

# 超富集植物商陆多倍体诱导研究

张丽珍<sup>1</sup>, 杨冬业<sup>2</sup>, 刘杰<sup>3</sup>, 曾惠玲<sup>1</sup>

(1. 桂林师范高等专科学校 化学与药理学系, 广西 桂林 541001; 2. 桂林医学院, 广西 桂林 541001;

3. 桂林理工大学 广西矿冶与环境科学实验中心, 广西 桂林 541001)

**摘要:**以商陆为试材,对商陆幼苗进行秋水仙素诱导多倍体试验。结果表明:0.2%秋水仙素诱变 48 h 效果最好,与对照相比,变异株茎粗壮,叶宽、叶厚较对照分别增加 40.15%和 33.25%;气孔纵横径较对照分别增加 30.25%和 60.82%,气孔密度增加 150%;压片法对变异植株和对照植株的根尖有丝分裂分别进行染色体鉴定,证明变异株为多倍体。

**关键词:**商陆;多倍体;秋水仙素诱导

**中图分类号:**Q 813 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)16-0109-03

商陆(*Phytolacca acinosa* Roxb.)属商陆科(Phytolaccaceae)商陆属(*Phytolacca* Linn.)多年生宿根草本植物,原是一种传统的药用植物<sup>[1]</sup>,因其被发现为重金属锰的超富集植物<sup>[2-3]</sup>而重新进入人们的视野,进而对其展开了更为广泛深入的研究。朱晓松等<sup>[4]</sup>发现商陆提取物抗菌谱较广,对大多数细菌都有抑制作用;赵国栋等<sup>[5]</sup>发现商陆抑菌活性最强的物质大都存在于根中,且抑菌活性最强的物质大都存在于水和正丁醇这种极性较高的溶剂的提取物中。马萧等<sup>[6]</sup>研究发现美洲商陆的 3 种粗提物和美洲商陆甲醇粗提物对烟草花叶病毒均表现出较好的抑制效果,功效可与化学农药媲美。吴晓华等<sup>[7]</sup>的研究结果表明,中国商陆总皂甙具有较强的灭钉螺效果,采用 125 mg/L 浓度给药 24 h 与经典的化学灭螺药五氯酚钠(10 mg/L)效果相当。

同时美洲商陆也是一种锰超积累植物<sup>[3]</sup>,在环境保护方面也有着广泛的应用价值。现阶段对商陆的研究主要集中在医药、食品、工业和农业等的应用方面,而对于商陆育种方面的研究报道甚少,有资料表明商陆  $2n=2x=36$ <sup>[8]</sup>,现利用秋水仙碱对商陆进行多倍体诱导研究,获得多倍体商陆植株,以期为后期多倍体扩繁、抗性研究以及锰富集能力研究提供种质资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试商陆种子购于种子市场。

## 1.2 试验方法

1.2.1 商陆的多倍体诱导 采用 0.1%、0.2%、0.3%的秋水仙素处理幼苗的顶芽生长点,每个浓度对幼苗的诱变时间设为 24、48、72 h,每个处理设 20 次重复,以不做任何处理为对照。苗期管理在温室中进行,恒温 25~28℃,光照时间 12 h/d。

1.2.2 多倍体植株的筛选和鉴定 根据 1.2.1 的试验结果,选用 0.2%的秋水仙素对商陆进行多倍体植株的筛选和鉴定。形态学鉴定:观察苗期商陆处理和对照,按照幼苗是否生长受阻,叶色浓绿,叶片皱缩,茎粗壮和植株畸形等指标对得到的诱变株进行初步鉴定和筛选,异株是否为多倍体植株。解剖学鉴定:取形态变异植株的叶片和对照植株的叶片,对其表皮细胞和气孔的大小、密度以及保卫细胞内叶绿体的数目进行观察测定和比较,进一步鉴定变异株是否具有多倍体的特征。细胞学鉴定:采用压片法<sup>[9]</sup>对变异植株和对照植株的根尖有丝分裂分别进行观察,对其染色体进行计数,进一步确定变异株是否为多倍体植株。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度秋水仙素处理下的诱变效果比较

由表 1 可以看出,9 种处理都有多倍体植株产生。成活率随着秋水仙素处理浓度和处理时间的增加而降低。当浓度为 0.1%的秋水仙素处理 24 h 时,成活率高达 100%,但诱变率为 10%;当浓度为 0.2%的秋水仙素处理 48 h 时,成活率高达 85%,诱变率为 75%,效果最好;随着秋水仙素处理浓度的增加,诱变率也相应增加,但是由于受药剂影响严重,成活率较低。试验结果表明浓度为 0.2%的秋水仙素处理 48 h 的,诱变率为 75%,效果最好。

