

文章编号: 100F 1498(2004) 06 0819 05

版纳省藤实生白化苗与正常苗的比较研究*

李荣生¹, 尹光天¹, 许煌灿¹, 杨锦昌¹, 杨华¹, 陈和明²

(1. 中国林业科学研究院热带林业研究所, 广东 广州 510520; 2. 福建农林大学林学院, 福建 福州 350002)

关键词: 版纳省藤; 白化苗; 叶绿素; 光合速率

中图分类号: Q945. 11 文献标识码: A

白化苗是植物的一种变异, 它不能正常生长, 在农林业生产上应尽量避免白化苗的出现。研究人员在多种植物的实生苗或组培苗中发现了白化苗, 包括树木和农作物, 如蓝桉(*Eucalyptus globulus* Labill.)^[1]、苏铁(*Cycas revoluta* Thunb.)^[2]、大麦(*Hordeum vulgare* L.)^[3]、小麦(*Triticum aestivum* L.)^[4]、棉花(*Gossypium hirsutum* L.)^[5]、玉米(*Zea mays* L.)^[6]、薏苡(*Coix lacrymajobi* L.)^[7]、甘蔗(*Saccharum sinensis* Roxb.)^[8]、高粱(*Sorghum bicolor* (L.) Moench)^[9]、雷竹(*Phyllostachys praecox* C. D. Chu et C. S. Chao)^[10]、烟草(*Nicotiana tabacum* L.)^[11]和水稻(*Oryza sativa* L.)^[12]等, 而且还在小麦上发现了可以恢复为正常绿苗的返白系^[13]。研究结果表明: 在白化苗形成的外因上, 磷和锌^[6]、脉动磁场^[9]、抗生素^[14]、BA^[15]、低温^[16]、不同杂交材料^[17]和不同倍性^[18]等因素对植物白化苗的产生有影响; 在白化苗形成的内部机理上, 白化苗和正常绿苗叶片的超微结构^[2, 3]、可溶性蛋白质^[19, 20]、过氧化物同工酶^[7, 13, 20]、脂酶同工酶^[7, 20]和质体亚显微结构^[21]等均有明显差异, 这些生理差异可能与白化苗的形成有关。在遗传学上研究发现, 白化苗是遵从单基因分离规律, 认为可以利用白化苗作为评估树木远亲繁殖率的指标^[1], 但也有相反的研究结果^[22]。目前对棕榈藤生物学特性、栽培技术及组培苗的研究较多^[23~25], 而对棕榈藤白化苗的研究甚少, 未见有关研究报道。

1 材料与方方法

1.1 试验材料

试验材料为版纳省藤(*Calamus nambariensis* Becc. var. *xishuangbannaensis* S. J. Pei et S. Y. Chen)实生苗。2003年2—3月份由中国林科院资源昆虫研究所在云南省勐腊县和景洪县采集苗木种子。按株(丛)采集, 每一株(丛)上采到的种子作为一个家系, 共采集22个家系。采样后数天内将种子洗净并播于装有红壤的塑料盆内, 随后转移到地处广东省广州市的中国林科

收稿日期: 2004 03 29

基金项目: 国家十五攻关课题“棕榈藤种质资源培育及利用技术”(2001BA 506b 04)和广东省自然科学基金资助项目“棕榈藤种间水分利用效率和抗旱能力的比较”(021581)资助

作者简介: 李荣生(1975—), 男, 福建仙游人, 博士, 助理研究员。

* 中国林业科学研究院热带林业研究所李意德首席专家组提供 Li Cor6400 光合测量仪器, 该组陈德祥先生协助光合作用测定, 在此对他们表示感谢!

院热带林业研究所荫棚内培养,荫棚上覆盖一层50%透光度的遮荫网和一层透明塑料薄膜。2003年5月移苗至营养袋内,营养袋里的土壤为广州市郊区农田表层土。苗木移植后每天上午和下午各浇1次水,保持土壤湿润。

1.2 研究方法

1.2.1 白化苗发生率 2003年8月统计每个家系白化苗的株数和该家系的总株数。白化苗发生率= 每个家系白化苗的株数/该家系的总株数 \times 100%。

1.2.2 叶片数及最长叶长度 2003年8月记录每株白化苗及其邻近4个方向的4株正常绿苗的叶片数,同时测量最长叶长度。如遇白化苗在苗床边缘,则根据情况取相邻3个方向或2个方向的正常绿苗。

