

DOI:10.11937/bfyy.201706037

# 叶片气孔保卫细胞周长用于鉴定 黄花蒿倍性的研究

付金娥<sup>1</sup>, 黎颖菁<sup>2</sup>, 韦树根<sup>1</sup>, 潘丽梅<sup>1</sup>, 胡风云<sup>1</sup>, 童婷婷<sup>1</sup>

(1. 中国医学科学院 药用植物研究所广西分所, 广西药用资源保护与遗传改良重点实验室, 广西 南宁 530000;

2. 广西绿色食品办公室, 广西 南宁 530000)

**摘要:**以二倍体、四倍体及经秋水仙素处理的黄花蒿植株为试材, 采用整体透明技术制备黄花蒿叶片样品, 对不同倍性植物的叶片气孔保卫细胞长轴长、短轴长及其周长进行考察, 探讨气孔保卫细胞大小与植株倍性的相关性。结果表明:以 10% 氢氧化钾溶液为透明剂, 透化时间为 1.5 h 的透化效果最好;二倍体与四倍体植物的气孔保卫细胞长轴长、短轴长及其周长差异显著, 其周长范围分别为 57.19~70.33  $\mu\text{m}$  和 83.36~91.99  $\mu\text{m}$ ;利用二倍体与四倍体的周长分布在不同区间范围, 可以对秋水仙素处理的黄花蒿植株进行快速的初步倍性鉴定。

**关键词:**黄花蒿;气孔保卫细胞;整体透明技术;倍性鉴定

**中图分类号:**S 567.21<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)06-0156-06

黄花蒿(*Artemisia annua* L.) 属菊科(Asteraceae)蒿属(*Artemisia*)一年生草本植物, 别名草蒿、臭蒿, 中药上习惯称之为“黄花蒿”。在传统中医中, 黄花蒿用于伤暑、疟疾、潮热、小儿惊风、恶疮疥癣等。黄花蒿细胞遗传学研究表明, 其染色体数目相对较少, 适宜采用染色体加倍方法进行育种, 并且课题组通过组培的方式成功获得黄花蒿四倍体植株。我国科研人员成功地获得了丹参、怀牛膝等药用植物多倍体, 在研究中发现药用植物多倍体同样具有营养器官, 如根、茎、叶等的巨大性, 抗病虫、抗逆能力较强, 有效药用成分高等优点<sup>[1-2]</sup>。因此, 多倍体育种方法应用于黄花蒿育种可能成为改进其青蒿素含量和产量的有效途径。

多倍体鉴定的方法较多, 总的来说可分为 3 个水平:植物形态学水平、分子水平和细胞水平<sup>[3]</sup>。形

态学上, 多倍体一般茎粗壮且短, 生长缓慢, 发育迟缓, 叶变厚, 叶色变深, 叶形指数变小, 花果都较二倍体大, 该鉴定方法具有粗放型, 可用于多倍体的初步筛选;分子上主要应用 GISH、FISH 等技术鉴定细胞倍性, 该方法成本相对较高;细胞学上多倍体主要表现为染色体数目增加, 气孔、气孔保卫细胞及花粉变大。研究表明, 气孔保卫细胞的大小可以作为初步鉴定是否为多倍体的依据之一。张菊平等<sup>[4]</sup>利用单倍体气孔保卫细胞周长与二倍体气孔保卫细胞周长的差异作为辣椒植株倍性鉴定的辅助指标。何丽等<sup>[5]</sup>在研究白菜型、甘蓝型和芥菜型油菜种间杂交时也利用了该方法。赵林妹等<sup>[6]</sup>采用整体透明技术观察小麦叶片气孔保卫细胞, 并将该技术应用于小麦花粉植株倍性鉴定。该研究旨在筛选出黄花蒿叶片最佳的透化技术, 通过观察黄花蒿二倍体与四倍体植物的叶片保卫细胞长轴长、短轴长及其周长的差异, 并根据其周长分布不同区间范围来对黄花蒿植株进行初步倍性鉴定。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试材料 以种植在广西药用植物园科研基地的二倍体和四倍体及经过秋水仙素处理后的黄花蒿为试材。

