

红掌四倍体的离体诱导及其鉴定

张志胜^{1*}, 黎扬辉², 姜 蕾¹, 李 运¹, 王朱莹¹, 夏 晴², 易懋升²

(¹华南农业大学广东省植物分子育种重点实验室, 广州 510642; ²广州花卉研究中心, 广州 510360)

摘 要: 以愈伤组织为诱导材料, 采用秋水仙素处理方法进行了红掌四倍体的离体诱导。结果发现, 红掌四倍体诱导率因处理方法、秋水仙素浓度和处理时间不同而异。采用液体培养的四倍体诱导率比固体培养的高, 低浓度秋水仙素的诱导率比高浓度的高, 长时间处理的诱导率比短时间处理的高, 基因型对四倍体诱导率影响不明显。在含 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 秋水仙素的液体培养基中振荡培养 14 d, 四倍体诱导率最高, 为 45.5%。四倍体红掌的花药和花粉比二倍体的大, 植株粗壮, 叶片和佛焰苞大而厚, 颜色深, 叶片下表皮上的气孔密度小, 长度长。改良压片法与气孔长度和密度鉴定法是鉴定红掌四倍体的可靠方法。

关键词: 红掌; 多倍体; 气孔鉴定; 细胞学鉴定; 愈伤组织

中图分类号: S 682.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 03-0729-06

In Vitro Tetraploid Induction and Its Identification in *Anthurium andraeanum*

ZHANG Zhi-sheng^{1*}, LI Yang-hui², JIANG Lei¹, LI Yun¹, WANG Zhu-ying¹, XIA Qing², and YI Mao-sheng²

(¹Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Molecular Breeding, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; ²Guangzhou Flower Research Center, Guangzhou 510360, China)

Abstract: Calli were employed to establish the technical system of tetraploid induction in *Anthurium andraeanum* by using colchicine treatment method. The results showed that the induction rate of tetraploid *in vitro* depended on treatment method, concentration of colchicine and duration of treatment. The lower the concentration of colchicine was, the higher the induction rate was. At the same concentration of colchicine, the induction rate of tetraploid using liquid culture was higher than that using solid culture, and the longer the duration of treatment was, the higher the induction rate was. The highest induction rate of tetraploid, 45.5%, was obtained from the calli cultured in the liquid medium supplemented with $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ colchicine for 14 d on a rotator. The induction rate was not affected by genotype. Tetraploid of *Anthurium andraeanum* was characterized by larger and thicker leaves and spathes with deeper color and larger size of pollen, anther and plant. Its length of stomatal cell on lower epidermis leaf cell was longer than that of diploid, while the density of stomata was less than that of diploid. This indicated that tetraploids of *Anthurium andraeanum* could be produced by colchicine treatment and accurately determined by the improved squash method, the length of stomatal cell and the density of stomata.

Key words: *Anthurium andraeanum*; Polyploid; Stomatal appraisal; Cytological appraisal; Callus

多倍体育种是植物育种的重要手段 (Eeckhaut et al, 2004)。多倍体因具有花大, 重瓣性强, 花色艳丽, 花期长, 花朵对称, 抗性强等特点, 越来越受到植物育种家的重视。近年来, 国内外对观赏植物多倍体的诱导和鉴定进行了大量研究, 已在白掌 (Eeckhaut et al, 2004)、虞美人 (马新才等, 2003)、沉香虎头兰 (李涵等, 2005a)、齿瓣石斛 (李涵等, 2005b)、花叶绿萝 (张兴翠, 2004)、芦荟 (Inery & Cequea, 2001; 王俐等, 2001; 张兴翠等, 2001)、香石竹 (瞿素萍等, 2004)、三色堇

收稿日期: 2006 - 12 - 22; 修回日期: 2007 - 03 - 05

基金项目: 广州市农业新品种招标项目 (GK023104)

