

甜菊含甙量的变异及 R-A 型良种的选育

黄应森 郭爱桂

钱 愉 陈兰英 顾鸿飞

江苏省植物研究所, 南京 210014) (江苏省南通农垦农业科学研究所, 南通 226374)
中国科学院

摘要 从甜味成分种类及含量的不同, 研究甜菊(*Stevia rebaudiana* Bertoni)实生群体和单株无性系的变化, 从中选育优质甜味成分含量高的良种。主要结果: (1) 在实生群体中, 丰产株型(圆纺锤形株)占7.3%, 其中, 优质甜味成分 R-A 含量超过 St 含量的 R-A 型株占10.96%, 它们的 R-A 含量变幅为3.3~12.0%。(2) R-A 型良种 J-2 单株无性系在繁殖达2 000万株时, 叶片大小和含甙量均存在极显著差异, R-A 含量变幅为4.5~12.2%。(3) 从 R-A 含量为3.86%的实生群体中选出 R-A 含量为7.04~12.03%的单株及从 R-A 含量为9.10%的良种单株无性系中选出 R-A 含量为10.15~12.15%的单株, 它们的 R-A 含量均大幅度提高。

关键词 甜菊; 甜菊甙; R-A 型甜菊; 无性系; 良种选育

Studies on the variation of steviosides content and selection of type R-A in *Stevia rebaudiana* Huang Ying-Sen, Guo Ai-Gui (Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014), Qian Yu, Cheng Lan-Ying, Gu Hong-Fei (Agricultural Research Institute of Nantong Farm, Jiangsu Province, Nantong 226374), *J. Plant Resour. & Environ.* 1995, 4(3): 28~32

The present paper deals with the investigation on the seedling population and clone variation from the difference of sweet component and content in *Stevia rebaudiana* Bertoni, improved types of high content of Rebudioside A (R-A) was selected. The results showed: (1) There are 7.3% high yielding plants in seedling population, in which the proportion of R-A type with content of R-A over St content is 10.96%, and their R-A content varies from 3.3 to 12.0%. (2) Among the selected improved clone J-2, there are high significant difference in leaf size and steviosides content. The R-A content varies from 4.5 to 12.2%. (3) The individuals with R-A content of 7.04~12.03% from seedling population (original content 3.86%) and individuals with R-A content of 10.15~12.15% from improved individual clone (original content 9.10%) were selected out.

Key words *Stevia rebaudiana* Bertoni; stevioside; type R-A of stevia; clone; type selection

甜菊(*Stevia rebaudiana* Bertoni)是原产南美洲的菊科草本甜料植物, 1976年江苏省植物研究所首先从国外引种成功并推广栽培。以甜菊叶为原料生产的甜菊糖已于1985年正式作为低热量高甜度天然糖源, 在食品、医药和化妆品等工业上应用。1994年全国有19个省市有甜菊糖厂, 甜菊糖年产量超过600 t, 相当于180 000 t 蔗糖甜度, 甜菊种植面积近5 000 hm², 年工农业收益在亿元以上。我国已成为甜菊叶和甜菊糖的主要生产和出口国。

甜菊叶含有8种甜菊糖甙成分。至今, 作为甜菊叶和甜菊糖产品质量指标的甜味成分是含

量最多的St(甜菊甙: Stevioside), 其他甜味成分如R-A(甜菊A₃甙: Rebaudioside A或Stevioside A₃)和R-C(甜菊C甙: Rebaudioside C)等因含量少只作为总甙量中的一般组成成分。但是St的甜味强度比R-A小近1/3, 甜味口感也不如R-A(R-A更接近蔗糖的甜味)。因此, 选育R-A含量高的良种, 对发展甜菊生产具有重要意义。

