

刘露颖,赵喜亭,李明军. 秋水仙碱诱导药用植物多倍体的研究进展[J]. 江苏农业科学,2014,42(4):178-181.

秋水仙碱诱导药用植物多倍体的研究进展

刘露颖, 赵喜亭, 李明军
(河南师范大学生命科学学院,河南新乡 453007)

摘要:本文对秋水仙碱诱导药用植物多倍体的诱导方法、影响多倍体诱导效果的因素及目前存在的问题进行了综述,为进一步开展秋水仙碱诱导药用植物提供依据。

关键词:秋水仙碱;药用植物;多倍体;研究进展

中图分类号: S567.035.2 **文献标志码:** A **文章编号:**1002-1302(2014)04-0178-03

多倍体植物是指具有 3 套或 3 套以上完整染色体组的个体^[1]。由于其染色体数目加倍,个体常表现出营养器官变大、抗逆能力增强等特征,在生物进化与育种上具有重要意义。人们从植物资源中获取食品、药物及其他多种工业原料。目前世界各国对天然药物需求和开发的不断增加,使药用植物面临着日益严重的资源危机,尤其是以营养器官为药材的药用植物资源危机更为严重。因此在有限的资源条件下,如何增加以收获营养器官为主的药用植物的产量就成为研究的重点。多倍体药用植物的获得就成为主要途径,因为多倍体的营养器官较正常植株大,且染色体是在原来基础上整套加倍,不会造成原有药用化学成分的丢失,相反会使原有药用化学成分显著增加^[2-3]。多倍体诱导常用化学方法,所用的化学药剂主要有秋水仙碱、水合三氯乙醛、笑气、富民隆等。其中秋水仙碱只阻碍细胞分裂中期纺锤丝的形成,使细胞中与微管相关的功能受到阻碍和丧失,使有丝分裂被迫中断^[4],但细胞和细胞质并不分离从而导致同源染色体数目加倍,形成同源多倍体,其对染色体的结构并无太大影响,在遗传上也很少出现其他不利的变异^[1]。因此秋水仙碱被广泛应用,其诱导效果也较其他化学药剂好。因此本文对近年来秋水仙碱在诱导药用植物多倍体上的应用进展进行综述。

1 秋水仙碱诱导方法

秋水仙碱诱导药用植物多倍体的方法有活体诱导法和离体诱导法两种。

1.1 活体诱导

活体诱导一般有浸种法、生长点滴定法、涂抹法 3 种方法。近十年来秋水仙碱活体诱导药用植物的例子见表 1。

1.1.1 浸种法 浸种法,就是将植物种子完全浸入到适当浓度的秋水仙碱溶液中,在适宜温度下处理适宜时间获得多倍体植株的方法。这种方法适用于以种子为繁殖材料的药用植

物,已在甘草种子^[5]、菰蓝种子^[6]、牛蒡种子^[7]、罗汉果种子^[8]、新疆雪莲种子^[9]上进行了研究(表 1)。研究发现此法虽然简单易操作,但诱导率低,变异植株出现嵌合体的现象较严重,如甘草种子经 0.20% 秋水仙碱处理 24 h,诱导率仅为 3.33%,且获得的变异植株均为四倍体的嵌合体^[5];菰蓝种子和牛蒡种子经适当浓度的秋水仙碱处理适宜时间后,虽然能获得较高的诱导率(菰蓝种子为 37.5%、牛蒡种子为 40.0%),但获得的多倍体植株也均为嵌合体^[6-7]。另外,这种方法使植物种子直接暴露在秋水仙碱溶液中,因此加大了秋水仙碱对植株的毒性作用,造成种子萌发和根系生长困难,且死亡率高,罗汉果种子用 0.1% 的秋水仙碱浸泡 48 h 后就开始出现毒害现象^[8];用秋水仙碱浸泡新疆雪莲种子获得的绝大部分变异植株,其根系在生长后期因秋水仙碱的毒害作用而受损,无法吸收营养,最终导致死亡^[9]。