**第一作者简介:**张丽珍(1979-),女,广西贵港人,硕士研究生,副教授,现主要从事生物工程等研究工作。E-mail: xiaozhang446@163.com.

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(41001186)。

**收稿日期:**2014-03-13

表 1 秋水仙素的诱变效果比较

Table 1 Comparison on mutagenic effect of colchicine

浓度 /%	处理时间 /h	处理苗数 /株	成活株数 /株	成活率 /%	变异株数 /株	诱变率 /%
0.1	24	20	20	100	2	10
	48	20	18	90	8	40
	72	20	17	85	12	60
0.2	24	20	19	95	12	60
	48	20	17	85	15	75
	72	20	15	75	14	70
0.3	24	20	18	90	10	50
	48	20	15	75	11	55
	72	20	9	45	7	35
CK		20	20	100	0	0

## 2.2 形态学比较

2.2.1 变异株和对照株高度比较 由图 1 可知,0.2%的秋水仙素处理所得变异株的平均株高和对照的株高相比,二者在各个时期均有差异,且变异株较对照植株生长缓慢。

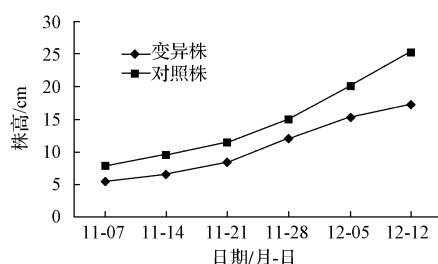


图 1 变异株和对照株株高变化

Fig. 1 Plant height of mutant and control seedling

2.2.2 变异株和对照株叶片的比较 变异株叶片发生皱缩、叶色加深、加厚,叶尖钝圆(图 2a);变异株叶宽、叶厚较对照增加 40.15%和 33.25%;而叶长较对照减少 5.92%。

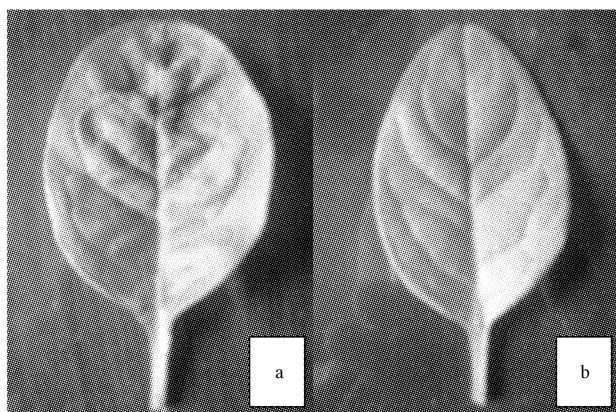


图 2 变异株和对照株叶形比较

注:a为变异株叶片,b为对照株叶片。

Fig. 2 Comparison of leaf morphology between mutant and control seedling

Note:a;mutant leaf;b;control leaf.

2.2.3 变异株和对照气孔比较 通过显微观察,变异株的表皮细胞明显增大,气孔明显增多,孔径明显变大(图 3a),纵横径较对照分别增加 30.25%和 60.82%。保卫细胞内的叶绿体数较对照增加 30.68%。可视范围内,变异株气孔数为 15 个(图 3a),而对照株气孔数为 6 个(图 3b),密度增加 150%,这与常建忠等<sup>[10]</sup>的研究相反,可能与商陆品种有关。

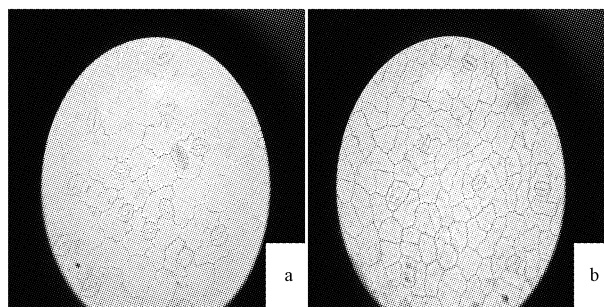


图 3 变异株和对照株叶片上表皮细胞及气孔比较

注:a为变异株叶片上表皮细胞及气孔(16×40),b为对照株叶片上表皮细胞及气孔(16×40)。

Fig. 3 Comparison of epidermal cells and stomata between leaves of mutants and control seedling

Note:a;The epidermal cells and stomata of the mutant seedling leaves; b;The epidermal cells and stomata of the control seedling leaves.

2.2.4 商陆根尖染色体鉴定 对变异株和对照株分别进行压片法观察根尖细胞有丝分裂染色体,由图 4 可以看出,变异株可染色物质明显增加,而对照株可染色物质明显较少,由于图片不清晰,无法数清楚染色体数,但变异株可染色物质明显增加,可确定为多倍体。

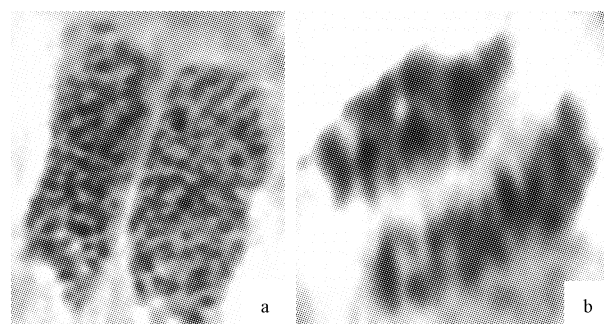


图 4 变异株和对照株根尖染色体比较

注:a为变异株根尖细胞染色体图,b为对照株根尖细胞染色体图。

Fig. 4 Comparison of root mitotic chromosome between mutant and control seedling

Note:a;The root mitotic chromosome of the mutant seedling; b;The root mitotic chromosome of the control seedling.