甜菊是自交不育的异花授粉植物, 在遗传学上是异质性很强的杂合体, 实生植株的形态特征和甜味成分含量都有明显差异, 但两者之间尚未发现一定相关性, 由于株型和叶型与丰产性有明显关系, 因此, 国内外研究者都从此入手, 在丰产株型中寻找R-A含量高(包括R-A含量占总甙量比例大)的单株, 通过无性系生产为工业加工提供优质原料。笔者于1983年首先发现R-A含量超过St含量的单株, 称之为R-A型株^[1], 其无性系于1985年开始推广于生产, 其R-A含量占总甙量达50%以上, 比实生群体(R-A含量仅占总甙量的37.5%)提高了12.5%以上。但是, 无性系经多年扦插繁殖, 形态上发生变化。因此, 我们不仅要研究实生群体的变异和选择, 而且也要研究单株无性系的变化并控制这种变化的方法, 以保持R-A型株的优良特性。

1. 材料与 方法

1.1 实生变异与选择

根据实生群体植株茎、枝生长构成的三大株型(圆纺锤形、长纺锤形、圆柱形)^[2], 在播种育苗的移栽田, 依行逐株观察统计, 初选丰产株型(圆纺锤形)单株并标记, 初蕾期收割头刀叶, 统一标准取样、干燥和粉碎, 分别测定含甙量, 重复1次, 优选R-A型单株, 建立单株无性系。

1.2 单株无性系变化观察

对历时8年逐年扩大繁殖达2 000万倍(栽培面积160 hm²)的R-A型良种J-2单株无性系大田, 进行以叶形为主的单株调查, 从中区分出24个形态类型, 各选取典型异株1株, 标记扦插栽植于同一塑料大棚内, 初蕾期测定各典型株主茎倒5节位叶的叶面积, 收割头刀叶, 统一标准取样、干燥和粉碎, 分别测定含甙量, 重复1次, 优选出单株, 建立新的无性系。

1.3 含甙量测定 采用国标GB8270-87和薄层扫描法^[3]

2. 结果与分析

2.1 实生群体丰产株型中的含甙类型

2.1.1 丰产株型中的R-A型单株 甜菊实生群体中的植株, 按形态特征可分为3大株型, 其中圆纺锤形为丰产株型^[2], 按含甙量可将植株分为St、R-A、SR-A和R-C等4种类型^[1]。它们在丰产株型中所占比例如表1所示。

从表1看出甜菊实生群体中丰产株型占7.3%, 其中R-A型单株占10.96%, 它在总观测数中只占0.8%。可见实生单株变化是明显的, 通过初选丰产株型后进行含甙量分析是筛选R-A型单株的有效方法。

表1 甜菊丰产株型中植株的含甙类型

Tab 1 The plant types containing steviosides in high yielding plants of *Stevia rebaudiana*

丰产株型数* Number of high yielding plants	R-A type		St type		SR-A type		R-C type	
	株数 No. of plants	%	株数 No. of plants	%	株数 No. of plants	%	株数 No. of plants	%
73	8	10.96	62	84.93	2	2.74	1	1.37

* 总观测株数1 000株中的圆纺锤形株数。Number of plants with circular spindle form in 1 000 plants

2.1.2 R-A型植株含甙量差异 表1中8株R-A型株的含甙量差异变化如表2所示,其中R-A的变幅为3.29~12.03%,R-A与St的比值为1.12~2.10,R-A占总甙量的52.8~67.7%,均超过实生群体(37.5%)。因此,有可能从R-A型单株中优选R-A含量高的植株,衣种选育的潜力是大的。

表2 甜菊R-A型植株含甙量差异

Tab 2 Variation of stevioside content in R-A type of *Stevia rebaudiana*

株号 No.	R-A %	St %	R-A+St %	R-A/St Value	R-A/R-A+St %
M-8	3.29	1.88	5.17	1.75	63.6
M-4	4.71	2.36	7.07	2.00	66.6
M-2	6.48	5.14	11.62	1.20	55.8
814	6.50	4.96	11.46	1.31	56.7
331	7.50	5.55	13.05	1.35	57.5
763	8.32	7.43	15.75	1.12	52.8
117	12.01	6.32	18.33	1.90	65.5
508	12.03	5.73	17.76	2.10	67.7
CK*	3.86	6.44	10.30	0.60	37.5

* 实生群体(平均) Seedling population (average)

