

芦笋四倍体诱导、倍性鉴定及生物学特性的研究

陈春桦^{1,2}, 高建明², 刘巧莲², 陈河龙², 张世清², 易克贤^{2,3}

(1. 海南大学 农学院, 海南 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院 热带生物技术研究所, 农业部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室, 海南 海口 571101; 3. 中国热带农业科学院 环境与植物保护研究所, 海南 海口 571101)

摘要:以南方主栽品种“井岗 701”二倍体芦笋的露白种子和幼苗为试材, 研究了秋水仙素浓度、处理时间及浸泡时的转速对芦笋四倍体诱导效果的影响, 并对四倍体和二倍体芦笋的部分抗性和形态特征进行了比较。结果表明: 以 0.2% 的秋水仙素浸泡露白种子 6 h 效果最好, 四倍体诱导率最高, 为 20%, 但浸泡时的不同转速对四倍体诱导影响差异不显著; 而用 0.3% 的秋水仙素连续滴苗 4 d, 四倍体诱导率最高为 18%; 浸泡露白种子法比滴苗法诱导效果好; 四倍体植株较二倍体更加粗壮, 在抗热性和抗旱性方面也明显优于二倍体。

关键词:芦笋; 四倍体; 秋水仙素; 形态特征; 抗性

中图分类号:S 644.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)11-0088-05

芦笋属百合科天门冬属(*Asparagus L.*)植物, 学名石刁柏(*Asparagus officinalis L.*), 英文名 asparagus, 又称龙须菜。该属约有 300 个种, 除美洲外, 全世界温带至热带地区均有分布。芦笋以嫩茎供食用, 有鲜美香甜的风味, 现代营养学分析表明, 芦笋的营养成分丰富, 含有 18 种氨基酸和锌、铜、锰、硒等微量元素, 维生素含量为一般蔬菜的 2~5 倍, 另外, 芦笋膳食纤维还能增进食欲, 具有促进消化等功能^[1-4]。王嘉彦^[5]通过临床观察证明, 芦笋糖浆中抗癌有效成分天门冬酰胺以游离态存在, 能对体内恶变的细胞形成一种生化障碍, 阻止恶变细胞营养, 从而抑制癌细胞的生长和增殖, 这证明了芦笋还具有防癌抗癌的药用功能。

与二倍体植株相比, 多倍体植株往往茎秆粗壮, 而芦笋的食用部分为嫩茎, 因此芦笋的多倍体育种具有很

大的理论和实践意义。

日本在芦笋多倍体研究中, 很早就获得了高产优质的三倍体芦笋新品种, 产生了巨大的经济效益。由美国加利福尼亚种子子公司育成的第一个紫色芦笋品种“紫色激情”是 20 世纪 90 年代初推广的一种产量高、品质优的新品种。近年来, 郑思乡等^[6]以芦笋试管苗为诱导材料, 利用秋水仙素成功诱导了四倍体芦笋, 但诱导率较低, 仅为 6%。江西省农业科学院以美国四倍体紫色芦笋“紫色激情 (Purple Passion)”的优良株系为母本, 以新西兰四倍体紫色芦笋“太平洋紫芦笋 (Pacific Purple)”的优良株系为父本, 运用常规杂交育种与组织培养技术, 选育出四倍体紫色芦笋新品种“井冈红”。山东省潍坊市农业科学院通过对引进的优良四倍体紫芦笋进行组织培养, 筛选出优良突变单株, 再利用杂交技术, 组配杂交组合 33 个。根据其生育指数选出了 8 个优良组合, 经品种比较试验, 选育出了紫芦笋新品种“潍紫 P-7”^[7-8]。

该试验以当前南方主栽品种“井岗 701”(*Asparagus officinalis* cv. ‘Jinggang 701’) 的露白种子和幼苗为诱导材料, 利用秋水仙素进行四倍体诱导, 并从形态特征和抗性方面对四倍体和二倍体芦笋植株进行比较, 以期选育出产量更高、抗性更强的芦笋新品种提供参考。

第一作者简介:陈春桦(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为芦笋多倍体育种。

责任作者:易克贤(1964-), 男, 博士, 研究员, 研究方向为热带作物抗病遗传育种及热带作物真菌病害。E-mail: yikexian@126.com.

