

“宁杞 1 号”枸杞辐射诱变育种初报

樊 光 辉

(青海省农林科学院, 青海 西宁 810016)

摘 要:以“宁杞 1 号”种子为试材, 通过对其进行钴源辐射处理培育实生苗, 以大果高产型为选育目标, 结合单株选优和同工酶谱分析, 最终成功选育出优良新品系‘1036’。

关键词:枸杞; 辐射诱变育种; 单株选优; 同工酶

中图分类号:R 33 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2014)02-0149-03

青海枸杞主产区枸杞种植面积已达 2 万 hm^2 , 虽然目前种植品种杂乱, 但均为引进品种, 自有枸杞优良品种严重缺失, 已影响到枸杞产业的进一步发展。辐射诱变育种是获得新种质资源和选育新品种的有效途径之一, 具有突变率高、突变谱宽、后代性状稳定、育种周期短等优点, 易于创造新的资源材料与类型, 且方法简便, 可在短时间内改变植物的某一性状。为了尽快选育青海枸杞优良新品种, 课题组充分利用青海枸杞主产区现有的栽培品种资源, 对“宁杞 1 号”种子经过钴源辐射处理, 培育实生苗, 以大果高产型为选育目标, 通过 6 a 的试验研究, 成功选育出枸杞优良新品系‘1036’。现将结果报道如下, 供生产参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为“宁杞 1 号”种子。

1.2 试验方法

1.2.1 辐射处理 2008 年 5 月份对“宁杞 1 号”枸杞种子在北京大学化学与分子工程学院应用化学系钴源室进行辐射处理, 设 2 种辐射剂量率, 各 4 种辐射剂量, 以未经辐射种子为对照(CK), 每处理种子样本数 1 000 粒, 每处理 2 次重复。6 月 10~14 日将经过辐射处理过的种子在青海省农林科学院试验地做容器播种育苗试验, 种子用 1% 的五氯硝基苯消毒 1 h, 用清水浸种 14 h, 然后置于室内催芽处理, 有部分种子萌动时开始播种, 播深 0.5~0.8 cm, 3~4 粒/穴。

作者简介:樊光辉(1972-), 男, 本科, 副研究员, 现主要从事枸杞良种选育和良种繁育等研究工作。E-mail: qhfg@163.com.

基金项目:国家级星火计划重大资助项目(S2012G200005); 青海省科技支撑计划资助项目(2013-N-137); 青海省农业科技转化和推广计划资助项目(2009-N-520)。

收稿日期:2013-10-30

表 1 “宁杞 1 号”种子辐射试验排列

Table 1 ‘Ningqi No. 1’ seed radiation experiment arrangement

剂量率 /Gy · min ⁻¹	5				10			
总剂量/Gy	50	100	150	200	50	100	150	200
处理时间 /min	10	10	10	10	10	10	10	10
	15	15	15	15	15	15	15	15

1.2.2 优良株系选择 通过对出苗、生长量及幼苗抗性的调查, 得出了不同辐射剂量对苗木生长的影响结果。初选出 140 优株观察候选。2009 年 4 月中旬将所选优株在青海诺木洪农场试验地定植, 进行对比试验。2011 年, 以大果高产型为选育目标, 通过单果纵横径、结实量、单果重量等综合指标的测定, 选出性状良好的优良植株。对所选的性状良好的植株, 进一步对比分析, 选出性状良好的优良株系。

