

刘星月,朱强龙,单楠,等.多子芋组培突变材料表型及SSR标记鉴定[J].江西农业大学学报,2020,42(2):
241-249.



多子芋组培突变材料表型及SSR标记鉴定

刘星月¹,朱强龙¹,单楠¹,孙静宇¹,张宏玉¹,
李慧英¹,黄英金¹,方加军²,周庆红^{1*}

(1.江西农业大学 农业应对气候变化南昌市重点实验室,江西 南昌 330045;2.江西省江天农业科技有限公司,江西
上饶 334001)

摘要:【目的】探究多子芋体细胞无性系变异材料(江芋4号)与亲本(江芋2号)间的性状变异及遗传差异,明确多子芋变异材料的育种潜力和生产利用价值。【方法】考察测定江芋2号及其组培后代稳定变异材料江芋4号间表型、产量及品质相关性状的变异,测定分析两材料间的染色体数目和倍性水平,并采用SSR标记技术和118份芋种质分析亲本及组培变异材料间的遗传差异。【结果】与亲本江芋2号相比,突变材料江芋4号植株地下部侧球茎(子、孙芋)不能正常膨大,突变为长棒状,且侧球茎总质量显著低于亲本,但生物产量与亲本差异不显著;江芋4号侧球茎中淀粉、纤维素、可溶性蛋白及Vc含量显著高于亲本。此外,通过常规压片和细胞流式分析表明江芋4号和江芋2号染色体数目和倍性一致。再者,通过38对SSR分子标记遗传聚类分析表明,江芋2号与江芋4号遗传距离最近,且遗传相似系数高达97%,确定江芋4号为江芋2号基因水平的变异。【结论】通过表型性状考察及分子鉴定,明确了多子芋江芋2号与其组培变异材料江芋4号的表型变异和遗传差异。突变材料江芋4号可作为进一步研究多子芋侧球茎膨大调控机制的独特材料,并可进一步开发为叶、花柄用或观赏用芋新品种。

关键词:多子芋;体细胞无性系变异;表型性状;SSR标记;鉴定

中图分类号:S632.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-2286(2020)02-0241-09

Identification of Mutants from Tissue Culture in Multi-cormels Taro by Phenotypic Traits and SSR Markers

LIU Xing-yue¹, ZHU Qiang-long¹, SHAN Nan¹, SUN Jing-yu¹, Zhang Hong-yu¹,
LI Hui-ying¹, HUANG Ying-jin¹, FANG Jia-jun², ZHOU Qing-hong^{1*}

(1.Key Laboratory of Agriculture Responding to Climate Change, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Jiangxi Jiangtian Agricultural Technology Co., Ltd., Shangrao, Jiangxi 334001, China)

Abstract: [Objective] To explore the character variation and genetic difference between the parent (Jiangyu 2) and its somatic mutant (Jiangyu 4), and determine their breeding potential and utilization value for taro planting. [Method] In this study, the variation of phenotypic, yield and quality-related traits between Jiangyu 2 and Jiangyu 4 were investigated, the chromosome number and ploidy level of them were analyzed, and the genet-

收稿日期:2019-11-19 修回日期:2019-12-25

基金项目:江西省现代农业产业技术体系建设专项(JXARS-19)和江西省红芽芋工程技术研究中心项目(20171BCD40056)

Project supported by the Jiangxi Agriculture Research System (JXARS-19) and Jiangxi Engineering Research Center of Red Bud Taro (20171BCD40056)

作者简介:刘星月, orcid.org/0000-0003-2246-4933, 1731268490@qq.com; *通信作者:周庆红, 副教授, 博士, 主要从事蔬菜遗传育种与生物技术研究, orcid.org/0000-0002-8552-7738, qinghongzhou@126.com。

ic diversity of 72 taros including Jiangyu 2 and Jiangyu 4 were analyzed by SSR markers.[Result]Comparing to Jiangyu 2, the first and second grade cormels of Jiangyu 4 could not expand normally, the shape of first grade cormels mutated into sticks, and the total weight of cormels was less than Jiangyu 2, but the biological yield had no significantly difference between two material. In addition, the content of starch, cellulose, soluble protein and Vc in the first grade cormels of Jiangyu 4 were significantly higher than that of Jiangyu 2. Moreover, the chromosome number and ploidy level of Jiangyu 4 and Jiangyu 2 were consistent by traditional pressing method and flow cytometry analysis. Furthermore, the genetic clustering analysis of 38 pairs of SSR markers showed that Jiangyu 2 and Jiangyu 4 were clustered together, and the genetic similarity coefficient was as high as 97%, and Jiangyu 4 was identified as a gene level mutation.[Conclusion]The character variation and genetic difference between Jiangyu 2 and Jiangyu 4 were uncovered by morphological identification, chromosome and SSR molecular markers analysis. Jiangyu 4 can serve as a unique material to study the regulatory mechanism of cormel expansion, and also further could be developed into new edible or ornamental variety of taro.

