秋水仙素对洋紫荆种子萌发及幼苗生长的影响*

徐佳琦　戚嘉敏　高　乐　张　鹏
陆　晨　奚如春
（华南农业大学 林学与风景园林学院 / 广东省森林植物种质创新与利用重点实验室，广东 广州 510642）

摘要　以洋紫荆（*Bauhinia variegata*）成熟种子为试验材料，采用质量浓度为 0.5、1.0、1.5、2.0 mg/mL 的秋水仙素溶液分别处理 12、24、36 和 48 h，并以蒸馏水浸泡种子作为对照，观察测定其种子萌发特性及幼苗生长指标。结果表明，随着秋水仙素质量浓度的增加，种子发芽率逐渐降低，2.0 mg/mL 溶液使大部分种子致死，0.5、1.0 mg/mL 质量浓度秋水仙素处理 24 h 有利于种子萌发；种子胚根的伸长随着秋水仙素质量浓度的增加也受到不同程度地抑制；秋水仙素对发芽种子胚芽的发育有一定的抑制作用；不同质量浓度秋水仙素处理后第 7 个月，各处理间苗高与地径差异均极显著（$P<0.01$），质量浓度为 1.0 mg/mL，处理 36 h 时，苗高和地径都最大；当秋水仙素质量浓度为 2.0 mg/mL 时，对叶片平均分裂角度有一定促进作用。

关键词　洋紫荆；秋水仙素；诱变育种；生长指标
中图分类号：S722　**文献标识码**：A　**文章编号**：2096-2053（2017）01-0063-05

Effects of Colchicine Treatment on the Seed Germination and Seedling Growth of *Bauhinia variegate*

XU Jiaqi　QI Jiamin　GAO Le　ZHANG Peng
LU Chen　XI Ruchun
(College of Forestry and Landscape Architecture，South China Agricultural University/Key Laboratory for Innovative Development and Utilization of Forest Plant Germplasm, Guangzhou, Guangdong, 510642，China)

Abstract　The mature seeds of *Bauhinia variegate* were studied by treating with 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/mL colchicines solution for 12, 24, 36 and 48 h respectively, and the seeds soaked with distilled water were taken as control. The germination rate and the mutant seedling growth were observed after the treatments. The results showed that with the increase of colchicines concentration, seed germination rate decreased. 2.0 mg/mL colchicines solution caused death of the seeds, and 0.5,1.0 mg/mL colchicines solution treatment for 24 h was the most beneficial to the germination of the seeds. With the increase of colchicines solution concentration, the radicle elongation was inhibited in different degrees; colchicine could cause the inhibition effect on continue development of germinating seed embryo. The change of seedling ground diameter was consistent with that of the seedling height after 7 months later, it showed that after soaking the seeds for 36 h in colchicine solution (1.0 mg/mL), the seedling ground diameter and height were both the highest. High concentration（2.0 mg/mL）colchicine solution on average leaf split angle played an important role in germination promoting. The stimulative effect on leaf angle was found when the concentration of colchicines solution was 2.0 mg/mL.

Key words　*Bauhinia variegate*；colchicine；mutation breeding；growth index

* **基金项目**：广东省林业科技创新项目“优良乡土阔叶树种无性快繁技术开发与产业化”（2014KJCX002）。
第一作者：徐佳琦（1993—　），女，在读硕士研究生，研究方向为经济林栽培与利用 , E-mail: 306934157@qq.com。
通信作者：奚如春（1963—　），男，教授，主要从事经济林栽培与利用、植物养分与生理研究 , E-mail：xirc2006@scau.edu.cn。

洋紫荆（*Bauhinia variegata*）为苏木科（Caesalpiniaceae）羊蹄甲属落叶乔木树种，是热带和亚热带常见的园艺树种[1-2]。其树冠卵圆形、饱满，花大色艳，花量繁茂，仲春时节满树繁花似锦，为城市园林景观应用的优良树种[3-5]。但它不耐寒，喜潮湿、温暖、有阳光的环境，因此主要在我国南方地区种植栽培。近年来，已成为华南区域园林绿化的优良树种[6-7]。

