

李映乐, 张 伊, 李 茹, 等. 秋水仙素诱导人参果“圆果”多倍体的初探[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(10): 122–126.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.10.022

秋水仙素诱导人参果“圆果”多倍体的初探

李映乐¹, 张 伊¹, 李 茹¹, 王玉英¹, 李枝林¹, 黄兴龙², 李国昌²

(1. 云南农业大学园林园艺学院, 云南昆明 650201; 2. 石林彝族自治县经济作物站, 云南石林 652200)

摘要:为建立秋水仙素诱导人参果多倍体的方法, 以人参果品种“圆果”组培苗为试验材料, 用 0.1%、0.2%、0.4% 浓度的秋水仙素溶液分别浸泡 10、18、26 h, 培养 30 d 观察和测定相关指标。结果表明, 秋水仙素处理浓度、时间与人参果组培苗成活率成反比。浓度 0.1% 处理 10 h, 植株成活率为 96.67%; 浓度 0.2% 和 0.4% 处理 26 h 死亡率都达到 100%。浓度 0.2% 处理 18 h, 变异率最高为 53.33%; 变异植株出现茎增粗, 叶柄增长增粗, 叶形指数小, 根系发达, 节间距离增加, 颜色加深等特点。处理浓度为 0.2% 时, 组培苗半致死时间为 16.66 h。综合表明, 秋水仙素浓度为 0.2% 处理 18 h 最适于人参果组培苗多倍体的诱导。

关键词:人参果; 秋水仙素; 多倍体; 诱导半致死时间; 组培苗

中图分类号: S641.901 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)10-0122-04

人参果(*Solanum muricatum* Aiton)原名香瓜茄, 原产于南美洲, 是茄科多年生双子叶草本植物^[1]。人参果具有多种药理作用, 且无不良反应, 尤其在食品保健方面, 除增强机体免疫力外, 还可以辅助治疗阿尔兹海默病、血管疾病等, 还可以改善记忆、促进睡眠、减肥等^[2]。人参果的果实鲜美多汁, 甜而不腻, 富含维生素 C 和蛋白质, 但糖和脂肪含量低, 还含有人体必需的 18 种微量营养素, 并且是很好的高钾低钠水果, 保健效果极其显著, 被誉为“绿色保健珍品”^[3]。因此, 研究人参果多倍体育种对人参果产业具有重要意义。

植物多倍体是指每个细胞中染色体的数目是 3 组或 3 组以上的植物^[4]。植物育种研究中, 多倍体植物的经济性状往往更加优良, 在生理上较普通植株有更强的适应性, 在遗传上有较大的可塑性, 其中一些特殊性能可为农业经济发展提供很多帮助。随着染色体加倍, 细胞核增大导致细胞也会变大, 根、茎增粗, 叶片增厚, 颜色加深, 所得到的果实种子也会增大。在园艺产品中, 尤其对于水果来说, 获得无籽或少籽果实是目前人们研究的目标; 多倍体植物对环境的适应性和抗逆性较普通植物更强,

能提高植物成活率, 进而获得更高的收益; 有机合成率提高, 多倍体植物新陈代谢旺盛, 酶活性增加, 提高了有机物的合成速率, 植物的营养元素含量也相应增加^[5]。

目前, 获得植物多倍体的方式有 2 种, 即自然诱导和人工诱导。因自然诱导存在随机性且频率较低, 所以生产上常用人工诱导方式。人工诱导多倍体的方法可分为物理方法和化学方法。物理方法包括利用温度突变、机械创伤和辐射等。物理方法是早期多倍体育种最常用的方法^[6], 已获得咖啡^[7]、桑树^[8]等加倍植株。化学方法包括使用植物生物碱、植物生长激素和其他化学试剂。其中, 秋水仙素处理是诱导植物多倍体最高效也是最常用的方法之一。已在杂交兰^[9]、葡萄^[10]获得四倍体植株, 但目前尚无人参果多倍体诱导的研究。因此本试验以人参果“圆果”为研究对象, 采用秋水仙素处理人参果组培苗, 观察植株的生长和变异情况, 以期筛选出人参果多倍体诱导的最佳处理浓度和时间, 为人参果的多倍体育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验于 2019 年在云南农业大学园林园艺学院花卉研究所进行, 试验材料为人参果“圆果”组培苗。

