

文章编号:1001-7380(2015)01-0033-03

黄山栎树种子⁶⁰Co-γ射线辐射试验初报

蒋泽平,刘根林,张敏,董筱昀,黄利斌,梁珍海

(江苏省林业科学研究院,江苏 南京 211153)

摘要:用不同剂量(100,200,400,600和800 Gy)的⁶⁰Co-γ射线辐射6个黄山栎树优株的种子,对辐射后种子的发芽和幼苗生长情况进行了观测,结果表明:6个黄山栎树优株的种子辐射半致死剂量大小依次为“优5”(518 Gy)、“优2”(503 Gy)、“优3”(496 Gy)、“优6”(485 Gy)、“优1”(478 Gy)、“优4”(458 Gy)。⁶⁰Co-γ辐射可引起幼苗表型改变,随着辐射剂量的增加,幼叶及茎形状发生一些变异。

关键词:黄山栎树;种子;⁶⁰Co-γ;辐射

中图分类号:S687.1;713.98 **文献标识码:**A **doi:**10.3969/j.issn.1001-7380.2015.01.007

Irradiation experiment by ⁶⁰Co-γ ray of the seed of *Koelreuteria integrifoliola*

JIANG Ze-ping, LIU Gen-lin, ZHANG Min, DONG Xiao-yun, HUANG Li-bin, LIANG Zhen-hai

(Jiangsu Academy of Forestry, Nanjing 211153, China)

Abstract: The seeds of 6 superior individuals of *Koelreuteria integrifoliola* were irradiated respectively by ⁶⁰Co-γ ray at dosages of 100, 200, 400, 600 and 800 Gy, and also the germination of seeds and aftermath growth of seedlings were investigated. The results indicated that the rank of their half lethal dosage was listed as follows, “You 5” (518 Gy) > “You 2” (503 Gy) > “You 3” (496 Gy) > “You 6” (485 Gy) > “You 1” (478 Gy) > “You 4” (458 Gy). Some kinds of variation were observed in the morphology of young leaf and stem after the germination of the seeds irradiated at different dosage.

Key words: *Koelreuteria integrifoliola*; Seed; ⁶⁰Co-γ ray; Irradiation

大量的试验证明,诱变技术在创造植物新种质、新材料,以及解决育种中某些特殊问题、培育植物新品种等方面具有独特的成效。随着现代科技的进步,人们不断改进诱变方法,探索新的诱变源。近年来离子注入、激光辐照、空间诱变等新型诱变技术发展迅速,已经开始应用于植物品种的改良,并且显示出良好的应用前景^[1]。

将生物体通过高能粒子、射线的照射或置于宇宙非重力空间等手段导致生物体变异的手段均属于物理诱变。诱变效应有的是正向的,有的则是负向的。对植物的研究证明,空间条件尤其是高能粒子

具有强烈的致变作用,可以导致细胞死亡、突变、恶性转化。⁶⁰Co-γ射线产生的相对生物效应(RBE)高,染色体畸变的有效性较大,对植物形态建成、代谢、遗传特性及有用品种的经济性状均会受到不同程度的影响^[2-5]。

采用⁶⁰Co-γ射线诱导,利用射线的高能量诱导生物的遗传变异,促使遗传基础的改变和重组,从而得到有价值的突变体。我国自1957年开始进行辐射育种工作以来,辐射育种取得重大成就。据FAO/IAEA不完全统计,至1989年,已有51个国家在1330种作物育种中应用。但目前辐射育种主要

收稿日期:2014-09-15;修回日期:2014-12-04

基金项目:江苏省农业科技支撑计划项目(BE2013450);江苏省林业三新工程项目(LYSX[2014]03);江苏省农业科技自主创新资金项目[CX(12)2042]

作者简介:蒋泽平(1963-),男,江苏丹阳人,研究员,大学本科毕业,主要从事林木良种选育与植物组织培养技术研究。

应用于农业和畜牧业。在林业育种中,有报道称用 ^{60}Co - γ 射线处理悬铃木种子和1年生枝条中段的芽,获得部分枝叶变红色的植株品系和不育植株品系^[6]。

本研究采用 ^{60}Co - γ 射线照射了6个黄山栎树优株的种子,初步观察辐射后种子发芽率和苗期形态的改变,以确定其辐射诱变的适宜剂量。研究结果可为黄山栎树辐射育种工作的进一步开展提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

来自江苏省林业科学研究院景观树种与花卉研究所筛选的6个黄山栎树(*Koelreuteria integrifolia* Merr.)优株的成熟种子。

1.2 辐射处理试验

以江苏省农业科学院原子能应用研究所的 ^{60}Co - γ 射线为辐射源,采用慢辐射的方法处理。辐射剂量分别为100,200,400,600,800 Gy及0(CK),剂量率0.88 Gy/min。受辐射的每优株成熟种子数均为100粒。

