

秋水仙素诱导郁金香有性多倍化研究

赵雁,刘武林,郑思乡,肖亚琼

(云南农业大学园林园艺学院,昆明 650201)

摘要:通过采用不同浓度(0.005%、0.01%和0.02%)的秋水仙素对郁金香6个品种(纯金,法国之光,王朝,比万替特,利奥维茨,紫旗)的花器官进行处理,观察其形态及花粉粒大小的变化,以确定最佳的处理浓度。研究表明:郁金香对秋水仙素十分敏感,用0.01%的秋水仙素处理纯金,死亡率为100%。秋水仙素处理后花梗缩短变粗,其中法国之光的花梗长度明显缩短,为15.5 cm,缩短了41.3%。对法国之光、比万替特和利奥维茨三个品种而言,有效诱变浓度在0.01%~0.02%之间,其中用0.01%秋水仙素诱导比万替特,变异率高达83.3%。太高的浓度导致郁金香死亡而太低的浓度则不产生变异。

关键词:郁金香;秋水仙素;有性多倍化;花粉粒

中图分类号:S682.2⁺63 文献标识码:B 文章编号:1001-0009(2006)06-0135-02

多倍化是促进植物进化的重要力量^[1],在蕨类植物中多倍体种类占97%,在被子植物中占47%^[2]。2n配子的有性多倍化比无性多倍化具有更多的生物学优点,更高的发生频率,更高的杂合度,2n配子在传递杂合性(heterozygosity)和上位性(epistasis)中具有特殊的价值^[3]。其中以马铃薯研究最为深入,在马铃薯和紫苜蓿等作物上2n配子的研究和利用的实践已证明了利用2n配子育种的可行性和优越性。Johansson和Winton采用秋水仙素处理欧洲山杨、美洲山杨和美洲黑杨雄花序获得2n雄配子,然后授粉于雌株均获得了三倍体植株^[4];张志毅采用0.1%~0.5%的秋水仙碱处理发育至一定阶段的毛白杨(Populus tomentosa×P. bolleana)的杂种雄花序,诱导出不减数2n大花粉,进一步杂交,获得了三倍体杂种植株^[5];杨今后等报道了人工诱导产生桑树2n配子培育三倍体的研究^[6]。2n配子育种方法虽然在马铃薯、果树、牧草等其它作物上早已应用,但在花卉方面不论是国内还是国外都还很少有报道,只在百合远缘杂交后代中发现了2n雄配子^[7]。

郁金香(*Tulipa gesneriana* L.)又名洋荷花、郁香、草麝香,是百合科郁金香属(*Tulipa* L.)多年生鳞茎植物。鳞茎扁卵圆形,茎、叶光滑,被白粉。叶3~5枚,阔披针形,基生。花单生茎顶,大型,形状多样,花被片6,离生。有单瓣也有重瓣,花色繁多。有黄、白、红、紫、深紫等浓淡各异的变化。原产于土耳其、伊朗、阿富汗等地。目前栽培品种超过1万个^[8],我国主要依赖进口,居进口花卉的首位。目前国内大量的报道集中在郁金香的生长发育与种球复壮、采后生理与技术、促成栽培的研究,未见遗传育种的报道^[9],也从未见2n配子诱导、有性多倍化方面的研究。拟用不同浓度的秋水仙素处理郁金香的花器官,通过观察其形态及花粉粒变化,以确定最佳的处理浓度,旨在成功诱导郁金香2n配子,进一步培育出三倍体郁金香。培育出花型奇特,花色艳丽等特色的具有自主知识产权的新品种,为云南郁金香新品种资源的开发与利用开辟一条新的途径,为云南切花打下坚实的基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为5℃低温春化处理的郁金香球,由格桑花卉公司提供,共6个品种,均为二倍体,2n=2x=24。

表1 供试品种的详细资料

品种名称	花瓣颜色	品系
纯金	金黄色	Triumph
法国之光	红色花瓣带蜡质	Triumph
王朝	白色花瓣,带粉红色纹理	Triumph
比万替特	红色花瓣背面有纹理	Triumph
利奥维茨	粉红色花瓣带白边	Triumph
紫旗	紫色花瓣	Triumph