1.2 试验方法

1.2.1 多倍体诱导 把人参果组培苗切成长约

收稿日期: 2020-09-03

基金项目: 大学生创新项目(编号: 202010676020)。

作者简介: 李映乐(1996—), 女, 广西百色人, 硕士研究生, 主要从事植物资源利用和创新研究。E-mail: 15078248461@163.com。

通信作者: 李国昌, 推广研究员, 主要从事经济作物技术与推广工作。E-mail: 465946410@qq.com。

1 cm 的茎段,去除叶片,只留 1 个叶柄。每个处理取 30 个茎段放于事先配制好的秋水仙素溶液中浸泡,处理时间为 10、18、26 h。后接种于 MS 培养基上,每瓶培养基接种 6 个茎段,每个浓度接种 5 瓶。期间观察植株的生长情况,记录其成活率和死亡率。继代培养 30 d,测量植株的形态指标。

培养条件:pH 值 5.8,相对湿度 [RH,(75±5)%],温度(22±2)℃,14 h/d 的光照周期,光照度 1 800~2 500 lx。不同浓度秋水仙素处理和时间配比组合如表 1 所示。

表 1 秋水仙素组合处理

序号	处理	处理浓度 (%)	处理时间 (h)
1	A1	0.1	10
2	B1	0.1	18
3	C1	0.1	26
4	A2	0.2	10
5	B2	0.2	18
6	C2	0.2	26
7	A3	0.4	10
8	B3	0.4	18
9	C3	0.4	26
10	CK	0	0

1.2.2 测量指标及方法 (1)形态指标。测定叶片数、叶长、叶宽、根数、根长、株高、茎粗和植株鲜质量。根据形态观察法,确定变异植株,计算变异率。变异率=变异株数/总处理株数×100%。(2)半致死时间(LT₅₀)计算。本试验采用 SPSS 软件计算 LT₅₀。导入时间和死亡率数据,点击图形→图表构建器创建散点图。然后点击分析→回归→线性按钮,把死亡率选入因变量,时间选入自变量,点击确定按钮创建时间-死亡率的线性回归方程。

2 结果与分析

2.1 不同秋水仙素处理对人参果组培苗成活率和死亡率的影响

从表 2 中可以看出,秋水仙素处理对人参果组培苗成活率影响较大,其中,CK 处理下人参果组培苗成活率最高,达到 100%。A1 处理与 CK 处理成活率接近,为 96.67%,均比其他处理成活率高,比 B1 处理高 36.67 百分点,比 C1 处理高 46.67 百分点,比 A2 处理高 16.67 百分点,比 B2 处理高 46.67 百分点,比 C2 处理高 96.67 百分点,比 A3 处理高 36.67 百分点,比 B3 处理高 53.34 百分点,比 C3 处

理高 96.67 百分点。而处理浓度相同时,成活率大小为 A1 处理>B1 处理>C1 处理;A2 处理>B2 处理>C2 处理;A3 处理>B3 处理>C3 处理。表明处理时长与成活率成反比,即处理时间越长,成活率越低。处理时间相同时,成活率大小为 A1 处理>A2 处理>处理 A3;B1 处理>B2 处理>B3 处理;C1 处理>C2 处理=C3 处理。表明处理浓度与成活率成反比,即处理浓度越高,成活率越低。而当处理时间为 26 h,处理浓度分别为 0.2%、0.4% 时,幼苗成活率为 0。

表 2 不同秋水仙素处理对人参果组培苗成活率和死亡率的影响

处理	株数 (株)	成活数 (株)	死亡数 (株)	成活率 (%)	死亡率 (%)
A1	30	29	1	96.67	3.33
B1	30	18	12	60.00	40.00
C1	30	15	15	50.00	50.00
A2	30	24	6	80.00	20.00
B2	30	15	15	50.00	50.00
C2	30	0	30	0	100
A3	30	18	12	60.00	40.00
B3	30	13	17	43.33	56.67
C3	30	0	30	0	100
CK	30	30	0	100	0

