URL: https://doi.org/10.11983/CBB-2026-0010

万寿菊多倍体诱导及鉴定[1]

王丽君[1*], 蔡江潍[1], 文锴[1], 田银帅[1], 王星[1], 边光亚[2], 柴硕琛[1]
[1]河北工程大学园林与生态工程学院, 邯郸 056038; [2]石家庄市农林科学研究院, 石家庄 050899

摘要 万寿菊(*Tagetes erecta*)分为观赏型和色素型, 其中色素型万寿菊花瓣富含叶黄素, 广泛用于食品添加剂、保健品和肉类着色。色素型万寿菊市场需求量逐年稳步增长, 供不应求。加快万寿菊高产育种迫在眉睫。通过秋水仙素处理二倍体万寿菊锦绣 1 号种子, 发现种子萌发后下胚轴增粗。在营养生长期, 变异类型丰富多样。通过游标卡尺测量并结合石蜡切片分析, 发现处理组 M7 的小叶增宽且增厚。同时由于茎部细胞增大导致茎粗增加。通过流式细胞仪鉴定株系 M7 为纯合四倍体, 其舌状花瓣显著增大。通过扫描电镜观察发现其细胞明显增大, 可能与花朵直径和单头花鲜重增大有关。通过高效液相色谱法检测出其叶黄素含量显著升高。研究获得花朵鲜重大且叶黄素含量高的万寿菊加倍材料, 为进一步推广应用奠定了基础。

关键词 万寿菊, 多倍体, 花瓣发育, 叶黄素
王丽君, 蔡江潍, 文锴, 田银帅, 王星, 边光亚, 柴硕琛 (2026). 万寿菊多倍体诱导及鉴定. 植物学报 **61**, 1–10.

万寿菊(*Tagetes erecta*)为菊科万寿菊属一年生草本植物, 分为观赏型和色素型两大类(魏晓梅和吴丽芳, 2021; Mehraj et al., 2024)。观赏型万寿菊花大、花期长, 在花境黄色系营造中扮演着重要角色(王鑫和弓弼, 2018)。色素型万寿菊花瓣呈橘黄色, 除了园林绿化应用外, 其舌状花瓣富含天然叶黄素, 被称为软黄金(王贵等, 2025)。叶黄素因具有潜在的抗炎和抗氧化作用而被应用于医疗健康领域(冯丹琦等, 2024)。例如, 叶黄素在缓解视觉疲劳中具有时效性、安全性和质量可控性, 是保护眼睛的重要营养素(宋宸等, 2022)。此外, 叶黄素属于天然色素, 具有安全环保的特性, 可以增加肉类的色泽, 影响其市场售价(王一冰等, 2021)。综上, 万寿菊市场需求量大, 尤其作为叶黄素提取主要来源的色素型万寿菊, 已供不应求, 培育高产的色素型万寿菊新品种意义重大。

目前, 市场上多数万寿菊为二倍体, 遗传基础狭窄, 导致育种困难(符勇耀等, 2021; Aravind and Dhanavel, 2021; 炎天埸等, 2025)。研究表明, 杂交育种可增加万寿菊的花朵数, 在以自交系 S5 和突变体 *JH* 为亲本获得的 F_2 代分离群体中, 鉴定到基因 *Telf*, 该基因调控舌状花冠(有裂片)以及雄蕊性状(王文静等, 2023; 马雪璟等, 2024)。万寿菊花冠瞬时转化体系的建立也为利用基因工程育种和花发育研究奠定了基础(窦淋琳等, 2025)。

倍性育种能产生丰富的性状变异, 是塑造物种适应性与多样性的重要基础。染色体加倍方式包括自然加倍与人工诱导, 其中人工诱导具有耗时短、效率高的优势。用秋水仙素处理紫珠(*Callicarpa bodinieri*)后会导致其开花结实率降低(童俊和陈法志, 2012)。甘菊多倍化后气孔增大, 叶片反而变小(莫官站等, 2010)。兰科花卉多倍体呈现粗壮、叶宽厚、花大色艳等优良性状, 然而嵌合体较多, 且易恢复为二倍体(吴婷等, 2022)。近年来, 在万寿菊多倍体育种方面也取得了诸多进展。符勇耀等(2021)和陈建新等(2022)利用秋水仙素获得了染色体加倍的万寿菊新种质, 但都没有进一步检测叶黄素产量是否有变化。

因此, 本研究以多倍体诱导为切入点, 旨在获得花朵增大且叶黄素含量增加的纯合多倍体万寿菊新种质, 为提升色素型万寿菊产量奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料为二倍体色素型万寿菊(*Tagetes erecta*)锦绣 1 号, 其种子购自内蒙古喀喇沁旗锦绣花卉种植销售处。

收稿日期: 2026-01-13; 接受日期: 2026-02-27
[1] 基金项目: 河北省自然科学基金(No.C2022402029)和国家自然科学基金(No.32201616)
* 通讯作者。E-mail: wanglijun@hebeu.edu.cn

© 植物学报 Chinese Bulletin of Botany

1.2 方法

1.2.1 多倍体诱导

采用秋水仙素诱导多倍体的方法。称量对应克数的秋水仙素粉末，用少量乙醇溶解后，加水配制成 1.5、2.0 和 2.5 $g·L^{-1}$ 秋水仙素溶液。挑选饱满的万寿菊种子各 60 粒放入秋水仙素溶液中，23°C、100 $r·min^{-1}$ 摇床振荡 8 小时。振荡后，将离心管内的秋水仙素溶液倒掉，用清水冲洗 3 次，确保无秋水仙素残留，随后将种子转移至含有双层湿润滤纸的培养皿中。待连续 2 天不再有种子萌发，计算最终萌发率。每处理设 3 个生物学重复。

1.2.2 生长指标测定

胚轴膨大是秋水仙素处理后最早产生的多倍体性状(李泽根, 2024)。用游标卡尺分别测量对照和处理组的下胚轴直径。每个浓度分别筛选出 132、117、137 棵具有显著差异的幼苗，但大部分不能长根，将能够长根且存活的万寿菊幼苗种植在 32 孔穴盘(蛭石:营养土=3:1，v/v)中。将对照和经筛选组织巨大型样本同时进行无菌快繁，获得群体。待苗长至 6 片叶时，选择 10 棵组内长势一致的材料，测量从上至下第 3 片成熟叶的复叶宽和小叶宽。用同样基质在花盆中培养至盛花期，用游标卡尺测量花朵直径和最外轮花瓣的长和宽，用分析天平称量盛花期单头花朵的鲜重。