表 1 秋水仙碱活体诱导药用植物多倍体的例子

植物名称	诱导方法	参考文献
甘草(<i>Glycyrrhiza uralensis</i>)	浸种法	[5]
菰蓝(<i>Isatis indigotica</i>)	浸种法	[6]
牛蒡(<i>Arctium lappal</i>)	浸种法	[7]
罗汉果(<i>Siraitia grosvenori</i>)	浸种法	[8]
新疆雪莲(<i>Saussurea involucrata</i>)	浸种法	[9]
罗汉果(<i>Siraitia grosvenori</i>)	生长点滴定法	[8]
半枝莲(<i>Portulaca grandiflora</i>)	生长点滴定法	[11]
杜仲(<i>Eucommia ulmoides</i>)	生长点滴定法	[12]
枸杞(<i>Lycium barbarum</i>)	生长点滴定法	[13]
紫苏(<i>Perilla frutescens</i>)	生长点滴定法	[14]
罗汉果(<i>Siraitia grosvenori</i>)	涂抹法	[8]
桔梗(<i>Platycodon grandiflorum</i>)	涂抹法	[16]
黄芩(<i>Scutellaria baicalensis</i>)	涂抹法	[17]
金银花(<i>Lonicera japonica</i>)	涂抹法	[18]
刺果甘草(<i>Glycyrrhiza pallidiflora</i>)	涂抹法	[19]

1.1.2 生长点滴定法 生长点滴定法是用化学诱变溶液处理植物的顶芽或腋芽,或将含有化学诱变溶液的脱脂棉球包裹植物生长点获得多倍体植株的方法^[10]。该方法已成功用于半枝莲^[11]、杜仲^[12]、枸杞^[13]、紫苏^[14]、百合^[15]和罗汉果^[8]等药用植物上(表 1)。研究发现与浸渍法相比,此法秋水仙碱用量少、材料伤害轻、诱导率高。如半枝莲茎尖生长点用 0.1% 的秋水仙碱溶液点滴处理 12 h,诱导率达 75%^[11]。此外,这种方法对于诱导纯合多倍体植株效果较好,在杜仲^[12]、

收稿日期:2013-08-20
基金项目:中国博士后科学基金(编号:2011M500457);中央高校基本科研业务费专项资金(编号:2011JS076);河南省教育厅自然科学研究计划(编号:2010A180015)。
作者简介:刘露颖(1988—),女,河南信阳人,硕士研究生,主要从事药用植物生物技术研究。E-mail:liuluying2007@163.com。
通信作者:李明军,博士,教授。E-mail:limingjun2002@263.net。

枸杞^[13]和紫苏^[14]上都已成功获得了纯合多倍体植株,其中杜仲获得纯合四倍体的比率高达 36.7%^[12]。但此法有时会因药液易滑落而难以侵入生长点等造成多倍体诱导率降低。

1.1.3 涂抹法 涂抹法就是将化学诱变物质和琼脂混合制作成半固体(常用 0.2% 的秋水仙碱与 0.1% 的琼脂混合),然后将其涂抹在植物的顶芽或腋芽上获得多倍体植株的方法。应用该方法已在桔梗^[16]、黄芩^[17]、金银花^[18]、刺果甘草^[19]等药用植物上成功获得多倍体植株(表 1)。如用 0.05% 的秋水仙碱琼脂涂抹桔梗幼芽 72 h,获得了 50% 的多倍体诱导率^[16];用 0.2% 的秋水仙碱琼脂涂抹黄芩幼苗茎尖 48 h,获得了 70% 的多倍体诱导率^[17]。此方法避免了药液易滑落的问题,对植株的伤害也较小,但又因药剂和生长点不能完全接触而影响诱导效果。

1.2 离体诱导

离体诱导是结合组织培养技术诱导多倍体的方法,根据化学诱导试剂添加的方式不同分为浸泡法和培养基中添加化学诱导试剂法。近 10 年来秋水仙碱离体诱导药用植物的例子见表 2。