2.2 不同秋水仙素处理对人参果组培苗形态指标的影响

由表 3、图 1 可知,人参果组培苗在不同秋水仙素处理下植株形态指标差异显著。各个处理株高大小表现为 CK 处理>A2 处理>B3 处理>B2 处理>A1 处理>B1 处理>C1 处理=A3 处理,其中 CK 处理株高最高,A2 处理、B3 处理、A1 处理、B1 处理与 CK 处理间差异不显著,B2 处理、C1 处理、A3 处理与 CK 处理相比差异显著。各个处理叶长表现为 A3 处理>B3 处理=B1 处理>A1 处理>CK 处理>C1 处理>B2 处理>A2 处理,其中 A3 处理的叶长最长,但 B3 处理、B1 处理、A1 处理、CK 处理、C1 处理与 A3 处理间差异不显著,B2 处理、A2 处理与 A3 处理间差异显著,而 B2 处理、A2 处理下叶长最短,且二者间差异不显著。A3 处理、A1 处理下叶宽值最大,具体表现为 A3 处理=A1 处理>CK 处理>B3 处理>B1 处理>C1 处理=A2 处理>B2 处理,但 A3 处理、A1 处理、CK 处理、B3 处理、B1 处理、C1 处理、A2 处理间差异不显著,B2 处理相较于 A3 处理、A1 处理差异显著。CK 处理下叶片数最

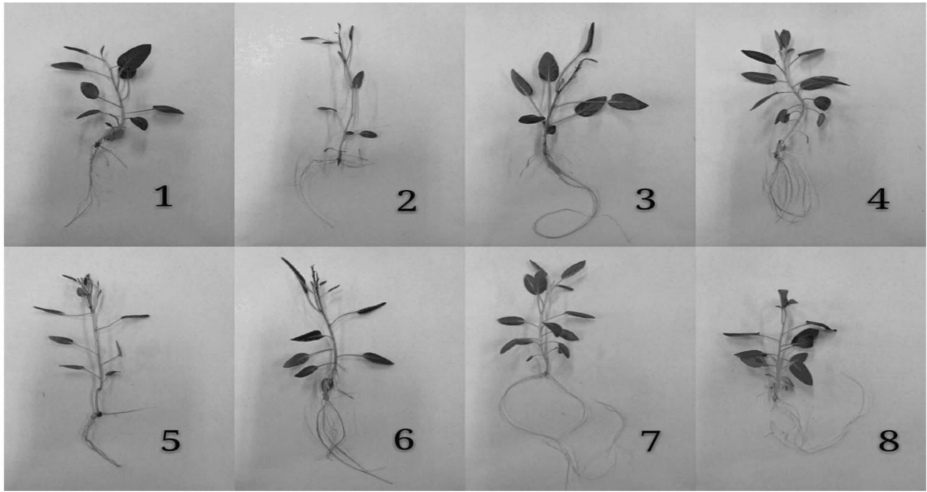
多,具体表现为 CK 处理 > B1 处理 > C1 处理 > B3 处理 > A1 处理 > A3 处理 > A2 处理 > B2 处理,但 B1 处理、C1 处理、B3 处理与 CK 处理间差异不显著,A1 处理、A3 处理、A2 处理、B2 处理与 CK 处理间差异显著,而 A1 处理和 A3 处理间,A2 处理和 B2 处理间差异不显著。C1 处理根长最长,具体表现为 C1 处理 > A3 处理 > CK 处理 > B2 处理 > B1 处理 > A1 处理 > A2 处理 > B3 处理,但 C1 处理与 A3

处理间差异不显著,CK 处理、B2 处理、B1 处理、A1 处理、A2 处理、B3 处理与 C1 处理间差异显著。A2 处理下根数最多,具体变现为 A2 处理 > B3 处理 = A3 处理 > B1 处理 > A1 处理 > CK 处理 = C1 处理 > B2 处理,但 B3 处理、A3 处理、B1 处理、A1 处理、CK 处理,C1 处理与 A2 处理差异不显著,而 B2 处理与 A2 处理间差异显著。各处理间的茎粗和鲜质量差异不显著。

