

秋水仙素诱导大蒜根尖多倍体的研究

武 延 生

(邢台学院 生物化学系,河北 邢台 054001)

摘 要:以秋水仙素 0、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 g/L 6 个浓度梯度,分别处理大蒜根尖 12、24、36、48 和 60 h,研究不同浓度的秋水仙素及不同处理时间对诱导大蒜根尖产生多倍体的效果。结果表明:在 0.5 g/L 处理浓度下,从 24~48 h,大蒜根尖的膨大率均在 82% 以上,综合效果较好。

关键词:秋水仙素;大蒜根尖;多倍体

中图分类号:S 633.403.6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)23-0036-03

大蒜(*Allium sativum*)属百合科葱属草本植物,一般为二倍体($2n=2x=16$),无性繁殖。最早在希腊和古埃及等地中海沿岸国家种植,公元前 113 年,张骞从西域将其引入到陕西关中地区,之后遍及全国^[1]。大蒜曾用于预防瘟疫和治疗一些疾病,逐渐演变为蔬菜食用。

自然界的植物多数为二倍体及多倍体植物(细胞内含有 3 套或以上染色体组的个体),由于染色体的加倍,个体外形往往具有巨大性。此外还表现出部分器官增大、低育或不育、次生代谢成分增加和抗逆性提高等特性^[2]。基于多倍体的以上特点,蔬菜多倍体育种成为培育优质高产蔬菜品种的重要途径之一。

秋水仙素(Colchicine)易溶于冷水、不易溶于热水、有毒、针状结晶或淡黄色粉末,是诱导多倍体的一种常用试剂,其是从百合科植物秋水仙的鳞茎和种子中提取出来的一种生物碱,分子式 $C_{22}H_{25}O_6N$ ^[3-4]。它的作用机理是与微管蛋白单体结合,抑制微管的形成,进一步抑制纺锤体的形成,使染色单体分离受阻,形成同源多倍体^[4]。因此,秋水仙素作用于正在分裂的细胞,如生长点才能产生作用,诱导多倍体的形成。秋水仙素诱导多倍体在蔬菜和观赏植物的应用非常广泛,但是在大蒜方面的报道却很少。为此,该试验选用大蒜根尖作为处理对象,设计不同秋水仙素的浓度梯度,探索其诱导大蒜多倍体的适宜浓度和时间。

1 材料与方法

1.1 试验材料

将紫皮蒜(邢台当地品种)的外层鳞片去除,在自来

水中培养 2~3 d,待根长至 0.5 cm 左右备用。25℃ 恒定温度的霉菌培养箱(MJX-250)由广东省医疗器械厂提供,用于大蒜根尖诱导培养。

1.2 试验方法

将根长至 0.5 cm 左右的紫皮蒜水平(芽尖和根位于同一水平位置)放入盛有 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 g/L (以蒸馏水配制)浓度秋水仙素的培养皿中培养,溶液的量以半淹没蒜瓣为宜。以不加秋水仙素的蒸馏水为对照组。为防止溶液的蒸发,在培养皿表面着盖上一层保鲜膜,并在膜上扎若干小孔,保证气体通畅。秋水仙素不宜见光,因此在培养过程中,在培养皿表面盖上报纸,进行遮光培养。分别处理 12、24、36、48、60 h,进行观察统计。

1.3 项目测定

1.3.1 形态观察、统计 分别在 12、24、36、48、60 h 后观察并拍照记录(型号是 DSC-H1 的 SONY 数码相机)根尖的生长情况,包括根尖的长度变化、膨大率(膨大的根尖数目/根的总数目)。

1.3.2 显微镜观察 将大蒜从培养皿中取出,放入蒸馏水中漂洗 2~3 次,将根尖膨大部分剪下,放入卡诺固定液(无水乙醇:冰醋酸=3:1,现配现用)中固定 24 h。对照组将对应位置的根尖剪下做同样处理。材料固定好后转入解离液(95%的乙醇:浓盐酸=3:1,现配现用)中解离 15~20 min。解离后在蒸馏水中漂洗 2~3 次,用石炭酸品红(先配母液 A 和 B。母液 A:称取 0.15 g 碱性品红,溶解于 5 mL 的 70% 酒精中。母液 B:取母液 A 5 mL,加入 45 mL 的 5% 石炭酸水溶液。石炭酸品红染色液:取 45 mL 母液 B,加入 6 mL 冰醋酸和 6 mL 37% 的甲醛)染色 3~4 min,用水洗 2~3 次,按常规方法压片并镜检。

