

梁海峰, 刘顺枝, 黄雯臻, 等. 秋水仙素对红肉火龙果种子萌发和幼苗生长的影响 [ J ]. 广东农业科学, 2018, 45 ( 5 ) : 25-29.

## 秋水仙素对红肉火龙果种子萌发 和幼苗生长的影响

梁海峰, 刘顺枝, 黄雯臻, 马泽华, 曾惠美, 胡位荣

( 广州大学生命科学学院, 广东 广州 510006 )

**摘要:** 以红皮红肉火龙果红仙蜜种子为试材, 分别采用 0.01% ~ 0.30% ( W/V ) 浓度秋水仙素浸泡干种子和露白种子, 研究秋水仙素对火龙果种子萌发和幼苗生长的影响。结果表明: 与对照 ( 蒸馏水浸泡 ) 相比, 随着秋水仙素浓度的升高或浸种时间的延长, 火龙果种子发芽率、幼苗存活率和苗长均有不同程度的降低; 露白种子对秋水仙素的作用更敏感, 0.01% 秋水仙素 24 h、0.05% 秋水仙素 12 h 均对苗长有明显的抑制作用。秋水仙素浸种和露白处理后分别可获得 0.2% ~ 4.2% 和 0.2% ~ 15.8% 的植株变异率。其中, 以 0.20%、0.30% 秋水仙素浸种 24 ~ 48 h 或者 0.20% 秋水仙素露白处理 12 ~ 24 h 诱导红肉火龙果多倍体效果较适宜。

**关键词:** 红肉火龙果; 秋水仙素; 化学诱变, 种子; 幼苗生长; 多倍体

中图分类号: S667

文献标识码: A

文章编号: 1004-874X ( 2018 ) 05-0025-05

## Effects of colchicine treatments on seed germination and seedling growth of *Hylocereus polyrhizus*

LIANG Hai-feng, LIU Shun-zhi, HUANG Wen-zhen, MA Ze-hua,

ZENG Hui-mei, HU Wei-rong

( School of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China )

**Abstract:** Taking seeds from red pitaya 'Hongxianmi' fruit (*Hylocereus polyrhizus*) as experiment materials, the effects of 0.01 % ~ 0.30% ( W/V ) colchicines with different exposure time on seed germination and seedling growth were studied. The results showed that, compared with the control ( treated by distilled water ), the seed germination rate, survival rate and seedling length were inhibited by soaking-seed with the increasing of colchicine concentration and/or the extension of exposure time. The water-soaked-well seeds were more sensitive to colchicine, e.g. the seedling lengths were significant suppressed by the two treatments of 0.01% colchicine for 24 hours or 0.05% colchicine for 12 hours. Meanwhile, colchicine soaking-seed and water-soaked-well seeds would obtain 0.2% ~ 4.2% and 0.2% ~ 15.8% morphological variation seedling, respectively. The most efficient induction combination of ploidy variation was 0.20%, 0.3% colchicine soaking-seed with 24 ~ 48 hours exposure or 0.20% colchicine water-soaked-well seeds with 12 ~ 24 hours exposure.

**Key words:** *Hylocereus polyrhizus*; colchicine; chemical induction; seed; seedling growth; polyploid

收稿日期: 2018-02-07

基金项目: 广州市属高校科研计划项目 ( 2012A047 ); 广州市科技计划项目 ( 2014J4100143 ); 广东省科技计划项目 ( 2014B020202010 )