1.2.3 同工酶测定 对选出的优良株系利用同工酶酶谱分析法进行对比, 取幼叶 0.5 g 洗净晾干, 放入研钵中, 按样品提取液: 2.0 mL 甘油, 0.5 mL 0.1% 溴酚蓝, 0.5 mL 的 0.5 mol/L Tris - HCl, pH 6.8, 加水至 10.0 mL, 以 1:3 g/mL 比例加入提取液, 于冰浴中研磨成匀浆, 4℃下 14 000 r/min 离心 15 min, 取上清液备用。制胶及电泳: 采用聚丙烯酰胺垂直板凝胶电泳技术, 分离胶浓度为 7.5%, 浓缩胶浓度为 3%, 电极缓冲液为 Tris-甘氨酸系统(pH 8.3), 点样量为每槽 15 μL 。起始电流为 20 mA, 20 min 后 35 mA, 待溴酚蓝指示线移至距胶底 0.2 cm 时, 停止电泳^[9-10]。染色及记录: 过氧化物酶染色及固定: 称取 0.1 g 联苯胺, 加少量无水乙醇溶解, 依次加入 5 mol/L HAC 10 mL, 1.5 mol/L NaAC 10 mL, H₂O 70 mL, 最后加入 3~5 滴 H₂O₂。将此显色液倾入 20 cm 培养皿中, 待电泳凝胶片加入后不断搅动, 观察各条带显色的先后, 照像或用铅笔画出过氧化物酶同工酶谱。最后用 7% 醋酸固定, 拍照或制成干胶片保存结果。

2 结果与分析

2.1 不同辐射剂量对“宁杞 1 号”种子出苗率的影响

当辐射剂量率为 5 Gy/min 时,随着辐射剂量的增加,种子出苗进程明显延迟,平均发芽天数延迟 5 d 左右,其发芽率急剧降低。当辐射剂量为 200 Gy 时,种子发芽率为对照的一半左右,抑制作用显著;当辐射剂量率为 10 Gy/min 时,随着辐射剂量的增加,种子出苗进程明显延迟,达到最终发芽率所需的天数延迟 5 d。但对种子最终的发芽率影响不大,最终出苗率都在 80% 左右。

2.2 不同辐射剂量对“宁杞 1 号”幼苗生长量的影响

由表 2 可知,在相同情况下,剂量率为 5 Gy/min 时,幼苗的高生长极显著低于剂量率为 10 Gy/min 时的高生长($P < 0.01$);在相同剂量率的情况下,随着辐射总剂量的增加,幼苗高生长在持续下降。这是由于随着辐射剂量的增加,种子生长点受射线损伤越严重,代谢活动紊乱,表现为幼苗生长缓慢或停滞。

表 3 不同辐射剂量率和辐射剂量下“宁杞 1 号”幼苗生长量方差分析

Table 3 ANOVAs of growth amount of 'Ningqi No. 1' seedlings under different radiation dose and dose rate

		观测数		求和	平均		方差
剂量率 /Gy • min ⁻¹	5	4		12.00191	3.000478		4.262515
	10	4		54.87533	13.71883		19.95474
	50	2		24.496	12.248		114.8976
总剂量	100	2		17.61914	8.80957		48.08725
/Gy	150	2		15.49577	7.747886		37.3354
	200	2		9.266332	4.633166		42.93245
差异源	SS	df	MS	F	P-value	F crit	
剂量率	229.7663	1	229.7663	51.11031	0.005636	10.12796	
总剂量	59.16527	3	19.72176	4.387002	0.127946	9.276628	
误差	13.48649	3	4.495497				
总计	302.418	7					

2.3 不辐射剂量率同对幼苗抵抗力的影响

与对照相比,在辐射剂量率为 5 Gy/min 时,各辐射剂量“宁杞 1 号”幼苗死亡严重,死亡程度在 50% 左右,其中当辐射剂量为 200 Gy 时,死亡率可达到 68.5%。这说明在辐射剂量率为 5 Gy/min,辐射种子幼苗抵抗力急剧降低。当辐射剂量率为 10 Gy/min 时,各辐射剂量的“宁杞 1 号”幼苗也有不同程度的死亡现象,但除当总辐射剂量达到 200 Gy 时,死亡率达到 37.0% 外,其它剂量幼苗死亡程度均较轻。这说明当辐射剂量率为 10 Gy/min 时,幼苗抵抗力下降不明显。

表 2 不同辐射剂量率和辐射剂量下“宁杞 1 号”幼苗平均生长量

Table 2 Average growth amount of 'Ningqi No. 1' seedlings under different radiation dose and dose rate