1.2.3 石蜡切片制作

取相同部位的新鲜组织，即从上至下第 3 片成熟叶和第 3 节茎段，立即投入组织固定液中固定 24 小时。将修切好的组织置于包埋框内，依次用 75%、85%、90%和 95%乙醇和无水乙醇脱水 1.5 小时，继续用醇苯处理 10 分钟，二甲苯处理 10 分钟，甲苯处理 10 分钟，65°C 熔化石蜡 0.5 小时。将浸好蜡的组织放入包埋机进行包埋。–20°C 冷却，用石蜡切片机切片，切片厚度为 4 μm。取切片漂浮于摊片机(servicebio,SWE-JBL5)，40°C 温水上将组织展平，60°C 烘箱烤片，常温保存备用。

采用番红固绿染色法对石蜡切片进行染色。将切片放入植物番红染色液中染色 2 分钟，然后依次放入 50%、70%和 80%梯度浓度乙醇中各 5 秒进行脱色。接着放入固绿染色液中染色 15 秒，再用无水乙醇进行三缸脱水(时间分别为 5、10 和 20 秒)。将切片放入干净的二甲苯透明 5 分钟，中性树胶封片。利用光学显微镜(重庆奥特光学 DV2000 和 OPTPro 显微图像分析处理系统)进行观察和图像采集。利用扫描仪(servicebio, LG-S80)对茎段进行图像采集。

1.2.4 扫描电镜观察

采集盛花期最外轮花瓣的新鲜组织，沿长度方向将其平均切割为 2 份，分别标记为近轴端和远轴端。将样品置于电镜固定液中，室温下固定 2 小时，用 0.1 $mol·L^{-1}$ 磷酸缓冲液 PBS (pH7.4)漂洗 3 次，每次 15 分钟。依次将样品置于浓度为 30%、50%、70%、80%、90%、95%和 100%的乙醇中，每次处理 15 分钟，随后用乙酸异戊酯脱水 15 分钟。把样本置于临界点干燥仪(Quorum, K850)中进行干燥处理。将样本紧密粘贴在导电碳膜双面胶上，置于离子溅射仪(HITACHI, MC1000)的样品台上，进行喷金导电处理 30 秒。在扫描电子显微镜(HITACHI, SU8100)下观察并采集图像。

1.2.5 流式细胞仪检测

取新鲜的待测样本(从上向下数第 3 片成熟叶) 0.2 g，剪碎，加入 500 μL CyStain UV Precise P 试剂盒中的细胞核裂解液，提取 60 秒。用 50 μm celltrics 滤网将样本过滤至样品管中，加入 2 000 μL CyStain UV Precise P 试剂盒中的 DAPI 荧光染液，避光染色 2 分钟。使用 CyFlow Space 流式细胞仪(Sysmex Partec)上机测试。

1.2.6 叶黄素含量测定

参考 GB5009.248-2016 食品安全国家标准，准确称取 10 mg 标准品(上海源叶生物科技有限公司，B21485)，加 0.1% BHT 乙醇溶液定容至 10 mL，备用。用乙醇溶液配制标准曲线 0.05、0.1、0.2、0.5、1 和 2 $mg·L^{-1}$。以浓度为横坐标，面积为纵坐标绘制标准曲线(见附件 1)，得到公式 f(x)=332 168*x–552.815，拟合度(R^2)=0.999 930 4。

色谱条件：采用岛津液相色谱仪 LC-20A；紫外检测器为 SPD-20A；色谱柱为迪马 C18 4.6 mm × 250 mm 5 μm；吸收波长 445 nm；柱温 30°C；流速 1.0 $mL·min^{-1}$；流动相 A 为 88%甲醇；流动相 B 为甲基叔丁基醚。连续进样 6 次，发现保留时间 15 分钟。叶黄素检测专属性好，适用于样品检查。色谱图见附件 1。

称取盛花期后新鲜花瓣 5 g，液氮速冻后用冷冻干燥机(Christ EPSI10N 2-6D LSC Plus,

德国)进行冻干处理。取冻干样本 1 g，加 0.2 g BHT 和 10 mL 乙醇，混匀，防止氧化，加入 10% KOH 溶液，振荡混匀，室温避光皂化 30 分钟，加入环己烷:乙醚:正己烷=1:2:2 (v/v/v) 溶液萃取，重复 2 次，合并提取液，加水洗涤 2 次，合并有机相，浓缩至干，加入 0.1% BHT 乙醇溶液定容至 10 mL，过 0.22 μm 有机滤膜，上机检测。

$$x = \frac{c \times v \times a \times f}{m \times 10 \times (1 - 水分)} \times 1/F$$

式中，x 为叶黄素含量平均值(以干基计，mg·100g^{-1})，c 为检测值(mg·L^{-1})，a 为标准品系数，v 为定容体积(10 mL)，f 为稀释倍数，F 为矫正系数，m 为取样质量(g)。

1.2.7 数据统计分析

用 WPS office 软件记录数据，并利用函数公式进行计算，绘制柱形图。利用 IBM SPSS Statistics 27 软件，采用独立样本 t 检验对群体数据进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 多倍体诱导

分别用 1.5、2.0 和 2.5 g·L^{-1} 秋水仙素溶液处理万寿菊种子 120 粒，设 3 个生物学重复。对照组和处理组种子在第 3 天开始萌发，第 8 天萌发数量不变，经秋水仙素处理后，对照组和 3 个处理组种子萌发率分别为 77.22%、76.67%、64.44%和 67.22%。处理后 14 天，观察到经秋水仙素处理的万寿菊幼苗下胚轴明显增粗。结果表明，1.5 g·L^{-1} 秋水仙素处理组有 73.3%的幼苗下胚轴增粗；2.0 g·L^{-1} 秋水仙素处理组有 65%的幼苗下胚轴加粗；2.5 g·L^{-1} 秋水仙素处理组有 76.1%的幼苗下胚轴加粗。对照组下胚轴直径平均值为 0.76 mm，而 3 个处理组下胚轴直径分别为 1.28、1.26 和 1.26 mm，总体比对照组增粗约 67%，且差异显著(图 1)。这些形态变化符合多倍体的特征，初步判定多倍体诱导成功。