表 2 秋水仙碱离体诱导药用植物多倍体的例子

植物名称	诱导方法	参考文献
桃叶型半夏 (<i>Pinellia ternata</i>)	浸泡法	[20]
蓝桉树 (<i>Eucalyptus globulus</i>)	浸泡法	[21]
桔梗 (<i>Platycodon grandiflorus</i>)	浸泡法	[22]
百合 (<i>Lilium brownii var. viridulum</i>)	浸泡法	[23]
天山雪莲 (<i>Saussurea involucreata</i>)	浸泡法	[24]
库拉索芦荟 (<i>Aloe barbadensis</i>)	浸泡法	[25]
黄花蒿 (<i>Artemisia annua</i>)	浸泡法	[26]
怀地黄 (<i>Rehmannia glutinosa</i>)	浸泡法	[27]
半枝莲 (<i>Portulaca grandiflora</i>)	浸泡法	[28]
南丹参 (<i>Salviae bowleyana</i>)	培养基中添加秋水仙碱	[29]
丹参 (<i>Salvia miltiorrhiza</i>)	培养基中添加秋水仙碱	[30]
石斛 (<i>Dendrobium nobile</i>)	培养基中添加秋水仙碱	[31]
川贝母 (<i>Fritillaria cirrhosa</i>)	培养基中添加秋水仙碱	[32]
蒲公英 (<i>Taraxacum mongolicum</i>)	培养基中添加秋水仙碱	[33]
川黄柏 (<i>Cortex Phellodendri chinensis</i>)	培养基中添加秋水仙碱	[34]

1.2.1 浸泡法 浸泡法是将离体材料浸泡在无菌的秋水仙碱溶液中静置或者震荡一段时间,然后再转接到培养基中获得多倍体植株的方法。这种方法已在多种药用植物上进行了研究(表 2)。此法诱导效果明显,如以 0.003% 秋水仙碱浸泡处理桃叶型半夏单细胞 24 h,诱导率为 35.59%^[20];以 0.5% 的秋水仙碱处理蓝桉树茎尖 4 d,诱导率为 36.7%^[21];用 0.1% 秋水仙碱浸泡处理桔梗 40 h,诱导率可达 50%^[22]。另外该法容易获得纯合多倍体,以秋水仙碱溶液浸泡处理百合丛生芽,得到的变异芽 75% 为纯合的四倍体^[23];用秋水仙碱处理天山雪莲无菌苗、库拉索芦荟也分别获得了纯合四倍体和多倍体植株^[24-25]。但是使用此法时秋水仙碱与离体材料作用较直接,对材料生长和分化的抑制作用也很明显,诱导率也会因此降低,如用 0.05% 的秋水仙碱处理黄花蒿叶芽 48 h,诱导率为 24%^[26];用 0.1% 的秋水仙碱溶液浸泡怀地黄带芽茎段 24 h,诱导率仅为 12.9%^[27];用 0.2% 的秋水仙碱浸泡半枝莲茎尖 3 h,多倍体诱导率也仅为 10%,且均为多倍体嵌合体^[28]。

1.2.2 培养基中添加秋水仙碱 培养基中添加秋水仙碱法已在多种药用植物上进行了研究,且取得了一定的进展(表 2)。如将南丹参的叶片接种在含 15 mg/L 秋水仙碱的培养基中 7 d,诱导率为 33.33%,且有部分植株加倍成为同源四倍体^[29];将丹参的丛生芽接种在含 12 mg/L 秋水仙碱的培养基上 6 d,诱导率为 36.6%^[30];将石斛的类原球茎接种在含 0.075% 秋水仙碱的培养基上 14 d,诱导率为 43.1%^[31];将川贝母愈伤组织在 1 000 mg/L 秋水仙碱的培养基上处理 5 d,诱导率达 70%^[32]。研究结果表明此法避免了对外植体的直接伤害,减少了冲洗外植体的次数,降低了受污染的机率。但在避免秋水仙碱对外植体直接伤害的同时也减弱了秋水仙碱对外植体的作用,导致诱导效果不明显,如将蒲公英的叶片接种到 75 mg/L 秋水仙碱的培养基中培养 5 d,诱导率仅为 13.73%^[33]。将川黄柏茎段愈伤组织接种在含有 0.2% 秋水仙碱的培养基上,多倍体植株诱导率也仅为 12.45%^[34]。

