

$^{60}\text{Co}\gamma$ 射线种子辐射对大花高代组培苗的生长及诱变效应

朱道圩¹, 符真珠², 张慧英², 杨宵¹, 理莎莎¹

(¹河南农业大学林学院园艺学院, 郑州 450002; ²广西大学农学院, 南宁 530005)

摘要:以 0Gy、10Gy、50Gy、100Gy、150Gy 和 200Gy 不同剂量的 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐射种子, 研究其对大花高代组培苗生长影响的结果表明, 在 50~200Gy 范围内, 根和真叶的生长以及植株高度都不同程度地受到了抑制, 且抑制程度与辐射剂量呈正相关, 而 10Gy 则能促进根和真叶的生长。随着剂量的增高, 死亡率增高, 组培苗生长 41d 时的半致死剂量(LD₅₀)为 150Gy。各处理组培苗培养 70d 后, 少量瓶内开花, 出现花型、花色和花瓣变异。花型变异主要由对照的正常花形变为蝴蝶形。花色变异主要是颜色变浅, 甚至变为白色。花瓣变异可由原来的单瓣变为重瓣花。以上结果表明, $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐射可以提高突变频率且诱变效应明显, 有利于在大花高代育种中产生色彩丰富, 花型、株型美观的变异类型。

关键词: $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线; 大花高代; 半致死剂量; 矮化

中图分类号: S681.9 文献标识码: A

Effects of Seed Irradiation with $^{60}\text{Co}\gamma$ Ray on the Growth and Mutation of Seedling of *Godetia grandiflora* Lindl. in vitro

Zhu Daoyu¹, Fu Zhenzhu², Zhang Huiying², Yang Xiao¹, Li Shasha¹

(¹College of Forestry and Horticulture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002;

²College of Agricultural, Guangxi University, Nanning 530005)

Abstract: Six doses 0Gy, 10Gy, 50Gy, 100Gy, 150Gy and 200Gy were used to study the effects of seed irradiation with $^{60}\text{Co}\gamma$ ray on the growth of seedling of *Godetia grandiflora* Lindl. in vitro in this experiment. The results showed that the number of roots and leaves, and plant height all decreased with the increase of irradiating doses (50–200Gy). Moreover, the higher dose, the higher death rate, and the Half Lethal Dosage (LD₅₀) for the seedlings of 41 days was 150 Gy. Mutants were found amongst seedlings in all treatments 70 days after culturing, including flower colour, shape and the structure of petals. This indicates that gamma ray irradiation can increase the frequency of mutations and produces special types of flower in *Godetia grandiflora* breeding.

Key words: $^{60}\text{Co}\gamma$ rays, *Godetia grandiflora* Lindl, LD50, Dwarf effect

大花高代(*Godetia grandiflora* Lindl.)又名古代稀, 是柳叶菜科, 晚春锦属的一年生草本花卉, 花朵艳丽, 极具观赏价值^[1,2]。该花原产北美, 中国刚刚引入, 尚处于研究试种阶段。试种中观察到, 其花朵较小, 茎秆细弱, 易倒伏, 应作相应的遗传改良, 以提高栽培及观赏价值。

实践证明, 利用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐射花卉材料可以培育出许多的观赏期长、色彩丰富、花型、株型美观、抗性强的花卉植物新品种^[3-6], 辐射诱变已成为当前观赏植物育种的一个重要手段。目前, 国内外尚无利用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐射大花高代材料的报道, 笔者利用大花高代种子作为辐射材料, 以期选育出优良变异类型; 并通过

基金项目: 河南农业大学重点学科建设基金(10466-S090201)。

第一作者简介: 朱道圩, 男, 1943 年出生, 教授, 现从事园艺作物遗传育种工作。通信地址: 450002 河南省郑州市文化路 95 号河南农业大学园艺系。
Tel: 0371-63555837, E-mail: zhudaoyu@yahoo.com。

