

$^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线对山楂试管苗辐射效应

张德民 王洪庆

(辽宁师范大学生物系·大连)

提要 本文研究了 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线对山楂试管苗的辐射效应。得出：山楂试管苗的致死剂量为5KR，最佳诱变剂量为3KR—4KR。用3KR—4KR的剂量能引起山楂试管苗的生长及增殖受到明显抑制；造成当代苗叶子形状的多种畸形变异；并且3-3.5KR的剂量还可引起酯酶同工酶的改变，并能遗传。

果树突变育种，前人已做了不少工作。但效果均不明显，这主要是突变嵌合体的干扰，必须对变异体进行大量而繁重的筛选纯化工作，因而严重地影响了这一工作的进展速度。而近年来发展起来的组织培养技术应用到辐射育种上则可能提高成活率、增大突变频率、扩大变异谱，大大缩短育种年限等。本文研究了 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线对山楂试管苗的辐射效应，找出了山楂试管苗的致死剂量和最佳诱变剂量。并试用同工酶分析作为突变体选择的初步标志。

材料和方法

1. 材料：山楂优良品种磨盘的枝条，于春天叶子未萌发时取自辽宁省果树研究所。

2. 试管苗的培养和辐射处理：首先，剥离出顶端分生组织于 $\text{Ms} + \text{BA}_1$ 的培养基上培养，20天后长成芽簇，然后转至 $\text{Ms} + \text{BA}_{0.5} + \text{IAA}_{0.5}$ 的培养基上，20天后长成苗

丛，即可用来进行 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照试验。照射处理分两次，剂量率为35R/分，第一次照射剂量分别为2KR、5KR、8KR；第二次照射剂量为2KR、2.5KR、3KR、3.5KR、4KR。照射后，将苗剪成顶芽和茎段两部分，顶芽带一片伸展叶，茎段带2—3片叶，转到新鲜 $\text{Ms} + \text{BA}_{0.5} + \text{IAA}_{0.5}$ 的培养基上培养，40天后统计结果。

3. 电泳：第二次处理的苗40天后各取2个样品做电泳，其余的继续繁殖、生长。然后对3KR、3.5KR处理组的子一代、子二代进一步做酯酶电泳分析。样品制备，每个无性系取苗高3—5cm的苗2个称重，然后加预冷缓冲液3ml/g于冰浴条件下研磨，300转/分离心15分钟。

结果与分析

1. 辐射对山楂试管苗形态和生长的影响：用8KR处理的试管苗基部切口不产生愈伤组织，有的基部稍膨大，约一周后，基部黑化，叶腋部也随之变黑，再后来，叶片变大，而后，叶子也由叶腋部往上逐渐变黑并焦化。一个月后，多已黑化死掉。5KR处理也出现同样现象，只是时间稍晚一些，约10天左右开始黑化。2KR处理组基部切口处能够产生愈伤组织，但产生的比对照组晚，且

直径只有5.2mm左右,明显地小于对照的8.5mm。在第二次辐照试验中,用3KR、3.5KR、4KR照射的苗的新增殖苗中,出现了大量的畸形变异苗,有的叶片没有深裂,有的叶片变得细长,有的苗叶子左右极不对称,主脉一侧大,而另一侧很小,甚至没有叶片,有的苗叶柄很长,叶片很小。但是,这些苗增殖的子一代苗,其叶子的形态变异已基本消失。

2. 辐射对山楂试管苗增殖的影响:在第一次辐照中,经5KR、8KR辐照的苗全部死掉,2KR辐照的苗,顶芽没有被杀死,但增殖能力减弱,由原来与对照相比的5.1倍降到2.7倍。腋芽原基则对 γ 射线敏感,2KR的照射使其萌发率由对照的87.7%降到45.2% (见表一)。