Keywords: multi-cormels taro; somaclonal variation; phenotypic traits; SSR markers; identification

【研究意义】在对多子芋品种江芋2号脱毒快繁培养过程中,筛选到侧球茎不膨大的体细胞无性系变异材料(命名为江芋4号),其变异性状在后代繁育和田间多代种植中能够稳定遗传,研究该突变材料与其亲本间的性状差异和遗传变异,对明确变异材料的育种潜力和生产利用价值具有重要意义。【前人研究进展】植物离体培养过程中,由于外植体本身或在外界培养条件的刺激下,其再生植株体细胞容易发生染色体数目或结构的变异,优良的变异是作物种质创新和新品种选育的重要途径^[1]。分析体细胞突变除依据外部形态特征(如植株形态、生长习性、抗性)考察外,早期主要采用同工酶酶谱^[2]及染色体观察^[3]进行无性系变异的鉴定^[4]。近年来,SSR、SRAP和ISSR等分子标记技术被广泛用于植物体细胞无性系变异间基因水平的差异,如尹明华^[5]等通过RAPD分子标记和流式细胞术来分析和检测了江西铅山红芽芋再生苗的遗传稳定性,结果表明愈伤组织再生苗具有较大的遗传变异;邹雪等^[6]采用SCOT和RAPD两种分子标记鉴定了耐低磷和盐胁迫突变体与母本间的遗传差异。聂琼和文晓鹏^[7]采用ISSR、SRAP和IRAP标记技术对火龙果不同快繁代数的再生幼苗进行遗传变异分析,发现随着繁殖代数多,体细胞无性系变异频率越高,不同分子标记能够有效检测基因组不同区域的DNA变异。【本研究切入点】芋(*Colocasia esculenta* L.Schott)是天南星科(Araceae)芋属能形成地下球茎的栽培种,在温带和亚热带地区普遍栽培,是世界第5大根茎类作物和第14大蔬菜作物^[8]。其地下球茎富含淀粉、蛋白质及非淀粉性多糖等多种营养物质和功能成分,是芋主要食用器官。多子芋是球茎用芋的三大类型(魁芋、多子芋和多头芋)之一^[9],也是我国长江流域栽培最为广泛的芋类型,其主球茎(主茎地下部分膨大形成,俗称母芋)不发达,侧球茎(主球茎上腋芽膨大发育而成,俗称子芋)多而群生,为多子芋主要产品器官。课题组前期在对多子芋品种江芋2号茎尖脱毒培养和继代增殖培养的过程中,筛选到了稳定的侧球茎不膨大变异材料,将其分别命名为江芋4号,这为研究多子芋侧球茎膨大发育提供了独特材料,也为多子芋新品种选育提供了优异材料,有必要对其主要农艺性状及遗传差异进行深入研究。【拟解决的关键问题】本研究基于前期研究筛选出的多子芋体细胞无性系变异材料,对变异材料表型、产量和品质相关性状进行考察和测定,采用SSR分子标记分析变异材料与亲本的遗传差异,为进一步利用其开展芋种质创新和新品种选育提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

多子芋品种江芋2号及其组培变异材料江芋4号种芋由江西省红芽芋工程技术中心提供。

1.2 试验设计及性状鉴定

试验设两种处理,一是将江芋2号和江芋4号于2019年4月初播种于套桶中栽培,每桶种植1株,栽培基质为有机营养土,每份材料种植10株,3次重复。在其植株侧球茎膨大初期至成熟期期间,每7 d对

膨大期侧球茎的横径、纵径进行测定,共统计7次(A~G 7个时期)。二是将江芋2号和江芋4号材料分别种植于江西农业大学农学试验基地,每试验材料种植1个小区,小区面积为20.16 m²,株行距为30 cm×70 cm,每小区种植96株,3次重复,常规管理。于2019年9月21日对所有材料进行单株产量测定,测定性状包括:母芋质量/g、子芋个数/个、子芋质量/g、孙芋个数/个、孙芋质量/g、单株总质量/g、地上部鲜质量/g等^[10]。此外,对亲本及突变体侧球茎(子芋)进行品质分析,其可溶性糖总糖含量采用苯酚-硫酸法测定,还原性糖含量采用3,5-二硝基水杨酸比色法测定,淀粉含量采用碘比色法测定,纤维素含量采用蒽酮比色法测定,VC含量采用钼蓝比色法测定,蛋白质含量采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定。具体参考高俊凤的《植物生理学实验指导》^[11]。

1.3 染色体数目及倍性测定

于10:00左右取旺盛生长中的江芋2号和江芋4号5 mm左右长的植株根尖,采用常规压片法^[12]进行染色体压片,置显微镜下观察根尖细胞的染色体形态和数目;此外,以普通二倍体西瓜基因组作参考,采用流式细胞术^[13]对江芋2号和江芋4号进行倍性水平和DNA含量进行了测定。

1.4 SSR 分子标记鉴定

参照 Lu 等^[14]和 Hu 等^[15]文献,通过上海生物工程有限公司设计合成38对SSR引物,用于江芋2号、江芋4号及其他118份芋资源的遗传差异分析。采用改良CTAB法^[16]提取所有材料幼嫩叶片基因组DNA,经琼脂糖检测合格后存于-20℃冰箱中备用。