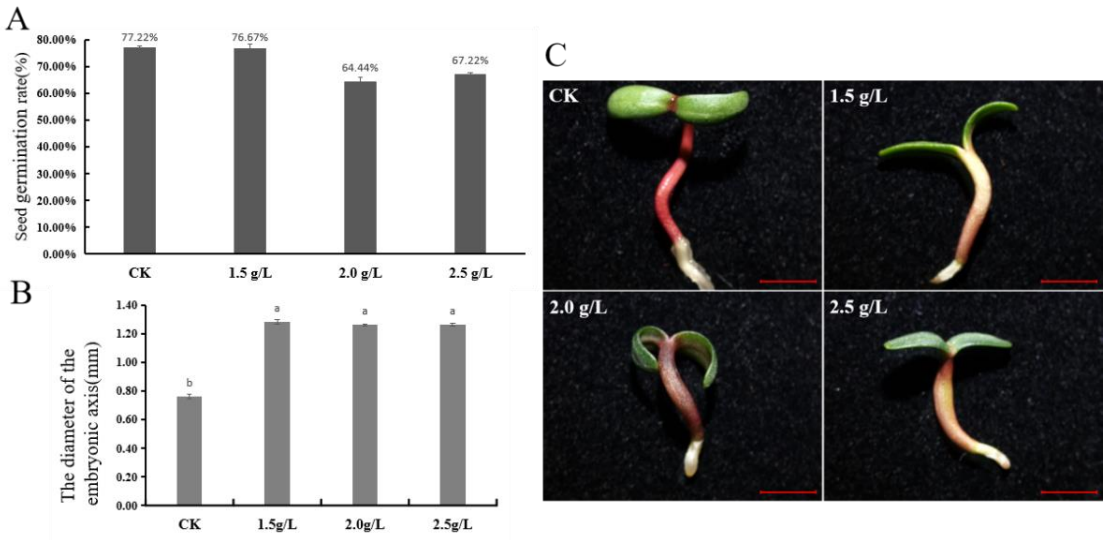


图 1 不同浓度秋水仙素处理下万寿菊种子萌发率及下胚轴表型

(A) 萌发率; **(B)** 下胚轴直径数据统计分析(采用独立样本 t 检验，不同小写字母表示差异显著(P<0.05)); **(C)** 下胚轴表型(bar=1 cm)。CK: 秋水仙素浓度为 0。

Figure 1 Germination rate and hypocotyl phenotype of Marigold seeds under different concentration of colchicine treatments

(A) Germination rate; **(B)** Statistical analysis of hypocotyl diameter (Different lowercase letters indicate significant differences (P<0.05) determined by independent samples t-test); **(C)** Phenotype of hypocotyl (bar=1 cm). CK: The concentration of colchicine is 0.

2.2 多倍体形态学和细胞学鉴定

经秋水仙素处理后，万寿菊表型变异类型丰富，且秋水仙素严重抑制根的生长。将对照以及能够长根且长势粗壮的处理组材料种植于光照培养箱中，培养条件为 22°C，相对湿度为 78%。在营养生长时期，观察到 M7(处理组)的第 3 片成熟叶比对照(二倍体)的小叶宽度明显增大，但是复叶宽度无显著差异(图 2A, B)。这可能是由于小叶排列更紧密，使得复叶中小叶间距减小，但并未改变复叶宽度。采用石蜡切片技术，将同位置小叶纵切，在光学显微镜下