1.1.2 供试仪器 DM2000 型 LEICA 生物显微镜(德国莱卡公司)、Sartorius 电子天平。

**第一作者简介:**付金娥(1981-), 女, 安徽亳州人, 硕士, 副研究员, 现主要从事中药材良种繁育及标准化等研究工作。E-mail:duanwei3014@163.com.

**责任作者:**韦树根(1980-), 男, 广西灵山人, 博士研究生, 副研究员, 现主要从事中药材良种繁育等研究工作。E-mail:weishugen2@163.com.

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(81560623);广西自然科学基金资助项目(2013GXNSFBA019180; 2013GXNSFAA019221)。

**收稿日期:**2016-12-07

1.1.3 供试试剂 无水乙醇、乙酸、氢氧化钾、甘油、水合三氯乙醛。乙酸乙醇混合液:取无水乙醇 6 份、冰醋酸 1 份,混合均匀;10%氢氧化钾:取氢氧化钾 10 g,溶于 100 mL 水中;甘油溶液:取 10 mL 甘油溶于 20 mL 水中;饱和水合三氯乙醛溶液:取 40 g 水合三氯乙醛,溶于 10 mL 水中。三氯乙醛和甘油混合液:取 16 g 水合三氯乙醛溶于 2 mL 甘油和 4 mL 水。所有试剂均购置于广西南宁精密试剂公司。

## 1.2 试验方法

1.2.1 叶片处理方法 1)固定:取发育良好的植株,用剪刀剪取深绿色的叶片,约 5 cm,并做好标记。用水清洗干净,晾干,放入装有乙醇乙酸混合液的离心管中,在室温条件下固定 24 h,以使黄花蒿样品停止分裂并保持活体状态。2)脱水:去掉乙醇乙酸混合液进行脱水处理,先用 70%乙醇室温浸泡 30 min,再用无水乙醇室温浸泡 2 次,每次 30 min。3)透明:倒掉乙醇溶液,取 10%氢氧化钾溶液、甘油溶液、饱和水合三氯乙醛溶液以及三氯乙醛和甘油混合液各 5 mL,置于离心管中,把脱水后的黄花蒿叶片样品浸泡在 4 种透明剂中,室温条件下分别处理 0.5、1.0、2.0、3.0 h。4)观察:将不同透明剂处理过的叶片样品置于载玻片上,用手术刀将叶片切成约 1 cm 大小,之后在样品上滴一滴水并盖上盖玻片,在 10、20 倍镜下进行气孔保卫细胞观察。

## 1.2.2 黄花蒿气孔保卫细胞长度测量及倍性分析

选取二倍体、四倍体及秋水仙素处理的黄花蒿中部叶片,标好标记。采用筛选出的最佳透化方法进行叶片前处理,并在 20 倍镜下测量黄花蒿叶片气孔保卫细胞的长短轴长度,并根据椭圆的周长近似公式: $L=\pi\times[1.5\times(A/2+B/2)-(A/2\times B/2)^{1/2}]$ ,  $A$ 、 $B$  分别是长轴长、短轴长,计算保卫细胞外围周长,并做统计分析。每株统计 10 片叶片,每片随机测量 10 组气孔及保卫细胞的纵、横径值取平均数。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同透明剂处理后黄花蒿叶片样品的显微观察

通过试验观察,不同透明剂的透明效果差异明显。10%氢氧化钾溶液处理 0.5 h,在 10 倍物镜下未能观察到保卫细胞,处理 1 h 后在 10、20 倍镜下可以观察到保卫细胞和腺毛,但保卫细胞边界不清,不利于准确测量气孔保卫细胞的长度。透明 2.0 h 后,可清晰观察到保卫细胞,其边界清晰可准确测量气孔保卫细胞的长度,腺毛模糊。透明 3.0 h 后,叶片变软,镊子轻轻一夹即破损,仍可观察到保卫细胞,边界清晰,腺毛消失。