SSR-PCR反应体系(10 μL):5 μL 2×TSingKe Master mix,1 μL DNA,0.5 μL 上游引物,0.5 μL 下游引物,3 μL dd H₂O;在T100™ Thermal Cycler PCR仪上扩增:95℃ 5 min;95℃ 30 s,60℃ 30 s,72℃ 30 s,40个循环;72℃ 5 min,4℃。取2 μL PCR扩增产物加入0.5 μL Loading Buffer,于DYY-6C型电泳仪进行8%聚丙烯酰胺凝胶电泳(220 V,3 h),硝酸银染色,BIO-RAD凝胶成像系统中拍照记录。

仅读取100~800 bp清晰易于识别的条带,有带记为“1”,无带记为“0”,运用NT-SYS pc2.10e软件^[17]对数据进行分析,按照非加权成对算术平均法(UPGMA)以相似系数对参试材料进行聚类分析。

1.7 数据处理

采用Excel和SPSS 17.0进行数据处理和方差分析。

2 结果分析

2.1 变异株表型及产量相关性状分析

从图1可以看出,江芋2号与其突变株江芋4号表型性状存在一定的差异,变异株相对于亲本表型差异主要表现为地下侧球茎(子、孙芋)芋形突变为长棒状,茎节间距明显变长,其生长方向也变为横向生长,子芋几乎不膨大(B1,B2,D1,D2)。此外,突变株相比亲本地上部植株更高大,叶柄更细长,叶片数也较多(B1,B2,C1,C2)。将突变株的长棒状子芋做种芋进行种植,其幼苗表现出较快的生长速度(A1,A2)。从表1可以看出,江芋4号子芋芋型指数(5.68)与野生型江芋2号(1.41)存在显著差异;从子芋平均单质量看,江芋4号子芋平均单质量(20.4 g)与江芋2号(55.2 g)也存在显著性差异。

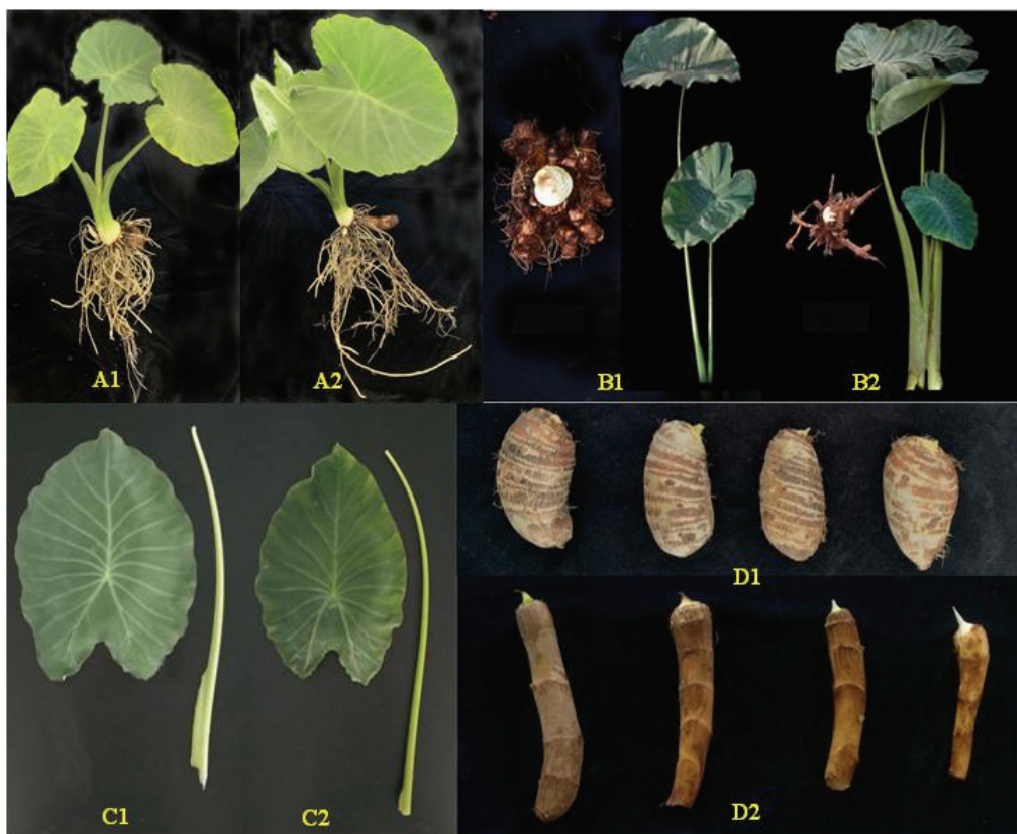
表1 多子芋不同组培变异材料子芋芋型指数与单质量比较

Tab.1 Comparison of shape index and average quality of different variants of son taros