总剂量/Gy		50	100	150	200
剂量率	5	4.67	3.91	3.43	0.00
/Gy·min ⁻¹	10	19.83**	13.71**	12.07**	9.27**

注: ** 代表 P 在 0.01 水平下差异显著。

2.4 辐射育种选优

将通过不同剂量率辐射处理的幼苗整体参加优选,用没有经过辐射的枸杞幼苗作对照,以营养生长作为苗期优选指标,超过平均高度 100% 以上的幼苗初选为优株。按以上选育指标初选出 140 株优株,2009 年定植到诺木洪试验地。2011 年开始挂果,以果实性状和单株产

量为主要测定目标,选出性状良好的 7 株,并初步定名为‘1035’、‘1036’、‘1037’、‘1038’、‘1039’、‘1040’、‘1041’,并以试验地内的“宁杞 1 号”作对照。由表 4 可知,辐射育种所选择的‘1035’、‘1036’、‘1037’、‘1038’、‘1039’、‘1040’、‘1041’与试验地内的“宁杞 1 号”相比,纵径、横径和单果重均高于“宁杞 1 号”。具有明显优势的

表 4 辐射育种优良株系各项指标的比较

Table 4 Comparison on each index of radiation breeding good strains

品系	鲜果			干果			单株
	纵径 /mm	横径 /mm	单果重 /g	纵径 /mm	横径 /mm	单果重 /g	产量 /g
‘1035’	25.477	11.961	1.394	20.225	8.027	0.304	1 967.88
‘1036’	32.866	12.033	1.638	25.671	8.993	0.431	2 418.67
‘1037’	26.121	10.753	1.322	21.561	8.178	0.343	2 015.44
‘1038’	24.333	11.085	1.359	20.665	8.159	0.364	2 196.78
‘1039’	25.643	11.489	1.474	21.664	8.539	0.334	1 635.44
‘1040’	24.611	11.790	1.548	20.434	8.279	0.365	1 555.68
‘1041’	26.588	12.743	1.557	21.902	8.774	0.414	1 876.54
“宁杞 1 号”(CK)	22.991	9.545	1.157	19.076	6.291	0.200	2 165.58

是‘1036’、‘1041’、‘1039’、‘1037’和‘1038’。从单株产量上看‘1036’和‘1038’具有更明显的优势。综上,初步将‘1036’和‘1038’定为优良株系。

2.5 同工酶谱分析

从图 1、2 可以看出,以单匹配相似系数距离 20.5 为阈值,材料‘1036’与“宁杞 1 号”属于不同组,材料‘1036’是“宁杞 1 号”种子辐射所得,通过聚类分析它们之间存在差异,基本为辐射诱变所致。并且与“宁杞 1 号”的单匹配相似系数距离 20.5 为阈值,基本可以肯定从内在遗传成分上发生了一定的变异。

