

多倍体育种在园艺作物中的应用

瞿素萍¹, 王继华¹, 张 颢², 陆 琳¹, 苏 艳²

(1. 云南省农业科学院园艺所, 昆明 650205; 2. 农业部花卉产品质量监督检验测试中心, 昆明 650205)

中图分类号: S603.6 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2003)06-0058-03

自 1937 年 Blakeslee 和 Avery 用秋水仙素诱导曼陀罗四倍体成功以来, 国内外许多科技工作者都开展了多倍体的诱导工作, 到目前为止, 已在玉米、小麦、棉花、甜菜、西瓜、苹果、梨、桃、葡萄、草莓、柑桔、百合、金鱼草等作物上诱导成功。

多倍体育种是以人工诱发作物, 使其染色体数目发生加倍后所产生的遗传效益为根据的育种技术。但是多倍体育种在近 30 年的应用过程中, 其不足的方面也表现了出来, 主要是不育性, 尤其同源多倍体植株基本上不育, 因此使多倍体育种在以生产种子为目的的粮食作物中的应用受到了极大的限制, 而园艺作物主要是以营养器官作为产品, 同时又多以无性繁殖的方法为主, 所以在园艺作物的育种上, 多倍体育种是很有前途和潜力的一项应用技术。

多倍体育种一方面由于其诱变手续较简单, 育出的品种经济价值高, 尤其在园艺作物上利用染色体加倍的剂量效应, 增大作物的花朵、果实等营养器官和增强抗逆性, 同时园艺作物多数为无性繁殖, 不存在需克服低育性的问题。应用前景更广。另一方面也可通过异源多倍体以克服远缘杂交的不育性等困难, 合成新品种或新物种。所以, 近年来, 国内外在园艺作物的育种工作中, 十分重视多倍体的诱导和选育。

1 多倍体育种的原理及优点

植物的每个体细胞核中都有两套染色体, 一套来自父本, 一套来自母本。所以植物体细胞中通常都携带有二倍体数目的基因组, 然而, 有的植物其体细胞携带有多于两套的染色体, 即三倍体(3X)、四倍体(4X)、六倍体(6X)甚至于十二倍体(12X), 我们把这些统称为多倍体。

多倍体育种就是利用人工的手段使作物的染色体发生加倍的现象, 多倍体植株由于染色体的加倍, 使植株的器官和细胞表现出“巨型性”的显著特征, 能增大作物营养器官, 如叶片、花朵和果实等, 同时多倍体类型对不利的自然环境类型有较高的适应能力, 即具有较强的抗逆性。

将加倍技术应用于园艺作物, 特别是靠无性繁殖的种类, 更具有价值与意义, 因为对于园艺作物而言, 多倍体一般具有比二倍体开花多、结果多, 茎秆粗壮, 叶片质地较厚, 提高产量, 花朵大而鲜艳, 花瓣较厚实, 耐贮藏, 果实增大, 抗逆性强等优点, 从而增加了作物的观赏价值和商业价值。



第一作者简介: 瞿素萍, 女, 助理研究员, 1995 年毕业于云南大学生物系, 主要从事花卉的病虫害检测、分子标记、标准制定和组培等工作, 承担云南省攻关项目“大花香石竹新品种选育”中的倍性分析、鉴定和多倍体育种部分, 曾发表学术论文多篇, 参与编写专著一部。

2 诱导多倍体材料的选择

无论采用什么样的育种方法, 其材料的选择都是非常关键的, 是诱导的基础, 能够影响到育种工作的成功与否, 实验证明, 一些植物种或品种易于诱导多倍体, 而另一些材料则不易诱导出多倍体。目前认为适合于诱导出多倍体的材料有以下四种类型。

2.1 综合性状好的二倍体材料及染色体数目少的材料有利于诱导同源多倍体

多倍体的遗传性是建立在原有低倍材料的基础上, 染色体组倍数的增加只能使其性状加强, 而不会产生原来没有的新性状。此外, 用倍性已较高的植物加倍, 性状往往得不到改进, 且由于细胞分裂时染色体的不均衡分配, 容易造成不育或结实率很低。