* E-mail: zszhang@scau.edu.cn

(郑思乡 等, 2003)、百合 (Prosevcicius et al, 2003; 郑思乡 等, 2004)、金鱼草 (胡秀 等, 2004)、非洲紫罗兰 (Seneviratne & Wijesundara, 2004)、杜鹃 (Vänölä, 2000) 等观赏植物上获得了多倍体。

红掌 (*Anthurium andraeanum* Lind.) 是二倍体, 是世界流行的切花和盆花, 市场前景十分广阔 (姜蕾 等, 2006)。目前红掌育种主要采用杂交育种方法进行, 国内外尚未见到红掌多倍体育种的研究报道。本研究以红掌品种 ‘玉女’ 和 ‘热情’ 为材料, 研究红掌四倍体的诱导和鉴定方法, 旨在建立红掌多倍体诱导和鉴定技术体系, 为开展红掌多倍体育种奠定技术基础。

1 材料与方法

1.1 材料

取 ‘玉女’ (Pink Champion) 和 ‘热情’ (Tropical) 的盆栽植株幼叶进行组织培养, 诱导出愈伤组织, 以继代 4 代的愈伤组织为试验材料进行四倍体诱导试验。

1.2 方法

1.2.1 四倍体诱导 采用固体培养和液体振荡培养两种处理方法进行。固体培养诱导是将生长旺盛均匀的红掌愈伤组织分别接种到含 0、0.05、0.1、0.2、0.3 和 0.6 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 秋水仙素的固体培养基上, 处理 30 d; 液体培养诱导是将红掌愈伤组织分别接种到含 0.2、0.5 和 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 秋水仙素的液体培养基中, 在转速为 90 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的摇床上振荡培养 3~14 d, 然后将处理后的愈伤组织转接到不含秋水仙素的相同固体培养基上继续培养到 30 d。两种诱导方法每一处理均设 2 个重复, 10 瓶为 1 个重复, 每瓶 3 块愈伤组织, 处理在温度 (28 ± 2)、散射光的培养室中进行, 基本诱导培养基为 Nitsch (NH_4NO_3 720 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) + 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA + 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2, 4-D + 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖 + 5% 椰子汁。处理后的愈伤组织接种到不含秋水仙素的诱导培养基上培养 2 代 (每代 30 d) 后, 转接到 Nitsch (NH_4NO_3 720 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) + 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT + 0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA + 5% 椰子汁 + 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖 + 7.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 卡拉粉进行芽分化, 当芽长至 3~4 cm 时, 转接到生根培养基 Nitsch (NH_4NO_3 720 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) + 0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + 1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA + 15 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖 + 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ AC 上诱导生根。从再生植株群体中, 随机抽取一定数目的植株进行染色体鉴定, 计算四倍体诱导率 (%) = 四倍体植株数 (株) / 鉴定植株数 (株) $\times 100$ 。

1.2.2 再生植株的倍性鉴定 细胞学鉴定: 参考 Cotias-de-Oliveira 等 (1999) 的压片法。具体步骤如下: 切取再生植株幼嫩的根尖 0.3~0.5 cm; 于 18℃ 黑暗条件下, 用 0.002 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 8 羟基喹啉处理 6~8 h, 每隔 2 h 换一次处理液; 将预处理后的根尖用清水洗净, 于 4℃ 条件下用新鲜配制的卡诺固定液 (95% 乙醇: 冰醋酸 = 3:1) 固定 18~24 h; 弃去固定液, 将根尖置于 37℃ 水浴中, 用 1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 酸解 40~60 min, 然后用蒸馏水水洗 3 次; 用卡诺固定液后固定 18~24 h; 制片前根尖先在蒸馏水内软化 1 h, 然后切取根尖的分生组织放在预先滴一滴卡诺固定液的载玻片上, 用镊子压碎根尖, 弃去残渣, 在酒精灯上烤干; 滴一滴石炭酸品红染料进行染色, 待染料快干时, 盖上盖玻片, 快速经过火焰 6~7 次。在 Olympus-IX71 倒置显微镜下观察, 拍照。