2 结果与分析

2.1 不同浓度秋水仙素处理对根尖膨大率的影响

从植物解剖学上来看,大蒜根从顶端依次划分为根

作者简介:武延生(1977-),男,河北临西人,硕士,讲师,现主要从事作物育种及信号转导研究工作。

基金项目:邢台市科技计划资助项目(2011ZC017);河北省战略改革研究会 2011 年度重点研究课题资助项目(2011037)。

收稿日期:2012-07-20

冠、分生区、伸长区和成熟区 4 个部分。根尖不是植物解剖学术语,大概相当于分生区部分。对照组的根尖在自来水中培养,新根形态正常,粗细均匀。经秋水仙素处理的根尖与对照组的根尖相比,根尖明显膨大。这可能是由于遗传物质增多,导致细胞体积相应增大造成的。不同浓度的秋水仙素对诱导大蒜根尖多倍体有明显影响,从 0.1~1.0 g/L 浓度的秋水仙素均能诱导大蒜根尖膨大(图 1~5)。对根的膨大情况进行了目测观察,凡是根尖粗细均匀则视为没有膨大,如果有局部明显增粗,则视为膨大。对不同秋水仙素浓度和不同处理时间条件下的根尖膨大情况统计表明,在 12~48 h 内,膨大率逐渐上升,在 48 h 达到最大,60 h 时开始下降(表 1、2)。

表 1 大蒜根尖在秋水仙素不同浓度和不同处理时间时的膨大率

秋水仙素浓度/g·L ⁻¹	处理时间/h				
	12	24	36	48	60
0.1	10.2	74.2	76.1	89.5	76.7
0.2	45.6	76.8	83.6	92.2	78.8
0.5	50.4	82.1	86.9	94.7	89.8
1.0	53.8	75.2	78.1	78.7	72.7

2.2 不同浓度秋水仙素对大蒜根尖生长速度的抑制作用

在相同处理时间条件下,不同浓度的秋水仙素对大蒜根尖的生长速度有明显影响。将 0.5 cm 左右的根尖在培养相同时间后,秋水仙素处理后的根尖比对照组明显短,并且随着秋水仙素浓度的升高,根尖的生长速度越来越慢(图 1~5)。推测这可能是由于随着秋水仙素浓度的升高和处理时间的延长,秋水仙素对细胞分裂的抑制作用愈加明显,这与赵东利等^[3]的研究结果秋水仙素在一定浓度和一定时间范围内可促进大蒜根尖细胞有丝分裂,而超过一定浓度或处理时间过长将会抑制有丝分裂是相一致的。2.0 g/L 浓度的秋水仙素致大蒜根尖死亡(图 5),这可能是由于在高浓度秋水仙素条件下,细胞只进行遗传物质的复制而不能进行细胞分裂造成的。

2.3 不同浓度秋水仙素对大蒜根尖的膨大作用

对比同一秋水仙素浓度条件下不同处理时间的大蒜根尖,发现在同一秋水仙素浓度条件下,处理 24 h 时,根尖直径膨大到最大程度,随着处理时间的延长,膨大部位伸长,但膨大程度没有显著增大(图 1~5)。对比秋水仙素不同浓度条件下的膨大情况,目测观察,处理 60 h,经 0.5 g/L 秋水仙素处理的大蒜根尖膨大程度最大(图 5)。

分生区的细胞进行有丝分裂,分裂后的一个子细胞保持分裂能力,继续留在分生区,另一个转化为伸长区细胞,不再分裂,但逐渐伸长加粗。根据上述现象推测,分生区的细胞对秋水仙素的敏感性是不同的,在对秋水仙素敏感的细胞中,遗传物质加倍,但未出现细胞分裂,

这部分细胞的体积显著增大,表现为根尖膨大;遗传物质加倍细胞的体积膨大(主要是横径的增大)是有限的,而且由于遗传物质不能分离,细胞质也不分裂,造成细胞数目减少,这样造成了根尖不能无限膨大。