2 影响秋水仙碱诱导多倍体的因素

2.1 外植体

外植体的来源是影响秋水仙碱诱导效果的一个很重要的因素。在秋水仙碱处理植物体细胞染色体加倍试验中,外植体一般为愈伤组织、种子、芽、胚状体、茎尖分生组织、试管苗及由花柄、叶片、花茎组织培养所得的原球茎^[35]。此外,也有花粉^[36]。不同植物诱导多倍体的适宜外植体不同^[35]。天山雪莲的适宜外植体为无菌苗^[24];南丹参的适宜外植体为叶片,诱导率可达 33.33%^[29]。在对百合的研究中发现,与鳞片^[37]、无菌试管苗^[38]、丛生芽^[23]相比,不定芽是最为适宜的外植体,诱变率达 50.0%^[39]。另外,随着研究的深入,人们发现外植体的发育时期也是影响诱导效果的一个重要因素。种子和芽可以在休眠状态或代谢旺盛时期进行处理,但生长点处理时期越早,获得的多倍体数目愈多,处理时间愈晚,则大多数出现嵌合体^[40]。

2.2 秋水仙碱浓度及处理时间

秋水仙碱的浓度和处理时间是影响染色体加倍的最重要的外在条件。用秋水仙碱处理时,植物种类不同,其浓度和处理时间的最佳组合不同^[41]。以浸泡法为例,非洲菊染色体加倍的适宜浓度和时间组合是 0.1%、8 h^[42];毛泡桐染色体加倍的适宜浓度和时间组合是 0.05%、48 h^[43];长春花染色体加倍的适宜浓度和时间组合是 0.2%、24 h^[44];桉树染色体加倍的适宜浓度和时间组合是 0.21%、26.2 h^[45];盾叶薯蓣微块茎加倍的适宜浓度和时间组合是 0.15%、24 h^[46];怀地黄染色体加倍的适宜浓度和时间组合是 0.1%、24 h^[27]。菊花脑种子进行染色体加倍诱导的适宜浓度和时间组合是 50 mg/L、48 h^[40];药用百合丛生芽进行染色体加倍诱导的适宜浓度和时间组合是 0.1%、72 h^[23];库拉索芦荟试管苗进行多倍体诱导的适宜浓度和时间组合是 0.06%、12 h,而对其茎段、叶片进行秋水仙碱棉球覆盖处理时,0.02% 的秋水仙碱处理 48 h 为最适宜的浓度和时间组合^[25]。这可能是由于不同来源的外植体对秋水仙碱的反应、耐受能力及敏感程度不同所致。

3 存在问题与展望

虽然在细胞有丝分裂过程中,秋水仙碱能够阻止纺锤体

的形成而使染色体加倍,但随着研究的进一步深入,用秋水仙碱诱导药用植株染色体加倍还存在着一些亟待解决的问题。

首先,毒害问题。秋水仙碱对药用植株的毒害作用主要表现在:抑制种子的萌发、根的生长和不定芽的分化,甚至使材料在处理过程中死亡,另外处理后外植体在继代培养中也容易褐化死亡。因此在处理药用植物材料过程中筛选出最适宜的秋水仙碱浓度及处理时间显得尤为关键,在保证诱导效果的情况下应尽量减少秋水仙碱用量,缩短材料与秋水仙碱的接触时间。

其次,嵌合体现象。由于分生组织细胞分裂的不同步性,用秋水仙碱处理后并不是所有细胞都可以加倍为多倍体,染色体未加倍的细胞与加倍的细胞嵌合在一起就形成了嵌合体。由于嵌合体现象严重,使得真正同一倍性的多倍体频率过低,严重制约了药用植物多倍体育种的发展。要从嵌合体中筛选出多倍体,可从形态上筛选出与正常植株有显著差异的多倍体叶片等材料,通过组培手段获得再生植株;或对其植株进行分离繁殖、多次继代培养等方法消除嵌合体;也可直接将嵌合体解离为单个细胞,进行单细胞培养,再将判定为多倍体的单细胞挑出后直接再生形成植株。