名称 Name	纵径/cm Length diameter	横径/cm Width diameter	芋型指数 Shape index	平均单质量/g Average quality
江芋2号 Jiangyu 2	5.57±0.11 ^b	3.96±0.08 ^a	1.41±0.04 ^b	55.22±4.67 ^a
江芋4号 Jiangyu 4	12.60±0.71 ^a	2.21±0.09 ^b	5.68±0.15 ^a	20.39±1.54 ^b

小写字母表示不同材料间存在显著性差异(P<0.05)

Lowercase letters indicate significant differences between different materials (P<0.05)



A1:江芋2号幼苗,A2:江芋4号幼苗,B1:江芋2号成熟株,B2:江芋4号成熟株,C1:江芋2号叶片及叶柄,C2:江芋4号叶片及叶柄,D1:江芋2号子芋,D2:江芋4号子芋

A1:Seedling of Jiangyu 2,A2:Seedling of Jiangyu 4,B1:Mature plant of Jiangyu 2,B2:Mature plant of Jiangyu 4,C1:江芋4号 Leaf blade and petiole of Jiangyu 2,C2:D1:Leaf blade and petiole of Jiangyu 4,D1:First grade cormels of Jiangyu 2,D2:First grade cormels of Jiangyu 4

图1 江芋2号与江芋4号植株表型性状比较

Fig.1 Comparison of plant phenotypic characters of Jiangyu 2 and Jiangyu 4

从图2可以看出,两份材料侧球茎的纵径在整个调查过程中都表现出持续上升的趋势,变异株江芋4号的纵径由0.51 cm(A期)上升到9.89cm(G期),增长值显著高于江芋2号(A期0.28 cm~G期5.41 cm);江芋2号侧球茎的横径生长速度(A期0.49 cm~G期2.66 cm)稍慢于纵径,但呈持续上升的趋势,而江芋4号的横径在第3个时期(C期1.35 cm)之后的几乎停止膨大,与其纵径生长呈现出显著不同。

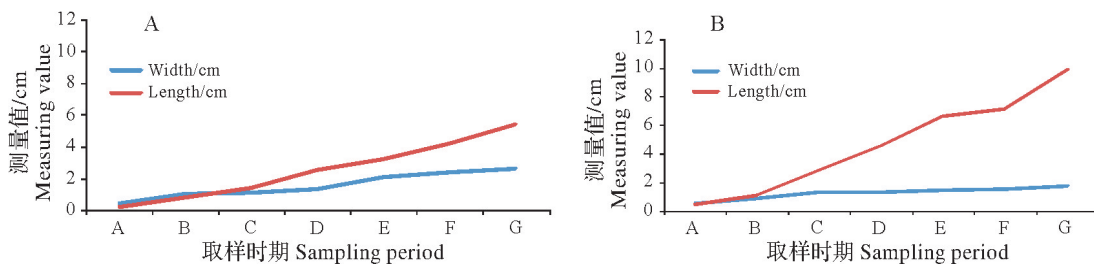


图2 江芋2号和江芋4号不同发育时期子芋横纵径比较

Fig.2 Comparison of width and length of first grade cormels between Jiangyu 2 and Jiangyu 4

从表2可以看出,突变株江芋4号地上部植株高大,与野生型江芋2号地上部鲜质量存在显著差异,是其3.21倍,但江芋4号子芋个数较少(平均每株约3~4个),孙芋未见形成,而亲本江芋2号子、孙芋总数超过20个,其子、孙芋总质量及地下部球茎总质量均显著高于江芋4号;此外,江芋4号全株鲜质量高于江芋2号,但差异不显著。

表 2 江芋 2 号与江芋 2 号产量相关性状比较

Tab.2 Comparison of yield-related traits between Jiangyu 2 and Jiangyu 4

名称 Name	地上部鲜质量/g Fresh weight of overground part	子芋个数 Number of first grade cormels	子芋质量/g Weight of first grade cormels	孙芋个数 Number of second grade cormels	孙芋质量/g Weight of second grade cormels	母芋质量/g Weight of corm	地下部鲜质量/g Fresh weight of underground part	全株鲜质量/g Fresh weight of plant
江芋 2 号 Jiangyu 2	523.67±123.23 ^b	7±1.53 ^a	398.33±114.74 ^a	13.67±1.86 ^a	336.67±79.10 ^a	358±75.45 ^a	1040.33±229.24 ^a	1564±348.89 ^a
江芋 4 号 Jiangyu 4	1680±390.45 ^a	3.33±0.33 ^a	68±8.39 ^b	—	—	355.67±112.58 ^a	424.67±117.12 ^a	2105±494.27 ^a

小写字母表示不同材料间存在显著性差异($P<0.05$)

Lowercase letters indicate significant differences between different materials($P<0.05$)

2.2 变异株侧球茎营养品质分析

侧球茎(子、孙芋)营养品质测定分析(表 3)表明,组培变异株江芋 4 号与亲本江芋 2 号除可溶性总糖含量差异不显著,其他营养成分均存在显著差异。江芋 2 号可溶性总糖和还原性糖含量均高于江芋 4 号;江芋 4 号淀粉、纤维素含量、可溶性蛋白含量及 Vc 含量含量均显著高于亲本江芋 2 号。