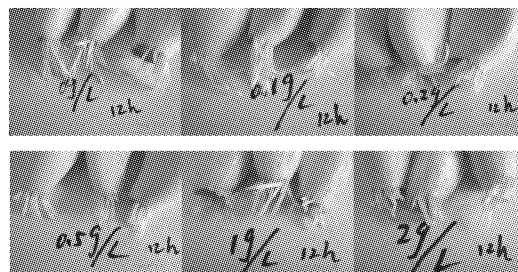


图 1 处理 12 h 的膨大变化

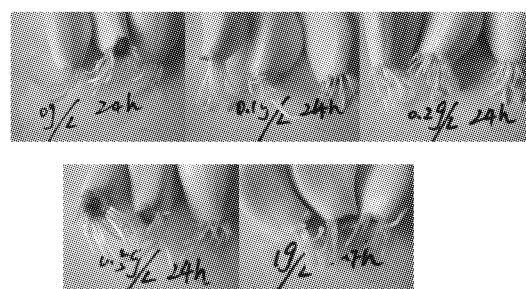


图 2 处理 24 h 的膨大变化

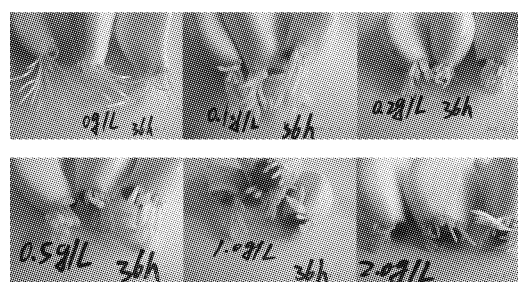


图 3 处理 36 h 的膨大变化



图 4 处理 48 h 的膨大变化

2.4 秋水仙素对细胞及细胞核形状的影响

压片后镜检观察,发现与未处理组相比,处理 12~24 h 的根尖膨大区的细胞,其细胞核显著增长,约为对照细胞核的 2 倍(图 6);作为对照的非膨大区的细胞核近似球形,膨大区细胞核的宽度与对照组大体一致,随着处理时间延长,增长的细胞核逐渐变为球形,但大小



图5 处理 60 h 的膨大变化

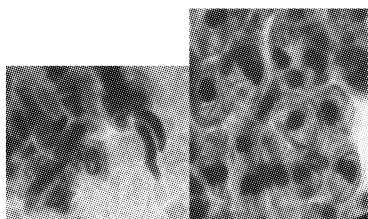


图6 显微镜下观察到的细胞及细胞核

注:膨大区的细胞及细胞核最初都伸长(左),渐渐地成为泡状(右)。

较对照组细胞核大 38%左右。

3 结论

秋水仙素能够诱导大蒜根尖中分裂期细胞的遗传

物质增加,从而造成细胞体积增大,宏观表现为根尖膨大,但处理时间以在 24~48 h 为宜,在 60 h 后根尖的膨大率反而开始下降。不同浓度的秋水仙素对根尖膨大率有明显影响。从处理效果来看,秋水仙素浓度为 0.5 g/L 时的诱导效果较好。不同浓度的秋水仙素对根尖的生长素速度有明显的抑制作用,且对根尖膨大的作用是有限的,这是由秋水仙素抑制细胞分裂造成的。经秋水仙素处理后的细胞核体积较对照组增大,这是由秋水仙素诱导遗传物质加倍造成的。经综合比较分析,在 0.5 g/L 处理浓度条件下,在 24~48 h 的处理时间内,大蒜根尖的膨大达到最佳效果,膨大率在 82%以上,可以作为用根尖诱导大蒜根尖的推荐条件。

参考文献

- [1] 陈青奇,陈典,张海霞. 大蒜育种研究现状[J]. 北方园艺, 2006(2): 40-41.
- [2] 杨寅桂,庄勇,陈龙正. 蔬菜多倍体育种及其应用[J]. 江西农业大学学报, 2006, 28(4): 534-538.
- [3] 赵东利,周清波,蔡娜,等. 秋水仙素对大蒜根尖细胞有丝分裂的影响[J]. 北京农学院学报, 2009, 24(1): 79-80.
- [4] 刘亚娟,李名扬,屈云慧. 秋水仙素在园林花卉多倍体育种中的应用[J]. 安徽农学通报, 2009, 15(7): 155-157.

Study on Garlic Root Tip Polyploid Induced by Colchicine

WU Yan-sheng

(Department of Biochemistry, Xingtai University, Xingtai, Hebei 054001)

Abstract: Colchicine under concentration of 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 and 2.0 g/L and garlic root tip were cultured 12, 24, 36, 48 and 60 h separately, the effect of morphological changes of garlic root tip induced by different concentrations of colchicine at different periods were studied. The results showed that under 0.5 g/L treatment dealing with from 24 to 48 hours, the expansion rate was more than 82%, the comprehensive effect was better.

Key words: colchicine; garlic root tip; polyploid