作者简介: 梁海峰 ( 1991- ), 男, 在读硕士生, E-mail: 1727599314@qq.com

通讯作者: 胡位荣 ( 1966- ), 男, 博士, 教授, E-mail: weironghu@163.com

火龙果属仙人掌科 (Cactaceae) 多年生攀援性肉质茎植物, 原产中美洲, 耐高温、抗性强。火龙果营养丰富, 兼具水果、蔬菜、花卉、保健功能, 在墨西哥、美国、越南等国家都有商业化栽培。近年来, 火龙果在我国台湾、福建、海南、广西和广东等省区发展迅速, 已成为一种重要的热带和亚热带特色水果<sup>[1-2]</sup>。经过引进国外品种、试种比较和不断改良选育, 获得了适宜不同生境种植的品种 (品系) 以及红皮粉肉、红皮紫红肉等新品种<sup>[3-6]</sup>。我国火龙果种质资源的研究起步较晚, 目前主要集中在种质的收集、保存和评价<sup>[7-8]</sup>, 但是火龙果种质仍较匮乏, 自主选育的优质品种尤其少。红肉火龙果 (*Hylocereus polyrhizus*) 为二倍体植物, 果实糖酸比高、口感好, 富含甜菜红素, 售价颇高<sup>[9]</sup>。针对红肉火龙果栽培品种比较单一, 自花授粉座果率低, 缺乏不同风味、耐寒、抗病、耐贮的品种以及砧木, 迫切需要开展相关研究<sup>[2, 10]</sup>。

诱变育种是园艺植物非常有效的一种育种方法, 大量研究表明, 与二倍体植物相比, 四倍体具有更强的抗性, 有望成为优良的抗逆种质资源<sup>[11-12]</sup>。其中, 秋水仙素是广泛运用于多倍体育种的一种化学诱变剂<sup>[13-14]</sup>, 有研究表明, 0.1% 秋水仙素处理黑果枸杞种子 36 h, 四倍体诱导率达 25%<sup>[15]</sup>。Tel-Zur 等<sup>[16]</sup>利用秋水仙素处理盆栽火龙果植株获得了同源多倍体, 邓仁菊等<sup>[17]</sup>报道了秋水仙素浸渍火龙果幼苗生长点诱导多倍体的试验。本文研究秋水仙素不同浓度、处理时间对红肉火龙果种子萌发、幼苗生长的影响, 以期火龙果人工多倍体诱变育种提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试材料为采自广州市番禺区商品性生产果园成熟的红皮红肉火龙果红仙蜜果实, 获取饱满种子, 自来水清洗后备用; 秋水仙素为美国 Sigma 公司产品。

### 1.2 试验方法

试验于 2015 年 9 月在广州大学生化实验楼进行。种子经 0.1% 高锰酸钾溶液浸泡 30 min、蒸馏水洗 3~5 次, 自然晾干。将种子随机分成

两组, 一组种子分别用浓度为 0.05%、0.1%、0.2% 和 0.3% (W/V) 的秋水仙素溶液黑暗条件下浸泡 24、48、72 和 96 h (浸种处理); 另一组种子置于 28℃ 恒温培养箱中蒸馏水浸泡 12 h, 待大部分种子吸水胀破种皮露芽, 挑选露白种子分别用浓度为 0.01%、0.05%、0.1% 和 0.2% (W/V) 的秋水仙素溶液黑暗条件下浸泡 12、24 和 48 h (露白处理)。以蒸馏水浸种处理为对照 (CK)。达到浸种时间后取出种子, 蒸馏水冲洗 3~5 次, 置于铺有单层滤纸的培养皿中培养, 每个培养皿 50 粒种子, 3 次重复, 置于 28℃ 光照恒温培养箱中培养, 每隔 12 h 喷洒等体积蒸馏水, 保证种子萌发和幼苗生长所需水分。培养后第 9 d 统计种子发芽率、幼苗存活率、苗长 (子叶和胚轴长) 和形态变异株数。

试验所得数据采用 SPSS19.0 软件进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 秋水仙素浸种处理对红肉火龙果种子萌发和幼苗生长的影响

**2.1.1 秋水仙素浓度和浸种时间对种子发芽率的影响** 从表 1 可以看出, 不同浓度秋水仙素、不同浸种时间对红肉火龙果种子发芽率影响不同。与对照相比, 4 个浓度的秋水仙素处理均降低了红肉火龙果种子的发芽率, 其中 0.3% 秋水仙素处理的种子发芽率平均为 84.3%。