收稿日期: 2007-07-06, 修回日期: 2007-07-19。

其组培幼苗生长状况的观察,了解辐射后的生物学效应,探明有效的辐射诱变剂量为大花高代种子辐射诱变提供参考。

1 材料与方 法

供试材料为大花高代种子。辐照处理于2006年在河南省科学院同位素研究所钴源室进行,照射剂量分别为0、10、50、100、150和200Gy,剂量率为0.5Gy/min。室内试验在河南农业大学园艺系中心实验室进行。辐照之后的种子用13%的次氯酸钠消毒15min,再用0.02%升汞消毒3min,最后用无菌水冲洗3次。将消过毒的种子接入铺有滤纸的

灭过菌的培养皿中,种子萌发后,选取整齐一致的种子接在MS培养基中进行培养。培养条件为:温度26℃,光照时间12h/d,光照强度为29.25mmol/(m²·s)。试验采用完全随机设计,6个处理,3个重复。

2 结果与分析

2.1 不同辐射剂量对大花高代种子发芽率的影响

大花高代种子培养2d时即可发芽,10Gy的辐射剂量可促进种子萌发,第3天发芽率即可高达75%。50Gy以上的辐射剂量抑制种子萌发,而且随着辐射剂量增高,种子发芽率依次降低(表1)。

表1 不同辐射剂量对大花高代种子发芽率的影响

| 辐射剂量 (Gy) | 总粒数 (粒) | 3d | | 4d | | 7d | |
|--------------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | 发芽数(粒) | 发芽率(%) | 发芽数(粒) | 发芽率(%) | 发芽数(粒) | 发芽率(%) |
| 0 | 124 | 75 | 60 | 95 | 77 | 111 | 90 |
| 10 | 103 | 77 | 75 | 90 | 87 | 97 | 94 |
| 50 | 101 | 45 | 45 | 75 | 74 | 90 | 89 |
| 100 | 101 | 43 | 43 | 73 | 72 | 88 | 87 |
| 150 | 115 | 45 | 39 | 90 | 78 | 100 | 87 |
| 200 | 123 | 15 | 12 | 45 | 37 | 75 | 61 |

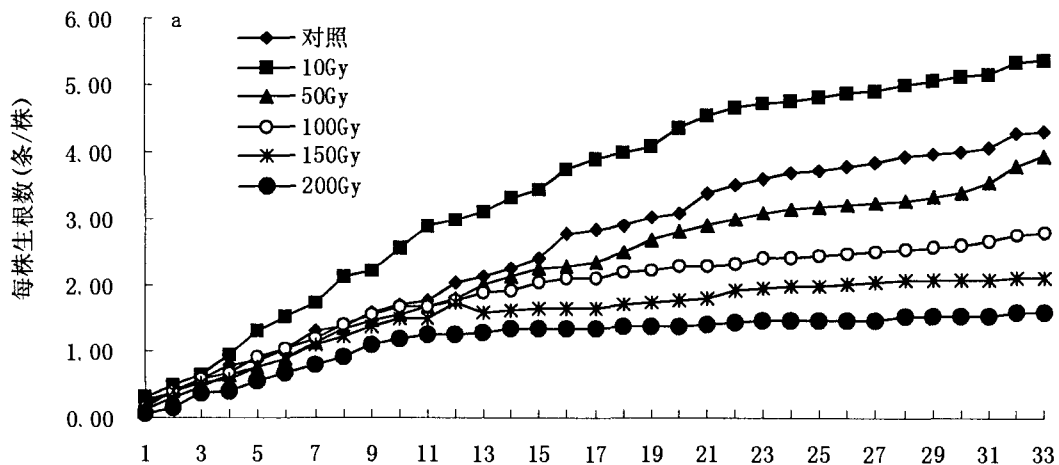
廖飞雄和潘瑞炽^[7]以0Gy、100Gy、200Gy、300Gy、400Gy和500Gy不同剂量的⁶⁰Coγ射线处理预先浸泡1h的菜心种子(剂量率为0.6Gy/min),结果表明,辐射延缓了种子萌发,抑制了幼苗的生长,而且剂量越大抑制效应越明显。笔者试验结果与其相符。

