

秋水仙素诱导牛蒡多倍体

匡全* 梁国鲁 郭启高 李晓林

西南农业大学农业综合开发研究室, 重庆 400716

提要 用种子处理法,以秋水仙素作为诱导剂,获得了牛蒡的同源四倍体 ($2n=4x=72$), 同时还得到了一些八倍体 ($2n=8x=144$) 和非整倍体植株。

关键词 秋水仙素; 牛蒡; 多倍体

Polyploid Induction of *Arctium lappa* by Colchicine

KUANG Quan*, LIANG Guo-Lu, GUO Qi-Gao, LI Xiao-Lin

Laboratory of Agricultural Comprehensive Development, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716

Abstract The homologous tetraploid ($2n=4x=72$) of *Arctium lappa* plants were obtained from seed treatment by colchicine, also got some octoploids ($2n=8x=144$) and aneuploid plants at the same time.

Key words colchicine; *Arctium lappa*; polyploid

牛蒡 ($2n=2x=36$) 为菊科牛蒡属多年生草本蔬菜, 日本和韩国广为食用, 有较高的药用价值^[1,2]。

一般认为, 多倍体育种能发挥多倍性的巨大效应, 不仅使植株基因活性及酶的差异性增强, 而且还可增强它的生态适应性和对逆境的抗耐性以及降低蒸腾作用, 提高光合效率等^[3]。多倍体植株往往具有粗壮、叶大、花大等特征^[3]。所以培育多倍体牛蒡有可能获得巨大的肉质直根, 增加牛蒡的营养价值和药效成分。牛蒡的多倍体育种尚未见报道。本文采用种子诱导法, 产生了一些多倍体, 为牛蒡的品种培育提供了实验材料。

材料与方法

材料是我们实验室从日本引进的优良大牛蒡 (*Arctium lappa*) 种子。

取发芽率 95% 以上的牛蒡种子, 先用水预浸 10 h 后, 分别用 0.05%、0.1%、0.2%、0.4% 的秋水仙素溶液, 于常温下放在摇床上震荡处理 1~4 d, 用水冲洗后催芽播种, 种子发芽后, 移栽于大田中。

作细胞学观察(去壁低渗-火焰干燥法制片^[4])时, 在上午 10:00~11:00 取成活后的牛蒡茎尖, 放在饱和的 $0.002 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 8-羟基喹啉水溶液中进行预处理 2.5 h 左右, 再用固定液(冰醋酸: 甲醇=1:3)固定 3 h; 弃去固定液, 再用蒸馏水冲洗 2 遍后, 转入 0.3% 纤维素酶和 0.3% 果胶酶的混合酶液酶解 3.5 h; 吸出酶液, 加入去离子水中浸泡 20 min, 再加入固定液固定 20 min 以上; 弃去固定液, 夹取材料在冰冻的玻璃片上敲散, 待干燥后, 用 5% 的 Giemsa 染色 10 min, 在显

微镜下镜检到分散较好的染色体, 拍照。

初步检测后, 把检测到的多倍体植株或多倍体细胞占多数的混倍体植株留下收集牛蒡种子, 其余淘汰。

实验结果

牛蒡种子经秋水仙素处理后, 幼苗胚轴增粗出现的频率较高, 处理浓度越高, 时间越长, 胚轴增粗率越明显。0.4% 处理 4 d 的胚轴呈球状增粗, 胚根生长点的细胞分裂受到严重抑制。以处理 3 d 为例, 随着处理浓度的增高, 出苗率由 93.3% 降低为 33.3%; 以 0.2% 的处理浓度为例, 随处理时间的延长, 出苗率由 86.6% 降低为 30%。从诱变效果看, 所用的 4 个浓度, 均对牛蒡诱导有效, 但以 0.1%、0.2%、0.4% 3 个浓度的诱变率较高。尤其以 0.1% 处理 4 d、0.2% 处理 3 d 和 0.4% 处理 2 d 的诱变率为高。0.2%、0.4% 等高浓度处理时间越长, 诱导率虽然有所提高, 但幼苗成活率呈明显的下降趋势, 0.4% 秋水仙素处理 4 d 的幼苗则很难成活(表 1)。秋水仙素浓度高和处理时间长的, 高倍体和非整倍体的细胞数增多, 植株呈畸形生长。

最后, 得到的植株中, 一部分为四倍体 ($2n=4x=72$) 植株(图 1), 大部分为二倍体、四倍体、八倍体的混倍体植株, 少数为非整倍体及八倍体植株。与二倍体 ($2n=2x=36$) (图 2) 比较, 多倍体植株在外部形态上表现为茎、叶柄粗壮, 叶片肥厚, 有