因为多倍体的产生受外植体的生长状态、倍性水平,以及秋水仙碱的处理时间、浓度、温度和渗透剂等因素的影响,要使秋水仙碱诱导成为药用植物多倍体育种的一项成熟技术,还需要在更多的药用植物上开展广泛的研究。

尽管秋水仙碱在药用植物多倍体诱导上还存在一些问题,但其在药用植物的多倍体育种工作中也取得了较大的进展,获得了一些抗逆性强、品质优的多倍体新品种^[12-14]。随着秋水仙碱诱导多倍体方法的成熟,以及与现代生物技术相结合,其在缓解药用植物种质退化、培育优质药用植物品种等方面将会发挥更大的作用。

参考文献:

- [1]程金水. 园林植物遗传育种学[M]. 北京:中国林业出版社, 2000:170-223.
- [2]张汉明,许铁峰,郭美丽,等. 药用植物的多倍体育种[J]. 中草药,2002,33(7):98-100.
- [3]张海风,郑辉,陈新华,等. 药用植物多倍体研究进展[J]. 河北林果研究,2008,23(2):169-172,175.
- [4]王秀芳,李悦. 植物多倍体育种研究进展[J]. 林业科技, 2003,28(5):1-5.
- [5]鲍智娟,邢秀芹. 秋水仙碱处理甘草种子诱导多倍体的研究[J]. 吉林农业科技学院学报,2009,18(4):3-5.
- [6]刘丽萍,王丽艳,殷奎德. 菘蓝的多倍体诱导研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2008,20(3):23-26,42.
- [7]匡全,梁国鲁,郭启高,等. 秋水仙碱诱导牛蒡多倍体[J]. 植物生理学通讯,2004,40(2):157-158.
- [8]闫志刚,白隆华,马小军,等. 不同秋水仙碱处理方法对罗汉果植株变异的影响[J]. 种子,2012,31(2):97-98,101.
- [9]张蜀敏,王晓军,郝秀英,等. 新疆雪莲多倍体的诱导初探[J]. 西北农业学报,2008,17(1):216-220.
- [10]景士西. 园艺植物育种学总论[M]. 北京:中国农业出版社, 2002:200-228.
- [11]王真,陈道明,李春燕,等. 半支莲多倍体诱导的初步研究及鉴定[J]. 广东农业科学,2010,37(8):74-77.
- [12]张海风,郭宝林,张成合,等. 杜仲四倍体的诱导与鉴定[J]. 园艺学报,2008,35(7):1047-1052.
- [13]宋平,王学风,蔡明,等. 秋水仙碱诱导观赏植物多倍体研究进展[J]. 湖北农业科学,2009,48(6):1510-1513.
- [14]胡彦. 中国紫苏属植物种源评价及紫苏多倍体育种的初步研究[D]. 北京:北京林业大学,2010.
- [15]刘亚娟,李名扬,屈云慧. 秋水仙碱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.
- [16]Wu Y X, Yang F H, Zhao X M, et al. Identification of tetraploid mutants of *Platycodon randiflorus* by colchicine induction[J]. Caryologia,2011,64(3):343-349.
- [17]乔永刚,赵晓明,宋芸. 秋水仙碱诱导黄芩多倍体的研究[J]. 中国医药生物技术,2008,3(5):389-390.
- [18]王惠利,赵晓明. 金银花多倍体诱变及早期形态鉴定[J]. 山西农业科学,2012,40(12):1240-1242,1253.
- [19]吴玉香,贺润丽,高建平,等. 刺果甘草多倍体诱变育种的研究[J]. 山西农业大学学报:自然科学版,2004,24(2):116-117,129.
- [20]郭巧萍. 桃叶型半夏多倍体诱导研究[D]. 杭州:浙江理工大学,2009.
- [21]Lin H, Jian M, Liang L Y, et al. Production of polyploids from cultured shoot tips of *Eucalyptus globulus* Labill by treatment with colchicine[J]. African Journal of Biotechnology,2010,9(15):2252-2255.
- [22]王小华,熊丽,屈云慧,等. 中国桔梗多倍体诱导与花期鉴定[J]. 云南植物研究,2006,28(6):593-598.
- [23]张兴翠,周昌华,殷家明,等. 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):14-17.
- [24]康喜亮,郝秀英,刘敏,等. 秋水仙碱诱导天山雪莲四倍体的研究[J]. 西北植物学报,2011,31(1):180-185.
- [25]王俐,郑思乡,李枝林,等. 库拉索芦荟的多倍体诱导及其变异初报[J]. 云南植物研究,2001,23(4):493-496.
- [26]周国海,曹庸,徐东翔,等. 黄花蒿多倍体诱导初步研究[C]//全国第8届天然药物资源学术研讨会论文集. 2008:268-271.
- [27]王建军. 怀地黄四倍体诱导及生物学特性研究[D]. 新乡:河南师范大学,2012.
- [28]瞿大枫. 药用植物半枝莲的组织培养及多倍体诱导[D]. 南京:南京师范大学,2007.
- [29]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.
- [30]房翠萍. 丹参多倍体诱导,毛状根培养及其丹参酮产量提高的研究[D]. 合肥:安徽农业大学,2011.
- [31]Sarathum S, Hegele M, Tantivivat S, et al. Effect of concentration and duration of colchicine treatment on polyploidy induction in *Dendrobium scabrilingue* L. [J]. European Journal of Horticultural Science,2010,75(3):123-127.
- [32]王强,兰利琼,傅华龙. 秋水仙碱诱导川贝母愈伤组织多倍体的研究[J]. 武汉植物学研究,2002,20(6):449-452.
- [33]钟淑梅. 蒲公英人工加倍及其应用价值研究[D]. 武汉:华中农业大学,2010.
- [34]王跃华. 川黄柏多倍体诱导研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(6):448-451.
- [35]郑永强,徐坤. 秋水仙碱在植物体细胞染色体加倍中的应用研究进展[J]. 中国农学通报,2003,19(5):89-91,98.