表一 第一次辐射对山楂试管苗增殖的影响

辐射剂量	CK	2KR	5KR	8KR
顶芽数	26	24	15	17
顶芽增殖倍数	131/26 = 5.1	64/24 = 2.7	—	—
腋芽数	65	62	44	7
腋芽萌发数	57	28	0	0
腋芽萌发率 (%)	87.7	45.2	0	0

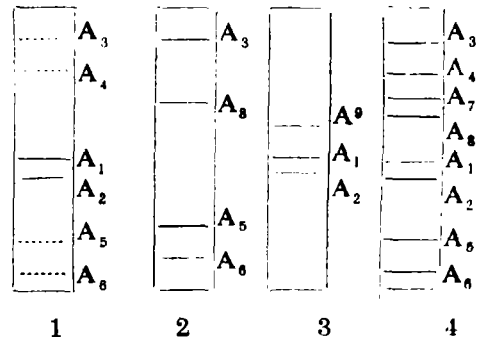
第二次照射,4KR照射了39个芽,只有一个芽成活,而3.5KR的处理组成活率则为27.8%;3KR的处理组有68%成活,而2KR

表二 第二次照射对山楂试管苗增殖的影响

辐射剂量	CK	2KR	2.5KR	3KR	3.5KR	4KR
接种顶芽数	30	34	33	28	36	39
存活顶芽数	30	34	33	19	10	1
存活率 (%)	100	100	100	68	27.8	2.6
新生芽	161	94	37	19	10	1
芽增殖倍数	5.4	2.8	1.1	1	1	1
接种苗数	28	28	34	42	45	3
生根苗数	5	6	13	12	14	2
生根率 (%)	17.9	21.4	38.2	29.5	31.1	66.7

和2.5KR则100%的成活;另外,顶芽的增殖倍数也随剂量的增加而明显地降低;随着辐射剂量的增加,试管苗的生根率也有升高的趋势,结果见表二。

3. 辐射对山楂试管苗酯酶同工酶的影响:磨盘的酯酶同工酶标准谱型如图。在一般正常苗中,只能见到 A_1 、 A_2 两条酶带,但能在茎尖制样中见到 A_3 、 A_4 、 A_5 、 A_6 四条带。辐照磨盘当代未见酶带受到影响,而子一代则出现几个酶带发生变化的酶谱,在3KR样品中有一个变异系,称之为盘变1号,它少了正常苗的 A_1 、 A_2 带,却出现了 A_3 、 A_5 、 A_6 、 A_8 四条带;在3.5KR样中也有几个变异系,分别称之为盘变2号,盘变3号,盘变4号,盘变5号,盘变2号多了一条酶带 A_9 ,盘变3号,盘变4号,盘变5号酶谱相同,多出 A_3 、 A_4 、 A_7 、 A_8 、 A_6 、 A_9 六条酶带 (见图)。



1. 磨盘正常苗 2. 盘变1号 3. 盘变2号 4. 盘变3、4、5号
山楂酯酶同工酶电泳酶谱描线图

除盘变1号未能继代培养外,其余的则繁殖到子二代,在子二代中,盘变2号,盘变3号、盘变4号、盘变5号酶谱谱型均保持不变。

讨 论

1. 辐射剂量不同对山楂试管苗的影响:山楂试管苗的致死剂量是5KR,当用5KR或5KR以上的剂量照射试管苗后,小苗

在死亡之前,还要生活一段时间,还要继续长大一些,但这些生长都不是细胞分裂的结果,而是由于细胞的伸长。因为我们在胀大叶片中看到了大量巨型细胞而没有看到正常的生长期细胞,这与Habe所谓的“r小植株”一致,辐照使这些苗不能进行DNA合成和细胞分裂,使其先在遗传上死掉了,然后才是生理上的死亡。3—4KR是由植试管苗的适宜诱变剂量,3—4KR的辐照使由植试管苗顶芽的生长、增殖、侧芽的萌发增殖都明显地受到抑制;3KR—4KR剂量可造成当代苗叶子形状的多种畸形变异;3KR—3.5KR剂量还可引起酯酶同工酶的改变,并能遗传。

