

秋水仙素对蓝蓟种子诱导变化的研究

徐惠风, 冯政东, 张英宝, 陈晶晶, 朱冰兵, 吴云惠

(吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118)

摘 要:以蓝蓟种子为试材,研究了秋水仙素不同浓度(CK、0.05%、0.10%、0.20%、0.30%、0.40%)、不同处理时间(12、24、36、48 h)对蓝蓟种子发芽及幼苗生长性状的影响。结果表明:时间相同,浓度不同,浓度越高对蓝蓟种子发芽和生长的抑制作用越强,且有一定的畸变率;叶片表面肥厚粗糙不平,呈暗绿色,浓度越大影响越明显。随浓度增大和处理时间的延长,蓝蓟种子的发芽率、发芽势均呈现降低现象,当浓度为0.40%、时间在48 h时发芽率为36%,发芽势为16%。随着秋水仙素浓度增大,蓝蓟苗期的苗高、叶长逐渐减小,叶宽变大,生命力较短。

关键词:蓝蓟;秋水仙素;诱导;发芽率;发芽势

中图分类号:S 681.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)07-0057-04

蓝蓟(*Echium vulgare*)属紫草科(Boraginaceae)蓝蓟属(*Echium*)草本灌木,引自欧洲。单叶互生,圆形至线状披针形,长15 cm,中脉明显,常全身披灰毛,镰状聚伞花序生茎顶和枝端或多数集为圆锥状花序,具有钟形花朵和剑形窄叶。花有白、蓝、紫粉色,4~6片开始开花,花初为穗状花序后渐变为圆锥花序,至到秋天,花期达3个月,其观赏性好,耐干旱、较耐寒,喜光,喜肥,适应性强,抗性强,是优良的草本花卉,用于露地花坛、花境、花带及大面积体量色彩使用,蓝蓟是近几年引进国内的植物,有很高的观赏价值和经济价值。

秋水仙素^[1]可使植物染色体数目加倍,在农业生产上用于人工诱导多倍体,导致植物染色体数目加倍,与正常植株相比表现出个体巨大性,花大、叶大、浓绿、茎粗、细胞内含某些物质较高,并且可以对外界不利自然条件有适应能力^[2-6];Lionneton等^[7]处理芸薹属植物小孢子获得了可育的双单倍体,得到经济效益提高了植物种子的产量。陈柏君等^[8]对黄芩组织培养诱导产生同源四倍体。早在1983年Novak^[9]用3%秋水仙素以及3%秋水仙素+4% DMSO培养基分别处理大蒜茎尖,诱导率为6.25%、24.32%。现以蓝蓟种子为试材,采用不

同处理的秋水仙素对其一定时间的浸泡方法,研究了不同浓度秋水仙素和浸泡时间对蓝蓟种子发芽和幼苗生长的影响,以得到不同秋水仙素诱导蓝蓟的性状表现及个体变化,应用秋水仙素培育新品种具有积极的意义,并对今后蓝蓟的诱导选育提供理论依据和实践验证。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为2012年收获的优良蓝蓟种子。秋水仙素(南京生兴生物技术有限公司生产)为分析纯,用蒸馏水配制成浓度分别为0.05%、0.10%、0.20%、0.30%、0.40%的溶液置于4℃冰箱保存待用。

1.2 试验方法

试验于2013年11月14日在吉林农业大学农学院栽培实验室进行。选取均匀一致、饱满的蓝蓟种子,先用0.30% KMnO₄溶液消毒15 min,无菌水冲洗干净后用温水浸泡种子12 h左右至种子吸水膨胀。采用不同浓度的秋水仙素水溶液(0.05%、0.10%、0.20%、0.30%、0.40%)分别浸泡种子12、24、36、48 h(处理方法见表1),以清水处理为对照(CK)。每个处理50粒种子,3次重复,用量以刚好浸过种子为度,在人工气候培养箱中进行

表1 蓝蓟种子的秋水仙素处理组合

Table 1 Combination treatment of *Echium vulgare* seed

秋水仙素浓度 Colchicine concentration/%	处理时间 Processing time/h			
	12	24	36	48
0.00	1(CK)			
0.05	2(0.05,12)	3(0.05,24)	4(0.05,36)	5(0.05,48)
0.10	6(0.10,12)	7(0.10,24)	8(0.10,36)	9(0.10,48)
0.20	10(0.20,12)	11(0.20,24)	12(0.20,36)	13(0.20,48)
0.30	14(0.30,12)	15(0.30,24)	16(0.30,36)	17(0.30,48)
0.40	18(0.40,12)	19(0.40,24)	20(0.40,36)	21(0.40,48)

第一作者简介:徐惠风(1965-),女,吉林人,博士后,副教授,现主要从事植物生理生态与湿地生态环境和环境生物学等研究工作。E-mail:xhfzj@163.com.