基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项资助项目(201003074)。

收稿日期:2014-02-10

to establish cDNA PCR library. The results showed that PCR amplification of the cDNA PCR library was more efficient significantly than that of cDNA. The quantity of cDNA was magnified more than one hundred times by the constructed cDNA PCR library. By the cDNA PCR library constructed using 5 pg total RNA as material, the satisfactory PCR amplification results can be obtained. This construction method of the cDNA PCR library was time and labor saving. This method would provided the technical basis for cloning genes of low expression.

Key words: cDNA PCR library; RACE; reverse transcription; PCR

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料二倍体($2n=2x=20$)芦笋栽培品种“井岗701”由江西省农业科学院提供。秋水仙素购自北京康倍斯公司。

1.2 试验方法

1.2.1 芦笋种子的消毒和催芽 挑选成熟饱满的芦笋干种子,于45℃温水中浸泡12 h,放在常温水中再浸泡12 h,然后将湿纱布包裹浸泡后的种子放在密封的培养瓶里,直到种子露白后取出播种。

1.2.2 浸泡露白种子法 参照吴繁花^[9]、宗红^[10]、张兴翠等^[11]的方法,将露白种子分别转到不同浓度秋水仙素溶液中(0.1%、0.2%、0.3%、0.4%),为了使露白种子充分与秋水仙素溶液接触,放于摇床摇荡浸泡,摇床转速设60、80、100、120 r/min。时间分别为6、7、8、9 h。采用正交实验设计,每个处理50粒种子,3次重复。处理后用无菌水冲洗4次,放入69孔营养盘中。待幼苗长至5 cm时进行倍性检测,并统计四倍体率。

1.2.3 滴苗法 参照其它植物的诱导方法^[12-14],将露白种子播入69孔营养穴盘中。待幼芽长至5 cm时,把一小块脱脂棉球放在茎尖,每天7:00和18:30各1次,在不同幼芽的棉球上分别滴上浓度为0.2%、0.3%、0.4%、0.5%的秋水仙素,持续时间分别为2、4、6、8 d,采用复因子随机区组设计试验。每个处理50粒种子,3次重复。

1.2.4 流式细胞仪鉴定法间接鉴定 参照其它植物流式细胞检测方法^[15-16],利用美国贝克曼公司的型号为Cell. Lab. Quanta. SC的流式细胞仪,对不同芦笋的染色体倍性进行检测。以染色体数目 $2n=20$ 的二倍体芦笋为对照,将二倍体对照设置在50位置处,数据分析为机器自带软件。

1.2.5 茎尖染色体观察法直接鉴定 为确定植株倍性,用茎尖细胞染色体计数法对不同试验材料进行染色体倍性鉴定。具体步骤参照张天翔等^[17]的方法,染液为改良苯酚品红染色液^[18],用ZEISS荧光显微镜观察茎尖细胞的染色体数并进行显微拍照。

1.2.6 二倍体与四倍体植株形态特征的比较 分别选出5株在相同环境条件下种植80 d后的四倍体和二倍体植株,各找出植株中最长的叶片和最粗的茎秆,用游标卡尺和直尺对植株的叶厚、叶长和茎粗进行测定,叶厚是测量叶子最厚的部分,茎粗是测量茎秆中最粗的部位,重复5次,然后进行方差分析^[19-20]。

1.2.7 四倍体与二倍体芦笋抗性比较 参照唐艳^[21]的方法,对生长90 d后的四倍体和二倍体芦笋的抗热性和抗旱性进行测定。该方法通过测定渗透率来表示植株抗热性。渗透率越小,抗热性越强,反之则越弱。并通

过测定失水率和细胞损伤率2个指标来综合分析比较四倍体和二倍体芦笋的抗旱性。叶片失水率与叶片持水率成反比,失水率越大,持水率越小,说明抗旱性就越弱,反之就越强。用损伤率表示抗旱性,损伤率越大,抗旱性越弱,反之则越强。