饱和水合三氯乙醛透明 0.5 h 后可隐约看到气

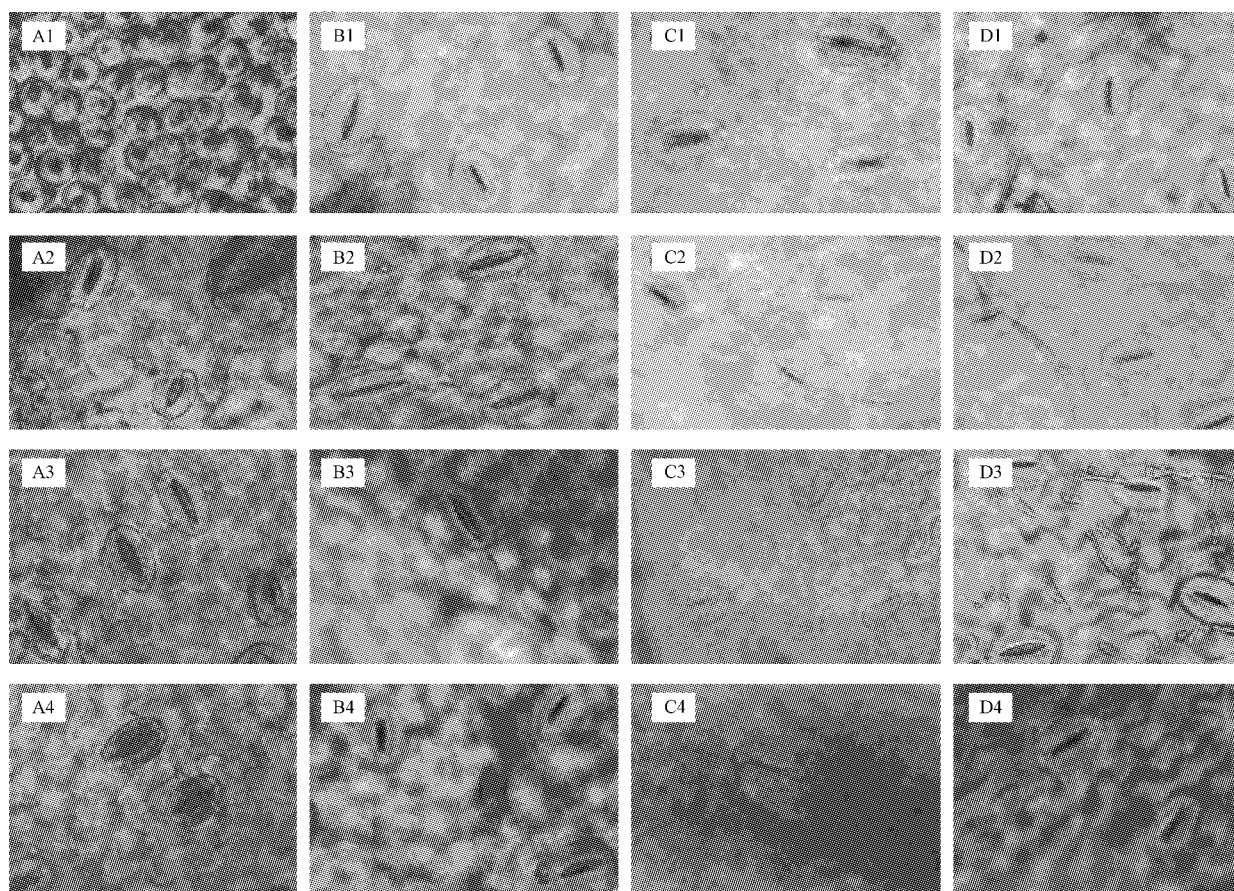
孔保卫细胞,边界模糊。透明 1.0 h 后可以观察到保卫细胞,但边界还是有点模糊,透明 2.0 h 后,可清晰观察到气孔保卫细胞、腺毛,可准确测量长度。处理 3.0 h 后,其气孔保卫细胞的颜色明显比处理 2.0 h 的浅,细胞边界模糊化,不能准确测量其长度。