同一浓度秋水仙素处理, 随着浸种时间的延长, 红肉火龙果种子发芽率呈下降趋势 (表 1)。0.05%、0.1% 秋水仙素浸种 24~96 h 以及 0.2%、0.3% 秋水仙素浸种 24~48 h, 火龙果种子的发芽率虽然下降, 但与对照及彼此之间差异均不显著, 其中 0.1% 秋水仙素处理随着浸种时间延长, 发芽率逐渐降低, 浸种 96 h 发芽率较 24 h 处理降低了 10.4%。进一步, 当浓度为 0.2%、0.3% 秋水仙素浸种时间分别延长至 72、96 h, 种子发芽率均比对照降低 19.7% 以上, 差异显著。可见, 高浓度秋水仙素、长时间浸种对红肉火龙果种子萌发起到抑制作用。

**2.1.2 秋水仙素浓度和浸种时间对幼苗存活率的影响** 红肉火龙果幼苗存活率因秋水仙素浓度和浸种时间不同而异 (表 1)。与对照相比, 4

表 1 秋水仙素浸种处理对红肉火龙果种子萌发和幼苗生长的影响

秋水仙素浓度 (%)	处理时间 (h)	发芽率 (%)	存活率 (%)	苗长 (cm)	形态变异率 (%)
0 (CK)		98.7 ± 1.15a	93.3 ± 1.15ab	1.45 ± 0.21ab	0.0
0.05	24	96.0 ± 0.00ab	94.0 ± 2.00ab	1.21 ± 0.11ab	1.8
	48	87.3 ± 1.15ab	72.0 ± 3.46ab	0.85 ± 0.13c	3.3
	72	94.0 ± 6.00ab	69.3 ± 4.16b	0.57 ± 0.13c	4.2
	96	82.7 ± 4.16ab	44.7 ± 4.62bc	0.50 ± 0.31c	0.7
0.1	24	96.0 ± 0.00ab	91.3 ± 1.16ab	1.19 ± 0.09ab	2.9
	48	94.0 ± 2.00ab	82.0 ± 8.72ab	1.08 ± 0.12b	4.0
	72	88.0 ± 2.00ab	60.0 ± 4.00bc	0.60 ± 0.06c	4.0
	96	86.0 ± 5.29ab	40.0 ± 8.72c	0.62 ± 0.05c	1.3
0.2	24	99.3 ± 1.15a	96.7 ± 3.00a	1.57 ± 0.09a	4.0
	48	90.0 ± 2.00ab	73.3 ± 3.06ab	1.23 ± 0.22ab	3.5
	72	79.3 ± 5.77b	42.7 ± 10.07c	0.60 ± 0.10c	0.2
	96	74.7 ± 14.47b	56.0 ± 12.49bc	0.60 ± 0.06c	0.2
0.3	24	92.7 ± 1.15ab	87.3 ± 2.30ab	1.25 ± 0.25ab	4.2
	48	86.0 ± 6.00ab	60.0 ± 21.07bc	0.97 ± 0.11b	3.1
	72	81.3 ± 13.06b	39.3 ± 9.87c	0.52 ± 0.12c	0.9
	96	77.3 ± 4.16b	46.0 ± 11.14bc	0.44 ± 0.01c	0.0

注：表中同列数据后小写英文字母不同者表示在 5% 水平下差异显著，表 2 同。

个浓度的秋水仙素处理均降低了火龙果幼苗的存活率，其中 0.3% 秋水仙素处理的幼苗存活率平均仅 58.2%。

由表 1 可知，同一浓度秋水仙素处理时，随着浸种时间的延长，红肉火龙果幼苗存活率呈降低趋势。其中，0.05% 秋水仙素浸种 24 ~ 96 h、0.1% 秋水仙素浸种 24 ~ 72 h、0.2% 秋水仙素浸种 24 ~ 36 h、0.3% 秋水仙素浸种 24 h，幼苗存活率降低，但彼此之间及与对照之间差异未达显著水平。但是，0.1% 秋水仙素浸种 96 h、0.2% 秋水仙素浸种 72 h 以及 0.3% 秋水仙素浸种 72、96 h，幼苗存活率分别比对照下降 57.1%、54.2%、57.9% 和 50.7%，差异显著。可见，低浓度秋水仙素较长时间浸种、高浓度秋水仙素浸种对火龙果幼苗造成了严重损伤甚至导致死亡。

