

# 石硃龙眼未成熟种子种胚的萌发及成苗的研究

卢博彬, 黄穗生\*, 傅嘉欣, 张永福, 王 英, 潘丽佳, 杨小娜, 刘成明\*\*

(华南农业大学园艺学院, 广州 510642)

**摘要:** 以花后 82~87 d 的石硃龙眼(*Dimocarpus longan* Lour. 'Shixia')未成熟果实在 4℃ 贮藏 24 h, 研究种子与种胚的萌发与成苗情况。结果表明: 河沙直播未成熟胚的最终成苗率达到 80%, 远高于离体培养未成熟种子的最终成苗率(12.63%~44.03%); 虽然 4℃ 的低温贮藏略为推迟了河沙直播未成熟胚的萌发时间, 但对最终成苗率及幼苗生长的影响不大, 这对龙眼杂交育种中未成熟种子种胚的挽救具有较好的应用价值。

**关键词:** 龙眼; 种子; 种胚; 萌发; 成苗

中图分类号: Q945.34

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2010)06-0675-04

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2010.06.014

## Studies on Seed Germination and Seedling of Immature Seeds and Embryos of Longan 'Shixia'

LU Bo-bin, HUANG Sui-sheng\*, FU Jia-xin, ZHANG Yong-fu,

WANG Ying, PAN Li-jia, YANG Xiao-na, LIU Cheng-ming\*\*

(College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** The germination and seedling of immature seeds and embryos after anthesis 82 ~ 87 d of longan (*Dimocarpus longan* Lour. 'Shixia') were studied. The results showed that the germination and seedling rates of immature embryos sowed directly in clean sand were better than those of *in vitro* cultured immature seeds. Furthermore, although the germination time of immature embryos stored at 4℃ for 24 hours was slightly delayed in sand, there was no obvious inhibition effect on their germination rate and seedling growth. These results indicated that sowing directly in clean sand was a good way for immature seed and/or embryo rescue in sexual hybridization breeding of longan.

**Key words:** *Dimocarpus longan* Lour.; Seed; Embryo; Germination; Seedling raising

龙眼(*Dimocarpus longan* Lour.)是我国南方特色水果之一, 果实清甜可口, 营养丰富<sup>[1]</sup>。近年来选育的龙眼新品种品系多以实生选种为主<sup>[2-3]</sup>, 然而优良的实生树资源已经面临枯竭, 杂交育种是品种选育的新途径, 能创造更丰富多样的遗传变异, 实现龙眼育种的新突破。目前龙眼杂交育种特别是远缘杂交育种工作中, 往往存在最终成果率较低

的问题。Mcconchie 等<sup>[4]</sup>曾进行荔枝(*Litchi chinensis*)与龙眼的属间杂交研究, 以荔枝为母本, 龙眼为父本, 授粉后花粉能够萌发并进入雌蕊子房; 以龙眼母本, 荔枝为父本时, 花粉管极少能进入雌蕊子房。赵玉辉等用荔枝和龙眼进行远缘杂交研究, 结果只有紫娘喜荔枝和石硃龙眼的亲和性较好, 并获得 2 株真杂种苗<sup>[5]</sup>。

收稿日期: 2009-10-12 接受日期: 2010-12-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(30771498); 中国博士后科学基金项目(20080440763, 20090460780); 广东省科技计划项目(2006B20230003); 广东省现代农业产业技术体系建设专项基金资助