观察到 M7 的小叶增厚(图 2C); 在扫描电镜下观察到茎秆中皮层细胞、髓部细胞及维管束细胞均增大, 且形态由圆形变为近六边形(图 2D)。

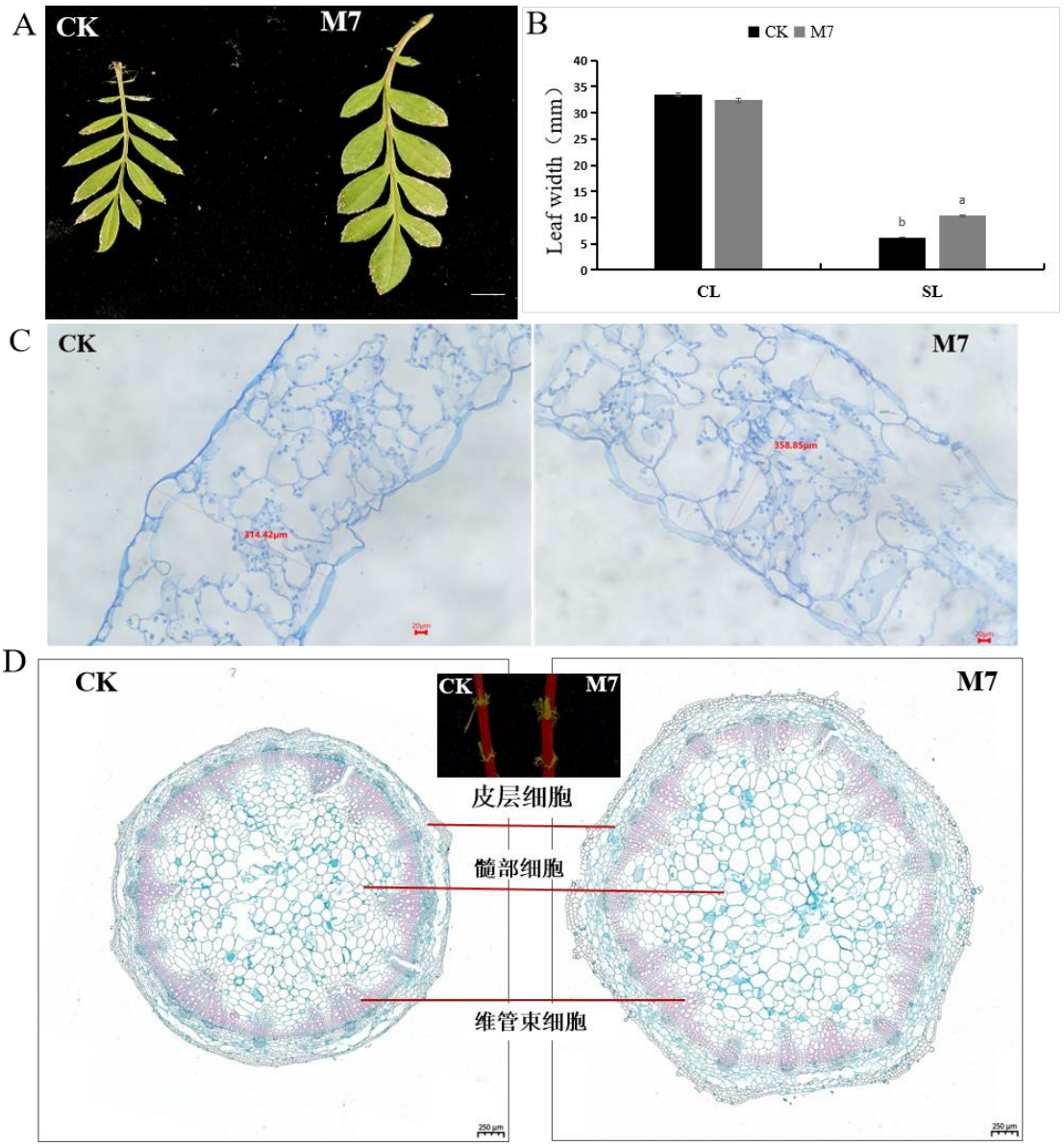


图 2 万寿菊二倍体及多倍体的叶和茎形态特征分析
(A) 叶片表型(bar=10 mm); **(B)** 叶片宽度数据统计分析(CL: 复叶宽; SL: 小叶宽; 采用独立样本 *t* 检验, 不同小写字母表示差异显著(P<0.05)); **(C)** 叶片的石蜡切片纵切面细胞结构(bar=20 μm); **(D)** 茎的横切面细胞结构(bar=250 μm)。CK: 二倍体; M7: 多倍体。

Figure 2 Analysis of morphological characteristics of leaves and stems in diploid and polyploid marigolds
(A) Leaf phenotype (bar=10 mm); **(B)** Statistical analysis data of leaf width (CL: Compound Leaf width; SL: Simple Leaf width; Different lowercase letters indicate significant differences (P<0.05) determined by independent samples *t*-test); **(C)** Longitudinal section of cell structure in paraffin-embedded leaf tissue (bar=20 μm); **(D)** Cross-sectional cell structure of the stem (bar=250 μm). CK: Diploid; M7: Polyploid.

2.3 多倍体纯合性鉴定

取从上至下第 3 片成熟叶的游离细胞核, 随后用荧光染液对细胞核染色体上的碱基进行染色, 并利用流式细胞仪检测染色碱基发出的荧光强度, 并作图(横坐标为荧光强度, 纵坐标为细胞数量)。荧光强度与 DNA 含量成正比, 结果显示 M7 荧光强度(2–3)比对照荧光强度(1)增大 1 倍左右, 且为单一峰(图 3)。因此确定 M7 是纯合四倍体, 为后续花部产量提高研究提供了优良材料。

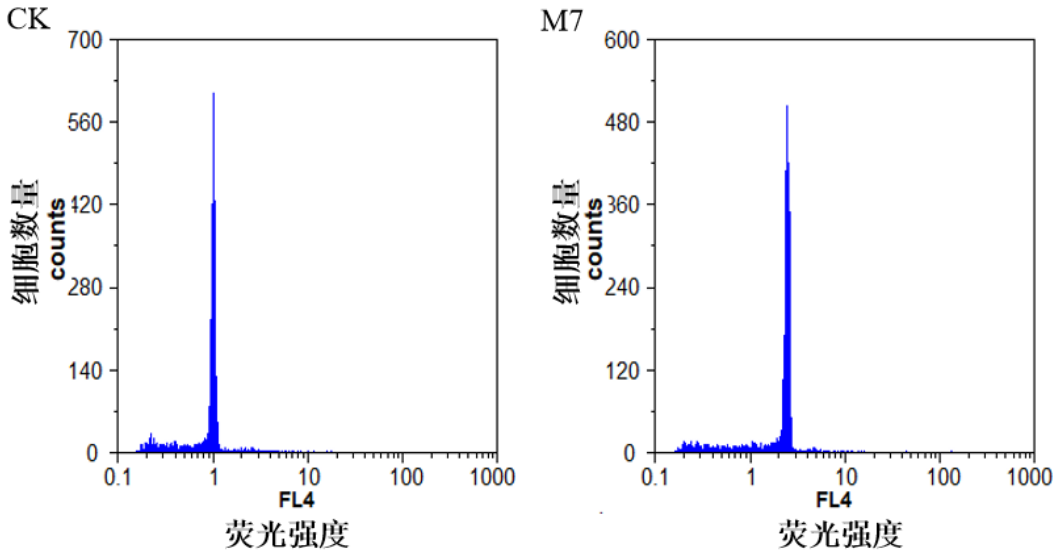


图 3 流式细胞仪鉴定万寿菊多倍体
CK: 二倍体; M7: 多倍体

Figure 3 Flow cytometry identification of polyploidy in marigold
CK: Diploid; M7: Polyploid

2.4 多倍体产量指标

2.4.1 花朵大小

对照和处理组(多倍体)材料生长约 2 个月，全部舌状花瓣完全展开，处于盛花期，进行拍照记录。结果显示，处理组 M7 的花朵明显增大，且相同位置的花瓣变大(图 4A); M7 花序直径(42.21 mm)比对照(34.31 mm)增大 7.9 mm (图 4B); M7 舌状花瓣的长和宽均显著增大(图 4C)。最终导致单朵花鲜重 M7 (1.91 g)比对照(1.09 g)增加约 75% (图 4D)。综上表明四倍体比二倍体表现出高产性状。