**2.1.3 秋水仙素浓度和浸种时间对幼苗生长的影响** 由表 1 可知，秋水仙素浸种处理不同程度抑制了红肉火龙果实生幼苗的生长，其中 0.3% 秋水仙素处理的幼苗平均长度仅为对照的 54.8%。同一浓度秋水仙素处理时，火龙果幼苗长度随着浸种时间延长而减少。0.05% ~ 0.3% 秋水仙素浸种 24 h，幼苗长度与对照差异不显著；

但当浸种时间延长至 72 ~ 96 h，幼苗胚轴生长受到严重抑制，苗长显著降低，其中 0.3% 秋水仙素浸种 96 h 时苗长仅为对照的 30.3%。

## 2.2 秋水仙素露白处理对红肉火龙果幼苗生长的影响

**2.2.1 秋水仙素露白处理对幼苗存活率的影响** 从表 2 可以看出，与对照相比，4 个浓度的秋水仙素处理露白种子降低了红肉火龙果幼苗存活率，其中 0.2% 秋水仙素处理的幼苗平均存活率为 74.9%。0.01% ~ 0.2% 秋水仙素处理露白种子 12、24 h，幼苗存活率与对照无显著差异；但当处理时间延长至 48 h，幼苗存活率分别下降 59.6%、40.8%、41.6% 和 54.3%，与对照相比差异显著。表明秋水仙素短时间处理露白种子对胚芽、胚根的正常生长没有明显损伤作用，但长时间处理则产生了毒害、致死作用。

**2.2.2 秋水仙素露白处理对幼苗生长的影响** 不同浓度的秋水仙素露白处理不同程度地抑制了火龙果实生幼苗的生长，其中 0.2% 秋水仙素处理的平均幼苗长度仅为对照的 29.7% (表 2)。

同一秋水仙素浓度下，幼苗长度随着处理时间增加而呈现递减趋势。除 0.01% 秋水仙素

表 2 秋水仙素露白处理对红肉火龙果幼苗生长的影响

秋水仙素浓度 (%)	处理时间 (h)	存活率 (%)	苗长 (cm)	形态变异率 (%)
0 (CK)		89.0 ± 1.41a	1.46 ± 0.11a	0.0
0.01	12	97.3 ± 3.06a	1.25 ± 0.07ab	0.0
	24	86.7 ± 7.57a	0.90 ± 0.08bc	0.0
	48	36.0 ± 5.29b	0.74 ± 0.19bc	0.2
0.05	12	89.3 ± 4.16a	0.99 ± 0.06b	1.5
	24	90.7 ± 2.31a	0.73 ± 0.06bc	1.3
	48	52.7 ± 10.2b	0.68 ± 0.12c	1.3
0.1	12	88.7 ± 4.16a	0.60 ± 0.12c	4.2
	24	94.7 ± 2.31a	0.82 ± 0.03bc	1.8
	48	52.0 ± 7.21b	0.62 ± 0.06c	0.0
0.2	12	98.0 ± 2.00a	0.50 ± 0.09cd	15.8
	24	86.0 ± 4.00a	0.39 ± 0.01d	9.1
	48	40.7 ± 9.24b	0.41 ± 0.03d	0.0

处理露白种子 12 h 外,其他处理的苗长与对照的差异均表现为显著(表 2)。0.01% 秋水仙素处理露白种子 24 h、0.2% 秋水仙素浸种 12 h,苗长分别比对照减少 38.4% 和 65.8%; 0.2% 秋水仙素溶液处理 24 h,苗长仅为对照的 26.7%。可见,随着秋水仙素浓度的增加和处理时间的延长,秋水仙素对火龙果露白种子的胚轴、胚根生长抑制作用越大。

