

# 秋水仙素不同处理方法和浓度诱导百合 2n 配子的研究

臧淑珍, 杨佳明, 赵兴华, 付 波, 张道旭, 屈连伟

(辽宁省农业科学院 花卉研究所, 辽宁 沈阳 110161)

**摘 要:**以亚洲百合杂种系中的瓦迪索为试材, 进行秋水仙素不同处理方法和处理浓度诱导百合 2n 配子的研究。结果表明: 用注射法处理瓦迪索诱导效果优于用脱脂棉包裹法; 注射法中秋水仙素浓度 0.1%, 用量为 0.1 mL 的处理效果最好, 花蕾异常膨大率、花蕾长宽比、花径、柱头长度与对照差异均达极显著水平, 大花粉比率最高为 0.032。

**关键词:**百合;秋水仙素; 2n 配子

**中图分类号:**S 682.2<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2010)11—0098—03

中国加入 WTO 后, 中国的花卉市场逐渐与世界接轨, 呈现巨大的市场潜力和经济魅力。培育和开发新型的百合切花品种成为当前亟待解决的问题。多倍体因其器官的巨型性, 植株的抗逆性以及能够克服远缘杂交障碍等特性受到国内外育种专家的青睐, 尤其适合以观赏为主要商品价值的切花百合的品质改良和培育。多倍体不仅能使花器官增大, 花色加深 还能延长花期, 这对增加切花百合的观赏价值和经济价值十分有利<sup>[1]</sup>。

一般而言, 染色体加倍能够在自发的情况下或用抗有丝分裂试剂处理后诱导发生。然而, 自发染色体加倍的频率低, 在育种中较难利用。运用秋水仙素处理诱变植物组织结合离体组织培养技术是农作物多倍体选育的一条重要育种途径, 受到高度重视<sup>[2-4]</sup>。到目前为止, 研究者已在苹果、梨、桃、葡萄、栗、草莓、大蒜、百合、黄瓜等农作物上诱变成功<sup>[4-9]</sup>。

一般使用秋水仙素处理的方法来获得多倍体, 在秋水仙素的诱变处理中, 通常使用浸渍法、注射法、点滴法、包埋法、加入培养基等方法, 但是在实际应用中应根据不同的材料类型以及不同的处理部位而定, 因为诱导方法不同, 诱变效果往往也不一样。

该试验以亚洲百合杂种系为材料使用秋水仙素诱导百合多倍体, 以期找出适合 2n 配子的诱导方法, 为百合切花品种的品质改良和种质创新提供可利用的有价值材料, 从而培育出更具市场开发潜力的百合新品种。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以 0.5~2.4 cm 大小的瓦迪索(Valdisole)的花蕾为试验材料。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 微量注射法** 秋水仙素浓度为 0.01%、0.05%、0.1% 分别注射 0.1、0.5 mL。用 1 mL 的微量注射器于每天上午 9:00 之前注入幼嫩花蕾顶端, 各 10 个花蕾, 另 6 个花蕾每天注射清水为对照, 3 次重复。

表 1 注射法秋水仙素的使用

浓度 处理 用量	0.01%	0.05%	0.1%
0.05 mL	1	3	5
0.1 mL	2	4	6

**1.2.2 脱脂棉包裹法** 用浸透 0.01%、0.05%、0.1% 秋水仙素溶液的脱脂棉包裹花蕾各 10 个。花蕾基部套塑料袋防止水分蒸发, 24、48 h 后用清水冲洗干净, 对照 6 个花蕾用清水包裹同样处理, 3 次重复。

表 2 脱脂棉包裹法秋水仙素的使用

处理浓度	处理时间 处 理	24 h	48 h
0.01%		7	10
0.05%		8	11
0.1%		9	12

**1.2.3 调查项目** 在蕾期调查花蕾数、花蕾异常膨大数、花蕾长、花蕾宽, 计算花蕾长宽比, 花期调查花径、花药长度、柱头长度, 在显微镜下观察花粉粒的大小, 共计 6 个视野, 每个视野平均 30 个花粉粒。采用 DPS 软件处理数据。

## 2 结果与分析

### 2.1 秋水仙素对百合花蕾膨大的影响

从表 3 可知, 处理 1 和处理 2 未能引起百合花蕾异

第一作者简介: 臧淑珍(1955-), 女, 本科, 高级农艺师, 现从事百合育种及其高效栽培技术研究工作。E-mail: syguochun@126.com。  
收稿日期: 2010-03-15

常膨大, 随着处理浓度与处理量的增加, 百合花蕾异常膨大率也随之增加, 从 33% 提升至 100%。有落蕾现象发生。百合花蕾长度除处理 5 与其它处理有显著差异外, 其它无明显变化。花蕾宽则随处理浓度的提高和处理量的加大而逐渐变宽, 与对照差异极显著。花蕾长宽比也与花蕾宽的变化趋势相反。