气孔鉴定: 气孔长度和密度的测量采用印迹法 (张秀芳 等, 2002)。具体方法如下: 选取植株中上部成熟叶片, 用蒸馏水擦洗叶片下表面后, 在叶片的下表面中部约 1 cm \times 3 cm 大小的面积上均匀涂上一层无色指甲油 (Maybelline), 待指甲油干燥后, 将指甲油膜取下。将膜与叶片接触的一面面向下置于载玻片上, 盖上盖玻片 (用镊子稍加压力, 使膜平展), 然后在 10 \times 16 倍镜下随机观察 10 个视野, 重复 3 次, 计录各视野中的气孔数; 在 40 \times 16 倍镜下随机观察 10 个气孔, 用标定好的目镜测微尺测量气孔长度。气孔密度由如下公式求出:

气孔密度 (个 / mm^2) = 各视野中气孔个数 (个) / 视野的真实面积 (mm^2)。

1.2.3 统计分析 统计分析以 SPSS 软件进行, 平均数据以 “平均数 \pm 标准误 (SE)” 表示。

2 结果与分析

2.1 四倍体的诱导

采用秋水仙素处理愈伤组织的方法进行了红掌四倍体的诱导 (表 1)。结果发现, 固体培养和液体培养处理均能有效地诱导四倍体, 但液体培养的四倍体诱导率比固体培养的高。在 $0.05 \sim 1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, 秋水仙素浓度越高, 四倍体诱导率越低。在同一秋水仙素浓度下, 处理时间越长, 四倍体诱导率越高。 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 秋水仙素振荡培养 14 d 的四倍体诱导率最高, 为 45.45%。对未经秋水仙素处理的 Pink Champion 和 Tropical 愈伤组织再生植株进行了染色体鉴定, 未发现有多倍体植株。说明秋水仙素能有效诱导红掌四倍体产生。

表 1 红掌 'Pink Champion' 四倍体的诱导率

Table 1 Tetraploid induction rate of Anthurium andraeanum Pink Champion

秋水仙素浓度 Concentration of colchicines ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	处理方法 Treatment method	处理时间 Duration of treatment(d)	鉴定植株数 Number of plants determined	四倍体植株数 Number of tetraploid plants	诱导率 Induction rate (%)
0.05	固体培养 Solid culture	30	31	13	41.94
0.1	固体培养 Solid culture	30	39	15	38.46
0.2	固体培养 Solid culture	30	32	12	37.50
0.3	固体培养 Solid culture	30	36	10	27.78
0.6	固体培养 Solid culture	30	32	9	28.13
0.2	液体培养 Liquid culture	14	33	15	45.45
		10	39	17	43.59
0.5	液体培养 Liquid culture	10	36	15	41.67
		5	34	12	35.29
1.0	液体培养 Liquid culture	5	32	11	34.38
		3	39	10	25.64
0	固体培养 Solid culture	0	50	0	0

培养基 Medium: Nitsch ($720 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$) + $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{BA}$ + $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ + $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 2, 4\text{-D}$ + 5% coconut milk + $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ sucrose.

将品种 Tropical 的愈伤组织接种在含 $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 秋水仙素的固体培养基上培养 30 d, 四倍体诱导率为 39.40%, 同一处理下的 Pink Champion 的四倍体诱导率为 41.94%。表明不同红掌品种在相同处理条件下多倍体诱导率没有明显差异。

2.2 红掌四倍体的鉴定

2.2.1 红掌四倍体的细胞学鉴定 采用改良压片法对未经处理和经秋水仙素处理后的再生植株进行染色体分析。结果发现, 未经处理的再生植株均为二倍体, 其染色体数 $2n = 2x = 30$ (图版, A、B), 有 1 个 B 染色体 (图版, A)。而经秋水仙素处理后的部分再生植株的染色体 $2n = 4x = 60$, 为四倍体 (图版, C、D)。