甘油透明处理 0.5、1.0、2.0 和 3.0 h 后效果不理想。三氯乙醛和甘油混合液作为透明剂处理 0.5 h 后可隐约看到保卫细胞,比单独饱和水合三氯乙醛处理 0.5 h 能看到的保卫细胞的边界更为模糊。处理 1.0 h 后,可观察到的保卫细胞边界但不明显,仍不能用于准确测量。2.0 h 后,可清晰观察到气孔保卫细胞、腺毛,可准确测量气孔、保卫细胞长度。3.0 h 后,叶片完全变成透白色,3 叶片显微图像逐渐模糊,保卫细胞边界不明显,不能用于准确测定其长短轴。考虑透明剂对试验结果的影响、操作时效性及试验人员的人身安全性等因素,筛选出最佳的黄花蒿整体透明方法为,以 10%氢氧化钾为透明剂,透化时间为 1.5 h。

### 2.2 整体透明技术观察二倍体和四倍体黄花蒿叶片气孔保卫细胞大小的差异

随机选取 20 株二倍体和四倍体黄花蒿材料,利用整体透明技术进行气孔及保卫细胞大小观察,并记录气孔保卫细胞长短轴长度,其平均值作为该株叶片气孔及保卫细胞的长短轴长度。结果表明,四倍体和二倍体材料的气孔保卫细胞长、短轴长度及其周长分布不同的区间,二倍体保卫细胞长轴长度区间为 19.69~26.67  $\mu\text{m}$ ,四倍体的为 31.03~35.78  $\mu\text{m}$ ;二倍体短轴长度为 14.21~18.63  $\mu\text{m}$ ,四倍体为 19.68~24.62  $\mu\text{m}$ ,二倍体保卫细胞周长为 57.19~70.33  $\mu\text{m}$ ,四倍体为 83.36~91.99  $\mu\text{m}$ ;对气孔保卫细胞长轴长、短轴长及计算周长等 3 个指标用双样本方差分析,其长轴、短轴及计算周长的  $F$  为 1.8、1.2、1.6  $< F_{0.05} = 2.2$ ,方差齐性,用双样本等方差  $t$ -检验,差异极显著( $t$  分别为 -16.90、-14.22、-24.10,  $P < 0.05$ )。  $t$  测验结果显示,黄花蒿二倍体倍体植株和四倍体植株的气孔保卫细胞长轴、短轴、计算周长值均达差异极显著水平。

从表 1 可以看出,二倍体和四倍体黄花蒿叶片气孔保卫细胞长轴或短轴长度虽然彼此错开,但二倍体长轴长度与四倍体短轴长度具有一定的交叉点,而结合二者之间计算的周长值具有宽阔的区分窗口,约为 13  $\mu\text{m}$ ,说明使用一个结合二元观察值的指标(周长)比单一的观测指标(长轴长度或短轴长度)更能反映并区分气孔保卫细胞的大小,因此周长可以作为用于判断黄花蒿叶片气孔保卫细胞大小的一个典型的形态指标,用于快速鉴定黄花蒿倍性。



注: A1~A4. 10% 氢氧化钾溶液透明处理 0.5、1.0、2.0、3.0 h 后叶片; B1~B4. 饱和水合三氯乙醛处理 0.5、1.0、2.0、3.0 h 后叶片; C1~C4. 甘油处理 0.5、1.0、2.0、3.0 h 后叶片; D1~D4. 水合三氯乙醛和甘油混合液透明处理 0.5、1.0、2.0、3.0 h 后的叶片。

Note: A1~A4. The leaf surface after treatment with 10% KOH for 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 hours; B1~B4. The leaf surface after treatment with glycerite for 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 hours; C1~C4. The leaf surface after treatment with saturation chloral hydrate for 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 hours; D1~D4. The leaf surface after treatment with mixed solution of chloral hydrate and glycerin for 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 hours.

图 1 不同透明剂处理后黄花蒿叶片的显微观察(20 倍物镜)

Fig. 1 Microscopic profiles of wheat leaf surface after whole clearing with different clearing agents (objective 20×)

表 1

黄花蒿二倍体与四倍体叶片气孔保卫细胞大小的比较

Table 1 Comparison of the stomata guard cell size of diploid leaf and tetraploid leaf in *Artemisia annua* L.

