 3 上, 因子得分从大到小的顺序为: T₂, CK, T₁, 表明组培 2 代 T₂ 与自由基清除相关酶系统的作用随着世代增加也在加强。此外, T₁ 在 F₁、F₂、F₃ (3 个主成分或 3 个综合指标) 上的得分均小于 T₂ 和 CK, 表明 T₁ 世代并不适合大面积推广。

组培 1 代 T₁、组培 2 代 T₂、普通苗 CK 的综合得分分别为 -0.448, 0.517, -0.069, 由此可知组培 2 代综合得分最高, 光合作用和抗逆性均最强, 而组培 1 代 T₁ 反而不如普通苗 CK, 表明组培芋苗不能立即投入大面积生产, 而是要经历 T₁ 世代的复壮期后(即 T₂ 世代), 才能用于生产推广。

2.2 不同世代芋苗的产量比较

由表 5 可知: “绿杆芋”组织培养前产子芋的能力为平均每株 15 个, 经过组织培养后, 无论是 T₁ 世代还是 T₂ 世代, 均显著提高, 分别为 24, 23 个。这可能是组织培养提高了芋苗的增殖分生能力。

表 5 不同世代芋苗成熟期产量及产子芋数

Table 5 Yield and No. of Son-Taro of Difference Generation

芋苗世代	株数	子芋总数	子芋总重	单株平均产子芋数	平均子芋重	单株平均产芋重
		/个	/kg	/个	/g	/kg
T ₁	15	360	20.88	24 a	58 c	1.392 b
T ₂	15	345	26.22	23 a	76 a	1.748 a
CK	15	225	14.40	15 b	64 b	0.960 c

平均子芋重为: T₂ 为 76 g, 显著高于 CK、T₁; 而 CK 为 64 g, 显著高于 T₁ (58 g)。

单株平均产芋重: T₂ 为 1.748 kg, 显著高于 T₁、CK; 而 T₁ 为 1.392 kg, 显著高于 CK (0.960 kg)。

综上所述: 组培 1 代芋苗 T₁ 虽然单株产芋重比对照 CK 高, 但它的平均子芋重反而不如 CK、T₁ 产量的增加只是来源于 T₁ 产芋数量增加所致。而 T₂ 单株产芋重比对照 CK 和 T₁ 高, 而且平均子芋重也高于 CK 和 T₁; T₂ 产量的增加来源于 2 个方面: T₂ 产芋数量增加、T₂ 平均子芋重增加。因此, T₂ 世代芋苗才能作为大面积推广用的芋种。

3 讨 论

王林生等^[5]研究了 4 个世代脱毒薯苗(脱毒徐薯 18 的茎尖苗、原原种苗、原种苗、良种苗)的干物质积累与分配规律, 探讨了其增产的物质基础, 为脱毒甘薯的推广和合理使用年限提供了可靠的理论依据。杨生超等^[6]比较了甘蔗腋芽苗组培后的亚

无性系 2 代、3 代与原种在大田性状上的差异。结果表明: 腋芽苗亚无性系在生长势、株高、出苗率、分蘖率、成茎率等性状上优于原种; 亚无性系茎径和前期糖分低于原种, 并在腋芽苗无性世代中逐渐得到恢复, 在 3 代左右完全达到原种水平。李雪梅等^[7]分析了不同世代水稻的光合速率、ATPase 活性及 ABA 含量变化, 找出了导致产量降低的原因, 从而为水稻品种选育和优良种性的保持提供了参考。

本实验研究得知, 芋苗地上部分的营养器官生长优劣情况依次为 T₂, CK, T₁。芋苗地下部分的产品器官(球茎)产量依次为 T₂, T₁, CK。结合以上 2 个方面的分析可知: 在实际生产上, 通过组织培养出来的芋头苗(组培 1 代)应该先进行小规模栽植, 并留种。次年, 再用头年所留的芋种(组培 2 代)作为种源, 大面积推广种植, 才能让组织培养苗的优势和潜力充分发挥出来。

那么, 经组织培养后, 为什么产子芋数比对照

增加了呢? 为什么组织培养芋苗的优势和潜力在 T_2 世代才能充分体现, 而不是 T_1 世代呢? 不同世代芋产品器官的物质积累和分配规律怎样? 芋头产品器官的品质在不同世代中是否也有差异呢? 这些都有待进一步研究.

参考文献:

- [1] Pearson M V, Jackson G V H, Saelea J, *et al.* Evidence for Two Rhabdo-Viruses in Taro (*Colocasia esculenta*) in the Pacific Region [J]. Austral Plant Pathol, 1999, 28(3): 248—253.
- [2] 汤青林, 李 渝, 刘 荣, 等. 芋离体快繁体系的优化 [J]. 西南农业大学学报, 2004, 26(6): 686—688.
- [3] 王三根. 植物生理生化 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 6.
- [4] 王晶英, 敖 红, 张 杰, 等. 植物生理生化实验技术与原理 [M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2003: 82—83.
- [5] 王林生, 孔祥生, 李友军, 等. 徐薯 18 脱毒薯苗不同世代干物质积累与分配规律研究 [J]. 华中农业大学学报, 2000, 19(2): 90—101.
- [6] 杨生超, 杨清辉, 李富生, 等. 甘蔗腋芽苗亚无性系性状研究 [J]. 甘蔗, 2002, 9(2): 15—18.
- [7] 李雪梅, 徐正进, 张利红, 等. 不同世代水稻的光合速率、ATPase 活性及 ABA 含量变化的比较 [J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(1): 34—38.

Research of the Discrepancy of Tissue Culture-Derived Taro in Different Generations

TANG Qing-lin¹, WANG Xiao-jia¹, SONG Ming¹,
WANG Zhi-min¹, NIU Yi¹, LIU Jian-fu², SHEN Ji-hong¹

1. School of Horticulture and Landscape, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. Dept. of Biotechnology, Huaqiao University, Quanzhou Fujian 362021, China

Abstract: Surface-discontaminated tip buds of taro were used as explants in *in vitro* culture for rapid multiplication and the plants thus obtained (T_1) were transplanted into soil. The corms of T_1 were planted as multiplication organs the next year and the plants were designated as T_2 . T_1 plants, T_2 plants and normal plants (CK) were grown in a greenhouse and their leaves were used for the determination of proline content, SOD and CAT activities, MDA content and the contents of chlorophyll, soluble sugars, starch and proteins. Factor analysis showed that the 8 indexes determined were divided into 3 principal components and their total scores of T_1 , T_2 and CK were -0.448 , 0.517 and -0.069 , respectively, in the order of $T_2 > CK > T_1$. Taro yield per plant was 1.392 , 1.748 and 0.960 kg ($T_2 > T_1 > CK$). Therefore, recommended that T_2 plants should be used in large-scale cultivation.

Key words: tissue culture; taro; factor analysis

责任编辑 夏 娟