2.2.2 四倍体红掌的气孔特征 由表 2 和表 3 可知, Tropical 和 Pink Champion 的四倍体与二倍体的气孔长度与气孔密度均存在一定的变异范围, 四倍体的气孔长度显著大于二倍体, 但其气孔密度则均显著小于二倍体。Tropical 和 Pink Champion 的四倍体与四倍体和二倍体与二倍体在气孔长度上差异不明显, 但在气孔密度上存在着明显差异。

对红掌倍性与气孔细胞长度和密度进行相关分析。结果表明, Pink Champion 的气孔长度和倍性呈极显著的正相关关系 [0.9905^{**} , $r_{(0.01,5)} = 0.875$], 而气孔密度和倍性呈极显著的负相关关系 [-0.8831^{**} , $r_{(0.01,5)} = 0.875$]; Tropical 的气孔长度与倍性呈显著的正相关关系 [0.6213^{*} , $r_{(0.05,12)} = 0.532$], 而气孔密度和倍性呈极显著的负相关关系 [-0.8478^{**} , $r_{(0.01,12)} = 0.661$]。说明, 通过气孔长度和密度鉴定红掌四倍体是可靠的。

表 2 红掌二倍体与四倍体的气孔长度

Table 2 The length of stomatal cell of diploid and tetraploid in Anthurium andraeanum

品种 Cultivar	倍性 Ploidy level	最小值 Minimum value (μm)	最大值 Maximum value (μm)	平均值 Mean value (μm)	t-测验 (两尾测验) t-test (two-tail test)	P值 P-value
Tropical	2倍体 Diploid	34.19	36.61	35.38 \pm 0.70	5.5371 ^{**}	0.0001
	4倍体 Tetraploid	36.82	55.16	46.09 \pm 1.97		
Pink Champion	2倍体 Diploid	33.95	36.55	35.40 \pm 0.77	4.2080 ^{**}	0.0084
	4倍体 Tetraploid	46.46	47.57	46.87 \pm 0.26		

表 3 红掌四倍体与二倍体的气孔密度

Table 3 The density of stomata of diploid and tetraploid in Anthurium andraeanum

品种 Cultivar	倍性 Ploidy level	最小值 Minimum value (个/ mm^2)	最大值 Maximum value (个/ mm^2)	平均值 Mean value (个/ mm^2)	t-测验 (两尾测验) t-test (two-tail test)	P值 P-value
Tropical	2倍体 Diploid	35.93	42.86	38.90 \pm 2.06	-2.7464 [*]	0.0177
	4倍体 Tetraploid	15.27	30.19	21.20 \pm 1.55		
Pink Champion	2倍体 Diploid	49.69	63.87	57.12 \pm 4.10	-16.1435 ^{**}	0
	4倍体 Tetraploid	39.39	43.99	41.60 \pm 1.14		

2.2.3 四倍体红掌的形态学特征 四倍体红掌的花药和花粉明显比二倍体的大 (图版, E、F、G)。四倍体红掌植株的外观形态和二倍体有明显差异 (图版, H、I、J和 K), 茎秆相对较粗壮, 叶片皱、叶片和佛焰苞质地较厚, 颜色较深, 株型较大且生长旺盛; 而二倍体植株小, 茎秆较细, 叶片和佛焰苞平整且较薄、颜色较浅。

3 讨论

利用秋水仙素处理组织培养过程中产生的丛生芽、原球茎、体细胞胚、无菌扦插枝等中间繁殖体是诱导观赏植物多倍体的有效方法。瞿素萍等 (2004) 比较了不同诱导方法对香石竹多倍体的诱导效果。结果发现, 无菌茎段浸泡法的效果最好, 培养基内加秋水仙素法次之, 注射法和涂抹法无效。本研究结果表明, 用秋水仙素处理红掌愈伤组织是诱导红掌四倍体的有效方法。