表 3 不同秋水仙素处理对人参果形态指标的影响

处理	株高 (cm)	叶长 (cm)	叶宽 (cm)	叶片数 (张)	根长 (cm)	根数 (根)	茎粗 (cm)	鲜质量 (g)
A1	8.37 ± 1.12abc	1.77 ± 0.45ab	0.97 ± 0.06a	12.67 ± 1.53bc	7.90 ± 2.42bc	9.33 ± 1.89ab	0.12 ± 0.01a	0.33 ± 0.08a
A2	9.00 ± 1.04ab	1.17 ± 0.06b	0.73 ± 0.15ab	11.33 ± 0.58c	6.73 ± 2.58bc	14.00 ± 4.08a	0.09 ± 0.03a	0.27 ± 0.18a
A3	6.83 ± 0.55c	2.13 ± 0.67a	0.97 ± 0.25a	12.33 ± 3.06bc	11.57 ± 2.13ab	11.00 ± 4.32ab	0.11 ± 0.02a	0.30 ± 0.14a
B1	8.30 ± 0.98abc	1.80 ± 0.26ab	0.77 ± 0.15ab	16.00 ± 1.73ab	7.93 ± 1.45bc	10.33 ± 1.70ab	0.12 ± 0.01a	0.32 ± 0.06a
B2	8.57 ± 1.57bc	1.27 ± 0.25b	0.63 ± 0.06b	11.00 ± 2.00c	9.07 ± 3.92bc	7.00 ± 1.63b	0.09 ± 0.00a	0.32 ± 0.08a
B3	8.97 ± 0.80ab	1.80 ± 0.20ab	0.80 ± 0.00ab	13.67 ± 2.08abc	5.67 ± 1.03c	11.00 ± 1.41ab	0.11 ± 0.01a	0.33 ± 0.09a
C1	6.83 ± 1.19c	1.57 ± 0.23ab	0.73 ± 0.15ab	15.33 ± 2.31ab	16.60 ± 2.26a	8.33 ± 2.05ab	0.10 ± 0.01a	0.20 ± 0.05a
CK	9.77 ± 0.55a	1.60 ± 0.26ab	0.83 ± 0.06ab	16.67 ± 2.52a	9.93 ± 2.38bc	8.33 ± 1.70ab	0.07 ± 0.00a	0.38 ± 0.03a

注:表中同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。C2 处理、C3 处理的组培苗全部死亡。



1—A1 处理; 2—A2 处理; 3—A3 处理; 4—B1 处理; 5—B2 处理; 6—B3 处理; 7—C1 处理; 8—CK 处理
图1 不同处理下人参果植株形态

2.3 不同秋水仙素处理对人参果组培苗变异率的影响

由表 4 可知,各处理变异率高低为 B2 处理 > B1 处理 > A3 处理 > C1 处理 > A2 处理 > B3 处理 > A1 处理。B2 处理的变异率最高,达到 53.33%,比 B1 处理高 14.44 百分点,比 A3 处理高 20 百分点,比 C1 处理高 33.33 百分点,比 A2 处理高 36.66 百分点,比 B3 处理高 37.95 百分点,比 A1 处理高 46.43 百分点。综上所述,B2 处理下变异率最高,

达到 53.33%,其次是 B1 处理,达到 38.89%。变异植株与 CK 处理相比,茎段增粗,颜色加深;叶柄增长,增粗;颜色加深,叶形指数小;根系发达,节间距离增加。

2.4 秋水仙素处理对人参果组培苗的半致死时间

由表 4 可以看出,B2 处理下人参果组培苗变异效果最好,即秋水仙素浓度为 0.2% 时,植株的变异率最高。秋水仙素诱导多倍体时,除浓度剂量外,时间梯度的设置也非常重要。因此,对秋水仙素浓

表 4 不同秋水仙素处理对人参果变异率的影响

处理	成活株数 (株)	变异株数 (株)	变异率 (%)
A1	29	2	6.90
A2	24	4	16.67
A3	18	6	33.33
B1	18	7	38.89
B2	15	8	53.33
B3	13	2	15.38
C1	15	3	20.00

注: C2 处理、C3 处理的组培苗全部死亡。

度为 0.2% 处理下进行半致死时间方程的拟合。

由图 2 可知, 其线性回归方程为 $y = 0.05x - 0.3333$, 通过计算得到此浓度下的半致死时间为 16.66 h, 拟合度 $r^2 = 0.9796$, 该回归直线对观测值的拟合程度很高。

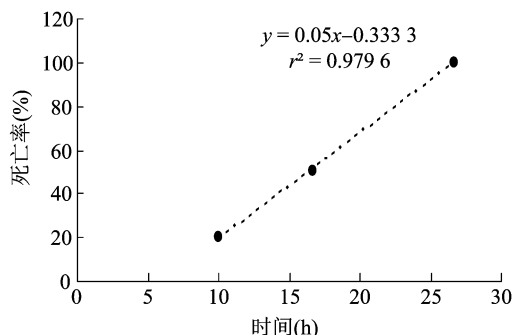


图2 0.2% 浓度秋水仙素处理时间线性回归方程

3 讨论与结论

Satina 等用秋水仙素处理曼陀罗成功加倍以后, 秋水仙素处理诱导染色体加倍就开始大范围应用于其他植物^[11]。张静静以铁皮石斛为材料, 表明处理材料的死亡率与秋水仙素浓度和处理时间呈正比关系^[12]。本试验表明, 同一处理浓度时, 处理时长与成活率成反比, 即处理时间越长, 成活率越低。同一处理时间时, 处理浓度与成活率成反比, 即处理浓度越大, 成活率越低, 与前人试验结果一致。