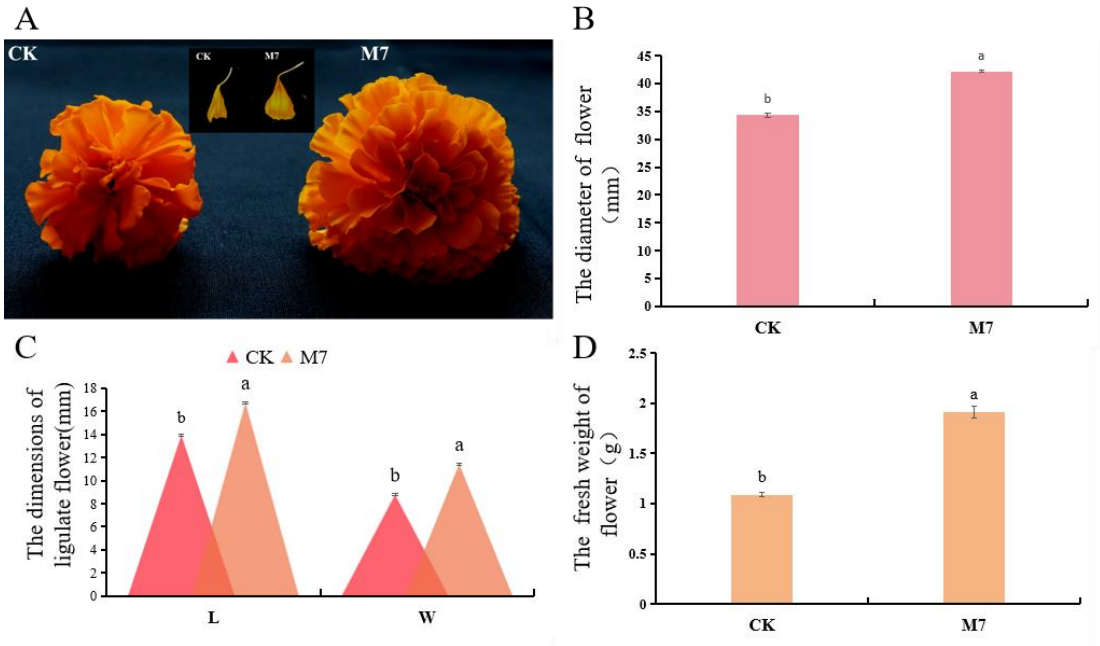


图 4 纯合四倍体花部形态观察和数据统计
(A) CK 和 M7 花朵表型; **(B)** 花朵直径数据统计分析; **(C)** 舌状花瓣长(L)和宽(W)数据分别分析; **(D)** 花朵鲜重统计分析。采用独立样本 *t* 检验，不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。CK: 二倍体; M7: 纯合四倍体。

Figure 4 Observation and data statistics of floral morphology in homozygous tetraploids
(A) Floral phenotypes of CK and M7; **(B)** Statistical analysis of flower diameter; **(C)** The length (L) and width (W) data of ligulate petals were analyzed separately; **(D)** Statistical analysis of flowers fresh weight. Different lowercase letters indicate significant differences (P<0.05) determined by independent samples *t*-test. CK: Diploid; M7: Homozygous tetraploid.

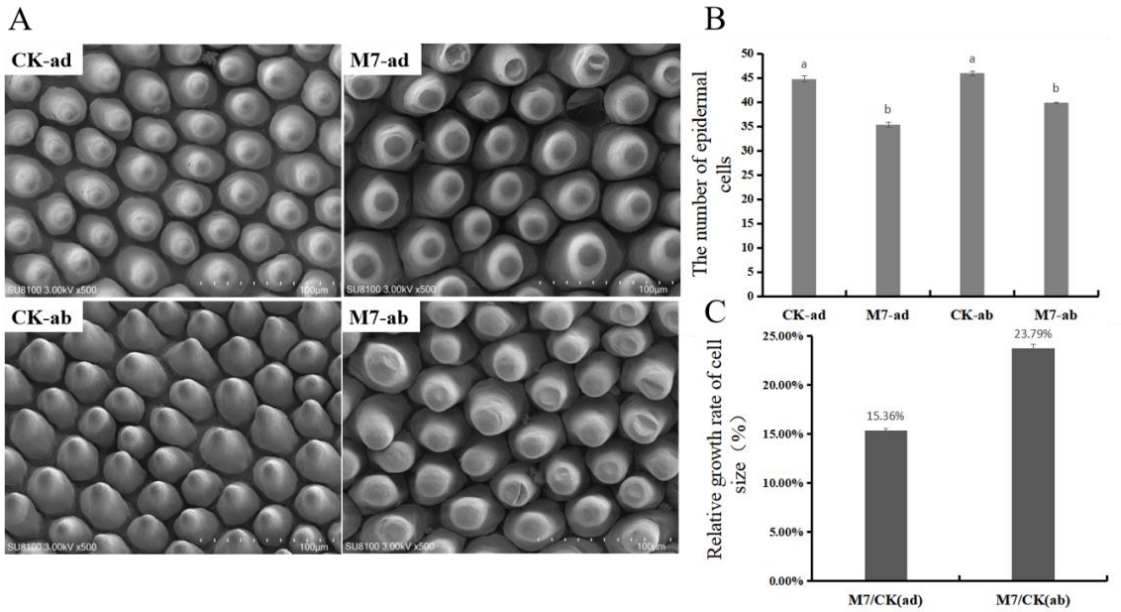


图 5 花瓣表皮细胞大小变化

CK: 二倍体; M7: 纯合四倍体; ad: 花瓣的近轴端, ab: 花瓣的远轴端。采用独立样本 *t* 检验，不同小写字母表示相同区域的 M7 与 CK 相比差异显著(P<0.05)。Bar=100 μm

Figure5 Changes in the size of petal epidermal cells

CK: Diploid; M7: Homozygous tetraploid; ad: Adaxial side of petal; ab: Abaxial side of petal. Different lowercase letters indicate significant differences between M7 and CK in the same region ($P < 0.05$),determined by independent samples *t*-test. Bar=100 μm

选取最外轮完全展开的花瓣，将其分为近轴端与远轴端两部分，在扫描电镜相同视野倍数下观察，结果显示 M7 花瓣近轴端与远轴端的凸起细胞均显著增大(图 5A)。在 500×扫描电镜下统计细胞数量并计算相对直径变化率，表明 M7 (四倍体)花瓣近轴端和远轴端的细胞直径分别比对照(二倍体)增大 15.36%和 23.79%，相同视野下细胞数量减少(图 5B，C)。我们推测凸起细胞的增大致使舌状花瓣增大，也可能与叶黄素含量存在一定关联。

2.4.2 叶黄素含量

在花朵增大的情况下，进一步采用高效液相色谱法检测叶黄素含量。叶黄素检测方法参考 GB 5009.248-2016 食品安全国家标准。其中横坐标代表保留时间，即根据标准曲线确定，叶黄素被检测到的时间为 15 分钟；纵坐标表示响应值，峰面积可反映响应值。设 3 个生物学重复。结果表明, M7 峰面积大于对照(图 6A)。根据检测结果，计算叶黄素含量(以干基计)，显示 M7 花瓣中叶黄素含量为 3.92 mg·100g^{-1}，比对照(2.98 mg·100g^{-1})显著增高 31.54% (图 6B)。