## 3 讨论

秋水仙素能抑制纺锤体微管的形成而导致染色体不能移向细胞两极,最终产生多倍体。该研究采用传统液滴法诱导商陆多倍体,此方法简单、直接、操作简易,

效果好。而且商陆种子容易萌发,萌发率高达 98%,可在短期内获得大量材料。但是秋水仙素有剧毒,对外植体有毒害作用,常常使材料在处理过程中死亡。因此,材料对秋水仙素处理时间和处理浓度非常敏感,随着处理时间和处理浓度的增加,植株的成活率逐步降低,这是因为随着处理时间和处理浓度的增加,秋水仙素对细胞的伤害越大,幼苗的抵抗力越弱,容易发生病害,幼苗死亡率增加,所以选择合适的处理时间和处理浓度,对成功诱导多倍体是至关重要的。试验结果表明浓度为 0.2% 的秋水仙素处理 48 h 的诱导效果最好。

植株的巨型性是多倍体最为显著的外部形态特征,主要表现在植株增高,叶片增大、皱缩、增厚,叶色加深,气孔数目增多且增大、保卫细胞中叶绿体数目增多、增大等生物学特征。但是形态学具有不可靠性,要确认染色体是否加倍,最可靠的方式是直接进行染色体计数。染色体鉴定是多倍体育种过程中的重要步骤之一,这关系到能否准确而高效地从诱导处理过的群体中鉴定出多倍体。由于各种植物细胞的大小及组分、染色体的大小、形状及数目有很大差异,因此制片的方法也会有较大的差异,往往需要仔细的摸索。

通过染色体组的加倍,使基因的拷贝数增加,导致蛋白质的合成增加,酶活性增强,其它组分活性物质也相应增加,增强了多倍体植物对环境的适应性及抗病虫

害和抗逆性<sup>[8]</sup>以及锰矿富集能力,为制作生物农药提供高效原材料,为提高植物修复效率提供理论基础。设想在锰矿植物修复基地种植多倍体商陆,通过收获倍体商陆制作生物农药,达到有效利用植物资源的效果。这对于食品安全,环境保护以及土地资源的保护与持续利用都有重要的理论和现实意义。

#### 参考文献

- [1] 高学敏. 中药学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2002: 192.
- [2] 薛生国, 陈英旭, 林琦, 等. 中国首次发现的锰超积累植物—商陆[J]. 生态学报, 2003, 23(5): 935-937.
- [3] 铁柏清, 袁敏, 唐美珍, 等. 美洲商陆——一种新的 Mn 积累植物[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(2): 340-343.
- [4] 朱晓松, 贾林, 王蜜蜜, 等. 商陆提取物抑菌活性评价研究[J]. 中国现代中药, 2010(12): 33-35.
- [5] 赵国栋, 王立宽, 段静, 等. 商陆不同极性、根和茎提取物的抑菌性能分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2010, 29(4): 717-720.
- [6] 马萧, 祝水金, 丁伟, 等. 美洲商陆粗提物对烟草花叶病毒的控制作用[J]. 西南农业学报, 2005, 18(2): 168-170.
- [7] 吴晓华, 周晓农. 商陆科植物的灭螺效果及其应用[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2007(1): 78-80.
- [8] 庄文庆. 药用植物育种学[M]. 北京: 农业出版社, 1995.
- [9] 高信曾. 植物学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1986.
- [10] 常建忠, 吴玉香, 赵晓明, 等. 秋水仙素诱导美洲商陆四倍体的研究[J]. 中国农学通报, 2009, 25(4): 35-38.

## Study on Polyploid Induction of Hyperaccumulator Plant—*Phytolacca acinosa* Roxb.

ZHANG Li-zhen<sup>1</sup>, YANG Dong-ye<sup>2</sup>, LIU Jie<sup>3</sup>, ZENG Hui-ling<sup>1</sup>

(1. Department of Chemistry and Pharmacy, Guilin Normal College, Guilin, Guangxi 541001; 2. Guilin Medical College, Guilin, Guangxi 541001; 3. Guangxi Scientific Experiment Center of Mining, Metallurgy and Environment, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi 541004)

**Abstract:** Taking *Phytolacca acinosa* Roxb. as material, *Phytolacca acinosa* Roxb. seedlings were treated with different concentrations of colchicines solution, polyploid induction test was conducted. The results showed that the best treatment was using 0.2% colchicines solution and 48 hours. Compared with the control, the stems of variant plants became more dwarf and stronger, leaf width was increased by 40.15% and leaf thickness was increased by 33.25%. Length and width of stomata was increased by 30.25% and 60.82% respectively, the density of stomata was increased by 150%; the variant plants were polyploid by tableting method of mutant plants and control of the plant root mitotic chromosome identification respectively.

**Key words:** *Phytolacca acinosa* Roxb.; polyploid; induced by colchicine