1.3 数据分析

试验数据采用Excel 2003、SAS 9.2软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 流式细胞仪鉴定法间接鉴定

该试验采用流式细胞仪测定芦笋的倍性,以二倍体幼嫩叶片材料为对照,对变异株幼嫩叶片进行了细胞DNA含量测定。试验结果显示,对照二倍体植株主峰荧光强度位于约100通道处(图1a),而变异株主峰荧光强度位于约200通道处(图1b),这说明变异株细胞DNA含量为对照植株的2倍,为四倍体植株。而有些植株,在2处均出现峰值(图1c),则说明植株体内含有2种DNA含量的体细胞,即二倍体和四倍体的嵌合体。甚至还出现少量的二倍体、四倍体与八倍体的嵌合体(图1d)。

2.2 茎尖染色体观察法直接鉴定

用显微镜观察对茎尖染色体计数,是最直观的检测方法,对流式细胞仪检测出的四倍体芦笋植株,再用显微镜观察发现,体细胞的染色体为40条,是对照的染色体数目(图2a)的2倍,证明为四倍体植株(图2b)。

2.3 浸泡露白种子法对四倍体芦笋诱导的结果分析

浸泡露白种子法的诱导效果见表1,各因子的 F 值大小代表各因子主次顺序。由表1可知,各因子主次顺序是A(秋水仙素浓度)、B(时间)、C(转速)。由表1的 $Pr>F$ 可知A因子间差异极显著,而B和C因子,即时间和转速间差异不显著。由表1还可知,秋水仙素浓度在0.1%~0.2%时,诱导率随着浓度升高和处理时间加长而升高,当浓度达到0.2%,时间达到6 h时诱导率达到20%。而秋水仙素浓度在0.3%~0.4%间时,却出现了抑制效应,诱导率随着浓度升高和处理时间加长而降低,甚至出现了零诱导的效果。

2.4 滴苗法对四倍体芦笋诱导的结果

由表2滴苗法对四倍体芦笋诱导的结果可知, $F_A=11.7$,其 $Pr>F<0.0001$,说明A因子即秋水仙素浓度的各水平间差异极显著, $F_B=3.01$,其 $Pr>F=0.04$,表明B因子即时间的各水平间差异显著, $F_{A \times B}=4.9$ 其 $Pr>F=0.0003$,差异极显著,2个因子存在互作。根据表2还得知,秋水仙素浓度在0.2%~0.3%时,诱导率随着浓度升高和处理时间加长而升高,当时间达到4 d,秋水仙素浓度为0.3%时,诱导率达到18%,但随之秋水仙素出现了抑制效应,诱导率开始降低。秋水仙素浓度