3 讨论

色素型万寿菊的花瓣作为叶黄素提取的主要原材料，其市场需求量稳步增长。为了满足市场需求，提高万寿菊的产量已成为当前育种工作的重要方向。万寿菊为菊科万寿菊属一年生花卉。菊科作为双子叶植物中的最大科，其典型特征为头状花序，该头状花序由外围的舌状花与盘心的管状花共同构成，其中舌状花形态多变，是主要观赏部位(Wen et al., 2022)。菊花的舌状花发育过程包含形态与大小两个方面。近年来，基于转录组测序和基因工程育种的花发育研究，阐明了菊花花瓣融合呈钩状等形态特征的分子机制(Ding et al., 2019; Cheng et al., 2020)。目前，关于菊花花瓣大小变化的研究相对较少。菊花花发育经历现蕾期、破蕾期、始花期和盛花期，在此过程中，细胞分裂与细胞扩展持续进行，分别决定了花瓣的最终细胞数量和细胞面积(Guan et al., 2025)。借助激素检测及转录组数据，研究表明参与菊花花瓣伸长的主要植物激素是生长素，调控花瓣伸长的关键因子包括 TCPs、bHLH 和 GRXC 等(Wang et al., 2017)。

然而，万寿菊多为二倍体，遗传背景简单，基因工程育种面临诸多挑战。虽然杂交育种效率低、周期长，但也能产生花朵数目增多的优良表型(马雪璟等, 2024)。诱变育种具有高效的特点，其中用物理方式诱变后得到矮秆表型，而化学试剂(秋水仙素)诱变后，紫珠和甘菊中分别出现开花结实率降低、气孔增大但叶片变小的表型(莫官站等, 2010; 童俊和陈法志,

2012)。本研究聚焦有利于产量的变异类型，通过秋水仙素诱导，经过幼苗期、营养生长期的严格筛选，最终获得叶片增大、茎秆增粗的植株，并从细胞微观结构层面揭示了叶片增厚及茎秆增粗的原因。虽然兰科花卉多倍体出现粗壮、叶宽厚、花大色艳等优良性状，但嵌合体多，易恢复为二倍体(陈建新, 2022; 炎天堦等, 2025)。本研究采用高效、准确的流式细胞仪检测技术(Faisal et al., 2021)，获得纯合的四倍体万寿菊，单朵花鲜重较二倍体高 75%，且纯合四倍体万寿菊中叶黄素含量显著增高，说明该纯合四倍体是相对优异的高产品种，为进一步推广应用奠定了基础。

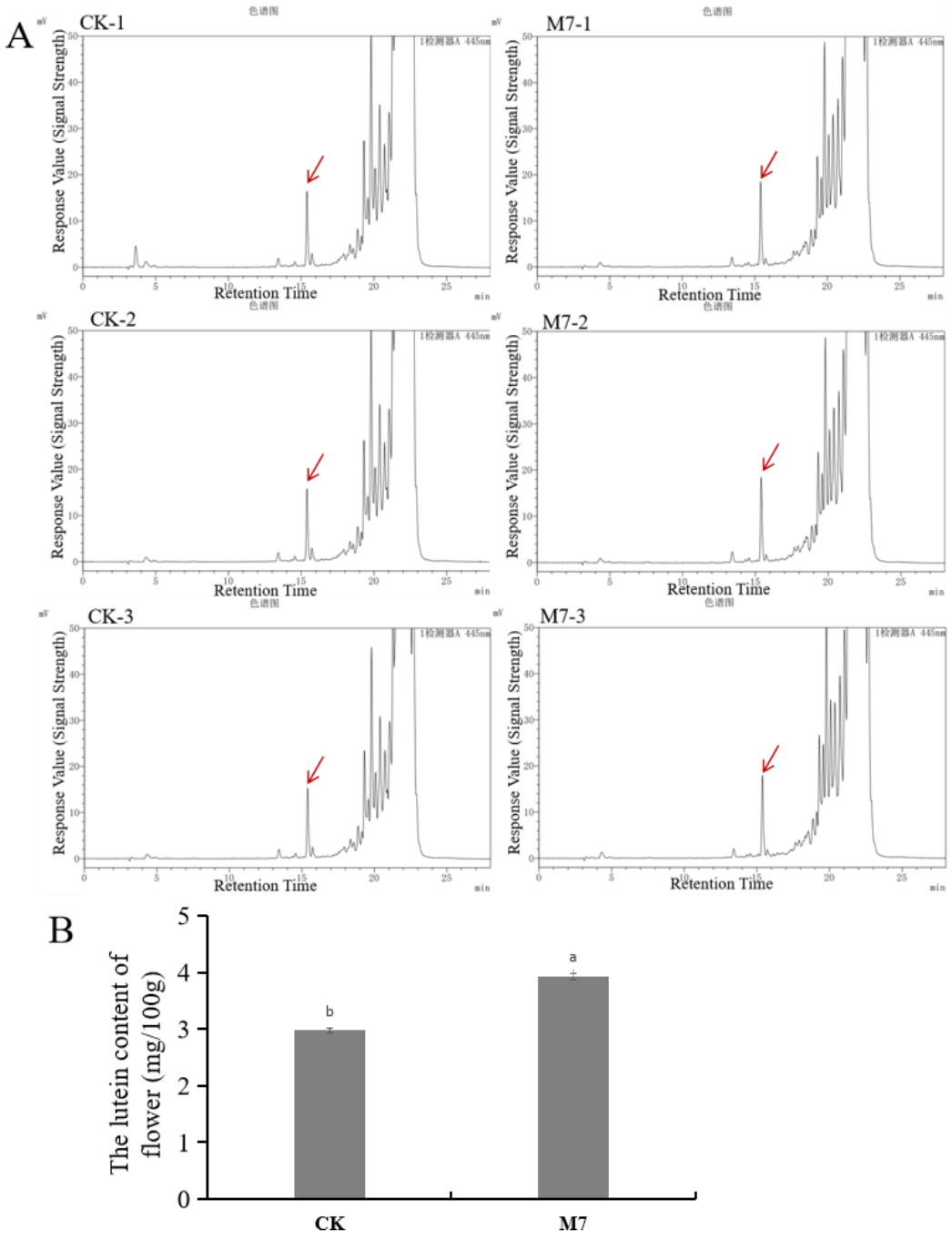


图 6 四倍体和二倍体叶黄素含量比较

(A) 色谱图; **(B)** 叶黄素含量柱形图。采用独立样本 *t* 检验，不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。 CK-1, CK-2, CK-3: 二倍体 3 个生物学重复; M7-1, M7-2, M7-3: 四倍体 3 个生物学重复。

Figure 6 Comparison of lutein content between tetraploid and diploid

(A) Chromatogram; **(B)** Bar chart of lutein content. Different lowercase letters indicate significant differences (P<0.05) determined by independent samples *t*-test. CK-1, CK-2, CK-3: Three biological replicates of diploid; M7-1, M7-2, M7-3: Three biological replicates of polyploid/tetraploid.