秋水仙素浓度和处理时间是影响离体诱导多倍体形成的重要因素。张兴翠 (2004) 研究结果表明, 0.2%秋水仙素是诱导花叶绿萝丛生芽产生多倍体的适宜浓度。李涵等 (2005b) 以齿瓣石斛丛生芽为材料, 研究秋水仙素浓度和处理时间对多倍体诱导的影响。结果表明, 在 $0 \sim 0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 内, 秋水仙素浓度高, 植株变异率低; 处理时间和变异率之间没有明显的相关性。郑思乡等 (2004) 发现离体培养条件下, 0.05%秋水仙素处理百合不定芽的变异率高于 0.1%秋水仙素处理的变异率。本研究结果也表明, 在 $0.05 \sim 1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 内, 低浓度、长时间处理, 红掌四倍体诱导率高, 高浓度、短时间处理的诱导率低。这与张志胜等 (2005) 在用秋水仙素处理兰花原球茎、胡秀等 (2004) 用秋水仙素处理金鱼草的实生苗芽和郑思乡等 (2003) 用秋水仙素处理三色堇种子所得到的结果不一致。本研究结果还表明, 液体培养基处理的红掌四倍体诱导率高于固体培养基处理的四倍体诱导率, 说明液体培养方式有利于发挥秋水仙素对愈伤组织的诱导作用。

直接观察花粉母细胞、根尖或茎尖细胞内的染色体数目是鉴定植物倍性的可靠方法。本研究参考 Cotias-de-Oliveira 等 (1999) 的压片法, 建立了适合红掌染色体分析的改良压片法, 利用该方法以根尖为材料可获得清晰、分散较好的染色体制片。这为今后开展红掌的倍性育种提供了可靠的鉴定方法。

与二倍体相比, 四倍体通常表现为叶片厚、颜色深、植株粗壮、花粉粒增大、气孔面积增大、花瓣厚、质感厚重等现象 (胡秀 等, 2004; 郑思乡 等, 2004)。本研究结果亦表明, 红掌四倍体具有

上述形态学特征, 其气孔长度显著大于二倍体, 而气孔密度显著小于二倍体, 这与 Carvalho 等 (2005) 在胭脂树 (*Bixa orellana* L.) 上的研究结果一致。本研究对倍性和气孔长度与密度的相关分析结果表明, 倍性和气孔长度呈极显著的正相关关系, 而与气孔密度呈极显著的负相关关系。说明通过检测气孔的长度和密度可以准确地鉴定红掌四倍体。