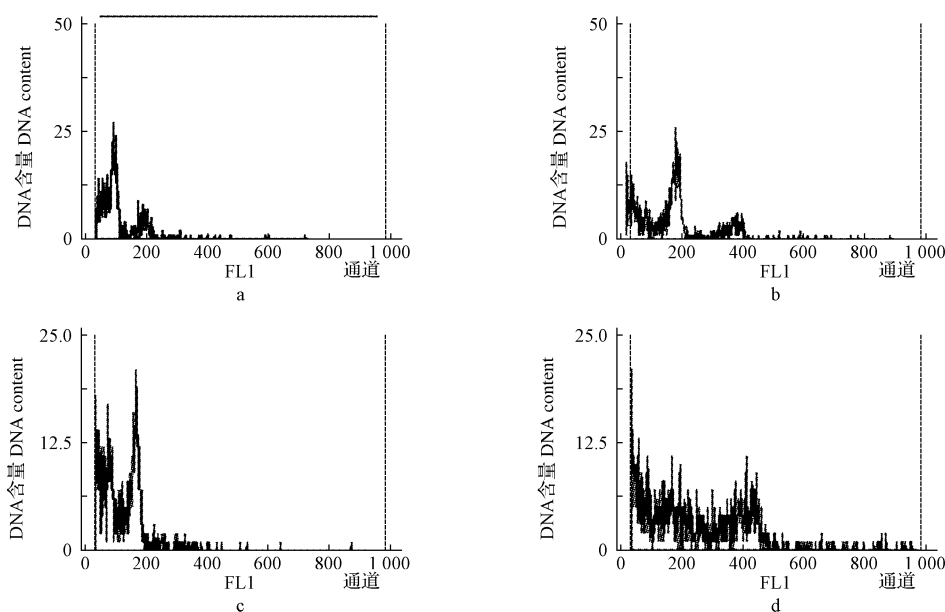


图1 不同倍性芦笋的流式检测

注:a,二倍体;b,四倍体;c,二倍体与四倍体的嵌合体;d,二倍体、四倍体和八倍体的嵌合体。

Fig. 1 Flow cytometry of different ploidy asparagus

Note:a,diploidy;b,tetraploidy;c,the chimaera of diploi and tetraploid;d,the chimaera of diploi,tetraploid and octoploid.

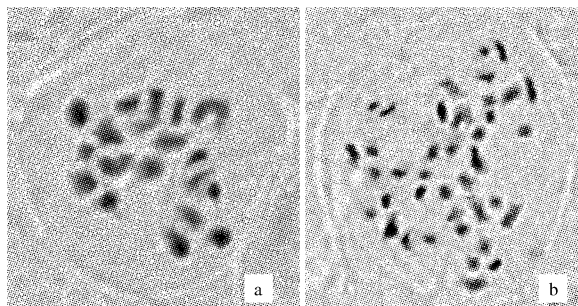


图2 二倍体和四倍体染色体

注:a,二倍体染色体;b,四倍体染色体。

Fig. 2 Chromosome of diploidy and tetraploidy asparagus

Note:a,chromosome of diploidy;b,chromosome of tetraploidy.

在0.4%~0.5%时,诱导率随着浓度升高和处理时间加长而降低,甚至出现了零诱导的效果。

2.5 四倍体与二倍体芦笋植株形态特征的比较

由表3可知,四倍体的叶长、叶厚与茎粗都极显著大于二倍体。用肉眼可看出二倍体芦笋的成熟叶较四倍体的小(图3a)。从整体上看,四倍体植株较二倍体长得粗壮(图3b),因此,可从外观大致鉴别出四倍体植株。

2.6 四倍体与二倍体芦笋抗性比较

由表4可知,二倍体叶片的渗透率显著高于四倍体,由于渗透率与抗热性成反比,因此,四倍体抗热性强于二倍体;二倍体叶片的失水率和细胞损伤率均极显著高于四倍体叶片,因为失水率与细胞损伤率都与抗旱性成反比,所以四倍体的抗旱性强于二倍体。

表1 浸泡法不同浓度秋水仙素、处理时间和转速对芦笋的诱导效果

Table 1 Induction effects of different centrifugal speed,treatment time and concentrations of colchicine on asparagus by soaking method

处理 Treatment	因素 Factor			处理种子数 Treated seeds/粒	四倍体率 Tetraploid rate/%
	A秋水仙素浓度 Concentrations of colchicine/%	B时间 Time/h	C转速 Speed /r·min ⁻¹		
1	0.1	6	60	50	4
2	0.1	7	80	50	6
3	0.1	8	100	50	6
4	0.1	9	120	50	10
5	0.2	7	60	50	14
6	0.2	6	80	50	20
7	0.2	9	100	50	12
8	0.2	8	120	50	12
9	0.3	8	60	50	8
10	0.3	9	80	50	6
11	0.3	6	100	50	6
12	0.3	7	120	50	4
13	0.4	9	60	50	4
14	0.4	8	80	50	0
15	0.4	7	100	50	0
16	0.4	6	120	50	0
Pr>F	0.0030	0.53	0.70		
F值					
F Value	15.7**	0.8	0.5		

注:SAS检验,差异达到显著水平($P<0.05$,用“*”表示)或极显著水平($P<0.01$,用“**”表示),下同。

Note:SAS test,the difference was significant ($P<0.05$,with “*”) or highly significant ($P<0.01$,with “**”),the same below.