2.2 无性系中的变化

无性繁殖是保持甜菊良种特性的较好方法。我国甜菊生产采用良种无性繁殖系已有10年,目前无性系栽培面积约占总面积的20~30%,无性系仍能保持优良特性,含甙量水平尚无显著性变化,但在大田中已出现了异株。据研究^[2,4],甜菊的自然杂交率高达95%以上,致使甜菊不具有高度纯合的基因型,实生单株在遗传性上是杂合体,具有很强的异质性。虽然这种异质性对单株无性系中产生异株的作用规律还有待研究,但对这些异株进行叶面积的含甙量测定结果(见表3)表明:

(1) J-2单株无性系中24个典型异株间的叶片大小(叶面积计)、含甙量(包括St、R-A、R-C和总甙量)差异都达到极显著程度(表4)。

(2) J-2单株无性系中24个典型异株与该系母株相比较,St含量无显著性差异,总甙量为显著性下降,R-A含量为极显著性下降(表5)。可见,为了保持无性系的R-A含量优势,对所出现的变化异株应及时清除,防止其在无性繁殖中不断增多而影响无性系的含甙量。

(3) J-2单株无性系中24个典型异株叶片大小与St含量具有极显著性相关,与R-A含量只有正相关趋势,没有显著性相关,与R-C含量和总甙量只有负相关趋势,没有显著性相关(表6)。

表3 甜菊J-2无性系的叶面积和含甙量

Tab 3 The steviosides content and leaf area of *Stevia rebaudiana* Clone J-2

株号 Plant No.	叶面积 cm ² Leaf area	St %	R-A %	R-C %	Total %	株号 Plant No.	叶面积 cm ² Leaf area	St %	R-A %	R-C %	Total %
1	12.2	2.21	10.15	1.21	13.57	13	8.6	4.70	4.48	1.08	10.26
2	9.0	1.76	9.29	1.30	12.35	14	5.6	5.50	6.02	1.33	12.85
3	5.6	2.24	8.59	1.41	12.24	15	7.8	2.22	9.65	1.58	13.45
4	8.5	4.36	9.19	1.70	15.25	16	4.6	5.04	6.83	1.64	13.51
5	5.6	2.69	9.75	1.81	14.25	17	12.4	1.38	7.83	1.20	10.86
6	5.8	3.66	9.73	1.75	15.14	18	8.3	5.02	6.00	1.00	12.02
7	7.2	6.27	6.97	1.37	14.61	19	3.6	4.97	6.32	1.64	12.93
8	7.1	3.78	12.15	2.36	18.29	20	4.0	4.81	6.20	1.36	12.01
9	8.7	2.60	8.68	1.52	12.80	21	3.3	4.43	7.07	1.11	12.61
10	4.8	5.98	7.39	1.38	14.75	22	8.0	4.91	6.12	1.00	12.03
11	4.5	5.66	7.35	1.64	14.65	23	5.4	6.88	10.47	2.22	19.57
12	4.0	5.37	6.68	1.39	13.44	24	5.8	4.89	6.15	1.00	12.04

表4 甜菊J-2无性系叶面积和含甙量的变异测定

Tab 4 Variance in leaf area and steviosides content of *Stevia rebaudiana* Clone J-2

项目 Items	平均数 \bar{x}	标准差 S	变异系数 CV(%)	变异幅度 Range of variation %	显著性测定 n=24, t _{0.1} =2.807
叶面积 Leaf area (cm ²)	6.68	2.47	36.95	3.3~12.4	t ₀ =13.26
St (%)	4.24	1.52	35.61	1.38~6.88	t ₀ =13.76
R-A (%)	7.88	1.82	23.10	4.48~12.15	t ₀ =21.24
R-C (%)	1.42	0.36	25.47	1.00~2.36	t ₀ =19.25
Total (%)	13.56	2.10	15.49	10.26~19.57	t ₀ =31.40

表5 甜菊J-2无性系对该系母株的含甙量差异性测定

Tab 5 T-test of difference in steviosides content between *Stevia rebaudiana* Clone J-2 and their maternal plant

项目 Items	平均数 \bar{X}	母株 (%) Maternal plant	标准差 S	显著性测定* t ₀
St	4.24	4.40	1.51	0.519
R-A	7.88	9.10	1.82	3.288
R-C	1.42	1.11	0.36	4.429
Total	13.56	14.61	2.10	2.448