1.2 方法

1.2.1 5℃低温春化处理的郁金香球栽培方法 将除去包住根区的棕色皮膜的种球种植于低肥、疏松、排水良好的、偏酸的土壤中,种植时种球鼻部向上,种球底部离盆不少于5 cm。种植后将盆置于阴凉(12℃)、通风的环境下生根14 d,待根长出后移植到温室,室温14~20℃、湿度相对60%~70%。栽培时间为2005年10月23日,栽培于园林园艺学院温室。

1.2.2 有性多倍化的诱导方法 当健壮正常的郁金香生长至减数分裂前期,株高达25 cm左右,用0.005%、0.01%、0.02%三个不同浓度的秋水仙素注射花苞中下部的子房位置,半个小时后用蒸馏水冲洗,每天处理两次,上午8:00~10:00,下午2:00~3:00,连续处理3 d。

1.2.3 2n配子的鉴定 外部形态鉴定:肉眼观察其花、茎、叶、果等的变化,并量取其花梗长度与正常的相比较。花粉粒鉴定:取正常植株和变异植株的花粉粒,放于显微镜下进行观测,并用测微尺测量其长度和宽度,每株随机读取30粒,取平均值比较。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的秋水仙素对郁金香不同品种的诱变效果 由表2的对比可以看出,郁金香各个品种对秋水仙素浓度的敏感程度和诱变效果不同。在供试的6个品种中,纯金对秋水仙素极敏感用0.01%的浓度处理死亡率为100%,王

朝对秋水仙素也较敏感用 0. 02% 的浓度处理死亡率为 100%, 法国之光、利奥维茨、紫旗 3 个品种最不敏感, 用 0. 02% 的浓度处理死亡率为 0%。

从诱变频率来看, 同一浓度的秋水仙素对不同品种的郁金香诱导率不一样。用 0. 01% 的秋水仙素处理比万咎特诱变频率最高, 达 83. 3%。而用相同浓度处理法国之光、王朝、利奥维茨 3 个品种诱变频率分别为 40%、0% 和 67%。

另外, 不同浓度的秋水仙素对郁金香多倍体诱导频率不一样, 由表 1 可知 0. 02% 和 0. 01% 两个浓度是诱导郁金香产生多倍体的有效浓度范围, 0. 005% 为无效浓度。

表 2 不同浓度秋水仙素对郁金香的诱变率						
品种	秋水仙素 浓度%	处理 株数	死亡		变异	
			株数	频率%	株数	频率%
纯金	0. 01	6	6	100	—	—
	0. 005	12	0	0	0	0
法国之光	0. 02	6	0	0	2	33. 3
	0. 01	15	0	0	6	40. 0
王朝	0. 02	6	6	100	—	—
	0. 01	15	6	40	0	0
比万咎特	0. 01	6	0	0	5	83. 3
	0. 005	12	0	0	9	75
利奥维茨	0. 02	15	0	0	12	80
	0. 01	6	0	0	4	67
紫旗	0. 02	10	0	0	0	0
	0. 01	10	0	0	0	0
合计	0. 02	37	6	16. 2	14	37. 8
	0. 01	43	12	27. 9	15	34. 9
	0. 005	24	0	0	9	37. 5

* 变异的标准: 花粉粒显著增大, 直径增大 30% 的植株, 即可判断发生变异。

2.2 变异植株与正常植株花粉粒的比较

表 3 变异植株与正常植株花粉粒直径的比较 *					um
品种	正常花粉粒	变异花粉粒	差值	变异后花粉粒直径增加率%	
法国之光	13. 5	19. 8	6. 3	46. 7	
比万咎特	14	20. 4	6. 4	45. 7	
利奥维茨	12. 3	19. 7	7. 4	60. 2	

* 注: 在 16 * 10 倍条件下。

在显微镜下观察到, 变异植株与正常植株的花粉粒形状均为圆形(长径、短径相等), 变异植株花粉粒的直径比二倍体的大, 花粉粒大小不整齐, 花粉败育较多。从表 3 可看出, 变异后利奥维茨的花粉粒直径有明显的增加, 花粉粒直径为 19. 7 um, 增加了 60. 2%, 法国之光和比万咎特变异后花粉粒直径分别为 19. 8 um 和 20. 4 um, 分别增加了 46. 7%、45. 7%。