表 3 江芋 2 号和江芋 4 号子芋营养品质比较

Tab.3 Comparison of nutrient quality characters of taro between Jiangxi 2 and Jiangyu 4

名称 Name	可溶性蛋白含量/ (mg·g ⁻¹) Content of soluble protein	每 100g 维生素 C 含量/mg Content of Vc	淀粉含量/ (mg·g ⁻¹) Content of starch	可溶性总糖含量/ (mg·g ⁻¹) Content of soluble total sugar	还原糖含量/ (mg·g ⁻¹) Content of reducing sugar	纤维素含量/ (mg·g ⁻¹) Content of cellulose
江芋 2 号 Jiangyu 2	9.52±0.36 ^b	2.58±0.03 ^b	76.88±1.7 ^b	30.65±2.18 ^a	2.99±0.01 ^a	6.91±0.21 ^b
江芋 4 号 Jiangyu 4	11.68±0.17 ^a	3.17±0.01 ^a	192.04±0.6 ^a	24.46±1.6 ^a	2.88±0.01 ^b	8.42±0.14 ^a

小写字母表示不同材料间存在显著性差异($P<0.05$)

Lowercase letters indicate significant differences between different materials($P<0.05$)

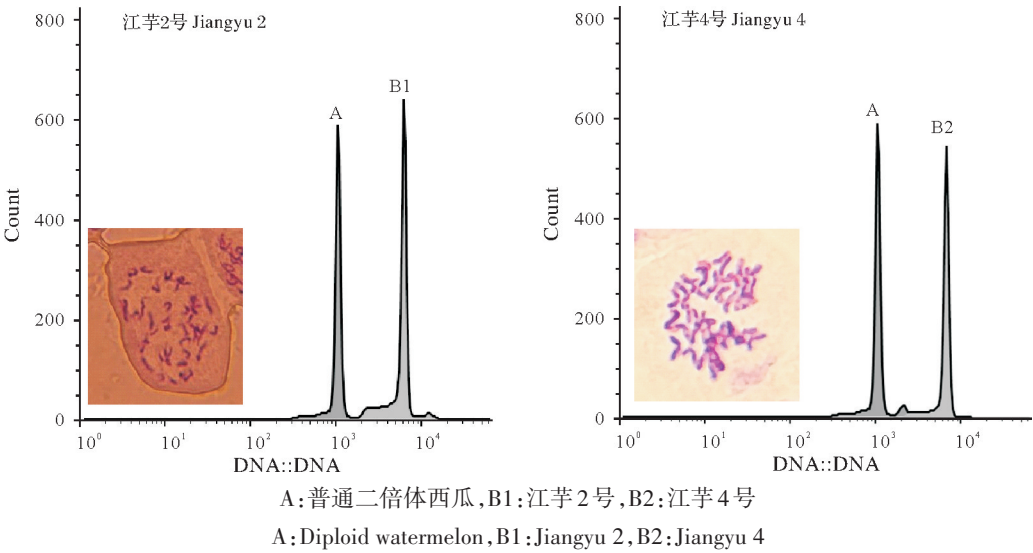


图 3 江芋 2 号野生型和江芋 4 号突变体染色体数目和倍性检测

Fig.3 Detection of chromosome number and ploidy of Jiangyu 2 and Jiangyu 4

2.3 变异株及亲本染色体数目及倍性检测分析

从图3可以看出,采用常规压片法可以获得江芋2号和江芋4号的分散良好、形态清晰的有丝分裂中期染色体,通过染色体计数,发现江芋2号和江芋4号染色体数目均为42条,变异株在染色体数目上与亲本江芋2号一致。此外,以普通二倍体西瓜为参照物(基因组大小约363 Mb),对两份材料进行流式细胞术(flow cytometry,FCM)分析,结果表明两份材料基因组大小和倍性也是一致的,均为 $2n=3x=42$ 。因此,江芋4号突变型与江芋2号野生型材料相比,染色体数目和倍性上未发生显著变化(图4)。