2.2 不同辐射剂量对大花高代组培苗根和真叶发生的影响

发芽的种子接入MS培养基后,1d即可生根(图1a);对照与10Gy处理的组培苗8d即可展开真叶,其它处理的真叶发生,随着辐射剂量的增加而逐步推迟

(图1b)。

10Gy的辐射剂量可促进组培苗的生长,根数和真叶数最多,超过了对照。50Gy以上的辐射剂量抑制组培苗的生长,根和真叶的发生随着辐射剂量的增加而相对减少(图1)。此结果表明,较低辐射剂量能促进组培苗根和真叶的发生,较高辐射剂量具有抑制作用,而且随着辐射剂量的增加,抑制效应就越明显。廖飞雄和潘瑞炽^[7]认为,辐射对菜心种子根系生长产生了不同程度的抑制,300Gy以上剂量对根细胞的伤害极大,而笔者的实验中200Gy已严重抑制了种子的生根。



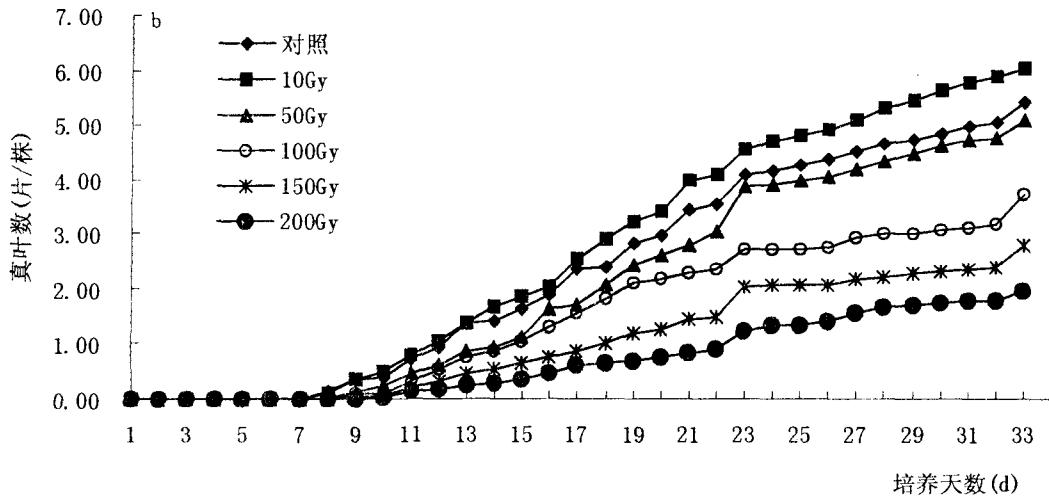


图1 不同辐射剂量对大花高代组培幼苗根和真叶发生的影响

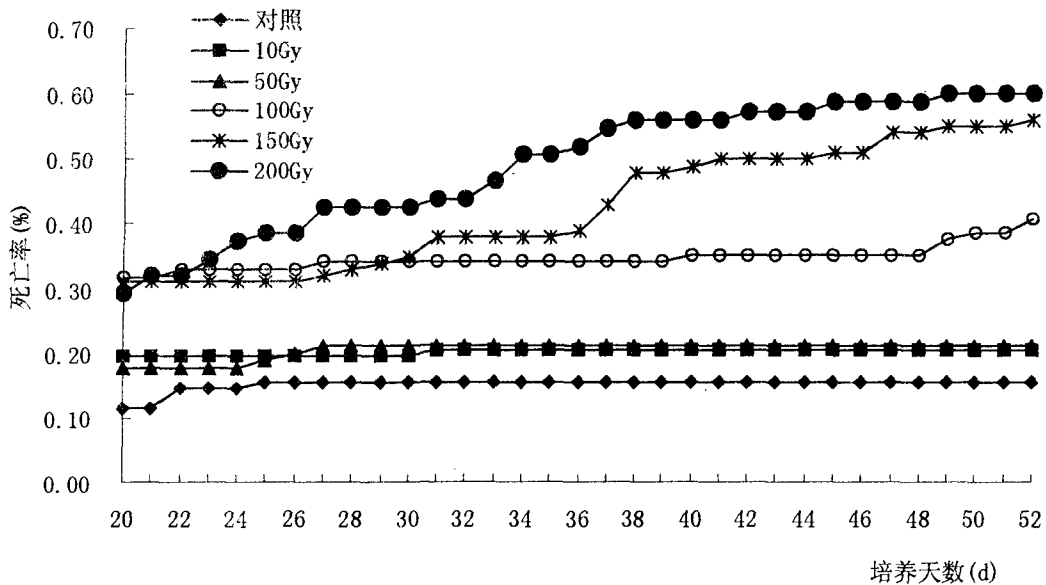


图2 不同辐射剂量对大花高代组培幼苗死亡率的影响

2.3 不同辐射剂量对大花高代组培苗死亡率的影响

组培苗生长 20d, 开始观察死亡率, 确定半致死剂量(LD₅₀)(图 2)。

图 2 显示: (1)0Gy、10Gy、50Gy 的死亡率基本上保持在一个相对稳定的水平上, 且明显低于 150Gy 和 200Gy。(2)100Gy 的死亡率在培养 48d 前基本保持相对稳定的水平, 48d 后略有增高, 但未达到 50%。(3)组培苗生长 41d 时 200Gy 的死亡率达 56%, 150Gy 仅次于 200Gy, 已达到 50%, 恰恰是半致死剂量(LD₅₀)。

廖飞雄和潘瑞炽^[7]根据幼苗死亡率与辐射剂量的相关性导出对菜心种子 ⁶⁰Coγ 辐射的半致死剂量: 品种四九为 313.5Gy, 品种六十天特青为 263.5Gy。显然大花高代种子辐射的半致死剂量低于菜心种子, 说明其辐射敏感性较高。类似的报道还有冯永利^[8]用

表 2 不同辐射剂量对大花高代组培苗的矮化效应