基金项目:吉林省科技厅基础应用资助项目(201105070);吉林省科技厅重点科技攻关资助项目(20130206072NY);吉林省教育厅重大资助项目(201240);长春市科技局推广示范资助项目(长科技合(2014196)号)。

收稿日期:2014-11-10

砂培试验(砂子在 175℃ 电热鼓风烘干箱中烘干 2 h)^[10], 种子播种至铁盘中,光照时间 10 h/d,光照强度 2 000 lx, 白天温度 25℃、夜间 20℃,湿度 20%。每天浇水并观察长势,待长出 2~3 片叶后,移栽到土里以保证供应充足的营养。

1.3 项目测定

每天适量浇水并记录每处理蓝蓟种子的发芽情况, 苗高,叶片大小,叶长、叶宽等。发芽势(%)=4 d 内发芽种子粒数/供试种子粒数×100%;发芽率(%)=正常发芽种子总数/供试种子粒数×100%。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 2003 和 DPS 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同处理对蓝蓟种子发芽率、发芽势的影响

从表 2 可以看出,与对照相比,用 0.05%、0.10%、0.20%、0.30%、0.40%浓度的秋水仙素溶液处理蓝蓟种子 12、24、36、48 h,均有一定的差异,空白处理的发芽率为 98%,发芽势为 90%,随浓度增加发芽势逐渐降低,说明秋水仙素浓度越高对种子发芽的抑制作用越强;浓度为 0.10%、0.20%、0.30%、0.40%药剂处理,蓝蓟种子的发芽率和发芽势均随着处理时间的增加而降低,秋水仙素浓度 0.05%处理 12 h 发芽势为 80%,而处理 24 h 的

发芽势为 72%。处理时间一定时,发芽率、发芽势随着秋水仙素浓度的增加而逐渐降低,当秋水仙素浓度为 0.10%、处理时间为 12 h 时,蓝蓟种子的发芽势为 78%,而此时秋水仙素浓度为 0.20%的蓝蓟种子的发芽势为 72%。其中浓度为 0.05%、0.10%在处理时间为 12、24 h 时发芽率、发芽势较相近。浓度为 0.20%、0.30%、0.40%时对种子的抑制作用较强,特别在浓度为 0.40%处理时间为 48 h 时,发芽情况较差,蓝蓟种子的发芽势低为 36%,发芽率为 16%。由此可知,高浓度长时间对种子发芽生长势有抑制作用,最适合的浓度是 0.05%,浓度为 0.10%、0.20%在 12 h 内变化不大。

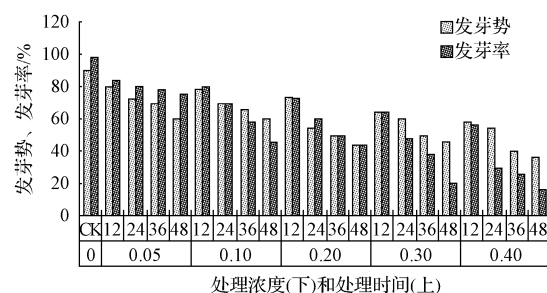


图 1 不同秋水仙素处理蓝蓟种子的发芽势和发芽率

Fig. 1 Germination potential and germination rate of difference colchicines treatments of *Echinium vulgare* seeds

表 2 不同秋水仙素处理对蓝蓟种子发芽率和发芽势的影响

Table 2 Effect of different colchicine treatments on germination rate and germination potential of *Echinium vulgare* seeds