序号 No.	二倍体叶片保卫细胞 Diploid leaf stomata guard cell			四倍体保卫细胞 Tetraploid leaf stomata guard cell		
	长轴 Major axis/ $\mu\text{m}$	短轴 Minor axis/ $\mu\text{m}$	周长 Perimeter/ $\mu\text{m}$	长轴 Major axis/ $\mu\text{m}$	短轴 Minor axis/ $\mu\text{m}$	周长 Perimeter/ $\mu\text{m}$
1	26.30	16.83	68.54	31.47	22.17	84.85
2	24.40	16.00	64.12	32.70	20.42	84.53
3	21.81	14.21	57.19	34.20	22.38	89.81
4	24.75	16.12	64.89	35.04	22.91	91.99
5	25.95	15.90	66.67	31.05	21.62	83.36
6	26.15	18.30	70.33	34.90	21.45	89.75
7	25.40	16.40	66.40	33.00	22.01	87.24
8	24.90	15.53	64.34	33.70	21.55	87.80
9	22.50	15.40	60.03	32.55	21.35	85.55
10	20.77	17.50	60.19	33.35	20.95	86.38
11	24.77	14.91	63.27	31.03	21.90	83.72
12	23.56	15.25	61.64	33.18	24.62	91.25
13	25.45	18.63	69.62	34.79	21.80	90.03
14	26.67	15.05	66.80	31.32	21.88	84.19
15	23.58	15.49	62.00	35.23	22.21	91.35
16	20.63	17.54	60.03	31.65	24.17	88.03

表 1(续)

Table 1(Continued)

序号 No.	二倍体叶片保卫细胞 Diploid leaf stomata guard cell			四倍体保卫细胞 Tetraploid leaf stomata guard cell		
	长轴 Major axis/ $\mu\text{m}$	短轴 Minor axis/ $\mu\text{m}$	周长 Perimeter/ $\mu\text{m}$	长轴 Major axis/ $\mu\text{m}$	短轴 Minor axis/ $\mu\text{m}$	周长 Perimeter/ $\mu\text{m}$
17	19.69	18.46	59.91	34.65	21.78	89.76
18	24.12	14.55	61.66	35.78	19.68	88.95
19	24.75	16.25	65.07	33.25	23.87	90.29
20	23.89	15.35	62.35	32.98	21.76	86.85
最大值 Maximum	26.67	18.63	70.33	35.78	24.62	91.99
最小值 Minimum	19.69	14.21	57.19	31.03	19.68	83.36
平均值 Average	24.00	16.18	63.75	33.29	22.02	87.78
变异系数 Variation coefficient/%	8.3	8.1	5.6	4.6	5.3	3.1

2.3 整体透明技术应用于黄花蒿植株倍性鉴定的效果

随机选取 28 株秋水仙素诱变处理的黄花蒿植株,采用以 10%氢氧化钾为透明剂,透化 1.5 h,观察气孔保卫细胞。发现全部的黄花蒿叶片样本均能观察到清晰的气孔及保卫细胞,说明此样品制备方法不仅在个别样品的制备观察中可获得较好效果,而且对大批量的样品观察同样适用。从表 2 可以看出,28 株黄花蒿有 12 株叶片保卫细胞计算周长落在二倍体区间范围内,预测为二倍体,4 株叶片保卫细胞

计算周长落在四倍体区间范围内,预测为四倍体,其它 12 株介于二者之间,预测为嵌合体。说明建立的黄花蒿叶片整体透明技术用于其气孔保卫细胞长度测量,并通过其测定结果进行快速鉴定黄花蒿植株倍性是可行的,可以作为黄花蒿植株倍性鉴定方法之一。具体见表 2 和图 2~4。

表 2 整体透明技术应用于黄花蒿植株倍性鉴定的效果

Table 2 Identification effect of *Artemisia annua* L. ploidy level applied to whole chearing technique