赵阳等在秋水仙素对园艺植物育种研究中提到果树和观赏树木往往使用较高浓度 (1.0% ~ 1.5%) 处理, 而草本植物则应设置较低浓度 (0.01% ~ 0.2%)^[13]。本试验使用的人参果组培苗是多年生草本植物, 对秋水仙素的耐受能力弱。高浓度长时间处理下易造成生理死亡, 所以本试验 C2

处理、C3 处理下组培苗全部死亡。半致死时间表示在一定条件下, 秋水仙素能引起人参果组培苗植株半数死亡的浸泡时间, 用 LT_{50} 表示, 是用来衡量秋水仙素溶液对人参果毒性大小的重要参数。在闫炯利用甲基磺酸乙酯 (EMS) 诱导小麦突变的试验中, 前人认为 LT_{50} 对筛选试剂适宜的处理条件有指导作用^[14]。本研究结果表明, 秋水仙素浓度为 0.2% 时, 人参果组培苗半致死的处理时间为 16.66 h。

魏卓等利用秋水仙素诱导黄心中华猕猴桃多倍体, 出现叶片变厚、叶色变深的现象^[15], 武娅歌等诱导欧洲温室型黄瓜获得的同源四倍体植株主茎明显更为粗壮^[16]; 王宇婷等发现渥丹百合种子诱导获得的四倍体植株根系显著增粗^[17]; 张艳萍等用秋水仙素处理马铃薯野生种诱导多倍体中发现处理后植株矮小^[18]; 邵冰洁等对枸杞多倍体进行诱导后, 枸杞植株节间距离缩短^[19]。在本试验出现了秋水仙素处理抑制植株株高生长, 处理后植株表现为矮小, 叶形指数小, 茎粗, 根短和人参果组培苗节间距离增加等现象, 与前人研究结果不一致。可能与植物品种有关, 原因有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 罗文杨. 蔬菜、水果兼观赏型植物——人参果[J]. 农村百事通, 2007, 26 (19): 31, 85.
- [2] 赵婧, 党梦瑶, 王铂铮, 等. 香瓜茄的养生保健价值分析[J]. 宁夏农林科技, 2013, 54 (3): 123 - 124.
- [3] 许倩倩, 岳恒, 苏攀峰, 等. 香瓜茄的化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23 (19): 100 - 104.
- [4] 裴新澍. 植物多倍体育种[J]. 中国农业科学, 1962, 3 (12): 6 - 12.
- [5] 刘静. 植物多倍体的形成及应用研究综述[J]. 安康学院学报, 2011, 23 (4): 99 - 102.
- [6] 马海渊, 张金凤, 李志丹. 植物多倍体育种技术方法研究进展[J]. 防护林科技, 2008, 26 (1): 43 - 46.
- [7] 余凤英, 凌绪柏, 刘伟青, 等. 中粒种咖啡小孢子染色体加倍方法的研究[J]. 热带作物学报, 1990, 11 (1): 45 - 54.
- [8] 杨今后, 杨新华. 桑树人工三倍体育种的研究[J]. 蚕业科学, 1989, 15 (2): 65 - 70, 119.
- [9] 尹翠翠, 张燕, 张景华, 等. 秋水仙素诱导杂交四倍体及倍性鉴定[J]. 核农学报, 2010, 24 (3): 518 - 521.
- [10] 罗耀武, 乔子靖, 朱子英, 等. 秋水仙素诱导葡萄玫瑰香品种为四倍体的研究[J]. 中国果树, 1995, 37 (2): 5 - 7.
- [11] Satina S, Blakeslee A F, Avery A G. Chromosome behavior in triploid *Datura stramonium*. III. The seed (Abstract) [J]. American Journal of Botany, 1938, 25 (8): 595 - 602.
- [12] 张静静. 铁皮石斛多倍体的诱导及其鉴定[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2013.