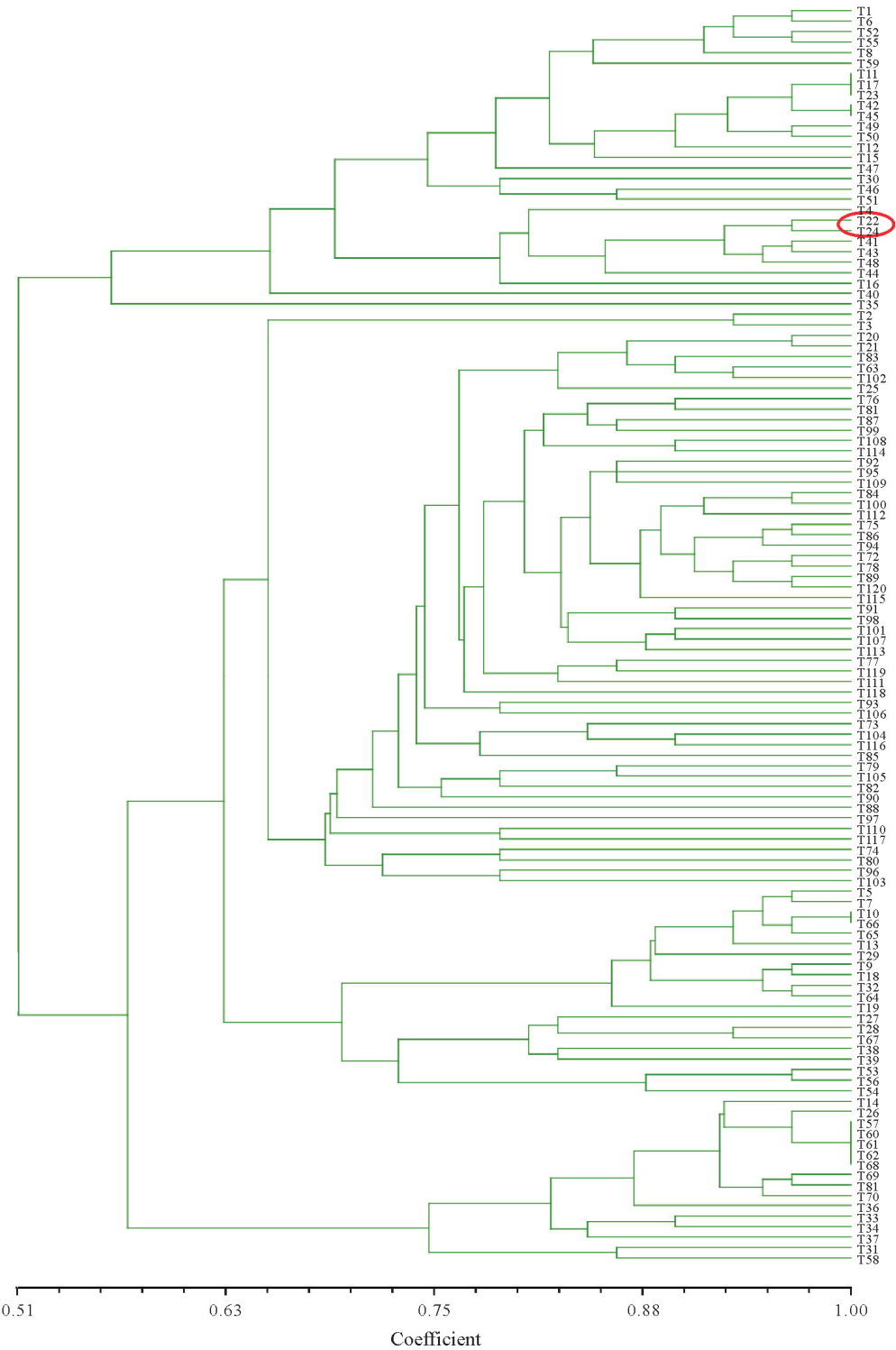


图4 120份芋资源的UPGMA聚类结果

Fig.4 UPGMA clustering diagram of 120 taro varieties

2.4 变异株及亲本遗传差异SSR标记分析

利用38对SSR引物对收集到的芋材料DNA进行PCR扩增和电泳,对江芋2号和江芋4号材料与前期收集到的其他118份芋材料开展了遗传多样性分析。结果共扩增出97条多态性条带,扩增片段介于100~800 bp,UPGMA聚类分析表明(图4),所有材料间的相似系数范围为0.51~1.00,亲本江芋2号(编号:T22)与变异株江芋4号(编号:T24)遗传距离最近,两材料间遗传相似系数高达0.97。

3 讨论与结论

植物体细胞变异具有发生率高、变异性状广、单基因突变多、变异后代稳定快、变异后代基本保持原品种特性等优点^[18]。通过植物组织培养产生变异,从中筛选出符合育种目标的优良变异单株,经离体快繁和种植培育,是获得无性繁殖作物新品种的重要方法^[16,19]。如董伟清等^[20]在贺州红芽芋茎尖组织培养过程中,从变异单株中筛选出高产、优质、适应性强的芋新品种桂子芋1号。Biswas等^[21]通过离体培养草莓叶片诱导植株再生,从再生的植株中获得了一系列遗传变异且园艺性状得到优化的新材料。邹雪等^[6]以西南地区的马铃薯主栽品种‘米拉’为材料,通过逆境胁迫从组培再生植株中筛选出了新材料‘M-13’。陈丽娟等^[22]以广州番禺地方荸荠品种为材料,通过组织培养产生体细胞无性系变异,在变异群体中筛选优良变异单株,采用组培技术培育而成的荸荠新品种桂蹄2号。欧昆鹏等^[23]在和平粉葛组培变异群体中筛选优良变异单株,继而进行离体快繁选育出葛新品种桂粉葛1号。本研究中,变异株江芋4号由江芋2号组培突变而来,其地下部侧球茎发生显著的变异,子芋芋形突变为长棒状,茎节间距明显变长,子芋几乎不膨大,然而突变株江芋4号地上部生长旺盛,叶柄和花柄生长量大,且可食用,可进一步开发为食用叶柄和花柄的专用型品种,因其地上部生长势和抗逆性均较强,加之生育期长,也可进一步开发成观赏用芋品种。