作者简介: 卢博彬, 女, (1985 ~ ), 博士, email: mlxy128@hotmail.com

\* 与第一作者有同等贡献

\*\* 通讯作者 Corresponding author, email: cmliu@scau.edu.cn

石硤是我国种植面积最大的龙眼品种,也是广东最重要的栽培品种之一<sup>[6]</sup>,主产于珠江三角洲,可作为重要的杂交亲本。石硤的成熟期为 7 月下旬至 8 月上中旬,其第 2 次生理落果期通常发生在 6 月中旬至 7 月中旬,即花后 65~95 d,此时落果的果实已经比较大<sup>[7-8]</sup>,是否能够加以利用有待研究。关于龙眼成熟种子的萌发生理及焦核龙眼未成熟胚培养已有研究报道<sup>[9-10]</sup>,但有关石硤龙眼第 2 次生理落果期的未成熟果实的种子或未成熟胚萌发的研究还未见报道。因此,探索石硤龙眼第 2 次生理落果期前后的未成熟果实的种子和种胚萌发及成苗技术,对以石硤龙眼作母本的人工杂交育种工作将有重要的应用价值。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

石硤龙眼(*Dimocarpus longan* Lour. 'Shixia')未成熟果实于 6 月 18~23 日(花后 82~87 d)采于广州华南农业大学园艺学院龙眼种质圃内。平均单果重 2.95 g,纵径 1.73 cm,横径 1.80 cm。

### 1.2 离体培养

离体培养设 4 个处理,每个处理接种 40 粒种子,设 3 次重复。

处理 1:新鲜果实放入密实袋中于 4℃ 下贮藏 24 h,在超净台剥去果皮及果肉,将种子用 75% 酒精棉球擦净后用无菌水清洗,75% 酒精预消毒 1 min,再经 0.1% 升汞消毒 10 min,用无菌水洗 3 次,接种培养。

处理 2:新鲜果实不经冷藏,在超净台剥去果皮及果肉,其余同处理 1。

处理 3:新鲜果实放入密实袋中于 4℃ 下贮藏 1 d,在超净台上剥去果皮后用无菌水冲洗 1 次,用 75% 酒精预消毒 1 min,再经 0.1% 升汞消毒 10 min,无菌水洗 3 次,用手术刀刮去果肉,取出种子接种培养。

处理 4:新鲜果实不经冷藏,在超净台剥去果皮,其余同处理 3。

培养基均为:MS 基本培养基 + 0.1 mg L<sup>-1</sup> BA + 0.01 mg L<sup>-1</sup> NAA + 40 g L<sup>-1</sup> 蔗糖 + 0.1% 活性炭 + 0.65% 琼脂,pH 值调至 5.8,于 25 ± 2℃ 下暗培养。

待胚根长出后,将培养瓶放到果园的阴凉处炼苗,3 d 后打开瓶盖,取出萌发种子播于育苗袋中,播种深度为 1 cm,其上铺 2 cm 厚的干草,于阴凉

处培育。

### 1.3 未成熟种胚的河沙直播

河沙直播试验设 2 个处理,每个处理播种 40 粒种胚,设 3 次重复。

处理 5:新鲜果实放入密实袋中于 4℃ 下贮藏 24 h,剥去果皮、果肉及种皮,取未成熟胚播入育苗袋,播种深度为 1 cm,其上铺 2 cm 厚的干草,于阴凉处培育。

处理 6:新鲜果实不经冷藏,剥去果皮、果肉及种皮,未成熟胚播入育苗袋,其余同处理 5。

育苗袋直径 30 cm,用红壤装至 7 成满,再覆盖 3 cm 的湿润河沙(采自建筑工地,经 20 目防虫网过滤并用自来水清洗 3 次,风干后使用)。

### 1.4 数据统计

以胚根突破种阜(露白)为萌动;以胚芽伸长 2 mm 为出芽;以真叶长出为成苗,统计不同时期的未成熟种子或种胚的萌动率、出芽率、污染率(仅对离体培养的情况)、成苗率和幼苗高度。其中以百分率表示的数据先用 Excel 作反正弦转换,再用 SAS9.0 统计软件中的 Fisher's LSD 进行差异显著性检验;幼苗高度用 SAS9.0 统计软件的 Nonparametric One-Way ANOVA 进行 Kruskal-Wallis 检验,若其统计量小于 0.05,再进一步用 Dunnett's *t* 检验进行差异显著性检验。