李 涛,吕国敏,黄小林,等. 温度和盐度骤变对黑鲷仔鱼存活率的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(4):181-182.

温度和盐度骤变对黑鲷仔鱼存活率的影响

李 涛,吕国敏,黄小林,李加儿,林黑着,陈利雄,黄 忠

(中国水产科学研究院南海水产研究所/农业部南海渔业资源开发利用重点实验室,广东广州 510300)

摘要:研究了温度和盐度骤变对黑鲷仔鱼存活率的影响。结果表明:当水温由 18 ℃ 降至 14、12 ℃ 时,黑鲷仔鱼在 24 h 的存活率接近 50%;当水温由 18 ℃ 骤升至 22 ℃ 以上时,仔鱼存活率急剧下降;当水温由 18 ℃ 骤升至 26 ℃ 时,仔鱼在 24 h 内全部死亡,可见温度骤升较温度骤降对黑鲷仔鱼存活率影响更大。当盐度由 28 骤升到 33 时,24 h 的黑鲷仔鱼存活率明显降低,但仍高于 80%;其他盐度骤变处理下黑鲷仔鱼均有较高的存活率,差异不显著。温度骤变对黑鲷仔鱼存活率的影响较盐度骤变更显著。

关键词:温度;盐度;骤变;黑鲷仔鱼;存活率

中图分类号: S917.4;S965.231

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2014)04-0181-02

黑鲷 (*Sparus macrocephalus*) 为池塘及网箱养殖的重要对象之一,其肉质鲜美,营养价值丰富,经济价值较高^[1]。黑鲷的人工繁殖与育苗虽已成功,养殖技术也比较成熟,但育苗期易受到环境及其他因子的影响,黑鲷人工育苗存活率存在很大的不稳定性。温度和盐度是影响海水鱼类生存、生长的重要环境因子,温度和盐度骤变会改变养殖水体中的化学成分与生物成分,更可能直接破坏鱼体与外界环境的平衡,从而影响鱼类健康,甚至造成鱼类死亡。目前已有关于温度、盐度骤变对海洋生物生存、发育、生长影响的研究,如张英杰等研究了低盐度突变对中国对虾仔虾存活率的影响^[2],陈琴等研究了南美白对虾仔虾、幼虾对盐度突变的适应能力^[3],王吉桥