2. 同工酶作为选择突变体手段的可行性,同工酶广泛存在于动植物体中。同工酶与基因的表达有密切的关系,生物体受到各种理化因素影响,会引起DNA分子碱基顺序或染色体结构发生改变,由它决定的酶蛋白分子的结构也发生变化,就可能会表现出同工酶数量和种类的变化,反之,我们由同工酶的变化也可推测基因结构的变异。因此,有可能把同工酶作为鉴别突变体的一个标志。现在,同工酶分析已经在作物和果树的遗传育种中得到了广泛的应用。本实验证实,用3—4KR⁶⁰Co—r的射线照射由植试管苗,可以诱发其酯酶同工酶有关的基因发生突变,从而影响到酯酶同工酶谱的改变。

(参考文献略,收稿时间为1990年1月1日)

措施,促使结果。冬剪时直立枝开张角度,结合整形清理交叉、密挤、重叠、轮生下垂的枝条,从而使其通风透光。夏剪对强旺枝连续摘心、短截、扭梢,抑制过度营养生长和促进成花,对那些进入结果期的成龄树的株、行间已交接的密植园,要严格控制树体扩展,冬剪时骨干枝和枝组不留带头枝,减少向外延伸的枝条。以控制结果外移,造成过早出现内膛光秃带。

四、大小年结果控制 采用成花措施后,大量结果,由于不疏果,使负载量过大,出现大小年结果现象。采用的措施:大年时注意增施肥水,控制产量,主要是调整好负载量,在冬剪时注意花芽留量。座果后要细致疏果,留果量可根据不同品种,树势等情况,采用按枝果比留果,按距离留果等方法进行疏果,严格控制好留果量,确保稳产、优质、稳定树势。促其均衡结果,缓解大小年结果现象。

小年时控制树体扩展,采用整体控制和局部控制相结合的方法,为防止旺长还要进行夏季修剪,抑制营养生长。(黑龙江省宝清县八五三农场林业科 臧兆勤 张树林)

寒地小苹果密植栽培

一、密植园的改造 密植园已达结果年龄但尚未结果,其原因是管理较差,尤其是土壤管理较差,不能满足树体所需的营养物质,造成树势生长较弱,枝量少,枝条细而不充实,芽不饱满,无成花能力。改造方法是:加强综合管理,以土壤管理为主,及时防治病虫害、施肥和灌水,培养健壮的树势。冬季修剪利用饱满芽多短截,促发强旺新枝,迅速扩大树冠。要在树体具备成花的物质基础时采用成花措施,使营养生长向生殖生长转化。树势健壮后,及时夏剪,采用摘心、短截扭梢、环剥等措施,促进花芽形成,使其快结果、速丰产、尽快进入盛果期。

二、修剪不当的补救 肥水条件好,树体营养较充足,但采用稀植大冠的修剪方法,冬剪过重,夏剪不控制,不修剪,致使营养生长旺盛,长枝和旺条多,结果枝少,年复一年,只长树不结果。采用的补救措施:在修剪上要严格压分骨干枝和辅养枝,并采用不同修剪方法,冬剪采用轻剪多留枝,骨干枝选壮枝短截,促生分枝,扩大树冠。一年生强旺辅养枝拉平,中庸枝缓放,促生结果枝。多年生辅养枝去强留弱,去直留平,促生结果枝。夏季修剪对多年生辅养枝从基部环剥,促进花芽形成。一年生强旺新枝进行多次摘心,短截和扭梢等方法抑制生长,促生结果枝或形成花芽。

三、郁闭树冠的调整 树势生长旺盛,大、中、小枝均多,层次不清,光照不良。对这种树应采用的调整措施:确定骨干枝和辅养枝,以骨干枝扩大树冠,培养牢固的骨架,辅养枝采用成花