序号 No.	叶片保卫细胞 Leaf stomata guard cell			预测倍性 Prediction ploidy
	长轴 Major axis/ $\mu\text{m}$	短轴 Minor axis/ $\mu\text{m}$	周长 Perimeter/ $\mu\text{m}$	
1	23.00	16.18	61.98	二倍体
2	24.21	18.00	66.63	二倍体
3	22.83	15.74	61.07	二倍体
4	26.61	15.77	67.64	二倍体
5	23.66	15.60	62.29	二倍体
6	24.23	17.10	65.37	二倍体
7	27.15	16.15	69.10	二倍体
8	29.52	19.10	77.22	嵌合体
9	26.13	16.82	68.23	二倍体
10	26.77	16.72	69.20	二倍体
11	34.23	21.81	89.08	四倍体
12	29.57	18.00	75.81	嵌合体
13	29.59	17.52	75.20	嵌合体
14	27.71	19.10	74.12	嵌合体
15	26.44	17.14	69.21	二倍体
16	29.17	19.00	76.48	嵌合体
17	29.28	18.00	75.30	嵌合体
18	30.21	19.00	78.28	嵌合体
19	28.26	18.62	74.39	嵌合体
20	32.12	23.10	87.28	四倍体
21	27.17	21.73	77.01	嵌合体
22	31.72	22.78	86.14	四倍体
23	24.47	17.34	66.12	二倍体
24	29.86	18.53	77.03	嵌合体
25	28.38	19.82	76.28	嵌合体
26	27.97	19.53	75.17	嵌合体
27	33.75	20.59	86.58	四倍体
28	24.18	15.34	62.83	二倍体

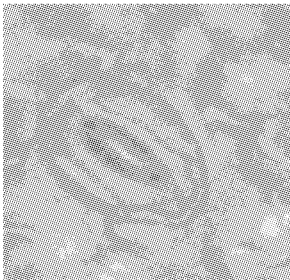


图 2 二倍体保卫细胞

Fig. 2 Diploid leaf stomata guard cell

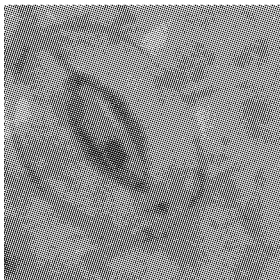


图 3 11 号植株的保卫细胞

Fig. 3 No. 11 plant leaf stomata guard cell

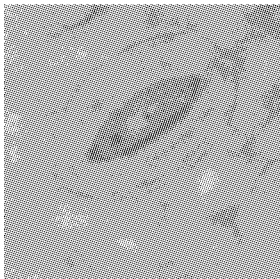


图 4 18 号保卫细胞

Fig. 4 No. 18 plant leaf stomata guard cell

### 3 讨论与结论

观察植物叶片气孔保卫细胞一般可采用直接撕取法、刮制法、透明胶带粘取法和离析法<sup>[7]</sup>。由于黄花蒿叶片相对较小,且卷缩易碎,表皮与叶肉结合紧密,使用以上方法进行气孔保卫细胞观察,其效果和定位性均较差。

整体透明技术是植物学研究中常用的一种制片技术,多用于植物花粉粒、胚、子房和病原物的观察<sup>[8-9]</sup>,整体透明技术的优点在于,在观察的基础上,可进行必要的统计学分析和相对精准的测量,对一些较小的、制作切片困难或用切片法观察效率低下的材料,用此法操作简单易行。

该研究使用整体透明技术制备黄花蒿叶片,观察气孔保卫细胞,只需对叶片进行固定、脱水和透明3个步骤即可在显微镜下进行观察,免去常规制片中表皮撕取或叶肉刮制步骤,操作简便易行,取材少、叶片定位性好、压片清晰度高,且气孔保卫细胞真实性好,可准确测量气孔、保卫细胞的大小。该技术的应用为黄花蒿多倍体育种倍性鉴定研究中大量的、成批的气孔保卫细胞观察提供了一种方便、快捷且高效的样品制备方法。