2.2 杂合程度高的二倍体

杂合程度高的二倍体因其遗传可塑性大, 遗传基础丰富, 诱导加倍后选育成功的可能性大。经验证明, 杂合的二倍体材料比纯合二倍体的品种(系)能产生较好的同源多倍体, 品种间杂种四倍体比纯种四倍体结实率高, 中选率也高; 异花授粉比自花授粉作物易诱导加倍成功。

2.3 远缘杂种宜于诱导异源多倍体

远缘杂交使两个物种的染色体组结合在一起, 当其染色体组加倍后, 即可形成异源多倍体, 这样既可以克服了远缘杂交的不育性, 提高了结实率, 又能选育出有利用价值的新物种、新作物或新品种。

2.4 以收获营养器官为目的的作物, 宜于诱导同源多倍体

同源多倍体结实率低, 种子不饱满, 但营养器官呈现“巨型”, 所以花卉类、瓜果类、叶菜类蔬菜、肉质根茎和无性繁殖作物等宜于作诱导同源多倍体的材料。

3 多倍体诱导的方法

3.1 物理因素

常用的物理方法有温度骤变、机械创伤、电离辐射、非电离辐射、离心力等。此外, 利用 X 射线、中子等辐照, 虽然也可以引起染色体组的加倍, 但由于射线会造成染色体的损伤、断裂和丢失等, 成功率极低。

由于物理诱变的方法比较简单易行, 在多倍体育种的初期, 主要采用物理方法进行诱导, 如 Randolph, L. F. (1932) 将授粉 20 h(小时)后的玉米幼胚, 突然放到 42℃~43℃的条件下 20 min~30 min(分钟), 正在分裂的细胞由于骤遇高温而停止分裂。当温度恢复正常时, 受处理的细胞中有些就变成多倍体细胞, 从而得到四倍体玉米。利用这种方法还诱导获得了四倍体黑麦和染色体加倍的硬粒小麦等。但随着多倍体育种方法的不断改进和发展, 因其诱导率低, 加上由于化学试剂的使用与替代, 现在已基本不再使用这种方法进行诱导。

3.2 化学药剂

收稿日期: 2003-06-05

常用的化学药剂为秋水仙素、萘嵌戊烷、吲哚乙酸(IAA)、氧化亚氮(N_2O)、苯及其衍生物、有机砷制剂、有机汞制剂及其它植物碱、生长素等二百多种,但目前使用最多、效果较好的为秋水仙素。

秋水仙素能在细胞分裂中期破坏纺锤丝的形成,使已经一分为二的染色体停留在赤道板上,不向细胞两极移动,细胞中间也不形成核膜使原来应为两个细胞的染色体停留在一个细胞核中,最后就形成了染色体加倍的细胞,并由这些细胞产生了多倍体植株。

秋水仙素一般为淡黄色粉末,纯品为针状结晶,性剧毒,使用时要注意防护,可根据使用目的的不同,选择配成水溶液、酒精溶液、甘油溶液或制成羊毛脂膏、琼脂、凡士林等制剂,处理方法一般采用溶液浸渍法、滴液法、注射法等。

3.2.1 溶液浸渍法 多用于处理种子、枝条、禾本科幼苗和盆栽的双子叶幼苗顶端生长点,以及球根花卉的鳞片等。将以上材料直接用秋水仙素溶液浸泡处理,处理浓度和时间依作物种类不同而适当变化,据报道浓度在0.01%~1.0%均有效,对于园艺作物来讲,果树及木本的观赏苗木多采用高浓度(如1.0%~1.5%),而蔬菜及草本观赏花卉多采用低浓度(如0.01%~0.2%),处理时间一般为30 min(分钟)~8 d(天)。

3.2.2 滴液法 对已长大的植株或木本植物的顶芽、腋芽等生长点处理多采用此法,如果树。处理时,在芽基部生长点附近切一小斜口,在斜口中央夹一片小滤纸,将药剂滴到滤纸上,并保持湿润,一般处理浓度为0.1%~0.4%。