表 2 滴苗法不同浓度秋水仙素和处理时间对芦笋的诱导效果

因素 Factor					四倍体率		
处理	A 秋水仙素浓度	B	A×B	处理苗数	重复 I	重复 II	重复 III
Treatment	Concentrations of colchicine/ %	时间 Time /d	(秋水仙素×时间) Colchicine×Time	Treated seedlings /株	Repeat I	Repeat II	Repeat III
1	0.2	2		50	0	2	2
2	0.2	4		50	4	2	4
3	0.2	6		50	4	6	4
4	0.2	8		50	10	4	6
5	0.3	2		50	8	6	10
6	0.3	4		50	18	16	18
7	0.3	6		50	6	6	4
8	0.3	8		50	4	2	4
9	0.4	2		50	8	10	8
10	0.4	4		50	4	2	6
11	0.4	6		50	2	4	0
12	0.4	8		50	2	2	6
13	0.5	2		50	6	0	0
14	0.5	4		50	6	2	2
15	0.5	6		50	2	4	2
16	0.5	8		50	2	0	4
$P_{r>F}$					<0.0001	0.04	0.0003
F 值					11.7**	3.01*	4.9**
F value							

表 3 二倍体与四倍体芦笋的植物形态比较

倍性	叶长	叶厚	茎粗
Ploidy	Length of leaf/mm	Thickness of leaf/mm	Diameter of the stem/mm
2n=2x	30.29±1.61 Bb	0.30±0.02 Bb	0.90±0.08 Bb
2n=4x	40.72±2.35 Aa	0.40±0.02 Aa	1.47±0.12 Aa

注:SAS 检验,不同的字母代表差异达到显著水平($P<0.05$,小写字母)或极显著水平($P<0.01$,大写字母),下同。

Note:SAS test,the different letters represent differences achieve a significant level ($P<0.05$,lowercase letters) or highly significant ($P<0.01$,uppercase letters),the same below.

表 4 四倍体与二倍体芦笋抗旱性和抗热性比较

倍性	渗透率	失水率	损伤率
Ploidy	Permeability	Water loss rate	Injury rate
2n=2x	24.11a	7.47Aa	20.42Aa
2n=4x	14.74b	6.77Bb	10.81Bb

3 讨论与结论

在浸泡露白种子法的试验中,通过对 A 因子(秋水仙素浓度)进行 Duncan 测验得知,秋水仙素浓度为 0.2%时诱导效果最佳;B 因子各水平间差异不显著,为了节省时间,6 h 更佳;C 因子各水平间差异也不显著。因此,该试验的最优组合为秋水仙素浓度为 0.2%,浸泡时间为 6 h,转速为 60 r/min,诱导率为 20%。这与邹道

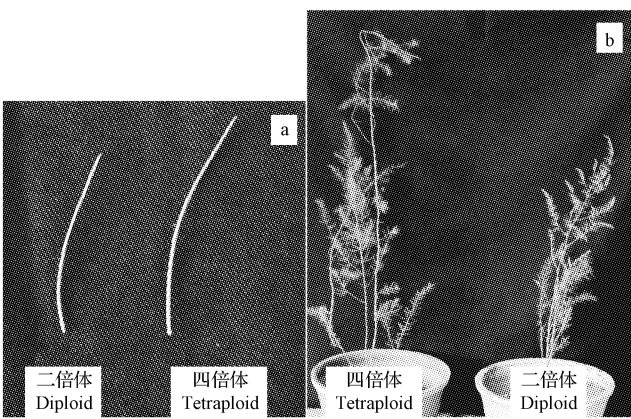


图 3 二倍体与四倍体芦笋的形态比较(100 d)

注:a,二倍体与四倍体芦笋的成熟叶片;b,二倍体与四倍体芦笋的植株。

Fig.3 Comparison of diploid and tetraploid asparagus in morphological(100 d)

Note:a,mature leaves of the tetraploid and diploid of asparagus;b,the tetraploid and diploid of asparagus.