© 植物学报 Chinese Bulletin of Botany

作者贡献声明

王丽君: 实验整体方案的设计, 实验实施及论文的撰写和修改; 蔡江潍和文锴: 实验实施, 数据采集和分析; 田银帅: 实验方案和技术协助指导; 王星: 参与论文讨论, 提供仪器使用指导; 边光亚: 参与技术指导; 柴硕琛: 协助完成部分实验内容。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests: The authors declare that there is no conflict of interests.

©The author(s) 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

参考文献

Aravindan S, Dhanavel D (2021). Induced physical and chemical mutagenesis on marigold (*Tagetes erecta* L.) to determine the lethality, germination and seedling survivability. *Int J Bot Stud* **6**, 235–237.

Chen JX, Zhang CL, Zhang HN, Lü JH (2022). Studies on germplasm creation of polyploid marigold induced by colchicine. *Seed* **41**, 54–61. (in Chinese)
陈建新, 张春来, 张海楠, 吕晋慧 (2022). 秋水仙素诱导万寿菊多倍体种质创制研究. 种子 **41**, 54–61.

Cheng P, Liu Y, Yang Y, Chen H, Cheng H, Hu Q, Zhang Z, Gao J, Zhang J, Ding L, Fang W, Chen S, Chen F, Jiang J (2020). CmBES1 is a regulator of boundary formation in chrysanthemum ray florets. *Hort Res* **7**, 129–129.

Ding L, Zhao K, Zhang X, Song A, Su J, Hu Y, Zhao W, Jiang J, Chen F (2019). Comprehensive characterization of a floral mutant reveals the mechanism of hooked petal morphogenesis in *Chrysanthemum morifolium*. *Plant Biotechnol J* **17**, 2325–2340.

Dou LL, Zhu Y, Liu CC, Zang YP, Tao ZG, Bao MZ, He YH (2025). Establishment of an efficient transient transformation system for marigold corolla and activity analysis of TeCYC2c gene promoter. *Chin Bull Bot* **60**, 875–887. (in Chinese)
窦淋琳, 朱钰, 刘翠翠, 臧运平, 陶正国, 包满珠, 何燕红 (2025). 万寿菊花冠高效瞬时转化体系的建立及 TeCYC2c 基因启动子活性分析. 植物学报 **60**, 875–887.

Faisal M, Abdel-Salam EM, Alatar AA, Qahtan AA (2021). Induction of somatic embryogenesis in *Brassica juncea* L. and analysis of regenerants using ISSR-PCR and flow cytometer. *Saudi J Biol Sci* **28**, 1147–1153.

Feng DQ, Wang XH, Wu D, Lian YH, Cheng XY, Liu WH, Mi S (2024). Mechanism of synergistic improvement of acute lung injury by quercetagetin and lutein based on RAW264.7 cell model. *Food Sci* **45**, 96–104. (in Chinese)
冯丹琦, 王向红, 吴迪, 连运河, 程鑫颖, 刘卫华, 米思 (2024). 基于 RAW264.7 细胞模型的槲皮万寿菊素与叶黄素协同改善急性肺损伤的作用机制. 食品科学 **45**, 96–104.

Fu YY, Yang LP, Zheng KM, Xu WJ (2021). Induction and characterization of polyploid medicinal marigold. *Chin J Trop Crops* **42**, 1318–1325. (in Chinese)
符勇耀, 杨利平, 郑开敏, 徐文姬 (2021). 药用万寿菊多倍体的诱导与特征分析. 热带作物学报 **42**, 1318–1325.

Guan Y, Wong CE, Zhang Q, Peng D, Lan S, Chen F, Liu ZJ, Yu H (2025). Sizing up beauty: mechanisms of petal size regulation in ornamental plants. *Plant Physiol* **3**,198.

Li ZG, Ren WZ, Yu SM, Feng WJ, Xu NW, Lu BS, Lu B (2024). Mutagenic effects of colchicine on *Pyrus calleryana* and identification of tetraploids. *J For Ecol Sci* **39**, 440–447. (in Chinese)
李泽根, 任威蓁, 于淑漫, 冯雯静, 徐宁伟, 路丙社, 路斌 (2024). 秋水仙素对豆梨的诱变效应及四倍体鉴定. 林业与生态科学 **39**, 440–447.

Ma XJ, Tang N, Tang DC, Song JQ, Guo JW, Tian JH (2024). Heterosis and genetic variation analysis of hybrid F_1 generations of marigold. *Seed* **43**, 78–85. (in Chinese)
马雪璟, 唐楠, 唐道城, 宋江琴, 郭俊伟, 田金花 (2024). 万寿菊杂交 F_1 代杂种优势及遗传变异分析. 种子 **43**, 78–85.

Mehraj U, Singh KP, Kumar G, Panwar S, Pattanayak D, Mallick N (2024). Characterization of doubled haploids obtained by *in vitro* androgenesis in African marigold (*Tagetes erecta* L.). *Plant Cell Tissue Organ Cult* **159**, 1.