| 射剂量辐(Gy) | 株高(cm) |
|----------|-----------|
| 0 | 17.21 a A |
| 10 | 18.60 a A |
| 50 | 14.48 a A |
| 100 | 4.78 b B |
| 150 | 4.67 b B |
| 200 | 4.07 b B |

注: 表中数字后的小写英文字母不同表示在 α=0.05 水平上差异显著, 大写英文字母不同表示在 α=0.01 水平上差异极显著。

250Gy 的 ⁶⁰Coγ 射线辐照金冠苹果自然授粉种子, 出苗率仅为 4.69%, 出苗后存活率仅 3.57%。

2.4 不同辐射剂量对大花高代组培苗的矮化效应

各处理组培苗培养 33d 后, 测量其株高, 并进行统计学分析(表 2)。结果表明 100~200Gy 辐射剂量处理

的幼苗的株高与对照的差异已达到统计学显著水平,而且在此范围内随着辐射剂量的增加,株高呈递减趋势。Al-Safadi 和 Simon^[9]报道,利用 ⁶⁰Co γ 射线辐射胡萝卜种子,高剂量辐射处理的株高是对照的 50%。试验中 100Gy、150Gy、200Gy 的株高均值分别只有对照的 28%、27%、24%,表明大花高代种子的辐射敏感性较胡萝卜种子为高,矮化效应更为明显。

2.5 不同辐射剂量对大花高代诱变效应的影响

各处理组组培苗培养 70d 后,少量瓶内开花,出现花型、花色和花瓣变异,诱变效应明显(图 3)。花型变异主要由对照的正常花形变为蝴蝶形。花色变异主要是颜色变浅,甚至变为白色。花瓣变异可由原来的单瓣变为重瓣花。由于开花样本较少,其诱变频率及规律尚不明确。



图3 册资金花型、花色和花瓣变异

注:(a)对照的正常花型;(b)蝴蝶形花(10Gy);(c)花色变淡(50Gy);(d)重瓣花(50Gy)

3 讨论

大花高代引进中国时间不长,在栽培、育种方面的工作还很少。笔者利用大花高代种子作为辐射材料,通过对其组培幼苗生长状况的观察,了解辐射后的生物学效应,探明有效的辐射诱变剂量,为大花高代种子辐射诱变提供了参考。