3.2.3 注射法 禾本科小谷类作物宜用此法,即将秋水仙素水溶液注射到幼株分蘖的生长点上方。

3.3 试管无菌苗诱导

试管无菌苗诱导是近年来在组织培养技术上发展起来的一种新兴的方法,通过组织培养技术生产的作物适用于此法。我们大家都十分清楚,在组织培养及愈伤组织形成的过程中,有时植株本身也会发生变异及加倍现象,因此利用组培技术的这种特性,再添加上秋水仙素进行诱导处理,可大大提高多倍体的诱导率,具有较大的发展潜力,也是目前应用较广泛、效果较好的方法,通常采用直接浸泡、生长点处理、培养基内添加秋水仙素3种方法进行处理。

3.3.1 直接浸泡处理 将无菌苗的茎尖、茎段、叶片或鳞片等切下,直接用适当浓度的秋水仙素溶液浸泡处理,一般使用浓度为0.05%~0.2%。如上海园林科研所直接剥下百合试管苗中的鳞片用秋水仙素溶液浸泡处理后,加倍得到了“雨虹”(Rainbon hybrid)和“粉完美”(Pink perfection)两个品系。

3.3.2 生长点处理 用浸透秋水仙素溶液的棉球或滤纸条处理无菌苗的茎尖生长点,待长出新叶后,选取叶片肥厚、叶色浓绿的部分分化再生出小植株。一般处理浓度为0.05%~0.1%如黄济明(1983)将浸透0.05%的秋水仙素溶液的棉花球嵌入百合试管苗的中心部(即生长点)进行处理,可成功诱导出百合多倍体。

3.3.3 培养基内添加秋水仙素 在培养基内直接添加适当浓度的秋水仙素,将继代的无菌苗直接插入进行处理。如Kazunori Notsuka等(2000)在培养基内添加0.05%的秋水仙素,诱导得到了多倍体葡萄。

3.4 离体培养细胞

自1902年植物细胞全能性被证实后,至今,已有许多植物可由一个细胞培养成完整植株,随着组织培养技术和细胞培养技术的日益成熟与完善,很多资料与数据表明,通过离体

细胞分化培养的再生植株,具有较高频率的变异,而在培养前或培养过程中,对培养物有目的的进行诱导处理,则可进一步提高突变频率和拓宽变异范围,使变异效果更加明显。使用秋水仙素溶液浸泡处理愈伤组织、胚状体、细胞块或组织块等,可达到使细胞染色体加倍的目的,从而再生出一定数量的多倍体植株。

4 多倍体植株的鉴定

4.1 形态学鉴定

又称为间接鉴定法,即根据多倍体的育性、植株的形态特征或生理特性进行鉴定。加倍成功的异源多倍体,当代全部或部分花药即可正常散粉结实,育性得到恢复,由这些种子长出的植株基本上是多倍体,所以通过检查处理材料的育性可鉴别出异源多倍体。而同源多倍体在形态特征上多表现出“巨大性”,尤其是气孔、保卫细胞明显变大,花器和花粉粒及果实明显增大,陈发棣等(2002)对多倍体菊花脑的保卫细胞及叶绿粒数进行统计观察,发现其与对照相比,保卫细胞的长与宽均大大地大于对照植株,而叶绿粒的数量也远远超过对照植株,同时与后来的细胞学鉴定相吻合,是一种选择多倍体植株的间接有效方法。因此,对多倍体植株进行气孔、保卫细胞及花粉粒、叶绿粒等性状进行观察统计,是对多倍体进行初选的必需的途径与方法。

4.2 细胞学鉴定

又称为间接鉴定法和染色体组分析法,即直接检查花粉母细胞或生长点体细胞的染色体数目,凡染色体数比处理前数目增加一倍以上的即为多倍体,此方法精确可靠,但工作量大,一般用于经过形态学初步鉴定为多倍体的材料,或者是少数珍贵材料的鉴定。

5 应用展望

5.1 创造新的变异及新的品种

由于多倍体植株的染色体数目发生了改变,从而引起了遗传性状及植物性状的变异,在园艺作物中,主要以花色、花型、产量、叶色、叶型及株高等数量性状的变异为主,其中,有的可直接育成新品种,有的变异类型可作为育种的种质资源。