近年来,RFLP、SSR、SRAP等DNA分子标记技术被广泛用来检测植株体细胞无性系变异是否发生基因水平的各种变异。本研究利用SSR分子标记技术,对亲本(江芋2号)、变异株(江芋4号)及其他118份芋资源进行遗传聚类分析,发现变异株与亲本存在遗传差异,但其遗传相似系数达97%,这符合体细胞无性系变异的规律,即在组培过程中,离体培养的植株由于受到激素或培养条件的诱导发生了某些重要基因的突变、扩增或转座子的活化等^[24],有可能引起表型性状的显著差异。本研究中,亲本江芋2号侧球茎正常发育,子芋和孙芋数量较多,球茎近圆形,而江芋4号仅在母芋上发出少数几个棒状的子芋和孙芋。因此,笔者推测江芋4号突变材料可能存在某些主效基因位点突变,从而导致芋叶片和叶柄内碳水化合物向地下球茎中转运受到抑制,球茎不能膨大,从而促进地上部茎叶的生长和成花,具体变异机理需要通过细胞和分子生物学手段进一步探讨。前人研究^[25-27]表明作物变态根茎发育的相关性状多为寡基因或多基因控制的数量性状。Quero-García等^[28]利用两个F1群体对二倍体槟榔芋母芋产量和主球茎大小相关的QTL进行定位,探测到多个产量相关QTL,并发现球茎长、球茎宽QTL与部分产量QTL重合。然而,由于多子芋($2n=3x=42$)为三倍体无性繁殖作物,传统遗传学方法并不能有效应用于多子芋性状的遗传分析,有关多子芋球茎发育调控的研究鲜有报道,这也极大限制了多子芋的品种改良和新品种选育工作。多子芋以食用子孙芋等侧球茎为主,侧球茎膨大对多子芋产量和商品性形成影响重大。本研究中的侧球茎不膨大的体细胞变异材料,是研究多子芋侧球茎膨大发育的独特优异材料,该突变材料的鉴定为后续研究多子芋膨大调控机制提供依据。

参考文献:

- [1] 张硕,张明方,杨景华.体细胞无性系变异技术在园艺植物育种中的应用[J].北方园艺,2006(5):48-50.
Zhang S, Zhang M F, Yang J H. Application of somaclonal variation technique in horticultural plant breeding[J]. Northern Horticulture, 2006(5):48-50.
- [2] 冯建荣,赵怀宝,蒋迪军,等.3个草莓品种愈伤组织诱导苗过氧化物酶同工酶变异的分析[J].石河子大学学报(自然科学版),2000(2):113-116.
Feng J R, Zhao H B, Jiang D J, et al. Study on chromosome variations of strawberry generated by callus induction[J]. Journal