化学诱变是利用化学药剂使生物DNA损伤和错误修复，从而产生突变体，该技术对基因组损伤小、突变率高，且易操作、剂量易控制，近年来已成为运用最广泛的生物诱变技术[8]。秋水仙素（$C_{22}H_{25}NO_6$）是诱导植物多倍体最常用的诱变剂[9-10]，大量实验结果表明，多倍体植物“巨大性”特征明显，表现为叶大、花大、茎粗、色深、细胞内某些物质含量较高，并且具有抗逆性强的特点[11-13]。目前秋水仙素在果树、花卉以及农作物等诱变育种研究中得到了有效运用并取得了可喜成果。王凤宝等[14]用0.05%秋水仙素和2%DMSO混合水溶液间歇处理甘薯（*Dioscorea esculenta*）种子24 h，培养温度为15~16 ℃时，选育出高产、高淀粉、高蛋白、高铁、高锌的短蔓甘薯新品种；叶秀仙等[15]以秋水仙素为诱变剂处理文心兰（*Oncidium hybridum*）丛生芽和原球茎无性系，结合组织培养技术，筛选出绿叶金边、金叶绿边的变异株系；石雪晖等[16]用秋水仙素处理刺葡萄（*Vitis davidii* var. *davidii*）种子，发现用0.3%秋水仙素处理48 h的诱变率最高。但秋水仙素在林木诱变育种中的应用较少，特别是洋紫荆种质资源改良与创制研究方面，至今未见相关成果报道。

本文以洋紫荆成熟种子为材料，分别用0（对照）、0.5、1.0、1.5、2.0 mg/mL质量浓度的秋水仙素溶液处理12、24、36、48 h，测定并分析处理后其种子萌发和幼苗生长等性状指标的变化，探索其诱变效应，旨在为洋紫荆种质利用与创制提供技术指导。

1 材料与方法

1.1 种子采集

于2015年5月下旬在华南农业大学校园采集洋紫荆荚果，经室内自然风干脱粒得其干种子。选用种子网袋盛装并标记，置于0~5 ℃冰箱冷藏，备用。

1.2 种子诱变处理

1.2.1 预处理 2015年11月，在室温下将经过低温处理的洋紫荆成熟干种子在20 mg/mL次氯酸钠（NaClO）溶液中消毒10 min后，再用无菌水洗净，待种皮表面阴干后进行秋水仙素处理。

1.2.2 秋水仙素处理 设置5个秋水仙素质量浓度，即0（CK）、0.5、1.0、1.5、2.0 mg/mL；设置4个处理时间，分别为12、24、36、48 h。每质量浓度每处理时间各选取100粒饱满种子，每种质量浓度和时间的组合重复3次，包括对照在内的20个组合共计6 000粒种子。将种子分别放在经过消毒的铺有双层脱脂纱布的直径12 cm玻璃培养皿中，加入相应质量浓度的秋水仙素溶液10 mL，置黑暗的恒温培养箱中。秋水仙素溶液处理结束后，用无菌水反复冲洗5次。

1.2.3 种子催芽 种子处理后，采用托盘层沙催芽，置于YRG-400恒温发芽箱中。培养温度设为（25 ± 2）℃，定时喷水保持湿润，进行暗培养。

1.2.4 芽苗移植 种子开始萌发时，每天记录一次萌发种子数，并将萌发种子种植入容器袋（5 cm × 10 cm），基质为黄心土：泥炭土：珍珠岩 = 1:1:1的混合物（体积比），置于温室培养。移栽苗前期需进行遮阴（遮光度75%），并定期喷洒多菌灵（800 mg · L^{-1}），常规管理。移栽芽苗生长2个月后转入同上基质配方，规格为15 cm × 20 cm的容器袋中继续培养。

1.3 种子萌发特征及幼苗生长指标测定

1.3.1 种子发芽率 种子开始萌发时，每3天统计记录萌发种子数，直至发芽停止，统计发芽率。

1.3.2 胚根长 自种子开始萌发之日起的第8天，胚根发育基本完成时，选取胚根生长良好的种子30粒（个别处理发芽数不足30粒的，全部选用），测定记录胚根的长度。采用直尺，精度0.1 cm。