谦等^[22]的最佳处理浓度相同,但与沈河溪^[23]、陈发棣等^[24]研究结果不同。说明同样是用秋水仙素浸泡种子,但不同的植物对秋水仙素的敏感浓度不尽相同。

在滴苗法的试验中,根据秋水仙素浓度(A)的 Duncan 分析表明 0.3%显著高于 0.4%、0.2%和 0.5%,0.4%、0.2%的显著高于 0.5%,但 0.4%、0.2%间差异不显著,因此 0.3%最佳;再根据秋水仙素×时间(B)因素的 Duncan 分析表明,以 4 d 显著高于 2、8 d 和 6 d,因此用秋水仙素连续滴苗 4 d 效果最佳。因此,滴苗法的最优处理组合为用 0.3%的秋水仙素滴苗 4 d,诱导率达 18%。这与张天翔等^[25]用培养基添加法诱导单倍体芦笋的浓度一致。

由于浸泡露白种子法的最高诱导率 20%高于滴苗法的最高诱导率 18%,因此,浸泡露白种子法的诱导效果要优于滴苗法。

康喜亮等^[26]通过试验表明天山雪莲的茎段是诱导四倍体的最佳部位。周玥玥^[27]通过试验表明秋水仙素对五节芒愈伤组织的四倍体诱导效果要优于再生从芽。该试验只用了 2 种诱导方法,还需进一步探索其它诱导率更高的方法。

该试验通过测量叶长、叶厚与茎粗,表明四倍体芦笋在植物形态上较二倍体显著粗壮,这与日本研究结果一致^[7]。因为芦笋的使用部分为嫩茎,因此,这有利于增加芦笋的产量,提高经济效益。相关试验表明植物多倍化后,叶片的气孔密度、保卫细胞长度、宽度及叶绿体数日会发生一定的变化^[28],因此,二倍体与四倍体芦笋在叶绿素含量、气孔大小等细胞形态上的区别还需进一步研究。

试验结果还表明,四倍体芦笋在抗旱性和抗热性方

面也优于二倍体芦笋,这有利于“井岗 701”在南方扩大种植区域,延长供应周期。但二倍体芦笋和四倍体芦笋在抗寒性、抗病性等抗性方面的区别还需进一步研究。虽然四倍体芦笋已经过秋水仙素诱导成功,但是在多倍体蔬菜中嵌合体、性状不稳定性和育性低等特点还需进一步研究,以找出克服这些问题的办法。

(该文作者还有汪平、郑金龙,单位为中国热带农业科学院环境与植物保护研究所。)

参考文献

- [1] 孙春艳,赵伯涛,郁志芳,等. 芦笋的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国野生植物资源,2004(5):1-5.
- [2] 林友胜,胡松青. 芦笋的药理和临床研究述要[J]. 辽宁中医学院学报,2005(6):637-638.
- [3] 何智峰. 芦笋果肉营养成分的分析[J]. 食品工业科技,2008(3):271-275.
- [4] 叶春勇,林媚. 芦笋营养成分分析研究[J]. 中国果菜,2005(2):37-38.
- [5] 王嘉彦. 芦笋糖浆对恶性淋巴瘤化疗增效减毒作用的临床观察[J]. 中医药学报,1996(4):26-27.
- [6] 郑思乡,李利良,甘红霞,等. 芦笋多倍体诱导及其离体培养的研究[J]. 湖南农业科学,1996(1):22-23.
- [7] 王平,张韶岩. 日本芦笋多倍体育种的进展[J]. 山东农业科学,1989(4):50-51.
- [8] 张天翔,林宗铿,蔡坤秀,等. 我国芦笋育种研究进展[J]. 江西农业学报,2011(4):57-59.
- [9] 吴繁花. 热研五号柱花草同源四倍体诱导的研究[D]. 海口:海南大学,2009.
- [10] 宗红. 大葱组织培养及其多倍体诱导的初步研究[D]. 泰安:山东农业大学,2007.
- [11] 张兴翠,周昌华,殷家明. 药用百合的多倍体诱导及快速繁殖[J]. 西南农业大学学报,2003,25(1):15-17.
- [12] 葛志东. 氟乐灵诱导西葫芦染色体加倍研究[J]. 中国农学通报,2009,25(8):215-218.