同一透明剂不同的处理时间对叶片组织结构的影响试验表明,10%氢氧化钾溶液随着处理时间的不断增长,对叶片的组织具有一定的破坏性,影响观察结果,所以用10%氢氧化钾为透明剂时应注意时间的合理性。饱和水合三氯乙醛及三氯乙醛和甘油混合液在一定的时间范围内,不同的处理时间对清晰度也有明显差异,处理3.0 h后黄花蒿叶片颜色褪色较为严重,保卫细胞清晰度也随之降低,但叶片结构完好,无明显变软等损坏,说明饱和水合三氯乙醛及三氯乙醛和甘油混合液对黄花蒿叶结构破坏性较小。甘油属于非损伤性透明剂,是使细胞浸泡在不同的光学平面上显示出来,不破坏或能基本保留细

胞或组织成分,但透明效果相对较差。

研究发现,四倍体与二倍体黄花蒿叶片气孔保卫细胞周长差异显著,其周长范围分别为83.36~91.99  $\mu\text{m}$ 和57.19~70.33  $\mu\text{m}$ ,且相对单一的长轴长或短轴长观察指标,其周长指标对于二倍体与四倍体鉴定具有更宽阔的区分窗口。以10%氢氧化钾溶液为透明剂,透化1.5 h来处理黄花蒿诱变植株叶片,并测量其气孔保卫细胞大小,发现试验组11、20、22、27号的长轴长、短轴长及周长落在四倍体的范围之内。在形态上,11、20、22、27号植物也表现出多倍体性状,如长势旺而浓绿,茎秆粗壮,植株矮化。所以通过整体透明技术观察黄花蒿叶片气孔保卫细胞大小,利用其周长分布在不同的区分窗口,可以对黄花蒿植株倍性进行快速鉴定。

### 参考文献

- [1] 段英姿,客绍英,曹静,等.秋水仙碱诱导南丹参多倍体的研究[J].中国中药杂志,2006,31(6):445-448.
- [2] 吕世民,梁可钧,葛传吉.怀牛膝多倍体育种的研究[J].中药通报,1988,13(7):11-13.
- [3] 张晓艳,刘剑锋,王丽品.药用植物多倍体诱导与鉴定研究进展[J].吉林师范大学学报,2009,11(4):128-131.
- [4] 张菊平,周快索,巩振辉,等.用气孔保卫细胞周长鉴定辣椒植株的倍性[J].西北农业学报,2007,16(2):133-135,141.
- [5] 何丽,孙万仓,曾秀存,等.利用气孔保卫细胞周长及叶绿体数目鉴定油菜种间杂种研究[J].西北植物学报,2013,33(2):280-286.
- [6] 赵林妹,刘录祥,古佳玉,等.一种小麦叶片气孔保卫细胞观察样品的制备方法[J].植物学报,2014,49(1):120-126.
- [7] 杨芳,蒲训.被子植物叶片气孔制片方法研究[J].现代农业科技,2010(22):33-34.
- [8] LIBERATO J R, BARRETO R W, SHIVAS R G. Leaf-clearing and staining techniques for the observation of conidiophores in the Phyllostictaceae (Erysiphaceae) [J]. Australasian Plant Pathology, 2005, 34(3):401-404.
- [9] NOYES R D, ALLISON J R. Cytology, ovule development, and pollen quality in sexual *Erigeron strigosus* (Asteraceae) [J]. International Journal of Plant Sciences, 2005, 166(1):49-59.

## Leaf Stomatal Guard Cell Perimeter Used for Identification of Ploidy of *Artemisia annua* L.

FU Jin'e<sup>1</sup>, LI Yingjing<sup>2</sup>, WEI Shugen<sup>1</sup>, PAN Limei<sup>1</sup>, HU Fengyun<sup>1</sup>, TONG Tingting<sup>1</sup>

(1. Guangxi Branch of Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences/Guangxi Medicinal Resource Protection and Genetic Improvement Key Laboratory, Nanning, Guangxi 530000; 2. Guangxi Green Food Office, Nanning, Guangxi 530000)

**Abstract:** The diploid, tetraploid and colchicine treated *Artemisia annua* L. plants were used as the experimental materials. The integral transparent technique was applied to prepare the sample of the leave of *Artemisia annua* L.