1.2.3 叶绿素含量测定 叶绿素含量的测定根据参考文献[26]的方法测定。取藤苗顶端第1~2片叶的中部羽片带回试验室洗净拭干,去掉中脉将其切成宽度小于1mm的长条,混合后称取0.1g放入25mL容量瓶,然后往容量瓶中加入叶绿素提取液(无水乙醇、丙酮和蒸馏水按4.5:4.5:1的体积比混合而成),定容到25mL,然后将容量瓶放置暗处,直到叶长条完全变白时进行光密度值($O.D$)测定。所用仪器为SX722型分光光度计,测定波长为645nm和663nm。叶绿素含量按下列公式计算:

$$\text{叶绿素 a} = (12.70 \cdot O.D_{663} - 2.69 O.D_{645}) \times V / (1000 \times W)$$

$$\text{叶绿素 b} = (22.90 \cdot O.D_{645} - 4.68 O.D_{663}) \times V / (1000 \times W)$$

$$\text{总叶绿素} = (20.20 \cdot O.D_{645} + 8.02 O.D_{663}) \times V / (1000 \times W)$$

其中, $O.D_{645}$ 、 $O.D_{663}$ 分别为波长645nm和663nm处的光密度值; V 为提取液体积; W 为样品质量。试验重复3次,以其平均值和标准差表示。

1.2.4 净光合速率测定 2003年8月中旬测定版纳省藤白化苗和正常绿苗净光合速率。测定时间为上午10点至11点,测定地点在培育苗木的试验苗圃。苗木在测定前置于太阳光下光照5min。光合速率用Li-Cor6400光合测量仪测定,采用开路系统,测定时间为3min,每隔6s测定1次,所有读数的平均值为净光合速率。叶室中的光合有效辐射分别设为 $800 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 和 $1600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 两个水平。

2 结果与分析

2.1 白化苗发生率

表1所示,在版纳省藤22个家系中有13个家系出现1~3株白化苗,其白化苗发生率在0.4%~2.2%,但22个家系的白化苗总体发生率只有0.7%,这与玉米^[6]和高粱^[9]实生苗的5%以下的白化苗发生率相近,远低于雷竹^[10]实生苗的40%的白化苗发生率。

2.2 白化苗和正常绿苗的叶片数和最长叶长度

叶片数和最长叶长度测量结果见表2。白化苗的叶片数和最长叶长度分别为 1.9 ± 0.3 片和 22.32 ± 3.49 cm,均小于正常绿苗的 2.0 ± 0.0 片和 26.09 ± 3.26 cm,分别是正常绿苗叶片数和最长叶长度的95%和85%。

表 1 版纳省藤不同家系白化苗发生率

家系号	总株数 株	白化苗		家系号	总株数 株	白化苗	
		株数/株	发生率/%			株数/株	发生率/%
203013	8	0	0.0	203009	105	0	0.0
203004	11	0	0.0	203028	196	0	0.0
203032	139	2	1.4	203005	219	3	1.4
203008	191	1	0.5	203006	135	1	0.7
203030	114	1	0.9	203027	105	0	0.0
203012	285	1	0.4	203023	119	0	0.0
203016	102	1	1.0	203003	109	0	0.0
203025	150	1	0.7	203020	98	0	0.0
203014	68	0	0.0	203031	294	3	1.0
203033	172	1	0.6	203017	139	3	2.2
203018	131	1	0.8	203011	195	2	1.0
				合计	3 085	21	

表 2 版纳省藤白化苗和正常绿苗叶片的数量和长度

苗木类型	叶片数/片	最长叶长度/cm
白化苗	1.9±0.3	22.32±3.49
正常绿苗	2.0±0.0	26.09±3.26

表 3 版纳省藤白化苗和正常绿苗鲜叶的叶绿素含量

苗木类型	叶绿素 a	叶绿素 b	叶绿素总含量
	(mg·g ⁻¹)		
正常绿苗	5.75±0.12	2.41±0.12	8.15±0.25
白化苗	0	0.03±0.03	0.03±0.03

2.3 白化苗和正常绿苗的叶绿素含量

从表 3 可以明显看出, 版纳省藤白化苗不含叶绿素 a, 但含有微量的叶绿素 b, 鲜叶的叶绿素总含量仅为 0.03 mg·g⁻¹ 左右, 远低于正常绿苗的 8.15 mg·g⁻¹, 只为正常绿苗的 0.2%。这表明白化苗含有微量的叶绿素, 这与烟草白化苗的研究结果^[11] 相符, 但版纳省藤白化苗的叶绿素含量比烟草的大, 而烟草白化苗含有叶绿素 a。

2.4 白化苗和正常绿苗的净光合速率

表 4 表明, 不论光合有效辐射是 800 μmol·m⁻²·s⁻¹ 还是 1 600 μmol·m⁻²·s⁻¹, 白化苗的净光合速率均小于正常绿苗, 大约是正常绿苗的 20%。不论是白化苗还是正常绿苗, 光合有效辐射为 1 600 μmol·m⁻²·s⁻¹ 时的净光合速率均大于光合有效辐射为 800 μmol·m⁻²·s⁻¹ 时的净光合速率。

