

# 矮牵牛多倍体诱导初探

张敦方 岳桦 王秀云 丁冰 董伟

(东北林业大学·哈尔滨)

矮牵牛 *Petunia hybrida* Vilm 茄科, 矮牵牛属, 为多年生草本, 常作一、二年生栽培。其生命力强, 易于栽培, 花色丰富, 花期长 (5 月至降霜), 是用于花坛、花镜、花堆的优良材料。目前国外普遍栽培的类型有二倍体  $2n=14$  及四倍体  $2n=28$  两种倍性。一般二倍体花为 10cm 以下, 而四倍体大花单瓣型花径达 10—15cm 以上, 且花期长, 花色丰富, 是观赏价值较高的盆栽花卉。最早矮牵牛多倍体是通过选择自然突变获得。50年代初, 日本、美国等国家先后人工诱导矮牵牛多倍体获得成功, 并培育出许多优美的多倍体类型新品种。我国目前还未见矮牵牛多倍体诱导的报导, 在生产上也多栽培单瓣的二倍体类型, 且退化现象普遍, 为此, 我们进行了人工诱导矮牵牛多倍体方法的初步研究, 以期获得优美的多倍体矮牵牛类型。

## 材料方法

一、供试材料: 以前一年试验地采收的种子为试材, 镜检染色体数为  $2n=14$ , 翌年春进行诱变试验。

二、试验方法: 处理方法为种子浸渍法, 处理用药液为秋水仙素水溶液, 其浓度 1989 年为 0.04%, 0.05%, 0.30%。1990 年为 0.01%, 0.03%, 0.05%, 0.1%, 均以蒸馏水为对照。将干种子用清水浸种 24h, 然后, 播于带滤纸的培养皿中, 药浸 24h。取

出, 水洗后, 再水浸 24h, 播于培养土中, 每组合处理种子数为 100, 处理温度为 20℃, 黑暗条件下, 播种后经干热消毒 (100℃ 4h), 播种后在温室内培养。以形态特征、气孔变化等方面初步鉴定植株倍性, 并进一步镜检形态, 有变化植株的染色体数。方法用嫩叶尖制片观察染色体数及花粉母细胞的减数分裂, 观察并测量花粉粒大小, 确定其确切倍性。

## 试验结果

一、诱变率: 表 1 结果表明, 秋水仙素溶液浓度越高, 其出苗率越低, 但诱变率相应提高 (其中 1990 年诱变率较 1989 年诱变低是由于栽培幼苗时死亡率高所致)。其中又

表 1 不同浓度秋水仙素浸渍矮牵牛种子对诱变的影响

项目 浓度	处理种子数	出苗		诱变率	
		株数	%	多倍体株数	%
1989 年	对照	100	60	0	0
	0.04%	100	51	10	21
	0.05%	100	49	26	27
	0.30%	100	20	6	29
	对照	100	71	0	0
1990 年	0.01%	100	46	2	4.3
	0.03%	100	40	3	7.5
	0.05%	100	32	4	12.5
	0.1%	100	23	3	10.7

以 0.05% 处理浓度获得多倍体植株数最多, 且诱变率又高。处理苗比对照苗出苗迟 3 天,

出齐苗差7天，出苗3周对照全部出真叶，而处理苗则0—42%出真叶，并较对照苗晚2—3周现蕾。

二、形态比较：0.04%和0.05%秋水仙处理的种子有20%下胚轴较粗，且近根尖局部膨大加粗，呈钝圆形乳突状。0.30%秋水仙处理的有80%根尖端似圆萝卜状，且根尖生长受阻，逐渐变黄褐色，霉烂，最终死亡。具多倍体形态的幼苗，其子叶较对照厚，多毛，叶片小，叶色较深，地表茎比二倍体多毛、粗壮。四叶期后的叶较二倍体宽，并体多扭曲呈凸凹不平状态，叶色较深，节间短。但也有一部分在子叶期表现为多倍体形态的植株，在真叶期后又多恢复二倍体形态。

三、细胞学观察：对形态呈多倍体状态的植株检查染色体数目发现多为混倍体，为 $2n=14, 28; 2n=28, 56; 2n=28$ ，三种情况。花粉粒的大小也表现为明显的混倍现象，对照花粉粒大小为 $21.25-23.75\mu m$ ，加倍植

株为 $22.25-41.25\mu m$ ，经方差分析二者花粉粒大小，其差异显著（见表2）。

对照与加倍苗花粉粒大小方差分析表 2

误差来源	自由度	离差平方和	均 方	F 值	F(0.05)
组间	1	761.25590	761.25590	65.58	4.10
组内	38	441.11330	11.60824		
合计	39	1202.36900			
结果	差异显著				

减数分裂观察，二倍体终变期为7对II价体，未见多价体。而四倍体的联会复杂，一个母细胞内常有IV价体、II价体、I价体或多价体。有时联会复杂，较难推断其准确价体数。减数分裂后期I和后期II中还常出现落后染色体，末期II曾发现多极分裂等异常现象。

四、叶片气孔观察：加倍植株叶片中的多倍细胞气孔显著大于二倍细胞气孔（见表3）。

表3结果表明，加倍植株的气孔长、宽

表 3 对照与多倍体苗叶片气孔差异比较

项 目	气孔长 ( $\mu m$ )		气孔宽 ( $\mu m$ )		保卫细胞叶绿体数 (个)			单位面积气孔数 (个)
	最大	最小	最大	最小	最多	最少	平均	
对照植株	42.50	30.00	30.00	22.50	10	7	8.6	6.8
加倍植株	87.56	27.50	62.50	22.50	32	6	10.15—23.10	1.9

与保卫细胞叶绿体数三个指标下限值均与对照下限值接近，这说明了加倍植株的不同倍性细胞嵌合的混倍现象，也表明其保卫细胞叶绿体数目随细胞倍性的提高而增加。

### 讨 论

1. 试验证明，用秋水仙素水溶液浸渍矮牵牛种子诱导多倍体较易获得成功，处理浓度以0.05%处理24h的诱变效果最好，其变异率和变异植株存活率均较高。浓度过高易使根系发育受到抑制，严重者根尖变褐、霉烂，最终死亡，因此，矮牵牛多倍体诱导时秋水仙素浓度不易高于0.3%以上。

2. 混倍现象是多倍体诱变中经常出现

的现象，这在金鱼草的多倍体诱变试验中也得到了证实，因诱变种子或幼苗顶端分生组织细胞都是多层细胞，被诱变加倍的可能性不同，也有多倍与未加倍细胞同时存在同一个体中生长发育，因而形成植株的混倍现象。对加倍部位必须再无性繁殖才可获得纯合多倍体植株。

3. 矮牵牛加倍植株外部形态膨大比较明显，其花粉粒、气孔大小比二倍体明显增大，其气孔保卫细胞中的叶绿体也明显比二倍体增多，这些都是初步鉴定矮牵牛多倍体的最可靠指标。

4. 矮牵牛减数分裂异常，花粉粒大小不等，末期II出现多极现象等，这些都导致了部分加倍植株产生不育后代。（参考文献略）