1.3.3 成苗率 2015年12月调查成苗率。

1.3.4 生长指标测定 在各处理组中，选取生长基本一致的苗木30株（个别处理成苗数不足30株的，全部选用），进行挂牌标记。于2016年5月即幼苗生长7个月后测定记录苗高、地径和叶片裂度等指标。苗高采用卷尺，精度0.01 m、地径采用数显游标卡尺，精度0.01 mm、叶片裂角采用量角器，精度1°。

1.4 数据处理与分析

运用Microsoft excel 2007作图，SPSS 22.0进

行单因素和双因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 秋水仙素处理对种子萌发特性的影响

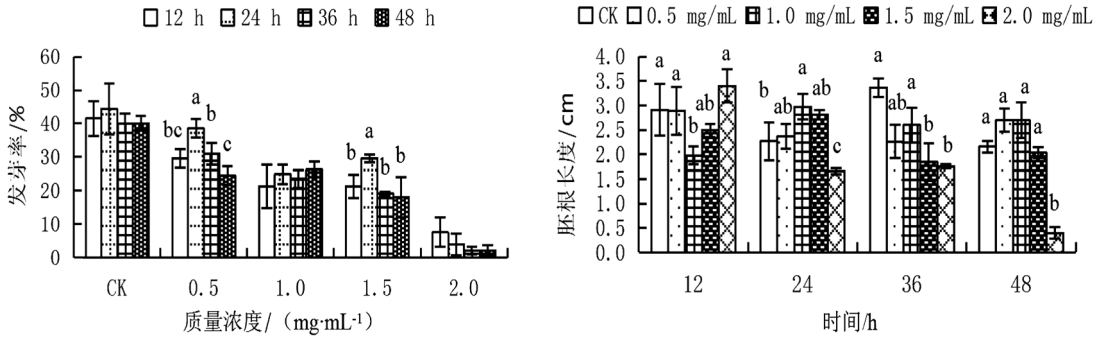
2.1.1 种子发芽率 种子开始萌发后的第 8 天，发芽基本停止。从图 1 可看出，0（对照）、0.5、1.0、1.5 和 2.0 mg/mL 秋水仙素处理后，同一质量浓度 4 个处理时间的平均发芽率分别为 38.33%、28.53%、22.18%、20.70% 和 4.68%，结果显示，经秋水仙素处理组的发芽率均比对照组低 10 个百分点以上，当质量浓度达到 2.0 mg/mL 时，4 个处理时间的平均发芽率仅有 4.68%。说明秋水仙素对种子萌发具有抑制作用，而且随着处理质量浓度的增加，发芽率降低，2.0 mg/mL 质量浓度可使种子失去活性。从图 1 还看到，在相同质量浓度，处理 12、24、36 和 48 h 的平均发芽率分别为 22.40%、26.40%、21.40% 和 21.32%，即随着处理时间的增加，其发芽率呈现先上升后降低的趋势，处理 24 h 的发芽率最高，在 0.5、1.5 mg/mL 时，显著大于其他处理时间（$P<0.05$），可能是此时种子已充分吸胀，提高了发芽率。秋水仙素质量浓度及处理时间对发芽率的影响极显著（$P<0.01$），两因素交互对发芽率的生长影响不显著。

2.1.2 胚根长度 从图 1 可以看出，0（对照）、0.5、1.0、1.5 和 2.0 mg/mL 质量浓度秋水仙素处理后，4 个处理时间的萌发第 8 天的平均胚根生长量分别为 2.68、2.56、2.56、2.30、1.81 cm，即随着秋水仙素质量浓度的增加，不同程度地抑制了胚根生长，胚根平均长度最低为 1.81 cm；在相同质量浓度，处理 12、24、36 和 48 h 的平均胚根长分别为 2.73、2.42、2.37、2.00 cm，当质量浓度达到 2.0 mg/mL 时，大部分种子都不能萌发，即使萌发种子的胚根也生长缓慢，表现出敏感的诱变效应。秋水仙素质量浓度对胚根的生长影响极显著（$P<0.01$），处理时间对胚根的生长影响不显著，两因素交互对胚根的生长影响极显著（$P<0.01$）。