References

- Carvalho J F R P, Carvalho C R, Otoni W C. 2005. In vitro induction of polyploidy in annatto (*Bixa orellana* L.). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 80: 69 - 75.
- Cotias-de-Oliveira A L P, Guedes M L S, Barreto E C. 1999. Chromosome numbers for *Anthurium* and *Philodendron* spp. (Araceae) occurring in Bahia, Brazil. *Genetics and Molecular biology*, 22 (2): 237 - 242.
- Eeckhaut T G R, Werbrouck S P O, Leus L W H, Bockstaele E J V, Debergh P C. 2004. Chemically induced polyploidization in *Spathiphyllum wallisii* Regel through somatic embryogenesis. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 78 (3): 241 - 246.
- Hu Xiu, Zheng Si-xiang, Gong Xun. 2004. The induction and the cultivation of tetraploid cutflower of *Anthurium majus*. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 19 (5): 524 - 527, 561. (in Chinese)
- 胡秀, 郑思乡, 龚询. 2004. 离体培养条件下金鱼草四倍体切花的诱导及培育. *云南农业大学学报*, 19 (5): 524 - 527, 561.
- Inery J, Cequea H. 2001. Colchicine induced autotetraploid in *Aloe vera*. *Cytologia*, 66 (4): 409 - 413.
- Jiang Lei, Yi Mao-sheng, Lan Tian-wei, Li Yang-hui, Xia Qing, Zhang Zhi-sheng. 2006. Study on characteristics of seed germination of *Anthurium andraeanum* Lind. *Seed*, 25 (1): 19 - 22. (in Chinese)
- 姜蕾, 易懋升, 兰天维, 黎扬辉, 夏晴, 张志胜. 2006. 红掌种子萌发特性的研究. *种子*, 25 (1): 19 - 22.
- Li Han, Long Chun-lin, Zheng Si-xiang, Li Zhi-lin. 2005a. Polyploid induction of *Cymbidium iridioides* and its biological characteristics. *Acta Horticulturae Sinica*, 32 (5): 853. (in Chinese)
- 李涵, 龙春林, 郑思乡, 李枝林. 2005a. 沉香虎头兰多倍体诱导及其鉴定. *园艺学报*, 32 (5): 853.
- Li Han, Zheng Si-xiang, Long Chun-lin. 2005b. Induction of polyploid of *Dendrobium devonianum*. *Acta Botanica Yunnanica*, 27 (5): 552 - 556. (in Chinese)
- 李涵, 郑思乡, 龙春林. 2005b. 齿瓣石斛多倍体的诱导初报. *云南植物研究*, 27 (5): 552 - 556.
- Ma Xin-cai, Dai Jian-min, Li Pei-huan, Dong Xiao-ying. 2003. Preliminary study on polyploid induction of *Papaver rhoeas* L. by chemical mutation. *Journal of Laiyang Agricultural College*, 20 (3): 172 - 174. (in Chinese)
- 马新才, 戴建民, 李培环, 董晓颖. 2003. 虞美人多倍体化学诱变研究初报. *莱阳农学院学报*, 20 (3): 172 - 174.
- Proscavicius J, Sliesaravicius Z, Ranceliene V. 2003. Selection of stock polyploid forms for breeding of lilies. *Sodininkyste ir Darzininkyste*, 22 (3): 553 - 559.
- Qu Su-ping, Xiong Li, Mo Xi-jun, Wang Ji-hua, Zhang Hao, Su Yan. 2004. Polyploid induction of *Dianthus caryophyllus* and variation in polyploids. *Journal of Southwest Agricultural University*, 26 (5): 609 - 612. (in Chinese)
- 瞿素萍, 熊丽, 莫锡君, 王继华, 张颢, 苏艳. 2004. 香石竹的多倍体诱导及其变异研究. *西南农业大学学报*, 26 (5): 609 - 612.
- Seneviratne K A C N, Wijesundara D S A. 2004. New Africa violets (*Saintpaulia ionantha* H. Wend.) induced by colchicines. *Current Science*, 87 (2): 138 - 140.
- Väänälä A. 2000. Polyploidization and early screening of *Rhododendron* hybrids. *Euphytica*, 112 (3): 239 - 244.
- Wang Li, Zheng Si-xiang, Li Zhi-lin, Gu Zhi-jian. 2001. A preliminary study on the polyploid induction and variation of *Aloe vera*. *Acta Botanica Yunnanica*, 23 (4): 493 - 496. (in Chinese)
- 王俐, 郑思乡, 李枝林, 顾志建. 2001. 库拉索芦荟多倍体诱导及其变异初报. *云南植物研究*, 23 (4): 493 - 496.
- Zhang Xing-cui. 2004. Rapid propagation and polyploidy induction in *Scindapsus aune* cv. W LCOX II. *Journal of Southwest Agricultural University*, 26 (1): 58 - 60. (in Chinese)
- 张兴翠. 2004. 花叶绿萝的多倍体诱导及快速繁殖. *西南农业大学学报*, 26 (1): 58 - 60.
- Zhang Xing-cui, Liang Guo-lu, Yang Guang-wei, Yan Yong. 2001. Rapid propagation and polyploidy induction in *Aloe*. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 26 (8): 538 - 540. (in Chinese)
- 张兴翠, 梁国鲁, 扬光伟, 阎勇. 2001. 芦荟的快速繁殖与多倍体诱导. *中国中药杂志*, 26 (8): 538 - 540.
- Zhang Xiu-fang, Shi Dong-li, Zhang Lan. 2002. Simple method for observation the stomatal structure of plant. *Bulletin of Biology*, 37 (6): 42. (in Chinese)

张秀芳, 石东里, 张 兰. 2002 观察植物气孔结构的简易方法. 生物学通报, 37 (6): 42.