### 2.3 秋水仙素处理对红肉火龙果幼苗形态变异的影响

从图 1~图 3(封二)可以看出,与对照相比,秋水仙素无论是浸种处理还是露白处理,火龙果幼苗均出现一些形态上的变异,表现为幼苗矮化、生长缓慢、子叶肥厚、胚轴膨大。

由表 1、表 2 可知,不同浓度秋水仙素浸种处理、露白处理不同时间,火龙果幼苗出现不同程度的形态变异。随着 0.05%、0.1% 秋水仙素浸种时间的延长,植株形态变异率呈先升高后下降趋势; 0.2%、0.3% 秋水仙素浸种后的植株形态变异率则随处理时间延长而不断降低(表 1)。秋水仙素处理露白种子时,0.01% 秋水仙素处理 48 h 后植株形态变异率仅 0.2%,而 0.2% 秋水仙素处理 12 h 变异率达到 15.8%(表 2),但 0.1%、0.2% 秋水仙素浸种 48 h 时没有获得变异植株,可能是因为高浓度秋水仙素长时间处理时,秋水仙素更易渗入吸水涨破种皮的露白种子,对胚芽、胚根毒害作用大,使得存活的幼

苗难于恢复细胞分裂能力而死亡。

### 3 结论与讨论

秋水仙素通过作用于生长旺盛、分裂活跃部位处于有丝分裂中期的细胞使染色体加倍,在诱导植物同源多倍体种质创新和新品种选育上发挥了重要作用<sup>[11, 18]</sup>,但不同植物种类、处理部位、处理方法等因素影响诱导效果<sup>[13]</sup>。火龙果果肉内镶嵌有约 5 000 粒芝麻状的黑色种子,可为化学诱变育种提供充足的材料。与多数研究结果<sup>[19-22]</sup>相似,红肉火龙果种子只有在一定的秋水仙素浓度范围内处理才能诱导多倍体发生,低浓度较长时间(如 0.05%、0.1% 秋水仙素浸种 12~72 h 或 0.01% 秋水仙素露白处理)或者高浓度短时间(如 0.2%、0.3% 秋水仙素浸种 24 h)处理时,种子发芽率、存活率并未显著降低;高浓度、长时间处理则抑制了火龙果种子的萌发、生长,浸种浓度和时间存在累积作用,表明存在明显的剂量-时间互作关系<sup>[12, 15, 20]</sup>。另外,露白种子吸水涨破种皮,种胚失去种皮保护,秋水仙素溶液可短时间直接渗入到种胚<sup>[19]</sup>,因此,0.01%、0.05% 的秋水仙素处理火龙果露白种子 48 h 就使幼苗存活率显著降低,0.01% 24 h、0.05% 12 h 均对幼苗生长产生明显抑制作用。进一步比较相同浓度秋水仙素处理相同时间的效应,可见露白种子对秋水仙素的作用更敏感。无论是浸种处理还是露白处理,秋

水仙素对红肉火龙果幼苗生长的抑制作用最明显。

本试验中,秋水仙素浸种处理和露白处理分别可获得0.2%~4.2%和0.2%~15.8%的疑似植株变异率,而且幼苗出现一些形态上的变异。综合考虑红肉火龙果种子发芽率、幼苗存活率、苗长及植株变异率,以0.2%、0.3%秋水仙素浸种24~48 h或0.2%秋水仙素露白处理12~24 h诱变多倍体为宜。当然,对秋水仙素诱导获得的外观形态疑似变异火龙果植株,还需进一步开展植株气孔性状、染色体计数、核DNA相对含量等的倍性鉴定。