- [13] Hansen N J P, Andersen S B. *In vitro* chromosome doubling potential of colchicine, oryzalin, trifluralin, and APM in *Brassica napus* microspore culture[J]. Euphytica, 1996, 88(2):159-164.
- [14] 尚爱芹,张成合,刘世雄,等. 菜心多倍体诱变及其细胞学观察[J]. 河南科学,1999,17(6):6-9.
- [15] 宋平根,李素文. 流式细胞术的原理和应用[M]. 北京:北京师范大学出版社,1992.
- [16] 施先锋. 西瓜多倍体诱导及倍性鉴定的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2007.
- [17] 张天翔,林宗铿,蔡坤秀,等. 白芦笋花药培养再生植株染色体倍性检测研究[J]. 福建热作科技,2008(1):11-13.
- [18] 张天翔,林宗铿,杨俊杰,等. 芦笋试管苗根尖染色体制片技术研究[J]. 福建热作科技,2008(2):10-11.
- [19] 齐永顺. 葡萄四倍体及其生物学研究[D]. 保定:河北农业大学,2009.
- [20] 胡秀. 离体培养条件下金鱼草四倍体切花的诱导及培育[J]. 云南农业大学,2009,19(5):524-527.
- [21] 唐艳. 非洲紫罗兰的四倍体诱导及其特性分析[D]. 重庆:西南大学,2010.
- [22] 邹道谦,崔丽华. 秋水仙素诱导四倍体石刁柏的研究[J]. 河北农业大学学报,1990,1(13):29-33.
- [23] 沈河溪. 秋水仙素诱导柠檬中间锦鸡儿多倍体的研究[D]. 重庆:西南大学,2011.
- [24] 陈发棣,蒋甲福,房伟民. 秋水仙素诱导菊花脑多倍体的研究[J]. 上海农业学报,2002,18(1):46-50.
- [25] 张天翔,林宗铿,蔡坤秀,等. 芦笋单倍体染色体加倍技术研究[J]. 中国农学通报,2011,27(13):212-215.
- [26] 康喜亮,郝秀英,刘敏,等. 秋水仙素诱导天山雪莲四倍体[C]. 全国第九届天然药物资源学术研讨会论文集,2010:406-410.
- [27] 周玥明. 五节芒再生体系的建立与多倍体的诱导研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2012.
- [28] 杨今后,扬新华. 桑叶气孔保卫细胞叶绿体数与染色体倍数性关系的测定[J]. 浙江农业科学,1990(5):238-240.

Study on Tetraploid Induction, Identification and Biological Characteristics of Asparagus

CHEN Chun-hua^{1,2}, GAO Jian-ming², LIU Qiao-lian², CHEN He-long², ZHANG Shi-qing²,
YI Ke-xian^{2,3}, WANG Ping³, ZHENG Jin-long³

(1. College of Agronomy, Hainan University, Haikou, Hainan 570228; 2. Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops, Ministry of Agriculture, China/Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101; 3. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101)

Abstract: Taking the burgeoning seeds and seedlings of ‘Jingang 701’ asparagus (*Asparagus officinalis* L.) which had the main cultivar in southern China as test material, effect of colchicine concentration, treatment time and centrifugal speed on induced tetraploid were studied, and the morphological and resistance of tetraploid and diploid asparagus were compared. The results showed that 0.2% colchicine soaking seeds 6 h had the best effect, the highest frequency of induction was 20%. But there was no significant effect of different centrifugal speed under soaking. When the colchicine concentration was 0.3% and the injection time was 4 d, the frequency of induction was 18%. The method of burgeoning seeds dipping with colchicine solution was better than the seedling injection method. Comparing with diploid asparagus, the stem of tetraploid asparagus was much bigger and the resistance to heat and drought was higher than that of the diploid asparagus.

Key words: asparagus; tetraploidy; colchicine solution; morphological characteristics; resistance