5.2 诱导多倍体

前面已经介绍过,多倍体植株具有营养器官增大、茎秆粗壮、叶厚、抗逆性强等优点,可通过多倍体的诱导,并通过无性繁殖将这些优点固定下来,从而形成新的无性优良品系。

5.3 克服远缘杂种的不育性

在远缘杂交的过程中,常常出现远缘杂种不育性的困难,可通过染色体加倍形成异源多倍体,而使其恢复育性,从而充分地利用这些杂种材料。

5.4 在园艺作物上的应用

5.4.1 果树 多倍体育种在果树上的应用主要是提高单果重及果穗重,同时改良果实的品质和加强品种的抗逆性,以提高产量,增加效益,并且可利用诱导成的四倍体品种与二倍体进行杂交,而使三倍体品种的籽粒减少或达到无籽,如三倍体的无籽西瓜。罗耀武等(1998)对葡萄的玫瑰香品种进行诱导,认为用0.2%的秋水仙素溶液对植株的生长点进行45 h(小时)的处理,效果最好,所获得的四倍体植株,不仅保持亲本原有的色、香、味,其生长势、丰产性均明显增强,果粒显著变大,果穗成熟期提早10 d(天)左右。Kazunori Notsuka和Takekazi Tsun等(2000)对29个二倍体的鲜食葡萄进行多倍体诱导,得出用0.05%的秋水仙素溶液对腋芽作离体培养处理1 d~2 d(天),可成功诱导出四倍体,且四倍体品种的浆果体

积比二倍体增加了 1.3 倍。

5.4.2 蔬菜 多倍体育种在蔬菜上的应用主要通过增加单叶重、叶片厚度以及叶片的数量等达到增产的目的,同时可提高内含物如糖分、叶绿素等的含量,从而改良品种的内在品质,与果树一样,也可利用四倍体生产三倍体杂种,充分利用杂种优势进行育种,如三倍体糖用甜菜产糖量绝大多数超过四倍体亲本,一般比二倍体亲本高 10%~20%,糖分品质好,抗褐斑病的能力也强。于继光等(1995)在诱导四倍体芦笋的研究中,发现四倍体芦笋比二倍体亲本的单重提高,更粗壮,一级笋率大大提高,同时散头率下降。杜先明等(1995)在试验中得出四倍体小白菜的产量比二倍体亲本明显提高,主要是叶片增厚变宽及数量有所增加所致。陈发棣(2002)在对菊花脑这种野生蔬菜的诱导研究中,结果表明,用浓度为 0.5 g/L(克/升)的秋水仙素处理 48 h(小时)可获得较好的效果,同时四倍体植株比对照的生长势旺,主茎增粗,叶片加厚、加宽,明显提高了产量和改善了品质。

5.4.3 花卉 多倍体育种在花卉上的应用主要是多倍体植株的花朵比较大,茎秆粗壮,耐倒伏,叶片增厚增宽,光合作用增强,从而提高花卉的产量与质量,如百合的两个多倍体品种——“雨虹”和“粉完美”就比二倍体亲本的花大而色艳。黄济明(1983)在百合的诱导试验中,得到的多倍体百合植株具有花大、粗壮、耐贮藏运输等优点。张方等(1990)在诱导金鱼草的研究中,结果表明,用浓度为 0.3%~0.5%的秋水仙素溶液处理种子 24 h(小时)的效果较好,同时四倍体的金鱼草的花轮加大 0.5~0.8 倍,花瓣增厚、重瓣效果增强,可大大提高其观赏性。

参考文献:

- [1] Demen H. Inducing polyploidy in peach varieties. J Hered. 1947; 38: 77~82.
- [2] Danow M G. Polyploidy in fruit breeding. Amer. Soc. hort. Sci. 1951, 10: 283~284.
- [3] 黄济明. 百合的组织培养和试管内诱发多倍体试验[J]. 园艺学报, 1983 10(2): 125~128.
- [4] 张树榛等. 植物育种学[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1988.
- [5] 张方、岳桦. 诱导金鱼草多倍体的初步研究[J]. 园艺学报, 1990, 17(1): 76~79.
- [6] 罗耀武、乔子靖、朱子英等. 秋水仙素诱导葡萄玫瑰香品种为四倍体的研究[J]. 中国果树, 1995(2): 5~7.
- [7] 于继庆、张元国、陈桂英等. 四倍体芦笋选育技术研究[J]. 山东农业科学, 1995(3): 43~45.
- [8] 杜先明、郑素秋. 小白菜多倍体诱变试验[J]. 湖南农学院学报, 1995, 21(1): 25~29.
- [9] 雷家军、吴禄萍、代汉萍等. 草莓茎尖染色体加倍研究[J]. 园艺学报, 1999 26(1): 13~18.
- [10] 龙雅宜、张金政、张兰年. 百台一球根花卉之王[M]. 北京: 金盾出版社, 1999.
- [11] Kazunori Notsuka, Takekazu Tsun. [J]. 园艺学会杂志, 2000, 69(5): 543~551.
- [12] 郑秀芳. 离体诱变技术在花卉育种中的应用[J]. 西南园艺, 2000, 28(2): 37~38.
- [13] 陈发棣、蒋甲福、房伟民. 秋水仙素诱导菊花脑多倍体的研究[J]. 上海农业学报, 2002, 18(1): 46~50.
- [14] 乔永刚、宋芸. 我国园艺植物多倍体育种研究进展[J]. 北方园艺, 2002(6): 7~8.