1.3 相对出苗率与辐射半致死剂量的测定

3月15日,将处理种子与对照种子播于盛有黄沙的温室苗床中,黄沙厚10 cm,采用点播方式,播后覆以厚1 cm细黄沙,于室温(25~28℃)下保持湿润,烈日高温天气用遮阳网遮阴,遮阴度50%。3月25日开始进行不间断观察,每天统计发芽数,直到连续3 d无种子继续发芽时统计发芽率,每组试验均重复3次,结果数据取均值。计算各辐射剂量下的相对发芽率。发芽率(%) = 发芽的种子数/播种的种子数 × 100。相对发芽率(%) = 实测的发芽率/对照组发芽率 × 100。

对相对发芽率与辐射剂量的相关性进行分析,本试验采用辐射后种子相对发芽率为50%时的剂量,即半致死剂量(LD_{50})作为适宜的辐射剂量,并参照周小梅等^[7]的回归方程方法计算。具体做法为,将辐射剂量作为自变量 x ,不同剂量下的相对发芽率作为因变量 y ,利用直线回归方程 $y = a + bx$,计算 a, b 的值,再分别计算6个黄山栎树优株种子的 LD_{50} 。

$$b = (\sum xy - \sum x \cdot \sum y / N) / [\sum x^2 - (\sum x)^2 / N]$$

$$a = (\sum y - b \cdot \sum x) / N$$

$$LD_{50} = (50\% - a) / b$$

式中, b 为回归系数, a 为常数, N 为处理种子数量。

1.4 辐射当代出苗率与辐射剂量相关性

黄山栎树优株种子相对发芽率与辐射剂量间的相关系数

$$r = (\sum xy - \sum x \cdot \sum y / N) / \sqrt{[\sum x^2 - (\sum x)^2 / N] [\sum y^2 - (\sum y)^2 / N]}$$

2 结果与分析

2.1 不同辐射剂量对黄山栎树种子相对发芽率的影响

利用相关系数关系式得出各黄山栎树优株种子2者的相关系数,发现供试6个黄山栎树优株种子的相对发芽率与所接受辐射剂量整体上呈负相关,相对发芽率随辐射剂量的增加而下降(见表1)。

当辐射剂量为100 Gy时,黄山栎树优株种子的相对发芽率上升了5.2%~8.3%,其中上升幅度最大的是5号优株,其次2号优株,上升幅度最小的是4号优株。当辐射剂量为400 Gy时,各黄山栎树优株种子的相对发芽率下降了38.2%~49.2%,其中下降幅度最大的是4号优株,下降幅度最小的是5号优株。当辐射剂量为600 Gy时,各黄山栎树优株种子的相对发芽率都急剧下降,说明600 Gy可能是辐射剂量影响相对发芽率的临界值。当辐射剂量为100 Gy时,黄山栎树各优株种子的相对发芽率都有不同程度的上升。上述结果与前人在日日春、毛竹等种子的辐射诱变研究中^[8],采用低剂量射线辐射使处理后的种子发芽率反而升高的现象类似,这可能由于辐射引起种子内部生物自由基或有关酶的活性变化有关,从而提高了种子的新陈代谢水平,促进了种子的萌发^[8]。

表1 不同辐射剂量下优株种子的相对发芽率 %

剂量/Gy	优1	优2	优3	优4	优5	优6
CK	100	100	100	100	100	100
100	105.8	107.6	106.6	105.2	108.3	106.2
200	81.7	87.5	85.8	80.5	89.2	82.7
400	52.3	60.2	59.8	50.8	61.8	55.7
600	13.5	15.3	14.8	13.2	15.9	14.2
800	1.2	2.0	1.7	0	2.5	1.5

2.2 黄山栎树优株种子的辐射半致死剂量

通过计算,6个黄山栎树优株种子射线辐射的半致死剂量分别为478 Gy(优1)、503 Gy(优2)、496 Gy(优3)、458 Gy(优4)、518 Gy(优5)、485 Gy(优6)。

当剂量为 400 Gy 时,所有黄山栎树优株种子相对发芽率均低于 61.8% ;当剂量为 600 Gy 时,各优株的相对发芽率均低于 15.9%;当剂量为 800 Gy 时,所有种子几乎不出芽。这些数据为选择适宜的辐射剂量开展黄山栎树辐射育种工作提供了依据。