Zhang Zhi-sheng, Xie Li, Xiao Ai-xing, He Qiong-ying, Jiang Lei. 2005. Effects of colchicines treatment on growth, differentiation and mutagenesis of protocorm-like body of orchid. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica, 19 (1): 19 - 23. (in Chinese)

张志胜, 谢 利, 肖爱兴, 何琼英, 姜 蕾. 2005. 秋水仙素处理兰花原球茎对其生长和诱变效应的影响. 核农学报, 19 (1): 19 - 23.

Zheng Si-xiang, Hu Xiu, Lei Xiao-yun, Zhang Hai-long, Zhao Yan, Zhou Li-juan. 2003. Study on polyploidy induction of *Viola tricolor* in vitro. Journal of Yunnan Agricultural University, 18 (4): 397 - 400. (in Chinese)

郑思乡, 胡 秀, 雷小云, 章海龙, 赵 燕, 周丽娟. 2003. 离体培养条件下三色堇多倍体诱导研究. 云南农业大学学报, 18 (4): 397 - 400.

Zheng Si-xiang, Zhang Hai-long, Dong Zhi-yuan, Lei Xiao-yun, Hu Xiu, Zhou Li-juan. 2004. Polyploidy induction and *in vitro* bulb propagation of *Lilium oriental* hybrids. Journal of Southwest Agricultural University, 26 (3): 260 - 263. (in Chinese)

郑思乡, 章海龙, 董志渊, 雷小云, 胡 秀, 周丽娟. 2004. 东方百合多倍体诱导及种球繁育的研究. 西南农业大学学报, 26 (3): 260 - 263.



图版说明: A. Pink Champion二倍体植株的根尖染色体数, $2n = 2x = 30 + 1B$ (箭头); B. Tropical二倍体植株的根尖染色体数, $2n = 2x = 30$; C. Pink Champion四倍体植株的根尖染色体数, $2n = 4x = 60$; D. Tropical四倍体植株的根尖染色体数, $2n = 4x = 60$; E. Pink Champion二倍体 (箭头) 和四倍体植株 (箭) 的花药; F. Pink Champion二倍体植株的花粉; G. Pink Champion四倍体植株的花粉; H. Pink Champion二倍体 (箭头) 和四倍体 (箭) 试管苗; I. Tropical二倍体 (箭头) 和四倍体 (箭) 试管苗; J. Pink Champion二倍体 (箭头) 和四倍体 (箭) 开花植株; K. Tropical二倍体 (箭头) 和四倍体开花植株 (箭)。

Explanation of plates: A. The chromosomal number of root tip of Pink Champion, diploid $2n = 2x = 30 + 1B$ (arrow head); B. The chromosomal number of root tip of Tropical, diploid $2n = 2x = 30$; C. The chromosomal number of root tip of Pink Champion, tetraploid $2n = 4x = 60$; D. The chromosomal number of root tip of Tropical, tetraploid $2n = 4x = 60$; E. Anthers of diploid (arrow head) and tetraploid (arrow) of Pink Champion; F. Pollen of diploid of Pink Champion; G. Pollen of tetraploid of Pink Champion; H. Test-tube seedlings of Pink Champion, diploid (arrow head) and tetraploid (arrow); I. Test-tube seedlings of Pink Champion, diploid (arrow head) and tetraploid (arrow); J. Flowering plants of Pink Champion, diploid (arrow head) and tetraploid (arrow); K. Flowering plants of Tropical, diploid (arrow head) and tetraploid (arrow).