表 4 版纳省藤白化苗和正常绿苗的净光合速率

光合有效辐射 (μmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	净光合速率/(μmol CO ₂ ·m ⁻² ·s ⁻¹)	
	正常绿苗	白化苗
800	7.200 0±0.744 2	1.249 6±0.379 0
1 600	7.398 9±0.766 4	1.390 0±0.293 5

3 结论与讨论

版纳省藤白化苗的自然发生率低于 5%, 这种损失在农林业生产上可以接受, 因此作者认为版纳省藤出现白化苗对生产不构成威胁。虽然版纳省藤白化苗发生率较低, 但其发生率仍高于单叶省藤 (*Calamus simplicifolius* C.F. Wei) 和黄藤 (*Daemonorops margaritae* (Hance) Becc.) 两个藤种, 因此有必要对版纳省藤实生苗出现较多白化苗的原因进行探讨。版纳省藤白化苗发生率较高的原因可能有以下三种: 一是版纳省藤本身就具有较高的白化苗发生率, 如雷竹白化

苗发生率高达 40%；二是版纳省藤在长距离运输或贮藏过程中受到某些因素的刺激。因为试验苗木的种子采自云南，播种后经长距离运输到广州，途中可能受到辐射或其它诱变因素的作用；三是生长环境的差异。版纳省藤原生分布在云南省局部地区^[27]，与广州的自然条件差异很大，在与原产地差异较大的环境中培育苗木，可能诱发版纳省藤白化苗的产生。具体是何种原因导致白化苗的产生还需进一步研究。

白化苗具有微量叶绿素，为正常绿苗的 0.2%，而净光合速率高达 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，为正常绿苗的 20%。以往人们普遍认为白化苗不含叶绿素，没有光合作用，但 Bae C H 等^[11] 在烟草白化苗中检测出微量叶绿素，本研究结果与此结果一致。版纳省藤白化苗在前 5 个月内的生长与正常绿苗相差无几，特别是叶片数达到 1.9 片，与正常绿苗的 2.0 片差异很小。白化苗的生长主要依靠种子贮藏的能量，可以说是异养阶段。根据对水稻的研究^[28]，水稻的完全异养阶段是从种籽萌发到不完全叶长成，可以完全自养阶段在 1.6 片叶以后。与水稻相比，版纳省藤的异养阶段比水稻长的多，这是否与版纳省藤白化苗具有较高的净光合速率有关？而白化苗是如何以较低的叶绿素含量进行较高的净光合速率？还有待进一步研究。

参考文献：

- [1] Patterson B, Wolbang C M, Vaillancourt R E, et al. Inheritance of two chlorophyll mutants in *Eucalyptus globules*[J]. *Silvae Genetica*, 2000, 49(6): 290~ 292
- [2] 傅瑞树, 卢健. 苏铁白化苗叶片细胞的超微结构[J]. *亚热带植物通讯*, 1997, 26(1): 29~ 31
- [3] 代庆阳, 汤泽生, 王祖秀, 等. 大麦白化苗叶的组织学和超微结构[J]. *四川师范学院学报(自然科学版)*, 1992, 13(4): 291~ 293
- [4] 朱祯, 孙宝林, 刘春明, 等. 转化脂质小麦原生质体转化及转基因白化苗的再生[J]. *生物工程学报*, 1993, 9(4): 320~ 323
- [5] 张宝红, 李秀兰, 李凤莲, 等. 棉花组织培养中异常苗的发生与转化[J]. *植物学报*, 1996, 38(11): 845~ 852
- [6] 肖桂秀, 李传俊, 王蕾, 等. 玉米减量施肥研究[J]. *土壤肥料*, 2003(6): 37~ 40
- [7] 乔亚科, 李桂兰, 高书国, 等. 薏苡正常幼苗与白化苗的同工酶分析[J]. *河北农业技术师范学院学报*, 1992, 6(4): 1~ 3
- [8] 林俊芳, 张银东, 陈如凯, 等. 基因枪法转化甘蔗胚性愈伤组织获得转基因甘蔗白化苗[J]. *福建农业大学学报*, 1997, 26(1): 18~ 23
- [9] 胡希远, 王国栋. 脉动磁场对高粱生长发育的影响[J]. *陕西农业科学*, 1993(3): 7~ 8
- [10] 付顺华, 吴家森, 余永清, 等. 雷竹种子特性及苗期生长观察[J]. *山东林业科技*, 2002(1): 11~ 12
- [11] Bae C H, Abe T, Matsuyama T, et al. Regulation of chloroplast gene expression is affected in *ali*, a novel tobacco albino mutant[J]. *Annals of Botany*, 2001, 88: 545~ 553
- [12] 李良材, 陈一明, 陈英. 水稻原生质体培养及植株再生的研究[J]. *遗传学报*, 1988, 15(5): 321~ 328
- [13] 赵亚华, 郭蔼光, 汪沛洪, 等. 小麦返白系与不同基因型小麦品种杂交后代 IPO 表达的研究[J]. *西北植物学报*, 1996, 16(2): 142~ 148
- [14] 刘志勇, 孙其信, 黄铁诚, 等. 抗生素诱变小麦雄性不育研究: I. 链霉素诱变小麦雄性不育的诱变效应[J]. *中国农业大学学报*, 1996, 1(5): 1~ 7
- [15] 钟华鑫, 潘向群, 陈汉民, 等. BA 田间预处理对大麦花药若干生理性状和培养效率的影响[J]. *云南植物研究*, 1992, 14(2): 179~ 186
- [16] 许智宏, Sunderland N. 大麦花粉在低温预处理及培养中 DNA 含量的显微光度测定[J]. *植物生理学报*, 1986, 12(1): 140~ 147
- [17] 凌定厚, 陈梅芳, 马镇荣, 等. 光敏感雄性不育水稻花药培养研究[J]. *中国科学院华南植物研究所集刊*, 1990(6): 152~ 158
- [18] 舒理慧, 张廷壁, 周明杰. 水稻不同倍性的幼穗在离体培养中的反应[J]. *科学通报*, 1985(3): 221~ 224