表 3 注射法对百合花蕾异常膨大的影响							
处理	剩余蕾数/ 个	落蕾数/ 个	异常膨大蕾数/ 个	异常膨大率/ %	花蕾长/ cm	花蕾宽/ cm	花蕾长宽比
1	10	0	0	0	4. 76abA	1. 90bcAB	2. 45aA
2	10	0	0	0	5. 18aA	1. 94abcAB	2. 60aAB
3	9	1	3	33	4. 18abA	1. 86bcAB	2. 23abAB
4	9	1	5	56	3. 83abA	2. 38aA	1. 65bcB
5	9	1	8	89	3. 63bA	2. 12abAB	1. 72bcB
6	10	0	10	100	3. 91abA	2. 34aA	1. 60bB
CK	6	0	0	0	3. 93abA	1. 66cB	2. 34aAB

表 4 脱脂棉包裹法对百合花蕾异常膨大的影响							
处理	剩余蕾数/ 个	落蕾数/ 个	异常膨大蕾数/ 个	异常膨大率/ %	花蕾长/ cm	花蕾宽/ cm	花蕾长宽比
7	10	0	0	0	5. 31abA	2. 07aA	2. 55abA
8	10	0	0	0	3. 81bA	1. 66aA	2. 26bA
9	10	0	0	0	5. 11abA	1. 99aA	2. 52abA
10	10	0	0	0	5. 68aA	2. 04aA	2. 73aA
11	10	0	0	0	5. 99aA	2. 09aA	2. 82aA
12	10	0	0	0	4. 00abA	1. 61aA	2. 41abA
CK	6	0	0	0	3. 97abA	1. 62aA	2. 43abA



图1 注射法处理 6 的百合花蕾

## 2.2 秋水仙素对百合花器官发育的影响

表 5 表明, 随着处理浓度的提高与用量的加大, 处理后的花径逐渐降低, 其中处理 6 花径为 11. 44 cm, 低于对照的 15. 58 cm, 二者间差异达到极显著水平。花药长度各处理间无显著差异。柱头长度指标中, 处理间差异达到了极显著水平, 处理 6 的柱头长度最短为 1. 39 cm。由表 6 可以看出, 包裹法对百合花径、花药长度、柱头长度无明显影响。

表 5 注射法对百合花器官发育的影响			
处理	花径/ cm	花药长度/ cm	柱头长度/ cm
1	15. 52aA	1. 46aA	4. 41aA
2	15. 24aA	1. 45aA	3. 21bBC
3	14. 33abAB	1. 48aA	3. 40bB
4	12. 53bcAB	1. 39aA	1. 99cCD
5	12. 97bcAB	1. 36aA	1. 54cD
6	11. 44cB	1. 39aA	1. 39cD
CK	15. 58aA	1. 42aA	5. 28aA

由表 4 可知, 用脱脂棉包裹百合花蕾对其异常膨大无明显影响, 也未引起花蕾脱落。处理 8 的花蕾长与处理 10、11 之间差异显著。花蕾宽各处理间无显著差异。花蕾长宽比中, 处理 8 与处理 10、11 之间差异显著。其它处理之间无显著差异。

## 2.3 秋水仙素处理对大花粉粒产生的影响

表 7 中注射法处理 1、2、3 未发现异常大花粉粒, 随着处理浓度的加大, 大花粉粒产生的比例增高, 处理 6 的大花粉粒比例最高为 0. 032, 大于处理 5 和处理 4。而用秋水仙素脱脂棉包裹法处理 7、8、9、10、11、12, 未见异常大花粉粒产生。

表 6 脱脂棉包裹法对百合花器官发育的影响			
处理	花径/ cm	花药长度/ cm	柱头长度/ cm
7	15. 73aA	1. 40aA	5. 52aA
8	15. 33aA	1. 36aA	5. 37aA
9	15. 58aA	1. 53aA	5. 37aA
10	15. 45aA	1. 38aA	5. 48aA
11	15. 46aA	1. 46aA	5. 37aA
12	14. 85aA	1. 39aA	5. 39aA
CK	15. 33aA	1. 23aA	5. 53aA

表 7 秋水仙素处理后产生大花粉的比率	
处理	比例
1	0
2	0
3	0
4	0. 015
5	0. 020
6	0. 032
7	0
8	0
9	0
10	0
11	0
12	0
CK	0