Mo GZ, Zhang QX, Pan HT, Sun M (2010). Colchicine-induced polyploidy of *Chrysanthemum lavandulifolium*. *J Nucl Agric Sci* **24**, 527–531. (in Chinese)
莫官站, 张启翔, 潘会堂, 孙明 (2010). 秋水仙素诱导甘菊多倍体研究. 核农学报 **24**, 527–531.
Song C, Liu HY, Wang YX, Fu Y (2022). Application and consideration of raw materials for health food relieving visual fatigue. *China Food Addit* **33**, 91–95. (in Chinese)
宋宸, 刘洪宇, 王玉霞, 付雨 (2022). 缓解视疲劳保健食品原料的应用及思考. 中国食品添加剂 **33**, 91–95.
Tong J, Chen FZ (2012). Studies on colchicine-induced polyploid breeding of *Callicarpa bodinieri*. *Hubei Agric Sci* **51**, 2049–2053. (in Chinese)
童俊, 陈法志 (2012). 秋水仙素诱导紫珠多倍体育种研究. 湖北农业科学 **51**, 2049–2053.
Wang G, Yu FQ, Tao ZG, Deng SL (2025). Research progress on lutein in marigold. *J Trop Subtrop Bot* **33**, 474–482. (in Chinese)
王贵, 喻芳琴, 陶正国, 邓书林 (2025). 万寿菊叶黄素研究进展. 热带亚热带植物学报 **33**, 474–482.
Wang J, Wang H, Ding L, Song A, Shen F, Jiang J, Chen S, Chen F (2017). Transcriptomic and hormone analyses reveal mechanisms underlying petal elongation in *Chrysanthemum morifolium* 'Jinba'. *Plant Mol Biol* **93**, 593–606.
Wang WJ, Zhu Y, Zhang HM, Wei LD, Yi QP, Yu XM, Liu YH, Zhang LX, Cheng WH, He YH (2023). Morphological identification and linked marker development of a ray floret lobe mutant in marigold. *Chin Bull Bot* **58**, 893–904. (in Chinese)
王文静, 朱钰, 张洪铭, 韦陆丹, 易庆平, 余晓敏, 刘雨菡, 张莉雪, 程文翰, 何燕红 (2023). 万寿菊舌状花花冠裂片突变体的形态鉴定及连锁标记开发. 植物学报 **58**, 893–904.
Wang X, Gong B (2018). Investigation and analysis of flower borders in Nanjing urban parks. *J Northwest For Univ* **33**, 273–281. (in Chinese)
王鑫, 弓弼 (2018). 南京城市公园花境调查分析. 西北林学院学报 **33**, 273–281.
Wang YB, Zhang S, Li H, Ye JL, Fan QL, Lin XJ, Jiang SQ (2021). Effects of natural lutein replacing apo-ester on skin coloration of different parts of yellow-feathered broilers. *Chin J Anim Nutr* **33**, 4405–4414. (in Chinese)
王一冰, 张盛, 李辉, 叶金玲, 范秋丽, 林厦菁, 蒋守群 (2021). 天然叶黄素替代阿朴酯对黄羽肉鸡不同部位皮肤着色的影响. 动物营养学报 **33**, 4405–4414.
Wei XM, Wu LF (2021). Rapid propagation of male sterile plants of pigmented marigold. *North Hortic* **49**, 53–59. (in Chinese)
魏晓梅, 吴丽芳 (2021). 色素万寿菊雄性不育植株的快速繁殖. 北方园艺 **49**, 53–59.
Wen X, Li J, Wang L, Lu C, Gao Q, Xu P, Pu Y, Zhang Q, Hong Y, Hong L, Huang H, Xin H, Wu X, Kang D, Gao K, Li Y, Ma C, Li X, Zheng H, Wang Z, Jiao Y, Zhang L, Dai S (2022). The chrysanthemum lavandulifolium genome and the molecular mechanism underlying diverse capitulum types. *Hort Res* **9**, uhab022.
Wu T, Jia RD, Yang SH, Zhao X, Yu XN, Guo Y, Ge H (2022). Research progress and prospects of polyploid breeding of Phalaenopsis. *Acta Hortic Sin* **49**, 448–462. (in Chinese)
吴婷, 贾瑞冬, 杨树华, 赵鑫, 于晓南, 国圆, 葛红 (2022). 蝴蝶兰多倍体育种研究进展与展望. 园艺学报 **49**, 448–462.
Yan TC, Yu J, Zang YP, Tao ZG, Bao MZ, He YH (2025). Radiation effects of ^{60}Co-γ rays on seeds of pigmented marigold. *J Nucl Agric Sci* **39**, 2612–2620. (in Chinese)
炎天塌, 于君, 臧运平, 陶正国, 包满珠, 何燕红 (2025). ^{60}Co-γ 射线对色素万寿菊种子的辐射效应研究. 核农学报 **39**, 2612–2620.

Polyploid Induction and Identification of *Tagetes erecta*

Lijun Wang[1*], Jiangwei Cai[1], Kai Wen[1], Yinshuai Tian[1], Xing Wang[1], Guangya Bian[2], Shuochen Chai[1]

[1]Landscape Architecture and Ecological Engineering, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China; [2]Shijiazhuang Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050899, China

INTRODUCTION: *Tagetes erecta* is divided into ornamental and pigment types, among which the pigment type has petals rich in lutein, widely used in food additives, health supplements, and meat coloring. The demand is steadily increasing year by year, and supply is insufficient. It is urgent to accelerate the high-yield breeding of marigold.

RATIONALE: We treated diploid marigold seeds with colchicine solutions at concentrations of 1.5, 2.0, and 2.5 g·L^{-1}, screened for plant lines exhibiting hypocotyls thickened, leaves widened, and stems thickened. We identified and selected homozygous tetraploids using a flow cytometer and finally measured the flower diameter and petal size of the polyploids.

RESULTS: In this study, seeds of diploid marigold Jinxiu No.1 were treated with colchicine. After seed germination, the hypocotyl thickened. During the vegetative growth period, the variation types were rich and diverse. Through measurement with a vernier caliper combined with paraffin section analysis, it was found that the The M7 polyploid exhibited leaves with increased width and thickness. Simultaneously, owing to the expansion of stem cells, the stem became thicker. Flow cytometry confirmed that the M7 line was a pure tetraploid, characterized by significantly enlarged ligulate petals. When observed under scanning electron microscopy, the cells were clearly enlarged, which ultimately led to an increase in flower diameter and fresh weight per head. Through high-performance liquid chromatography detection, it was found that the lutein content in marigold was significantly increased, with the highest concentration found in the darker petals.

CONCLUSION: This study successfully obtained the homozygous tetraploid marigold, characterized by large fresh flower weight and high lutein content, thereby laying a solid foundation for its further promotion and application.

Key words *Tagetes erecta*, polyploid, petal development, lutein
Wang LJ, Cai JW, Wen K, Tian YS, Wang X, Bian GY, Chai SC (2026). Polyploid induction and identification of *Tagetes erecta*. *Chin Bull Bot* **61**, 1–10.

* Author for correspondence. E-mail: wanglijun@hebeu.edu.cn

（责任编辑：白羽红）

通讯作者/团队简介

王丽君，河北工程大学园林与生态工程学院副教授，园林系副主任，硕士生导师。长期从事花卉育种及分子生物学研究。以第一作者身份先后在 *Journal of Integrative Plant Biology*、*Plant Biotechnology Journal*、*Horticulture Research* 等知名期刊上发表研究论文 3 篇，论文引用次数 150 余次。目前其研究团队以菊科花卉为研究对象，利用遗传学、分子生物学、统计学及生物信息学等手段不断提升科研创新水平，以解决产业难题为主要目标，以培育优异菊科种质为方向，同时解析菊科花卉优良农艺性状的遗传规律，挖掘主效基因，分析表型背后的分子机理。

附件 1 叶黄素含量的标准曲线及进样色谱图
Appendix table 1 Standard curve and sample injection chromatogram of lutein content

© 植物学报 Chinese Bulletin of Botany