2.3 不同辐射剂量处理的黄山栎树种子后续新萌幼苗形态变化

⁶⁰Co-γ 射线辐射处理黄山栎树种子可导致当代

新萌发幼苗的表型发生改变。试验结果见表 2,与对照植株相比,辐射处理后的许多植株真叶叶缘出现 2~5 个缺刻,辐射剂量越大,缺刻越明显,有些植株叶片还出现皱缩。而且随着辐射剂量的增加,黄山栎树叶片的长度与宽度总体呈减小趋势,幼茎枝条形态和颜色的畸变在 600 Gy 剂量非常明显。

表 2 黄山栎树优株种子辐射后植株生长情况

剂量/Gy	优 1	优 2	优 3	优 4	优 5	优 6
CK	正常	正常	正常	正常	正常	正常
100	*,△△△	*,△△△	*,△△△	*,△△△	*,△△△	*,△△△
200	**,△△△	**,△△△	**,△△△	**,△△△	**,△△△	**,△△△
400	***,△△	***,△△	***,△△	***,△△	***,△△	***,△△
600	****,△△	****,△△	****,△△	****,△△	****,△△	****,△△
800	*****,△	*****,△	*****,△	*****,△	*****,△	*****,△

叶缘:缺刻 5 以上 *****,缺刻 3~5 *****,缺刻 2~3 *****,缺刻 1~2 **,缺刻 1 *;嫩茎生长:正常 △△△,嫩茎异常弯曲 △△,嫩茎少 △。

3 讨论

黄山栎树为高大乔木,是优良乡土树种,观赏价值较高,园林应用十分广泛^[9]。本试验在筛选了大量黄山栎树优株的基础上,选择了 6 个植株的种子,希望利用辐射诱发基因突变或染色体结构变异、倍性变异,使突变频率提高,从而使定向地创造和筛选变异植株成为可能^[10]。在辐射育种试验中,确定适宜辐射剂量十分重要,选择适宜辐射剂量,既能使 M1 代有足够的植株成活率,又能保证 M2 代产生较多的突变类型、有较高的突变频率和足够的可供选择的群体。在诱变育种的实践中,一般只观察 M1 代的生理损伤程度,而对种子的诱变剂量是否合适做出评估,并用来预测突变发生频率的大小^[11-12]。

本研究认为,供试 6 个黄山栎树优株种子的相对发芽率与所接受的辐射剂量整体上呈负相关,即相对发芽率随辐射剂量的增加而下降,辐射剂量 600 Gy 可能是影响相对发芽率的临界值;优株 1,2,3,4,5 及 6 的半致死剂量分别为 478,503,496,458,518 和 485 Gy;辐射后能够萌发的种子有一部分能存活并继续生长。至于 6 个黄山栎树优株种子在各辐射剂量处理下,植株的年生长量、形态、茎叶色泽变异等具体生长表现,尚有待进一步跟踪研究。

参考文献:

[1] 陈子元.从辐射育种的发展来展望航天育种的前景[J].核农学报,2002,16(2):261-263.

[2] 黄慧德,易克贤.⁶⁰Co-γ 辐射对柱花草种子发芽的影响[J].热带农业科学,2001(4):22-25.

[3] 贾建航,王 斌.空间诱变育种研究进展[J].核农学报,1999,13(3):187-192.

[4] 刘振声,丘泉发,黄文忠,等.加速重离子辐射对水稻的生物学效应研究[J].辐射研究与辐射工艺学报,1991,9(3):139-144.

[5] 邓 红,梅曼彤,卢永根,等.加速器氩离子在水稻育种中的应用[J].核农学报,1994,8(2):70-74.

[6] 李志能,刘国锋,包满珠.悬铃木种子⁶⁰Co-γ 辐照及其苗期生物学性状调查[J].核农学报,2006,20(4):299-302.

[7] 周小梅,赵运林,蒋建雄,等.几种冷季型草坪草辐射敏感性及其辐射育种半致死剂量的确定[J].湘潭师范学院学报:自然科学版,2005,27(1):75-8.

[8] 王少平.辐射育种在园林植物育种中的应用[J].种子,2008,27(12):63-68.

[9] 唐 丽.我国栎树的种植资源[J].湖南环境生物职业技术学院学报,2004,10(3):191-194.

[10] 蔡春菊,高 健,牟少华.⁶⁰Co-γ 辐射对毛竹种子活力及早期幼苗生长的影响[J].核农学报,2007,21(5):436-440.

[11] 马惠平,赵永亮,杨光宇.诱变技术在作物育种中的应用[J].遗传,1998,20(4):48-50.

[12] Fairless D. Biofuel: The little shrub that could - maybe [J]. Nature,2007(449):652-655.