秋水仙素浓度 Colchicine concentration /%	处理时间 Processing time /h	发芽势 Germination potential/%	5%显著水平 5% level of significance	1%极显著水平 1% level of very significance	发芽率 Germination rate/%	5%显著水平 5% level of significance	1%极显著水平 1% level of very significance
0	CK	90	a	A	98	a	A
0.05	12	80	b	B	84	b	B
	24	72	b	BC	80	bc	BC
	36	70	c	CD	78	cd	BC
	48	60	c	CD	75	cd	BC
0.10	12	78	c	CD	80	d	CD
	24	70	cd	DE	70	e	DE
	36	66	de	DEF	58	e	E
	48	60	ef	EFG	46	f	F
0.20	12	72	ef	EFG	72	f	FG
	24	54	ef	EFG	60	g	G
	36	50	fg	FGH	50	g	G
	48	44	gh	GHI	44	h	H
0.30	12	64	hi	HIJ	64	hi	HI
	24	60	hij	IJ	48	i	HI
	36	50	ij	IJ	38	i	I
	48	46	ij	IJ	20	j	J
0.40	12	58	j	JK	56	k	K
	24	54	j	JK	30	l	K
	36	40	k	KL	26	m	L
	48	36	k	L	16	m	L

2.2 不同处理对蓝蓟幼苗生长的影响

用 0.05%、0.10%、0.20%、0.30%、0.40%浓度的秋水仙素溶液处理蓝蓟种子,部分 0.30%、0.40%的发芽

种子根部出现明显的膨大及褐化现象,部分 0.30%、0.40%幼苗叶片出现 2 片叶片长在一起的畸变现象。用 0.05%~0.30%浓度药剂处理的蓝蓟种子 24、32 h,后期

生长良好,与CK相比,浓度0.40%和0.05%~0.30%处理48 h的蓝蓟种子表现出根部生长膨大,而后幼苗出现萌发渐慢,长势渐弱的现象。从表3可以看出,当秋水仙素浓度一定时,随着处理时间的增长,蓝蓟苗高逐渐变小,说明浓度一定随处理时间增加会抑制幼苗生长;当处理时间一定,随着秋水仙素浓度的变大,苗高逐渐变矮;空白处理苗高为2.72 cm,均大于各个处理,说明高浓度抑制生长。浓度为0.05%处理12 h的苗高变异率最大,为90.8%;叶长最大变异率在0.05%处理36 h;叶宽最大变异率在0.40%处理12 h。说明幼苗在0.50%的不同时间影响最大,导致叶片宽度变化最大的与浓度有直接关系,从表3变异率中不同浓度处理都有

表3 不同秋水仙素处理对蓝蓟幼苗苗高、叶长、叶宽的影响

Table 3 Effect of different colchicines concentrations on the hight, blade length and blade width of *Echium vulgare* seedlings

秋水仙素浓度 Colchicine concentration/ %	处理时间 Processing time/h	苗高 Seedling height/cm	变异率 Variability rate/ %	叶长 Blade length/cm	变异率 Variability rate/ %	叶宽 Blade width/cm	变异率 Mutation rate/ %
0	CK	2.72	0	2.50	0	1.10	0
	12	2.47	90.8	2.43	97.2	1.00	90.9
	24	2.13	78.3	2.34	92.9	1.30	118.2
0.05	36	2.10	77.2	2.45	98.0	0.70	63.6
	48	1.76	64.7	2.19	87.6	0.80	72.7
	12	2.12	77.9	2.00	80.0	1.20	109.1
0.10	24	1.74	63.9	2.15	86.0	0.90	81.8
	36	1.43	52.6	2.23	89.2	1.05	95.5
	48	1.22	44.9	2.21	88.4	0.80	72.7
0.20	12	1.33	48.9	2.01	80.4	1.31	119.1
	24	1.21	44.5	1.94	77.6	1.23	111.8
	36	1.31	48.2	1.89	75.6	1.06	96.3
0.30	48	1.15	42.7	2.01	80.4	0.90	81.8
	12	1.21	44.5	2.09	83.6	1.43	130.0
	24	1.31	48.3	1.94	77.6	1.23	118.1
0.40	36	1.09	40.1	2.05	82.0	1.41	128.2
	48	0.96	35.3	1.87	74.8	1.14	103.6
	12	1.52	55.9	1.89	75.6	1.51	137.3
0.50	24	1.32	48.5	1.67	66.8	1.00	90.9
	36	0.99	36.4	1.94	77.6	1.24	112.3
	48	0.71	26.1	1.99	79.6	1.32	120.0

2.3 不同浓度秋水仙素处理蓝蓟植株形态变化的比较

不同浓度秋水仙素处理蓝蓟种子后在形态上与CK有很大差异。与对照相比,处理植株表现为叶小茎尖粗大,叶片比较肥厚并有皱缩发生,枝长变小,叶色逐渐转为浓绿,并在叶柄、叶托处出现褐色,生长开始很迟缓,后加速生长。处理后蓝蓟植株的形态特征表现为叶表多不平,粗糙,有些外形畸形,分化能力弱且生长迟缓。