- [19] 陈湘宁, 李玉湘, 李继耕. 水稻、小麦花药培养白化苗质体亚显微结构和蛋白质的研究[J]. 遗传学报, 1988, 15(2): 95~101
- [20] 傅瑞树. 苏铁白、绿苗可溶性蛋白质及若干同工酶分析[J]. 福建林学院学报, 1999, 19(3): 235~237
- [21] 马闻师, 郭蔼光, 汪沛洪. 小麦返白系返白期间类囊体膜多肽的变化研究[J]. 华北农学报, 1998, 13(增刊): 56~58
- [22] 付秀林. 水稻花培中白化苗成因的探讨[J]. 农业与技术, 1996(4): 8~9, 12
- [23] 尹光天, 许煌灿, 曾炳山, 等. 单叶省藤生态生物学特性及栽培技术的研究[J]. 林业科学研究, 1998, 16(1): 7~15
- [24] 刘英, 曾炳山, 尹光天. 两种省藤组培成苗芽的选择[J]. 林业科学研究, 2000, 13(6): 679~683
- [25] 曾炳山, 尹光天, 许煌灿, 等. 单叶省藤组培苗造林初步研究[J]. 林业科学研究, 2003, 16(2): 240~244
- [26] 陈福明, 陈顺伟. 混合液法测定叶绿素含量的研究[J]. 林业科技通讯, 1984(2): 4~8
- [27] 裴盛基, 陈三阳, 童绍金. 中国植物志(第十三卷 第一分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1985
- [28] 王万里, 林芝萍. 水稻幼苗由异养向自养的过渡[J]. 植物生理学报, 1983, 9(2): 199~209

Comparison between Albino and Normal Seedlings of *Calamus nambarensis* Becc. var. *xishuangbanensis*

LI Rong-sheng¹, YIN Guang-tian¹, XU Huang-can¹,

YANG Jin-chang¹, YANG Hua¹, CHEN He-ming²

(1. Research Institute of Tropical Forestry, CAF, Guangzhou 510520, Guangdong, China;

2. School of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China)

Abstract: This paper dealt with the differences between albino and normal seedlings of *Calamus nambarensis* var. *xishuangbanensis* in terms of growth and photosynthesis. Thirteen families among 22 families were found to have one to three albinos, the percent of which varying from 0.4 to 2.2 percents, while the percent of albinos among all 22 families was about 0.7 percent. The number of albino leaves and the length of longest leaves were 1.9 ± 0.3 and 22.32 ± 3.49 cm respectively, which were less than that of 2.0 ± 0.0 and 26.09 ± 3.26 cm of normal seedlings, accounting for 95% and 85% of normal seedlings. The albinos had not chlorophyll a, but some chlorophyll b. The total content of chlorophyll was $0.02 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$, much less than that of $8.15 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ of normal seedlings, accounting for 0.2 percent. Whether photosynthesis active radiation (PAR) was $800 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ or $1600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, the photosynthetic rate of albinos was less than that of normal seedlings, accounting for about 20 percents. The data of net photosynthetic rate of albino evaluated by the authors were also analyzed.

Key words: *Calamus nambarensis* var. *xishuangbanensis*; albino; chlorophyll; photosynthesis