荠菜无公害优质高产栽培技术

王尚¹, 于醒²

荠菜别名野菜、香苦菜、地菜花、地秧菜、蒲蝇菜、菱角菜、烟盒草、田儿菜、护生草等。为十字花科属一年生草本植物。以幼嫩植株为食,其味鲜质嫩,清香爽口,营养价值较高,含有蛋白质、碳水化合物及各种矿质元素,此外,还具有一定的药用价值,全草可入药,具有止血、利尿、清热、明目等功效。近年来,随着人民生活水平的提高,一些珍稀野生蔬菜越来越受到人们的喜爱,而荠菜作为珍稀野生蔬菜中的一种,正日益引起人们的重视。2000 年以来,我们周口职业技术学院蔬菜课题小组与周口市川汇区农业高效园区的广大科技人员合作,从事荠菜无公害优质高产栽培技术的研究,进行早、晚秋栽培,产量分别达到 2 500 kg/667 m²~3 000 kg/667 m²(公斤/平方米),取得了较理想的栽培效果,具有较好的栽培推广价值。

1 品种选择

选用高产,优质抗病品种,结合本地实际,选用的栽培品种有:板叶荠菜和花叶荠菜。

2 播种育苗

早秋栽培 7 月下旬至 8 月上旬播种,晚秋栽培 10 月上旬播种。播前选好地,一般选用疏松肥沃的砂壤土进行栽培。要精细整地,耕翻碎土,整地时施入充分腐熟的有机肥 3 000

kg/667 m²~4 000 kg/667 m²(公斤/平方米)。为提高早出苗,可将预先挑好的优质种子与细砂拌和,在 2℃~10℃的条件下,经 7 d~10 d(天)低温处理,在预先整好的地上撒播,一般用种 1 kg/667 m²~2.5 kg/667 m²(公斤/平方米)。播后保持土壤湿润不板结,这样 4 d~5 d(天)可齐苗。

3 加强田间管理

在施足基肥的基础上,出苗后幼苗二叶期第一次追清粪水 500 kg/667 m²~750 kg/667 m²(公斤/平方米),采收前 7 d~10 d(天),第二次追尿素 10 kg/667 m²~15 kg/667 m²(公斤/平方米),以后每采收一次追与第一次同样数量的尿素。结合追肥,进行灌溉,浇水要小水勤浇,保持土壤湿润,不要大水漫灌。冬前要控制浇水。田间杂草要及时清除。为防蚜虫危害,可取草木灰 10 kg~15 kg(公斤)加水 50 kg(公斤),浸泡一昼夜,第二天取其上清液喷洒于蚜虫危害的植株上,既可治虫,又可供给营养,效果较好,或利用 800~1 000 倍液的尿洗合剂(由 1 份尿素、0.2 份洗衣粉、100 份水混合而成)具有同样效果。此外,取 20 g~30 g(克)大蒜捣碎成泥状,加 10 kg(公斤)清水后充分搅拌,取其滤液喷雾,效果也很好。

4 适时采收

当植株具有 10~13 片叶,茎叶健壮,无黄叶时,于上午 9~10 点采收整理待售。采收时,最好用铲刀辅助拔出,以免损伤其它植株。

(1. 河南周口职业技术学院, 周口 466001; 2. 河南省周口市川汇区农林局, 466000)