收稿 2003-04-11 修定 2003-09-16

* E-mail: qiang_guan@163.com, Tel: 023-68259599

表1 不同浓度的秋水仙素对牛蒡的诱导效果

Table 1 Effect of different concentrations of colchicines on induction in *Arctium lappa*

| 秋水仙素浓度/% | 处理时间/d | 处理种子数/粒 | 出苗数/株 | 出苗率/% | 诱导多倍数 ¹⁾ /株 | 诱导多倍体频率 ¹⁾ /% |
|----------|--------|---------|-------|-------|------------------------|--------------------------|
| 0.05 | 1 | 30 | 30 | 100 | 0 | 0 |
| | 2 | 30 | 30 | 100 | 0 | 0 |
| | 3 | 30 | 28 | 93.3 | 1 | 3.3 |
| | 4 | 30 | 28 | 93.3 | 3 | 10 |
| 0.1 | 1 | 30 | 30 | 100 | 1 | 3.3 |
| | 2 | 30 | 27 | 90 | 2 | 6.7 |
| | 3 | 30 | 24 | 80 | 9 | 30 |
| | 4 | 30 | 19 | 63.3 | 10 | 33.3 |
| 0.2 | 1 | 30 | 26 | 86.6 | 2 | 6.7 |
| | 2 | 30 | 23 | 76.6 | 6 | 20 |
| | 3 | 30 | 17 | 56.6 | 11 | 36.7 |
| | 4 | 30 | 9 | 30 | 8 | 26.7 |
| 0.4 | 1 | 30 | 23 | 76.6 | 4 | 13.3 |
| | 2 | 30 | 15 | 50 | 12 | 40 |
| | 3 | 30 | 10 | 33.3 | 9 | 30 |
| | 4 | 30 | 7 | 23.3 | 7 | 23.3 |

1) 凡检测的成活苗茎尖分裂细胞中含有一半多倍体细胞的植株就算是多倍体(包括各种混倍体)。

时皱缩扭曲。受害严重的植株, 多数死亡, 受害程度低的植株, 经过一段时间的恢复可逐渐转为正常。

讨 论

用秋水仙素处理种子诱导多倍体植株, 方法简单, 容易成功, 且用药量少。定时观察诱导的材料茎尖或根尖染色体数目是鉴定多倍体的快速而有效的方法。由于各种方法诱导处理后, 植株生长的情况受许多因素影响, 其它如观察外部形态有

无巨变、测定花粉粒大小, 以及测定气孔保卫细胞大小和叶绿粒数等多倍体鉴定方法只能作为参考指标。鉴定材料的茎尖或根尖染色体数目应长期进行, 否则, 由于任何方法诱导的多倍体都存在嵌合现象, 同一材料的所有细胞分裂时期明显不一致, 因而处理的材料能够加倍的细胞只是极小一部分, 去除秋水仙素后, 未加倍的二倍体细胞分裂比受秋水仙素抑制过的多倍体细胞分裂快得多, 在同一材料的生长过程中, 二倍体细胞最终会把多倍体细胞“淹没”, 恢复成二倍体。另外, 在检测过程中, 我们曾发现许多各占一定比例的四倍体细胞和二倍体细胞的混倍体植株, 经过一段时间后再检测时, 其中绝大多数变成了二倍体植株。如果加倍时间太长和处理浓度太大, 分裂旺盛的细胞会反复加倍, 形成倍数更高的多倍体。还有, 由于处理后的材料倍性是由材料中占细胞总数的绝大多数细胞的倍性决定的, 所以, 最终应根据当代花粉母细胞的减数分裂同源染色体配对情况, 或下代种子根尖染色体数决定多倍体的倍性^[4]。



图1 四倍体的染色体

Fig. 1 The chromosome numbers of tetraploid



图2 二倍体的染色体

Fig. 2 The chromosome numbers of diploid

参考文献

- 1 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编(上册). 北京: 人民卫生出版社, 1975. 204~207
- 2 林增富, 温庆放, 李大忠. 牛蒡生物学特性及栽培技术. 福建农业科技, 1995, (1): 38~39
- 3 王鸿鹤, 葛欣, 徐启江等. 秋水仙碱诱导重瓣大岩桐多倍体的研究. 热带亚热带植物学报, 1999, 7(3): 237~242
- 4 李懋学, 张赞平编著. 作物染色体及其研究技术. 北京: 中国农业出版社, 1996. 1~40