3 讨论与结论

秋水仙素是一种诱变作用性强且经济方便的诱导剂,应用秋水仙素诱导种子的方法已经成功的应用于石斛^[11]、大蒜^[12]等植物。鄢郁霖等^[13]研究表明,秋水仙素溶液浓度为0.8%时,黄瓜的诱变效果最好;张志胜等^[14]发现,秋水仙素处理的浓度为0.10%、处理48 h时,兰花变异率最高。该试验表明,秋水仙素浓度为0.50%处理

超过100%的变异率,但与处理时间没有相关性。

从表3还可以看出,各处理对叶宽无明显规律,在同一浓度处理下,随处理时间增加,叶宽逐渐变小,其中12 h浓度为0.40%时叶宽最大为1.51 cm。且其叶片宽度均大于秋水仙素浓度为0.05%、0.10%、0.20%的幼苗,当秋水仙素浓度0.05%、处理时间12 h时,叶宽为1.00 cm,而浓度为0.10%时其叶宽为1.20 cm,叶宽明显变大。改变叶片宽度与浓度和时间没有关系,是随机性畸变。随浓度增加,叶长逐渐变小,其中CK叶长最大为2.50 cm。高浓度可以缩小叶片长度。但对于同一秋水仙素浓度处理时间长短对其苗高、叶长、叶宽变化不明显。

时间12 h时,蓝蓟幼苗的诱导变异率最高,表现出蓝蓟种子基因对诱导变异的特性。与多数研究结果类似,秋水仙素浓度高、处理时间长,植物长势弱;浓度低、时间短,与对照相似表现不明显。随着浓度的增高,抑制作用增强,不同的处理抑制作用不同,这是由于不同处理的秋水仙素作用种子对其发芽及幼苗的生长分化起到了不同的抑制作用。所以,秋水仙素浓度和处理时间的选择是成功诱导植物的关键所在^[15-18],不同植物种子大小各异,不同种子处理的浓度和时间也各不同,与试验所处温度及环境也有关,因此不同材料的种子对秋水仙素的敏感性存在差异。其它植物如野生百合^[19]、益母草^[20]、黑麦^[21]、甘草^[22]、一串红^[23]、迎阳报春^[24]等,在形态上都表现为茎短粗,叶片肥厚皱缩等相似性状。在诱变过程中,由于秋水仙素诱导作用其农艺性状如苗高、

叶长、叶宽等都表现出与正常生长植物的不同。应用秋水仙素育种、培育作物新品种具有积极的意义^[25],蓝蓟种子诱导选育还需进一步在大田实践验证。

该试验结果表明,随秋水仙素浓度的增加和处理时间的延长,蓝蓟幼苗生长表现出矮化根部膨大变短变粗,叶片变厚的趋势。随处理时间的增加蓝蓟种子其发芽率和发芽势均有递减的趋势。当处理时间一定,随着秋水仙素药剂浓度的增加,发芽率、发芽势逐渐降低。随着秋水仙素药剂浓度的不断增大,蓝蓟苗期的苗高、叶长逐渐减小,叶宽增大。同一浓度处理下,随时间叶宽长度逐渐减小;随浓度增加,叶长逐渐变小。秋水仙素对蓝蓟种子有毒害作用,会抑制种子的萌芽和根部的生长。甚至处理浓度过大可致使蓝蓟根部在苗期褐化死亡。通过该研究分析,秋水仙素浓度在 0.50%,处理时间是 12 h 对蓝蓟幼苗的诱导变异最佳。

(该文作者还有郑炎诚,单位同第一作者。)