2.1.3 成苗率 从图 2 可看出，经 0（对照）、0.5、1.0、1.5 和 2.0 mg/mL 质量浓度秋水仙素处理、萌芽 2 个月后，洋紫荆平均成苗率分别为 31.75%、23.65%、14.35%、10.95% 和 1.01%，秋水仙素处理对成苗率的影响效果与种子发芽率基本一致，相对于对照，成苗率均降低最少 10 个百分点。在相同的处理时间内，随着秋水仙素质量浓度的增加，种子平均成苗率逐渐降低，分别从 31.7% 降至 1.01%，当质量浓度达到 2.0 mg/mL 时，成苗率极低，大部分胚芽已致死，无法成苗；在相同浓度下，处理时间为 24 h 时，平均成苗率最高（19.60%），48 h 的最低（14.81%）。秋水仙素质量浓度对成苗率影响极显著（$P<0.01$），处理时间对苗高的生长影响显著（$P<0.05$），当秋水仙素质量浓度为 0.5 mg/mL，处理 24 h 的成苗率与其他处理时间差异显著，而两因素交互对成苗率的影响不显著。

2.2 秋水仙素处理对幼苗生长指标的影响

2.2.1 苗高 对幼苗生长 7 个月后进行苗高调查统计，从图 2 可看到，经 0（对照）、0.5、1.0、1.5 和 2.0 mg/mL 质量浓度秋水仙素处理后，4 个处理时间的平均苗高分别为 19.18、19.94、22.89、20.89 和 16.38 cm，即随着秋水仙素质量浓度的增加，苗高呈现先升高后降低的趋势。秋水仙素质量浓度为 0.5、1.0、1.5 mg/mL，处理时间为 12、36、48 h 时，苗高均大于对照组。当质量浓度达到 2.0 mg/mL，处理 24 h 时，苗高显著低于



注：不同小写字母表示不同处理间在 α=0.05 水平差异显著；测定时间为种子开始萌发的第 8 天。

图 1 不同处理洋紫荆种子的发芽率和胚根长度

其他处理（$P<0.05$）。在同一秋水仙素质量浓度内，随着处理时间的增加，苗高有上升的趋势，处理36 h的平均苗高最大（21.42 cm），总体上1.5、2.0 mg/mL质量浓度的秋水仙素会抑制苗高生长。秋水仙素质量浓度对苗高的生长影响极显著（$P<0.01$），处理时间及两因素交互对苗高的生长影响不显著。

2.2.2 地径 图3表明，经质量浓度为0（对照）、0.5、1.0、1.5和2.0 mg/mL的秋水仙素处理后，种子萌发第7个月时，4个处理时间的平均地径分别为2.52、2.23、2.68、2.49和2.14 mm，0.5、1.5、2.0 mg/mL秋水仙素处理组的幼苗地径均小于对照，质量浓度为1.0 mg/mL时，地径大于对照；经12、24、36和48 h处理，5个秋水仙素质量浓度处理下的幼苗平均地径分别为2.37、2.38、2.54和2.39 mm，处理36 h时，平均地径最大。质量浓度为1.0 mg/mL，处理36 h时，地径最大。秋水仙素质量浓度对地径的生长影响极显著（$P<0.01$），处理时间对地径的生长影响不显著，两因素交互对地径的生长影响极显著（$P<0.01$）。

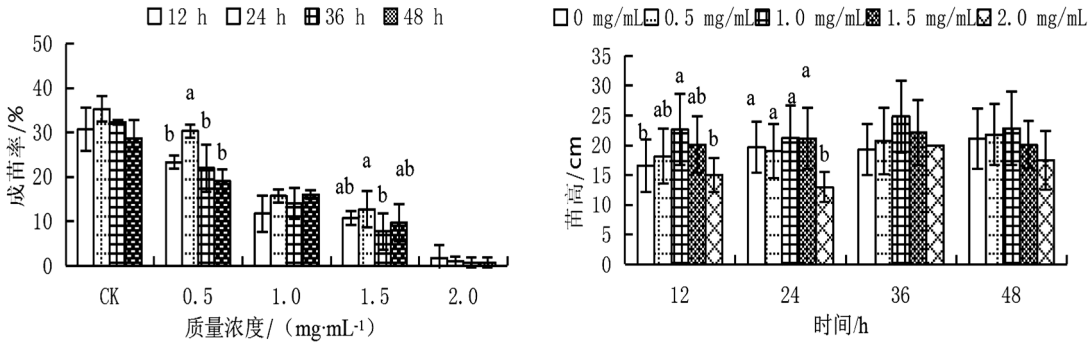
2.2.3 叶片裂角 图3表明，随着秋水仙素质量浓度的增加，叶片分裂角度整体呈现增大的趋势，2.0 mg/mL秋水仙素处理12 h时，7个月生幼苗叶片分裂角度达到最大，为82.5°，说明2.0 mg/mL质量浓度秋水仙素对叶片平均分裂角度有一定促进作用，使叶片变大变宽。秋水仙素浓度对叶片裂角的生长影响极显著（$P<0.01$），处理时间对其生长影响不显著，两因素交互对叶片裂角的生长影响极显著（$P<0.01$）。