等研究了盐度骤降对不同发育阶段仿刺参存活和生长的影响^[4],田甜等研究了温度骤变对史氏鲟幼鱼活动状况及成活率的影响^[5],蒋翰鹏等研究了温度和盐度突变对近缘大眼剑水蚤存活率的影响^[6]。本研究探讨了温度、盐度骤变对黑鲷仔鱼存活率的影响,旨在为黑鲷及其他鱼类早期育苗生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

从育苗池中捞取 10 日龄黑鲷仔鱼,暂养在与育苗池盐度(28)和温度(18 ℃)相同的条件下备用。试验期间停止投喂饵料。试验过程中尽量减少对鱼苗的物理伤害,并剔除活力弱或受伤的鱼苗,以减少误差。

供试海水为沙滤的自然海水,盐度 34,生化培养箱将水温控制在 12~26 ℃。不同盐度的试验用水用过滤的天然海水、充分曝气的自来水、卤盐(天然海水晒制而成)调配。

1.2 方法

1.2.1 盐度骤变试验 取培育在盐度 28、温度 18 ℃ 条件下的 10 日龄黑鲷仔鱼,直接放到盐度分别为 1.3%、1.7%、2.0%、2.2%、2.6%、2.8% (对照)、3.0%、3.3% 的 2 L 烧杯

收稿日期:2013-08-23

基金项目:中国水产科学研究院基本科研业务费专项(编号:2012TS31、2012A0703、2012TS30);广东省海洋渔业科技推广专项(编号:B201101B04)。

作者简介:李 涛(1985—),男,湖南张家界人,硕士,研究实习员,从事鱼类繁殖与育种研究。E-mail:lit151415@126.com。

通信作者:吕国敏,副研究员,从事海水鱼类繁育研究。E-mail:gmlu116@sina.com。

[36]罗跃龙,彭 菲,刘 军. 杭白芷的多倍体诱导与培育[J]. 中国中药杂志,2004,29(2):186-187.

[37]黄济明. 百合的组织培养和试管内诱发多倍体试验[J]. 园艺学报,1983,10(2):125-128.

[38]何 林,张 洁,郭启高,等. 东方百合 Tiber 多倍体诱导及其快繁研究[J]. 西南大学学报:自然科学版,2006,28(6):945-949.

[39]郑思乡,章海龙,董志渊,等. 东方百合多倍体诱导及种球繁育的研究[J]. 西南农业大学学报:自然科学版,2004,26(3):260-263.

[40]陈发棣,蒋甲福,房伟民. 秋水仙碱诱导菊花脑多倍体的研究[J]. 上海农业学报,2002,18(1):46-50.

[41]赵 阳,黄 韬. 秋水仙碱在园艺植物多倍体育种中的应用研究进展[J]. 上海蔬菜,2010(2):29-31.

[42]Gantait S,Manda N L,Bhattacharyya S,et al. Induction and identi-

cation of tetraploids using *in vitro* colchicine treatment of *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Sciella[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture,2011,106(2):485-493.

[43]Tang Z Q,Chen D L,Song Z J,et al. *In vitro* induction and identification of tetraploid plants of *Paulownia tomentosa* [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture,2010,102(2):13-220.

[44]Xing S H,Guo X B,Wang Q,et al. Induction and flow cytometry identification of tetraploids from seed-derived explants through colchicine treatments in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don[J]. Journal of Biomedicine & Biotechnology,2011,8(43):1155-1165.

[45]Han C,Xu J M,Du Z H,et al. Polyploidy induction of clone of *Eucalyptus grandis* with colchicine[J]. African Journal of Biotechnology,2011,10(66):14711-14717.

[46]张笑艺. 盾叶薯蓣四倍体诱导及高温抗性研究[D]. 武汉:华中农业大学,2009.