

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、郁金香、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替特诱变频率最高，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
比万替特	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
比万替特	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%，法国之光和比万替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%，利奥维茨和比万替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
比万替特	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%；法国之光和比万替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、法国之光和比万替特 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, Khurstaleva 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性状及 2n 花粉频率的表现[J]. 马铃薯杂志, 1999, 13(2): 67-70.