图3 注射秋水仙素后处理6的百合花



图4 正常开花的百合

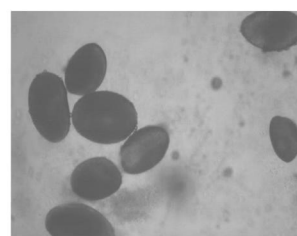


图5 显微镜下观察到的大花粉粒

### 3 结论与讨论

在该试验中,采用亚洲百合瓦迪索为试材,花蕾有少量脱落。而前期试验曾用同样方法和浓度处理索邦等东方百合则花蕾全部脱落。可能是由于不同的百合品种对秋水仙素处理浓度的敏感性不同。

用注射法处理百合花蕾,随着处理浓度与处理量的增加,百合花蕾异常膨大率也随之增加,从33%提升至100%。花蕾宽则随处理浓度的提高和处理量的加大而逐渐变宽,与对照差异极显著。花蕾长/宽比也与花蕾宽的变化趋势相反。处理6秋水仙素浓度0.1%,用量为0.1 mL对花蕾异常膨大影响最大。用脱脂棉包裹百合花蕾对其异常膨大无明显影响。在花期处理后的花径逐渐降低,其中处理6花径宽度为11.44 cm 低于对照的15.58 cm,二者间差异达到极显著水平。处理间柱头长度差异达到了极显著水平,处理6的柱头长度最短。而脱脂棉包裹法对百合花径、花药长度、柱头长度无明显影响。

注射法与脱脂棉包裹法处理百合花蕾各有优缺点。注射法的优点在于可以直接定量将药液注入花蕾内部,使花粉粒染色体发生加倍,缺点是如果技术人员操作不熟练,则注射器针头容易碰伤柱头,导致花蕾脱落。脱脂棉包裹法的优点在于对花蕾无机械损失,缺点是药液容易挥发,使渗透的量减少,达不到诱变的效果。在该试验中,是在夏季使用脱脂棉包裹法,虽然外部使用了塑料膜进行包裹,在高温下秋水仙素也容易蒸发,使处理的效果减弱。

在显微镜下观察产生的大花粉粒产生的情况,发现注射法中秋水仙素浓度0.1%,用量为0.1 mL的处理大花粉粒比率最高为0.032。该试验中,在处理得到粒大且颜色较深的花粉粒后,由于其还处于未成熟状态,因此,根据以往研究者的经验<sup>[7,8]</sup>,2n配子主要是通过形态学观察和显微测量花粉粒的大小来间接判别的,花粉粒巨大者作为2n配子诱导成功的间接判别指标。因此推定,在百合上颜色较深,体积是正常花粉2~4倍的大粒花粉即为未减数的2n花粉。从其外部形态大小和颜色上进行了初步的鉴定,而未对大粒花粉授粉后的染色体数目进行进一步鉴定。

### 参考文献

- [1] 龙雅宜,张金政,张兰年.百合—球根花卉之王[M].北京:金盾出版社,2004.
- [2] 周朴华,何立珍,刘选明.组织培养中用秋水仙素诱发黄花菜同源四倍体的研究[J].中国农业科学,1995,28(1):49-55.
- [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):125-127.
- [4] 刘选明,周朴华,何立珍等.应用细胞工程技术选育四倍体龙牙百合的研究[J].生物工程学报,1996,12(增刊):193-303.
- [5] 雷家军,吴禄平,代汉平.草莓茎尖染色体加倍研究[J].园艺学报,1999,26:13-18.
- [6] 韩科毅,杜胜利,王鸣等.黄瓜染色体加倍研究[J].天津农业科学,2002,8(2):1-3.
- [7] 康向阳,朱之梯,林惠斌.杨树花粉染色体加倍有效处理时期的研究[J].林业科学,1999,35(4):21-24.
- [8] 康向阳,朱之梯,林惠斌.白杨不同倍性花粉辐射敏感性及其应用[J].遗传学报,2000,27(1):78-82.

## Colchicine Induced by Different Processing

### Methods and the Concentration of 2n Gametes of *Lilium*

ZANG Shu-zhen, YANG Jia-ming, ZHAO Xing-hua, FU Bo, ZHANG Dao-xu, QU Lian-wei

(Institute of Floriculture, Liaoning Academy of Agriculture Sciences, Shenyang, Liaoning 110161)

**Abstract:** Taking asiatic hybrids of Valdisole was used as experimental material, different concentration of colchicine was treated to induce 2n gametes. The results showed that the injection-induced treatment of Valdisole was better than wrapped with cotton wool method. Mid-Autumn Narcissus hormone injection with concentration of 0.1% and 0.1 mL of the treatment effect was the best. Bud abnormal swelling rate, aspect ratio bud, flower diameter, stigma length had a very significant difference between to the control level, the highest pollen rate was 0.032.

**Key words:** *Lilium*; colchicines; 2n gametes