- of Shihezi University(Natural Science),2000(2):113-116.
- [3] 田韦韦,王彩霞,田敏,等.文心兰体细胞无性系变异的倍性检测和CE-AFLP分析[J].核农学报,2017,31(2):241-247.
Tian W W, Wang C X, Tian M, et al. Study on somaclonal variation of *Oncidium Milliongolds* based on ploidy detection and CE-AFLP analysis[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2017, 31(2): 241-247.
- [4] Evans D A, Sharp W R, Medina-filho H P. Somaclonal and game toclonal variation[J]. American Journal of Botany, 1984, 71: 759-774.
- [5] 尹明华,洪森荣,王艾平,等.江西铅山红芽芋再生苗遗传稳定性的RAPD分析和流式细胞术检测[J].浙江农业学报, 2015, 27(12): 2053-2060.
Yin M H, Hong S R, Wang A P, et al. Detection of genetic stability in the regenerated plantlets of Jiangxi Yanshan red bud taro (*Colocasia esculenta* L. Schott var. *cormosus* cv. Hongyayu) using RAPD analysis and flow cytometry[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2015, 27(12): 2053-2060.
- [6] 邹雪,肖乔露,文安东,等.通过体细胞无性系变异获得马铃薯优良新材料[J].园艺学报,2015,42(3):480-488.
Zou X, Xiao Q L, Wen A D, et al. An excellent new potato material obtained by somaclonal variation[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2015, 42(3): 480-488.
- [7] 聂琼,文晓鹏.火龙果组培苗体细胞无性系变异及其分子检测[J].果树学报,2017,34(12):1527-1536.
Nie Q, Wen X P. Somaclonal variation of pitaya (*Hylocereus undatus*) in vitro plants and identification by molecular markers [J]. Journal of Fruit Science, 2017, 34(12): 1527-1536.
- [8] Sharma H K, Njintang N Y, Singhal R S, et al. Tropical roots and tubers (production, processing and technology) [M]. New jersey: Wiley, 2016: 3-7.
- [9] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,1979:68-71.
Sinicae Agenda Academiae Sinicae Edita. Flora reipublicae popularis sinicae [M]. Beijing: Science Press, 1979, : 68-71.
- [10] 黄新芳,柯卫东.芋种质资源描述规范和数据标准[M].北京:中国农业出版社,2006:30.
Hang X F, Ke W D. Descriptors and data standard for taro [*Colocasia esculenta* (L.) Schott] [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 30.
- [11] 高俊凤.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2006:144-148.
Gao J F. Experimental guidance of plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 144-148.
- [12] 周庆红,曾勇军,范淑英,等.叶用黄麻染色体核型分析和多倍体诱导研究[J].江西农业大学学报,2013,35(3): 512-516.
Zhou Q H, Zeng Y J, Fan S Y, et al. Studies on chromosome karyotype and polyploid induction of vegetable jute [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2013, 35(3): 512-516.
- [13] 殷剑美,王立,蒋璐,等.芋 [*Colocasia esculenta* (L.) Schott] 的倍性水平及基因组特征解析[J].江苏农业学报,2019,35(6):1284-1291.
Yin J M, Wang L, Jiang L, et al. Analysis of ploidy level and genome characterization on taro [*Colocasia esculenta* (L.) Schott] [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2019, 35(6): 1284-1291.
- [14] Lu Z L, Li W S, Yang Y P, et al. Isolation and characterization of 19 new microsatellite loci in *Colocasia esculenta* (Araceae) [J]. American Journal of Botany, 2011, 98(9): 239-241.
- [15] Hu K, Huang X F, Ke W D, et al. Characterization of 11 new microsatellite loci in taro (*Colocasia esculenta*) [J]. Molecular Ecology Resources, 2009, 9(2): 582-584.
- [16] 杨运良,李建勋,丁宵,等.改良CTAB法提取红肉火龙果果实不同组织总DNA及质量检测[J].黑龙江农业科学, 2019(7): 36-38.
Yang Y L, Li J X, Ding X, et al. Extraction and quality detection of total DNA from different tissues of red dragon fruit by modified CTAB method [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2019(7): 36-38.
- [17] Rohlf F. NTSYS-PC 2.1. Numerical taxonomy and multivariate analysis system [J]. In Exeter Software Setauketed. NY; 1997.
- [18] Phillips R L, Kaeppler S M, Olhoft P, et al. Genetic instability of plant tissue cultures: breakdown of normal controls [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1994, 91(12): 5222-5226.

- [19] 李晓玲,丛娟,于晓明,等.植物体细胞无性系变异研究进展[J].植物学报,2008,25(1):121-128.
Li X L, Cong J, Yu X M, et al. Progress in plant somaclonal variation[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2008, 25(1): 121-128.
- [20] 董伟清,邱祖杨,何芳练,等.粉香型多子芋新品种桂子芋1号的选育[J].中国蔬菜,2019(9):83-86.
Dong W Q, Qiu Z Y, He F L, et al. A new variety of powdery and fragrant taro - 'Guiziyu No.1' [J]. China Vegetables, 2019 (9): 83-86.
- [21] Biswas M K, Dutt M, Roy U K, et al. Development and evaluation of in vitro somaclonal variation in strawberry for improved horticultural traits [J]. Scientia Horticulturace, 2009, 122: 409-416.
- [22] 陈丽娟,蔡炳华,江文,等.苏国秀.荸荠新品种桂蹄2号的选育[J].中国蔬菜,2011(14):96-98.
Chen L J, Cai B H, Jiang W, et al. A new water chestnut (*Eleocharis tuberosa*) variety - 'Guiti No.2' [J]. China Vegetables, 2011(14): 96-98.
- [23] 欧昆鹏,张尚文,苏宾,等.葛新品种桂粉葛1号的选育[J].中国蔬菜,2011(11):96-98.
Ou K P, Zhang S W, Su B, et al. A new kudzu cultivar : 'Guifenge No.1' [J]. China Vegetables, 2011(11): 96-98.
- [24] Chatterjee B, Das Gupta P. Induction of somaclonal variation by tissue culture and cytogenetic analysis in *Oryza sativa* L [J]. Biologia Plantarum, 1997, 40(1): 25-32.
- [25] 孙玉燕,李锡香.蔬菜变态根茎发育的分子机理研究进展[J].中国农业科学,2015,48(6):1162-1176.
Sun Y Y, Li X X. A Review on molecular mechanism of the modified roots or stems development in vegetables [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(6): 1162-1176.
- [26] Hannapel D J, Sharma P, Lin T, et al. The multiple signals that control tuber formation [J]. Plant Physiology, 174(2), 845.
- [27] The Multiple Signals That Control Tuber Formation [J]. Plant Physiol, 2017, 174(2): 845-856.
- [28] Abelenda, J A, Navarro C, Prat S. From the model to the crop: genes controlling tuber formation in potato [J]. Curr Opin Biotechnol, 2011, 22(2): 287-292.
- [29] Quero-garcía J, Courtois B, Ivancic A, et al. First genetic maps and QTL studies of yield traits of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) [J]. Euphytica, 2006, 151: 187-199.