参考文献

- [1] 彭尽晖,张良波,彭晓英.秋水仙素在植物倍性育种中的应用进展[J].湖南林业科技,2004,31(5):22-25.
- [2] 庞克坚,宋占丽,赵晓英.盐胁迫对蓝蓟种子萌发及早期幼苗的影响[J].中国野生植物资源,2012,31(5):37-40.
- [3] 吴月亮.蓝蓟的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2008,44(2):304.
- [4] 高志新.蓝蓟(*Echium vulgare*)高产栽培技术的初步研究[D].长春:吉林农业大学,2011.
- [5] 穆红梅,杨传秀,陆长民.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,2011(17):103-105.
- [6] 张焕玲,李俊红,李周岐.秋水仙素处理杜仲种子诱导多倍体的研究[J].西北林学院学报,2008,23(1):78-81.
- [7] Lionneton E, Beuret W, Delaitre C, et al. Improved microspore culture and doubled haploid-plant regeneration in the brown condiment mustard (*Brassica juncea*) [J]. Plant Cell Reports, 2001, 20(2): 126-130.
- [8] 陈柏君,高山林.黄芩组织培养同源四倍体的诱导[J].植物资源与环境学报,2000,9(1):9-11.
- [9] Novak F J. Production of garlic (*Allium sativum* L.) tetraploids in shoot-tip *in vitro* culture [J]. Z Pflanzenzucht, 1983, 91: 329-333.
- [10] 王儒钧,宋荣霄,廖植挥.砂培技术研究[J].北京农业工程大学学报,1988,8(1):76-81.
- [11] 张莹,王雁,李振坚.秋水仙素诱导石斛多倍体的初步研究[J].核农学报,2009,23(2):413-417.
- [12] 张素芝,李纪蓉.秋水仙素诱导大蒜四倍体的研究[J].核农学报,2004(4):303-308.
- [13] 鄢郁霖,王小蓉,唐海东.秋水仙素处理对黄瓜生长发育及诱变效应研究[J].长江蔬菜(学术版),2010(6):8-11.
- [14] 张志胜,谢利,萧爱兴.秋水仙素处理兰花原球茎对其生长和诱变效应的影响[J].核农学报,2005,19(1):19-23.
- [15] 闫志刚,白隆华,马小军.秋水仙素处理对罗汉果愈伤组织生长及变异的影响[J].湖北农业科学,2012,11(51):5188-5190.
- [16] 李贤,钟仲贤.植物离体组织细胞染色体加倍技术在育种中的应用[J].上海农业学报,1998,14(3):99-101.
- [17] Parimoo R D. Induced tetraploidy in geographical races of *Rauwolfia serpentina* Benth [J]. Plant Breeding Abstracts, 1975, 45: 4825.
- [18] 安学丽,蔡一林,王久光,等.化学诱变及其在农作物育种上应用[J].核农学报,2003,17(3):239-242.
- [19] 姚连芳,李桂荣,张建伟.秋水仙素处理对野生百合形态影响的研究[J].西南农业学报,2005,18(2):222-224.
- [20] 徐丽珊,黄帆.秋水仙素处理对益母草种子生理生化的影响[J].种子,2003(1):21-22.
- [21] 秦素平,陈于和,林小虎,等.秋水仙素处理对黑麦根尖细胞有丝分裂的影响[J].麦类作物学报,2006,26(4):142-144.
- [22] 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.
- [23] 胡拥军.秋水仙素处理对一串红生长的影响[J].湖南林业科技,2011,38(4):48-50.
- [24] 余道平,李策宏.迎阳报春四倍体诱导及鉴定[J].核农学报,2014,28(6):961-966.
- [25] 山东农业大学,莱阳农学院.遗传学[M].北京:中国农业出版社,1995:223-233.

Research on the Colchicines Induced of *Echium vulgare* L. Seeds

XU Hui-feng, FENG Zheng-dong, ZHANG Ying-bao, CHEN Jing-jing, ZHU Bing-bing, WU Yun-hui, ZHENG Yan-cheng
(College of Agriculture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract: Taking *Echium vulgare* L. seeds as materials, effect of different colchicines concentrations (CK, 0.05%, 0.10%, 0.20%, 0.30%, 0.40%) and soaking times (12 hours, 24 hours, 36 hours, 48 hours) on germination and seedling growth of *Echium vulgare* L. seed were studied. The results showed that, with the increase of colchicines concentration, the growth of germination and seedling had a highly depressed promotion and a certain distortion rate; obviously, with the increase of concentration, the surface of the blade became hypertrophy with dark green. Between the germination rate and germination potential of *Echium vulgare* L. seeds showed a lower phenomenon with the increase of concentration and soaking time. When the concentration was 0.40% and the soaking time was 48 hours, the germination rate was 36%, the germination potential was 16%. As the increase of concentration, the height and length of leaves at seedling stage was gradually reduced and the leaf width became larger, with a short vitality.

Keywords: *Echium vulgare* L.; colchicine; induce; germination rate; germination potential