## 2 结果和分析

### 2.1 离体培养中贮藏温度对未成熟种子萌发及成苗的影响

由处理 1~处理 4 的试验结果(表 1,2)可看出,在相同种子消毒方式下(1 和 2 相同,3 和 4 相同),经 4℃ 贮藏 24 h 的未成熟种子在接种后不同天数时的萌动率、出芽率、成苗率基本上都显著低于不经贮藏的新鲜种子,表明新鲜果实的未成熟种子的萌发速度相对较快,成苗率相对较高。因此,如果要采用离体培养对未成熟种胚进行挽救时,最好直接用新鲜的未成熟果实,不要对果实进行冷藏。

### 2.2 河沙直播的影响

从处理 5 及处理 6 的结果可知,经 4℃ 贮藏 24 h 的未成熟胚播种后 17 d 的出芽率显著低于新鲜种胚,而到第 23 天时两者无显著差异,说明新鲜的未成熟胚的萌发速度相对较快。从播种后 30 d 开始,新鲜播种的与冷藏的未成熟胚的成苗率相同,

表1 未成熟果实种子和种胚的萌发

Table 1 Germination of seeds and embryos from immature fruits

| 处理<br>Treatment | 萌动率 Sprouting rate (%) |            |            | 出芽率 Budding rate (%) |               |
|-----------------|------------------------|------------|------------|----------------------|---------------|
|                 | 3 d                    | 6 d        | 14 d       | 17 d                 | 23 d          |
| 1               | 30 ± 1.55C             | 35 ± 0.87C | 70 ± 1.59B | 1.7 ± 3.03B          | 10 ± 2.85D    |
| 2               | 60 ± 1.69A             | 65 ± 1.49A | 90 ± 1.39A | 5 ± 5.46B            | 20 ± 2.08C    |
| 3               | 15 ± 2.10D             | 45 ± 1.67B | 70 ± 1.55B | 31.25 ± 1.91A        | 31.25 ± 1.91B |
| 4               | 45 ± 0.83B             | 65 ± 2.62A | 95 ± 5.46A | 40 ± 1.47A           | 50 ± 1.66A    |
| 5               | —                      | —          | —          | 5 ± 1.97B            | 25 ± 1.92BC   |
| 6               | —                      | —          | —          | 35 ± 1.74A           | 35 ± 1.74B    |

数据后不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。Data followed different letters present significant difference at 0.05 level. 下表同。The same as following Tables.

表2 未成熟果实种子和种胚的成苗

Table 2 Seedling growth of seeds and embryos from immature fruits

| 处理<br>Treatment | 成苗率 Seedling rate (%) |               |               | 70 d 株高(cm)<br>Height at<br>70-day-old |
|-----------------|-----------------------|---------------|---------------|--|
|                 | 30 d                  | 60 d          | 70 d          |  |
| 1               | 0D                    | 12.63 ± 0.79D | 12.63 ± 0.79D | 8 ± 0.15B                              |
| 2               | 10 ± 1.39C            | 25 ± 1.37C    | 25 ± 1.37C    | 9.62 ± 0.71B                           |
| 3               | 31.25 ± 1.91B         | 31.25 ± 1.91C | 31.25 ± 1.91C | 12.3 ± 0.74A                           |
| 4               | 35.29 ± 0.57B         | 44.03 ± 0.56B | 44.03 ± 0.56B | 9.4 ± 0.95B                            |
| 5               | 55 ± 1.45A            | 80 ± 2.08A    | 80 ± 2.08A    | 9.63 ± 0.41B                           |
| 6               | 55 ± 1.67A            | 80 ± 1.76A    | 80 ± 1.76A    | 10.81 ± 0.34AB                         |

且两者播种 70 d 的平均株高无显著差异,说明未成熟果实低温冷藏与否对河沙直播的未成熟种胚的成苗率及幼苗质量影响不大,即龙眼未成熟种子(种胚)可以忍耐 4℃ 短时间贮藏。因此,如遇到不良情况而不能及时播种的话,可将未成熟果实在 4℃ 下短期贮藏再进行河沙直播后培育。