#### 参考文献:

- [1] 王壮,王立娟,蔡永强,等. 火龙果营养成分及功能性物质研究进展[J]. 中国南方果树, 2014, 43(5): 25-29.
- [2] 刘顺枝,刘政洁,林润怡,等. 白肉火龙果染色体制片技术及核型分析[J]. 广东农业科学, 2015, 42(3): 115-118, 193.
- [3] 陆树华,谭艳芳,黄甫昭,等. 4个火龙果品种在岩溶石山区的表现及生态适应性研究[J]. 广东农业科学, 2018, 45(4): 51-56.
- [4] 方壹,陈于陇,徐玉娟,等. 1-MCP抵制纸片对火龙果贮藏品质的影响[J]. 广东农业科学, 2016, 43(1): 105-110.
- [5] 李加强,叶耀雄,叶永昌,等. 粉肉火龙果优良单株评价筛选初报[J]. 中国南方果树, 2014, 43(4): 94-96.
- [6] 郑伟,王彬,蔡永强,等. 火龙果新品种‘黔果2号’[J]. 园艺学报, 2016, 43(11): 2285-2286.
- [7] 李洪立,胡文斌,洪青梅,等. 30份火龙果种质资源收集保存与初步鉴定评价[J]. 热带作物学报, 2017, 38(11): 2034-2039.
- [8] Pan L M, Fu J X, Zhang R, et al. Genetic diversity among germplasms of pitaya based on SSR markers[J]. Scientia Horticulturae, 2017, 225: 171-176.
- [9] 李涛,王明月,杜海群,等. 红肉火龙果与白肉火龙果的品质分析[J]. 保鲜与加工, 2015, 15(4): 59-61, 65.
- [10] 董美超,岳建强,李进学,等. 火龙果育种研究进展[J]. 热带农业科学, 2013, 33(5): 56-59.
- [11] 韦同路,郭大勇,谢宗周,等. 植物四倍体抗性及其机理研究进展[J]. 植物科学学报, 2017, 35(3): 435-443.
- [12] Salma U, Kundu S, Mandal N. Artificial polyploidy in medicinal plants: Advancement in the last two decades and impending prospects [J]. Journal of Crop Science and Biotechnology, 2017, 20(1): 9-19.
- [13] 周慧文,冯斗,严华兵. 秋水仙素离体诱导多倍体研究进展[J]. 核农学报, 2015, 29(7): 1307-1315.
- [14] 吴谦,齐开杰,殷豪,等. 诱变技术在落叶果树育种中的应用[J]. 园艺学报, 2016, 43(9): 1633-1652.
- [15] 邵冰洁,王思琦,刘江淼,等. 黑果枸杞和宁夏枸杞的多倍体诱导和鉴定[J]. 分子植物育种, 2018, 16(8): 2593-2599.
- [16] Tel-Zur N, Dudai M, Raveh E, et al. In situ induction of chromosome doubling in vine cacti (Cactaceae) [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 129: 570-576.
- [17] 邓仁菊,范建新,王永清,等. 秋水仙素诱导火龙果多倍体研究[C]. 园艺植物染色体倍性操作与遗传改良学术研讨会, 2012.
- [18] Wu J H. Seed attributes in fruit of colchicine-induced tetraploids of *Actinidia chinensis* [J]. Scientia Horticulturae, 2014, 172: 265-270.
- [19] 柳颀. 孔广红,倪书邦,等. 澳洲坚果多倍体的化学诱导及流式细胞术鉴定[J]. 热带作物学报, 2013, 34(11): 2138-2144.
- [20] 刘福妹,穆怀志,刘子嘉,等. 用秋水仙素处理不同家系白桦种子诱导四倍体的研究[J]. 北京林业大学学报, 2013, 35(3): 84-89.
- [21] 穆红梅,杨传秀,陆长民,等. 秋水仙素处理日本矮紫薇种子变异的初步研究[J]. 北方园艺, 2017(17): 103-105.
- [22] 房永雨,谢锐,于肖夏,等. 秋水仙素处理高丹草杂种F1种子诱变效果分析[J]. 中国草地学报, 2016, 35(6): 40-45.

(责任编辑 张辉玲)