*n=24, t_{0.05}=2.069, t_{0.1}=2.807

表6 甜菊J-2无性系叶面积与含甙量的关系

Tab 6 Relationship between leaf area and steviosides content in *Stevia rebaudiana* Clone J-2

项目 Item	相关系数 (r)	显著性测定* t ₀
St	-0.5745	t ₀ =3.2923>t _{0.1}
R-A	+0.0782	t ₀ =0.3680<t _{0.05}
R-C	-0.2570	t ₀ =1.2464<t _{0.05}
Total	-0.2205	t ₀ =1.0611<t _{0.05}

*n=24, t_{0.1}=2.8188, t_{0.05}=2.0739

2.3 单株选择结果

甜菊叶优质和高产是目前甜菊良种选育的最主要目标。优质不仅是R-A含量高,而且是R-A占总甙量的比例大,对它们进行综合评价,是R-A型良种选择的主要内容。

从实生群体中选出的良种单株如表7所示,它们的R-A含量为7.04~12.03%,R-A占总甙量的50.6~67.7%,分别比实生群体提高3.18~8.17%和13.13~30.26%。

从R-A型良种J-2单株无性系变化中选出的单株如表8所示,它们的R-A含量为10.15~12.15%,R-A占总甙量的66.4~74.8%,分别比该无性系母株(J-2单株)提高1.05~3.05%和4.15~12.52%。

表7 实生群体中R-A型良种的选择

Tab 7 Selection of improved type R-A in seedling population

名称 Name	Total*		R-A		R-A/St		R-A/Total	
	%	+	%	+	%	+	%	+
131	13.91	3.61	7.04	3.18	1.02	0.42	50.61	13.13
163	14.05	3.75	7.12	3.26	1.03	0.43	50.68	13.20
188	16.85	6.55	9.49	5.63	1.29	0.69	56.32	18.84
R-A-7	18.33	8.03	12.01	8.15	1.90	1.30	65.52	28.04
R-A-8	17.76	7.46	12.03	8.17	2.10	1.50	67.74	30.26
CK**	10.30		3.80		0.60		37.48	

*Total=St+R-A **Seedling population

表8 甜菊J-2无性系中的选择

Tab 8 Selection in *Stevia rebaudiana* Clone J-2

名称 Name	Total*		R-A		R-A/St		R-A/Total	
	%	+	%	+	%	+	%	+
1	13.57	-1.04	10.15	1.05	4.59	2.52	74.80	12.52
8	18.29	3.69	12.15	3.05	3.21	1.14	66.43	4.15
23	19.57	4.96	10.47	1.37	1.52	-0.55	53.50	-8.78
J-2	14.61		9.10		2.07		62.28	

*Total=St+R-A+R-C

在甜菊的各种良种选育方法中,含甙量测定选择R-A型优良单株是直接有效的方法。其单株选择推广,不仅标志着甜菊糖原料生产由实生群体有性繁殖栽培阶段进入R-A型优株无性繁殖栽培的良种化阶段,而且也标志着甜菊糖生产由St型甜菊糖阶段进入R-A型甜菊糖的优质化阶段。随着实生群体在发展R-A型的良种中逐渐被淘汰,将会出现甜菊种质资源大量流失以致被毁的严重局面,因此,保持甜菊种质资源和选育推广R-A型良种是同等重要的任务。

参 考 文 献

- 1 黄应森,单文璜,郭爱桂. 1983; 甜菊含甙量的研究,南京中山植物园研究论文集,江苏科学技术出版社,南京. 52~57.
- 2 黄应森,陆荣刚. 1981; 甜菊栽培技术,江苏科学技术出版社,南京. 10~16.
- 3 金传嘉,单文璜. 1981; 甜菊的薄层扫描定量分析,南京中山植物园研究论文集,江苏科学技术出版社,南京. 144~146.
- 4 片山 修,住田哲也,林 纒司,三桥 博. 1976; ステビワ实用化と研究开发データ, (ISU)株式会社, 79~90.

(责任编辑:许定发)