以上结果还可看出,在相同处理条件下,带果肉消毒的未成熟种子的出芽率、成苗率均显著高于不带果肉消毒的种子,证明带果肉消毒的方式对未成熟种子的伤害更小,具有较好的实用价值。

### 3 结论和讨论

与荔枝相似<sup>[11]</sup>,石硤龙眼第 2 次生理落果(花后 65~95 d)的主要原因也是由于果肉组织迅速发育,果实大量消耗营养而导致竞争,使得处于竞争劣势的果实发生脱落。叶玲等对“石硤”龙眼果实发育类型及其相关性的研究表明,花后 75 d 之后,种子重量不再增加<sup>[12]</sup>,表明花后 75 d 的种子发育程度已较高。本研究中我们对花后 82~87 d 落果进行了解剖,发现其种胚绝大多数是正常的,因而具有在沙播或离体培养下萌芽出苗的能力。

由于离体培养涉及到培养基、培养条件及污染等诸多问题,导致花后 82~87 d 的未成熟果实种子的最终成苗率明显偏低(12.63%~44.03%),故不提倡将离体培养用于第二期生理落果的胚挽救;而河沙直播未成熟种胚的成苗率最高(80%)且生长正常,其方法简单且效果较理想,具有较好的应用价值。究其原因,一方面可能是河沙的透气性好,有利于未成熟胚的呼吸和萌发;另一方面,在露天条件下存在的自然昼夜变温节律,也有利于种胚的继续发育;此外,去除种皮可能对种胚萌发更为有利<sup>[13-14]</sup>,因为种皮不仅是一种机械障碍<sup>[15-17]</sup>,而且其中还可能存在某些抑制幼胚萌发的物质,包括酚类<sup>[18]</sup>和脱落酸(ABA)<sup>[19-22]</sup>等。例如,李永红等对马拉巴栗(*Pachira macrocarpa*)种皮 ABA 的研究表明,种皮的 ABA 含量在种子发育过程中均明显高于胚轴和子叶<sup>[21]</sup>;Farrant 等对红树植物白骨壤(*Avicennia marina*)种子的研究中有相似的结果<sup>[22]</sup>;另外,彭业芳等也报道了乌圆龙眼(*Euphoria longan*)未成熟种子中的内源 ABA 水平较高<sup>[23]</sup>。这些研究都从不同的角度说明种皮及 ABA 对种胚(特别是未成熟胚)萌发的抑制作用。