# 萝卜新品种“绿玉”的选育

史小强, 刘艳波, 杨金兰, 宋小南, 别志伟, 韩 荔

(郑州市蔬菜研究所, 河南 郑州 450015)

**摘 要:**“绿玉”萝卜由“豫萝卜一号”和“洛阳露头青 90-1”杂交后系统选育而成的秋萝卜新品种, 生育期 80~85 d。植株半直立, 生长势强; 叶片花叶型、深亮绿色, 叶片数 15.46 片; 肉质根中长圆柱形, 露根率为 79.72%, 表皮光滑, 皮色青绿, 肉色淡绿, 肉质脆, 稍甜多汁; 平均单根质量 1.55 kg, 2013—2014 年区试 667 m<sup>2</sup> 平均产量 5 917.76 kg; 抗霜霉病、病毒病和黑腐病。综合性状表现优良, 适宜河南省秋季露地栽培。

**关键词:**青皮萝卜; “绿玉”; 新品种

**中图分类号:**S 631.103.3 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2017)06-0161-03

萝卜原产我国, 在我国民间有“小人参”之美称, 是我国重要的蔬菜作物之一, 种植十分普遍。但目前生产上推广的品种受地域影响很大, 外地育成的品种很难适应郑州地区的品种需求, 加之人们对萝卜产品质量、风味、商品性等方面的要求越来越高, 郑州地区推广种植的“791”“露头青”等品种已不能满足市场需求。为适应市场变化, 郑州市蔬菜研究所充分挖掘自身资源优势, 选育出生长势强、肉质根

表皮光滑、皮色亮绿、口感脆甜、抗病强、丰产性好、根形为中长圆柱、形状规则、商品外观优秀、特别易于装袋、适合长途运输的秋冬萝卜新品种“绿玉”。

## 1 选育过程

“绿玉”萝卜是郑州市蔬菜研究所自主育成的青皮萝卜新品种, 由“豫萝卜一号”和“洛阳露头青 90-1”杂交后系统选育而成。母本“豫萝卜一号”(“791”萝卜)是以“丹东大青”和“翘头青”2 个萝卜自交系经过杂交和系统选育而成, 花叶、肉质根粗圆锥形, 外皮青绿色, 表皮光滑, 露根率 70% 以上, 品质好, 抗病病毒病, 高产稳产; 父本“洛阳露头青 90-1”来自洛阳郊区地方品种“露头青”, 1990 年选优良单株经过 6 代连续自交, 定向选育而成的稳定自交系, 肉质根长圆柱型, 露根率约 50%, 地上部皮色深绿色, 地下部根皮白色, 肉淡青色, 单根质量 1 kg 左右, 品质好, 耐贮藏, 抗病毒病、霜霉病。

1996 年配制组合, 1997—2002 年连续 6 年进行系统选育, 2003 年秋季进行了产量、抗性田间综合

**第一作者简介:**史小强(1978-), 男, 本科, 助理研究员, 现主要从事萝卜遗传育种及栽培技术等研究工作。E-mail: 281952809@qq.com.

**责任作者:**刘艳波(1963-), 女, 本科, 研究员, 现主要从事萝卜遗传育种及栽培技术等研究工作。E-mail: liuyanbozz@126.com.

**基金项目:**国家大宗蔬菜产业技术体系郑州综合试验站资助项目(CARS-25-G-28); 郑州市科技人才队伍建设计划-科技创新团队资助项目(131PCXTD635); 河南省现代农业产业技术体系郑州综合试验站资助项目(Z2010-03-07)。

**收稿日期:**2016-12-13

The long axis and short axis of stomatal guard cells of different ploidy plants were studied as well as the relationship between stomatal guard cell size and plant ploidy. The results showed that the optimal permeability was obtained by using 10% potassium hydroxide solution as the transparent agent and with the permeabilization time of 1.5 hours. There were significant difference between the length of long axis, short axis length and perimeter of stomatal guard cells of diploid and tetraploid plants, which perimeter range from 57.19—70.33  $\mu\text{m}$  and 83.36—91.99  $\mu\text{m}$ . The rapid preliminary ploidy identification of colchicine treated *Artemisia annua* L. plants was studies via the perimeter distribution in different interval range.

**Keywords:** *Artemisia annua* L.; stomata guard cell; integral transparent technique; ploidy identification