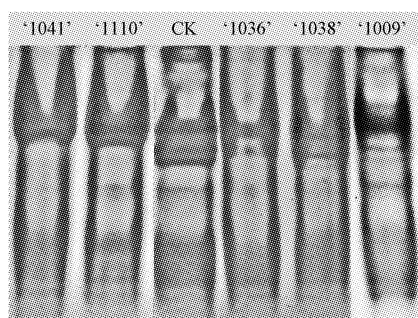


图 1 过氧化物同工酶谱图

Fig. 1 Peroxide isoenzyme zymogram

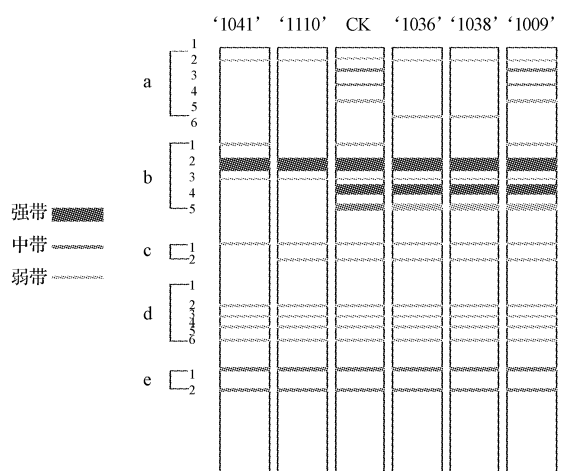


图 2 过氧化物同工酶谱分析

Fig. 2 Peroxidase isozyme zymogram analysis

3 结论

通过对“宁杞 1 号”种子进行钴源辐射处理,培育实生苗,成功选育出优良新品系‘1036’。但枸杞新品系‘1036’需要进一步做栽培试验,通过栽培试验及各项生产指标趋于稳定后,方可审定新品种。作为良种推广,种苗扩繁迫在眉睫,由于有繁殖材料的限制,需要攻关组培育苗和嫩枝扦插等无性繁殖技术。

参考文献

- [1] 钟钰元,李健,樊梅花,等. 枸杞新品种宁杞 1 号的选育研究[C]. 经济作物新品种选育论文集. 上海科学技术出版社,1990:51-54.
- [2] 胡忠庆,周全良,谢施伟. “宁杞 4 号”的选育[J]. 宁夏农林科技,2005(4):11-13.
- [3] 雷志荣. 枸杞新品种选育-蒙杞一号选育报告[J]. 河套大学学报(自然科学版),2005(4):48-51.
- [4] 秦星,刘元恒,唐慧峰. 枸杞雄性不育株系(YX-1)与宁杞 1 号的形态学比较及配套栽培技术[J]. 宁夏农林科技,2008(3):55-58.
- [5] 秦星,田英,李云翔,等. 宁夏枸杞雄性不育种质个体 YX-1 的发现与鉴定[J]. 西北植物学报,2006,26(9):1838-1841.
- [6] 樊光辉,王占林,白生宏,等. 柴达木枸杞产业化发展中存在的主要问题[J]. 青海科技,2009(3):15-17.
- [7] 樊光辉,王占林,耿生莲,等. 青海枸杞杂交育种试验初报[J]. 青海农林科技,2009(4):5-7.
- [8] 安巍,章惠霞,何军. 枸杞育种研究进展[J]. 北方园艺,2009(5):125-128.
- [9] 秦国锋. 枸杞品种类型及良种简介[J]. 宁夏农林科技,1996(1):21-23.
- [10] 胥耀平. 10 个主要枸杞品种综合评定[J]. 西北林学院学报,1996,11(3):46-49.
- [11] 郑贞贞,王占林,樊光辉,等. 不同浓度植物生长调节剂 GGR7 号对宁杞 1 号嫩枝扦插成苗的影响[J]. 安徽农业科学,2011,39(29):17970-17971,17975.
- [12] 赵晓葵. 青海柴达木地区枸杞经济的产业化研究[J]. 青海民族大学学报(社会科学版),2011,37(2):96-99.
- [13] 蒋宇. 宁夏枸杞产业一体化发展存在的问题及对策[J]. 宁夏工程技术,2011,10(3):282-283.
- [14] 宋长冰. 枸杞产业现状及前景[J]. 中国林副特产,2001(3):15-17.
- [15] 刘静,王连喜,马力文,等. 枸杞的生理因子与外环境气象因子的日变化规律研究[J]. 干旱地区农业研究,2003(1):45-47.

Preliminary Report on ‘Ningqi No. 1’ *Lycium barbarum* Radiation Mutation Breeding

FAN Guang-hui

(Qinghai Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Xining, Qinghai 810016)

Abstract: Taking ‘Ningqi No. 1’ seeds as materials, the seedlings were got through cobalt radiation treatment. With big fruit type and high yield as target, combined with individual selection and isozyme spectrum analysis, a new strain ‘1036’ was finally successfully selected.

Key words: *Lycium barbarum*; radiation mutation breeding; plant selection; isoenzyme