2.3 变异植株与正常植株花梗长度的比较

通过田间观察测量, 变异植株与正常植株的花梗长度明显不一样, 变异植株花梗缩短、变粗。从表 4 可看出, 变异后法国之光的花梗长度明显缩短, 为 15. 5 cm, 缩短了 41. 3%, 利奥维茨和比万咎特变异后花粉粒直径分别为 16. 1 cm 和 14. 9 cm, 分别缩短了 33. 7%、39. 9%。

表 4 变异植株与正常植株花梗平均长度的比较					cm
品种	正常花梗长度	变异花梗长度	差值	变异后花梗长度缩短率%	
法国之光	26. 4	15. 5	10. 9	41. 3	
比万咎特	24. 8	14. 9	9. 9	39. 9	
利奥维茨	24. 3	16. 1	8. 2	33. 7	

3 讨论

本研究对郁金香 2n 配子人工诱导在秋水仙素浓度和郁金香品种上作了初步探讨, 有待更进一步将 2n 配子和 n 配子进行杂交, 通过胚拯救以培育出花大色艳、具有很好商品性状的三倍体郁金香。

试验结果显示, 郁金香对秋水仙素很敏感, 所用的浓度都是相对较低的, 筛选的有效浓度为 0. 01% ~ 0. 02%。据报道秋水仙素诱导多倍体的常用浓度在 0. 05% ~ 0. 2%^[10]。国内外秋水仙素诱导郁金香多倍体未见报道, 而本次试验取得了成功。

一般地, 2n 花粉比 n 花粉大一倍或百分之几十^[11], 本研究也采用该方法作为判断 2n 配子诱导成功的标志。秋水仙素处理后利奥维茨的花粉粒直径有明显的增加, 增加了 60. 2%; 法国之光和比万咎特花粉粒直径分别增加了 46. 7%、45. 7%。由此可以判断利奥维茨、法国之光和比万咎特 3 个品种 2n 配子诱导成功。

纯金、王朝和紫旗 3 个品种尚未诱导成功, 应再摸索, 如浓度、渗透剂和高低温刺激等。

参考文献:

[1] Hong D Y (洪德元). Cytotaxonomy of Plants[M] . Beijing: Science Press, 1990. 150 242, 154.

[2] 孙静贤, 丁开宇, 王兵益. 植物多倍体研究的回顾与展望[J] . 武汉植物学研究, 2005, 23(5): 482—490.

[3] 钱春, 梁国鲁, 刘素君. 果树 2n 配子产生及应用研究进展[J] . 西南农业学报, 2005, 18(4): 492—495.

[4] 张全美, 张明方. 园艺植物多倍体诱导研究进展[J] . 细胞生物学杂志, 2003, 25(4): 223—228.

[5] 李云. 杨树三倍体选育研究进展[J] . 植物学通报, 2001, 18(4): 451—458

[6] 张志毅, 李凤兰. 白杨染色体加倍技术研究及三倍体育种花粉染色体加倍技术[J] . 北京林业大学学报, 1992, 14 (增刊 3): 52—58.

[7] 杨今后, 杨新花. 桑树雄配子人工二倍体培育优良三倍体的研究[J] . 桑业科学, 2001, 27(3): 177—180.

[8] Karlov G I, Khrustaleva L I, Lim K B, Van Tuyl J M. Homoeologous recombination in 2n— gamete producing interspecific hybrids of Lilium (Liliaceae) studied by genomic in situ hybridization (GISH) [J] . Genome, 1999, 42: 681—686.

[9] 许霖庆. 荷兰国花——郁金香[J] . 中国花卉盆景, 2002, (6): 20—21.

[10] 程金水. 园林植物遗传育种学[M] . 北京: 中国林业出版社, 2002.

[11] 郑永强, 徐坤. 秋水仙素在植物体细胞染色体加倍中的应用研究进展[J] . 中国农学通报, 2003, 19(5): 89—92.

[11] 吕文河, 王亮, 陈伊里, 等. 二倍体马铃薯主要农艺形状及 2n 花粉频率的表现[J] . 马铃薯杂志, 1999, 13(2): 67—70.