彭 桐,王引权,李 钦,等. 不同施肥处理对当归药材质量的影响[J]. 江苏农业科学,2021,49(10):126–131.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2021.10.023

不同施肥处理对当归药材质量的影响

彭 桐¹,王引权^{1,2},李 钦¹,荔淑楠¹,魏丽娟³,党昇荣³

(1. 甘肃中医药大学药学院,甘肃兰州 730000; 2. 甘肃省中药质量与标准研究重点实验室培育基地,甘肃兰州 730000;
3. 甘肃省绿能农业科技股份有限公司,甘肃天祝 733200)

摘要:以不施肥为对照,探究单施有机肥、施用生物有机肥加复合肥、单施复合肥,研究不同施肥处理对当归药材质量的影响,为当归栽培的合理施肥提供理论依据。参照 2020 年版《中华人民共和国药典》中四部方法测定当归水分、总灰分、酸不溶性灰分和醇溶性浸出物含量,采用甲苯法测定当归中多糖含量;采用高效液相色谱法(HPLC)测定当归中阿魏酸、阿魏酸松柏酯、洋川芎内酯 I 等 7 种化学成分的含量。结果表明,单施有机肥可显著降低当归药材的水分含量,提高浸出物含量;生物有机肥+复合肥处理可降低总灰分和酸不溶性灰分含量并提高浸出物含量;4 种施肥处理之间当归多糖含量并无显著性差异;根据主成分分析结果,单施复合肥和单施有机肥可促进当归中 7 种主要药效成分含量的提高。综合来看,本研究中国归的最佳施肥条件为单施有机肥 4 797.6 kg/hm²。

关键词:施肥;当归;质量;HPLC;主成分分析

中图分类号: S567.23+9.06 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2021)10–0126–06

当归为伞形科植物当归 [*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels.] 的干燥根,有补血活血,调经止痛和润肠通便的功效^[1]。目前临床上使用的当归药材多为栽培品,甘肃省定西市岷县、漳县、陇南市宕昌县等地为当归药材的道地产区^[2],占全国市场流通量的 70% 以上^[3]。目前,在当归种植过程中由于连作和大量施用化肥,造成土壤板结、土壤质量下降,土壤特性不稳定等问题,从而影响了当归品质。有研究证实恰当施肥不仅能促进当归的生长发育,提高药材产量,还可改善药材品质^[4]。鉴于此,笔

者所在课题组研究设计了单施有机肥、单施复合肥、有机肥与复合肥配施 3 种施肥方式,以不施肥为对照,对当归药材的质量影响进行试验研究。本研究以当归药材中当归多糖的含量和有机酚酸类(阿魏酸、阿魏酸松柏酯)跟苯酞类(洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 A、藁本内酯、欧当归内酯)7 种化学成分的含量^[5–6]作为评价指标。同时结合当归的水分、总灰分、酸不溶性灰分和醇溶性浸出物的含量对当归药材质量进行综合分析比较,为确定最佳施肥方案提供科学依据。以期当归的生态化种植及质量控制提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

本试验于 2019 年 4—11 月在甘肃省定西市岷县蒲麻镇包家沟村进行,海拔约 2 600 m,二阴区坡地,地块较平坦,前茬为燕麦。试验地于 4 月中旬移栽当归前翻地。翻地后,抢墒覆膜,膜宽 0.6 m,垄

收稿日期:2020–09–01

基金项目:国家重点研发计划(编号:2017YFC1700705);甘肃省高校协同创新科技团队支持计划(编号:2016C–05)。

作者简介:彭 桐(1995—),女,河北石家庄人,硕士研究生,主要从事药用植物资源保护与利用研究。E-mail: PengTong1828@163.com。

通信作者:王引权,博士,教授,博士生导师,主要从事药用植物资源保护与利用研究。E-mail: kikfp@163.com。

[13] 赵 阳,黄 韬. 秋水仙素在园艺植物多倍体育种中的应用研究进展[J]. 上海蔬菜,2010,24(2):29–31.

[14] 闫 炯. EMS 诱导小麦突变及突变的鉴定和筛选[D]. 保定:河北农业大学,2007.

[15] 魏 卓,张先昂,张 越,等. 黄心中华猕猴桃多倍体诱导及鉴定[J]. 分子植物育种,2020,18(12):4036–4040.

[16] 武姬歌,赵建华,宋晓飞,等. 欧洲温室型黄瓜同源四倍体新种

质的创制与鉴定[J]. 江苏农业科学,2019,47(18):141–145.

[17] 王宇婷,张雅倩,杨青杰. 秋水仙素对渥丹百合种子多倍体诱导的影响[J]. 贵州农业科学,2019,47(7):5–9.

[18] 张艳萍,蒲秀琴. 秋水仙素诱导马铃薯野生种 *S. acaule* 多倍体的初步研究[J]. 中国种业,2018,37(6):66–68.

[19] 邵冰洁,王思琦,刘江森,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.