3 结论与讨论

本文研究结果表明，随着秋水仙素质量浓度的增加，种子发芽率和成苗率逐渐降低，当秋水仙素质量浓度达到2.0 mg/mL时，种子发芽率极低，大部分种胚已致死，无法成苗，因此用0.5、1.0 mg/mL质量浓度的秋水仙素处理24 h有利于种子萌发。秋水仙素对幼苗苗高和地径的生长影响均为极显著（$P<0.01$），当秋水仙素质量浓度达到2.0 mg/mL，明显抑制了幼苗的生长，同时2.0 mg/mL质量浓度处理能使叶片变大变宽。

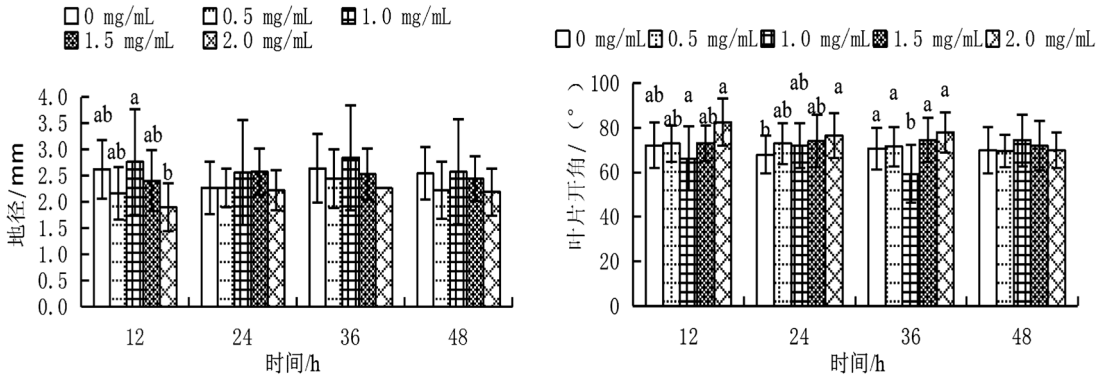
秋水仙素在植物多倍体育种中效果明显，得到广泛应用[17-18]。作为一种抗有丝分裂剂，其浓度和处理时间是影响诱变成功的关键因素，长时间高浓度处理会伤害植物材料甚至致死，但短时间低浓度又达不到诱变效果[19-21]。有研究表明，采用高浓度秋水仙素处理时间应短一些，低浓度处理时间应长一些[22-23]，但时间的长短没有明显的界定，根据植物的不同而异。胡瑞阳等[24]用不同含量秋水仙素和不同时间处理2组杉木（*Cunninghamia lanceolata*）种子，在含量为0.9%，处理时间为4 h时诱变率达到最大，分别是6.7%和8.0%；鲍乔智娟等[25]以甘草（*Glycyrrhiza uralensis*）种子为材料，用不同浓度秋水仙素和时间处理，在0.20%含量和处理24 h时效果最好，诱导率达3.3%，所以最佳的处理浓度和处理时间也会因试验材料的不同而不同。

本文在分析了秋水仙素处理对洋紫荆种子萌发和生长的诱变影响效果基础上，初步筛选出较好的质量浓度和处理时间组合，但是要确定幼苗倍性以及种子催芽处理的最适宜的秋水仙素浓度和处理时间，应该依据其萌动状态、处理后第一年的幼苗突变率和两三年内树苗的生长表现进一步筛选。洋紫荆是多年生植物，秋水仙素处理的影响作用不会在一年内充分表现出来，而是要经