## 参考文献

- [1] Han D M(韩冬梅), Pan X W(潘学文), Li R(李荣), et al. Comparison of maturing characteristics in three varieties of Longan fruits [J]. *Fujian Fruits*(福建果树), 2008, 147: 22–27.(in Chinese)
- [2] Zhang Z Q(张志其), Wang E P(王恩平), Li Y X(李于兴), et al. Preliminary report on breeding of Sichuan late-ripening longan [J]. *S China Fruits*(中国南方果树), 2004, 33(2): 27–28.(in Chinese)
- [3] Yi Y W(易永文), Chen J C(陈建川), Hong C M(洪传美), et al. Breeding and cultivation techniques for Fuling Yellow Shell longan [J]. *S China Fruits*(中国南方果树), 2008, 37(1): 31–33.(in Chinese)
- [4] Mcconchie C A, Vithanage V, Batten D J. Intergeneric hybridization between Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) and Longan (*Dimocarpus longan* Lour.) [J]. *Ann Bot*, 1994, 74: 111–118.
- [5] Zhao Y H(赵玉辉), Hu Y L(胡又厘), Guo Y S(郭印山), et al. Intergeneric hybrids obtained from cross between litchi and longan cultivars and their molecular identification [J]. *J Fruit Sci*(果树学报), 2008, 25(6): 950–952.(in Chinese)
- [6] Gu X L(古小玲), Li Y P(李玉萍), Liang W H(梁伟红), et al. The survey of Longan industry development in China [J]. *Chin Agri Sci Bull*(中国农学通报), 2008, 24(9): 470–474.(in Chinese)
- [7] Huang H B(黄辉白). *Tropical and Subtropical Zone Pomology* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2003: 51–60.(in Chinese)
- [8] Li J Z(李江舟), Zhu J H(朱建华), Xu L(徐宁), et al. Flowering and fruiting characteristics of Shixi longan [J]. *Fujian Fruits*(福建果树), 2006, 139: 37–39.(in Chinese)
- [9] Xia Q H(夏清华), Chen R Z(陈润政), Fu J R(傅家瑞). Domination characteristics and germination physiology in longan seed [J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), 1991, 27(5): 397–398.(in Chinese)
- [10] Yang Y Q(杨永青), Chen Z F(陈志峰). Study on fruit's inheritable character and embryo culture of wilted-nut variety of *Dimocarpus longan* Lour. [J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), 1987, 14(4): 217–223.(in Chinese)
- [11] Li J G(李建国). *The Litchi* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2008: 229–230.(in Chinese)
- [12] Ye L(叶玲), Xiao Y(肖瑶), Hou X Y(侯学瑛). Studies on fruit germination type and its relativity of Longan 'Shixia' [J]. *Fujian Fruits*(福建果树), 1992(4): 1–3.(in Chinese)
- [13] Sari A O, Oguz B, Bilgic A. Breaking seed dormancy of laurel (*Laurus nobilis* L.) [J]. *New For*, 2006, 31: 403–408.
- [14] Hu X W, Wang Y R, Wu Y P. Effects of the pericarp on imbibition seed germination and seedling establishment in seeds of *Hedysarum scoparium* Fisch. et Mey [J]. *Ecol Res*, 2009, 24(3): 559–564.
- [15] Debeaujon I, Leon-Kloosterziel K M, Koormneef M. Influence of the testa on seed dormancy, germination and longevity in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2000, 122(2): 403–413.
- [16] Bai K J(白柯君), Guo S J(郭素娟), Shi Q L(石青莲). Establishment of regeneration system from hypocotyls of *Castanea mollissima* 'Yanshanhong' [J]. *J SW For Coll*(西南林学院学报), 2005, 25(4): 106–109.(in Chinese)
- [17] Liu Y Q(刘幼琪), Hong Y Y(洪艳艳), Luo Y(罗颖), et al. Study on conditions of seed germination of *Staphylea bumalda* DC. [J]. *J Hubei Univ (Nat Sci)*(湖北大学学报: 自然科学版), 1999, 21(1): 81–83.(in Chinese)
- [18] Hu J(胡晋). *Seed Biology* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 128–129.(in Chinese)
- [19] Ackerson R C. Regulation of soybean embryogenesis by abscisic acid [J]. *J Exp Bot*, 1984, 35: 403–413.
- [20] Bewley J D, Black M. *Seeds: Physiology of Development and Germination* [M]. New York: Plenum Press, 1985: 115–116.
- [21] Li Y H(李永红), Ma Y M(马颖敏), Zhao L J(赵梁军). A study of effect of abscisic acid on seed development and germination of *Pachira macrocarpa* [J]. *J Chin Agril Univ*(中国农业大学学报), 2009, 14(4): 65–70.(in Chinese)
- [22] Farrant J M, Pammenter N W, Berjak P. Seed development in relation to desiccation tolerance: A comparison between desiccation sensitive (recalcitrant) Seeds of *Avicennia Macrina* and desiccation-tolerant types [J]. *Seed Sci Res*, 1993, 3: 1–13.
- [23] Peng Y F(彭业芳), Fu J R(傅家瑞). ABA contents and sensitivity to exogenous ABA of lyehee (*Litchi chinensis* Sonn.) and longan (*Euphoria longan* Steud.) during development [J]. *Acta Phytophysiol Sin*(植物生理与分子生物学学报), 1995, 21(2): 159–165.(in Chinese)