在研究中发现 10Gy 的低剂量辐射对组培苗的生根和展叶均有促进作用,但在 50~200Gy 的范围内,随着辐射剂量的增加对组培苗生长的抑制作用增大。以上发现证实了前人的研究结果。Stotzky 等^[10]指出,35Gy 的辐射可以刺激香蕉种子的萌发。Al-Safadi 和 Simon^[9]的研究结果表明,胡萝卜种子在 10Gy 辐射的情况下,根重超过了对照的 35%。此外,BoviBovi 等^[11]也指出,以 2.5~10Gy 的低剂量辐射处理胡萝卜种子,所有处理的根重都比对照有所增加。

实验中各处理组组培苗开花后,出现了花型、花色和花瓣变异,诱变效应明显。类似的报道还有菊花、唐菖蒲和切花百合等^[3-6,12]。其中花色变异幅度较大,主要是颜色变深或变浅。辐射处理还可提早开花,而且无论是

花色、花瓣,还是开花期变异,其性状都可以稳定遗传^[12]。因此,利用辐射诱变,培育出符合人们需要的花卉新品种是切实可行的。

笔者在实验中采取了辐射处理与组织培养相结合的方法,可以保证在较少时间、较小的空间培养大量的幼苗;另外,前人的研究表明,许多辐射诱变株都属于扇形嵌合体,因此,几个世代的继代培养是必须的,以便得到纯合的突变体。此外,利用分子生物学技术,筛选与目标基因连锁的分子标记,构建遗传图谱,进行目标基因定位和性状连锁分析,可以定向培育新品种,克服了辐射诱发突变的随机性、嵌合性,从而提高育种效率高。因此把诱变技术、组织培养以及分子标记结合起来,是花卉育种的新思路^[13,14]。

参考文献

- [1] 李景秀.大花高代花及其栽培.花卉,1995,(5):6.
- [2] 朱道圩,张会丽,王锦,等.多效唑对大花高代组培苗生长的效应.植物生理学通讯,2006,42(2):232-234.
- [3] 王丹,任少雄,苏军,等.核技术在观赏植物诱变育种上的应用.核农学报,2004,18(6):443-447.

- [4] 杨保安,范家霖,张建伟,等.辐射与组培复合育成“霞光”等 14 个菊花新品种.河南科学,1996,14(1):57-60.
- [5] 王彭伟,李鸿渐,张效平,等.切花菊单细胞突变育种研究.园艺学报,1996,23(3):285-288.
- [6] 李宏彬,黄建昌,廖海坤,等.菊花辐射育种研究初报.广东园林 2002,(1):35-37.
- [7] 廖飞雄,潘瑞炽.⁶⁰Co γ 辐射对菜心种子萌发和幼苗生长的效应.核农学报,2001,15(1):6-10.
- [8] 冯永利.苹果辐射育种研究.核农学通报,1993,14(2):51-55.
- [9] Al-Safadi, B. and P. W. Simon. Gamma irradiation-induced variation in carrots (*Daucus carota* L.). J. Amer. Soc. Hort. Sci. 1996,121(4): 599-603.
- [10] Stotzky, G., E. A. Cox, and R. D. Goos. Some effects of gamma irradiation on seeds and rhizomes of *Musa*. American Journal of Botany, 1964,51(7):724-729.
- [11] Bovi, J. E., A. Valter, and J. T. Neto. Use of low doses of cobalt-60 gamma radiation on carrot seeds and their effects on plant growth and yield. Acta Hort. (ISHS), 2003, 607: 41-43.
- [12] 林祖军,孙纪霞,连福惠,等.电子束在花卉诱变育种上的应用.核农学报,2002,16(6):351-354.
- [13] 高健,卢惠萍.花卉辐射诱变育种研究进展.安徽农业大学学报,2000,27(3):228-230.
- [14] Ahloowalia B S, Maluszynski M. Induced mutations - A new paradigm in plant breeding. Euphytica, 2001, 118(2):167-173.

(责任编辑:陶冶之,刘明丽)