注：不同小写字母表示不同处理间幼苗成苗率在 α=0.05 水平差异显著；测定时间为种子开始萌发的第2个月。

图2 不同处理洋紫荆的成苗率和苗高



注：不同小写字母表示相同时间处理不同秋水仙素质量浓度间幼苗地径在 α=0.05 水平差异显著；测定时间为种子萌发后第 7 个月。

图 3　不同处理洋紫荆幼苗的地径和叶片分裂角度

过两三年的生长才能表现出处理的效果。因此，洋紫荆的秋水仙素诱变育种技术有待进一步研究。

参考文献

[1] 黄伟锋,黄雁婷,李艺伟. 3种羊蹄甲属乔木的形态辨识[J].中国园艺文摘,2013,30(9):153-154.

[2] 罗瑜萍,龚维,邱英雄，等. 羊蹄甲属3种园艺树种分子鉴定及亲缘关系的ISSR分析[J]. 园艺学报,2006，33（2）:433-436.

[3] 方福钟.宫粉紫荆容器扦插育苗技术研究[J].福建热作科技,2015,40(2):11-13.

[4] 周萱.广州城市道路绿化树种配置调查与评价[D]. 广州：仲恺农业工程学院,2013.

[5] 刘粹纯,黄伟锋.羊蹄甲属乔木的文化寓意极其园林应用[J].现代园艺,2012(4):44.

[6] 涂桂永.宫粉紫荆在城市园林中的应用[J].现代园艺,2013(8):146.

[7] 宁绮珍.广州市城市道路绿地景观设计研究[D].广州:华南理工大学,2012.

[8] 徐小万,罗少波,石雪晖,等.化学诱变及其在园艺植物育种中的应用[J].江西农业学报,2009,21(6)：70-74.

[9] 李云,冯大领.木本植物多倍体育种研究进展[J].植物学通报,2005,22(3):375-382.

[10] 李云,朱之佛,田砚亭.等秋水仙碱处理白杨雌花芽培育三倍体植株的研究[J].林业科学,2001,37(5):68-74.

[11] 雷家军,王冲. 观赏植物多倍体诱导研究进展[J].东北农业大学学报,2012,43 (1) :18-24.

[12] 韦荣昌,吴庆华,马小军,等.植物多倍体的研究进展[J].种子,2013,32(7) :50-53.

[13] 徐冠仁.植物诱变育种学[M].北京：中国农业出版社,1996.

[14] 王凤宝, 付金锋, 董立峰,等. 秋水仙素和二甲基亚砜诱变选育短蔓型甘薯新品种短蔓3号[J]. 核农学报, 2008, 22(2):169-174.

[15] 叶秀仙,黄敏玲,樊荣辉,等. 秋水仙素对文心兰离体诱变的影响[J]. 福建农业学报,2014,29（11）:1083-1087.

[16] 石雪晖,徐小万,王先荣,等. 秋水仙素对刺葡萄萌发种子诱变的影响[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2007（5）:7-9.

[17] Dhooghe E, Van Laere K, Eeckhaut T,et al. Mitotic chromosome doubling of plant tissues in vitro[J].Plant Cell Tiss Organ Cult,2011,104(3):359-373.

[18] 王亚茹,李云,姜金仲,等. 秋水仙碱作用于微管蛋白的机制及其细胞效应研究进展[J].西北植物学报,2010, 30(12):2570-2576.

[19] 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.

[20] 闫辉,张利,于淑惠,等.秋水仙素诱导白皮松多倍体的研究[J].山东农业大学学报（自然科学版），2012,43 (2):184-188.

[21] 于锡宏,张艳梅,蒋欣梅,等. 秋水仙素诱导榨菜四倍体的效应[J].东北农业大学学报,2013, 44(10):88-92.

[22] 王丽艳,荆瑞勇,肖莉杰,等.扁茎黄芪离体快繁及多倍体诱导[J].草业学报,2009,18(1):94-99.

[23] 程心旻,高山林,卞云云.白术同源四倍体的诱导和鉴定及其与二倍体过氧化物酶的比较[J].植物资源与环境学报,2003,12(1):16-20.

[24] 胡瑞阳,段红静,吴博,等. 秋水仙素处理杉木种子的诱变效应[J].西南林业大学学报,2013（6）:7-12.

[25] 鲍智娟,邢秀芹. 秋水仙素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.