

# 桂花种子的 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线辐射 敏感性及其半致死剂量研究

熊运海, 万路生

(重庆文理学院 林学与生命科学学院, 重庆 402160)

**摘要:**以金桂、银桂种子为试材,采用不同剂量 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐射种子,观察辐射对桂花种子发芽率及胚根生长的影响,以种子 50%发芽率为基准,通过直线回归方程计算半致死剂量,以研究桂花辐射诱变育种,探讨桂花种子辐射剂量的问题,选育具有较高观赏价值的桂花优良新品种。结果表明: $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐射可引起桂花种子胚根缩短、发芽率降低;金桂与银桂种子的辐射半致死剂量分别为 123.807、118.381 Gy,最大辐照量为 250 Gy。辐射剂量与金桂和银桂种子的发芽率间呈高度负相关,相关系数分别为  $r=-0.910$ 、 $r=-0.934$ 。金桂种子辐射敏感性高于银桂种子。

**关键词:**桂花;辐射育种;半致死剂量

**中图分类号:**S 685.134<sup>+</sup>.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)20-0081-04

桂花[*Osmanthus fragrans* (Thunb.) Lour.]属木樨科(Oleaceae)木樨属(*Osmanthus* Lour.)常绿灌木或小乔木,原产于我国西南部,现广泛栽培于长江流域各省区,是中国传统名花,花可作香料,金桂(var. *thunbergii* Makino)、银桂(var. *latifolius* Makino)为其变种<sup>[1]</sup>。辐射育种已被广泛应用于花卉品种培育,而 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线是最常用的辐射诱变源。中国花卉辐射育种起始于 20 世纪 80 年代,通过  $\gamma$  射线辐射育成的新品种占观赏植物新品种总数的 56.5%以上<sup>[2-3]</sup>,试验材料涉及菊花、百合、美人蕉等多种花卉品种,已育成新品种近百个<sup>[4]</sup>,丰富了花卉资源,但尚鲜见在桂花上应用的实例。为此,该试验采用不同剂量 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐射处理金桂与银桂种子,并初步观察辐射后种子发芽率的变化和萌芽期胚根形态的改变,以确定其辐射诱变的适宜剂量,以期为桂花的辐射育种工作提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

金桂、银桂的成熟种子于 2014 年 3 月 22、23 日采自重庆文理学院红河校区,采收种子去皮洗净后,沙藏于自然树阴下的竹筐中保存。金桂与银桂种子千粒质量分别为 362.842、374.436 g。

**第一作者简介:**熊运海(1964-),男,本科,教授,现主要从事园林植物资源开发与利用等研究工作。E-mail:xiangyunhai621@163.com.

**基金项目:**重庆市教委科学技术研究资助项目(KJ131217)。

**收稿日期:**2016-07-25

### 1.2 试验方法

1.2.1 辐射处理 筛选饱满、大小均匀的沙藏种子放入信封,以四川省农科院原子能农业应用研究所的 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线为辐射源,2014 年 7 月 10 日进行 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射,辐射剂量分别为 0(对照)、50、100、150、200、250、300 Gy,剂量率为  $1.5\text{ Gy}\cdot\text{min}^{-1}$ 。金桂、银桂种子的样本数均为 600 粒。辐照后种子仍沙藏待用。

1.2.2 发芽试验 发芽试验于 2014 年 10 月 11 日在重庆文理学院林学与生命科学学院园林教学实验中心进行,2014 年 10 月 18 日统计发芽率,每 7 d 记录 1 次,2014 年 11 月 22 日结束,结束时测量胚根长。发芽试验参考刘若楠等<sup>[5]</sup>、姚悦梅等<sup>[6]</sup>的方法,取出沙藏的金桂与银桂种子并用蒸馏水洗净,每种处理选取 25 粒种子,然后用质量分数 0.3%的高锰酸钾溶液消毒 10 min,再用蒸馏水将种子冲洗干净备用。将不同处理桂花种子置于垫有 3 层湿润滤纸的培养皿中,每天补充 1~3 mL 蒸馏水,放于 25℃人工气候培养箱内进行萌发试验。种子萌发以胚根长度等于种子长度即为种子发芽,重复 4 次。

### 1.3 项目测定

1.3.1 相对出苗率与辐射半致死剂量的确定 当连续 7 d 没有种子继续发芽时统计发芽率,及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 $\times 100$ ,相对发芽率(%)=实测发芽率/对照组发芽率 $\times 100$ 。桂花种子的相对发芽率与辐射剂量的相关性分析,参照王兆玉等<sup>[7]</sup>的直线回归方程方法,将辐射剂

量  $x$  作为自变量,不同剂量下的相对发芽率  $y$  作为因变量,利用直线回归方程  $y=a+bx$  和下列公式来计算桂花种子的半致死剂量。

$$b=[\sum xy-(\sum x \cdot \sum y)/N]/[\sum x^2-(\sum x)^2/N] \quad (1),$$

$$a=(\sum y-b \cdot \sum x)/N \quad (2),$$

$$x=(LD50-a)/b \quad (3)。$$

式中, $b$  为回归系数; $a$  为常数; $x$  为半致死剂量。

1.3.2 辐射当代出苗率与辐射剂量相关性的确定 不同桂花种子当代发芽率与辐射剂量相关系数( $r$ )的计算公式如下:

$$r=\frac{\sum xy-\frac{\sum x \cdot \sum y}{N}}{\sqrt{[\sum x^2-\frac{(\sum x)^2}{N}][\sum y^2-\frac{(\sum y)^2}{N}]}} \quad (4)。$$

式中, $x$  为辐射剂量, $y$  为不同剂量下的相对发芽率。

#### 1.4 数据分析

将所得数据以处理为单位求平均数,采用 DPS v 7.05 软件进行单因素方差分析,并用 Duncan 新复极差法进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 辐射剂量对桂花种子相对发芽率的影响

由表 1 可知,金桂与银桂种子受到 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐射处理后,相对发芽率均呈现出先降后升的变化趋势,不同剂量处理与对照相比都存在显著差异。当辐射剂量为 250 Gy 时,金桂与银桂种子相对发芽率均急剧下降,低于 5%~0%;当辐射剂量为 300 Gy 时,金桂与银桂种子相对发芽率又显著上升,表明辐射剂量 250 Gy 是影响相对发芽率的临界值。

表 1 不同处理桂花种子相对发芽率

Table 1 The relative germination rate of *Osmanthus fragrans* seed with different radiation treatments %

辐射剂量 Radiation dosage/Gy	金桂 var. <i>thunbergii</i> Makino	银桂 var. <i>latifolius</i> Makino
0	95.833±7.217a	91.667±6.742a
50	82.609±11.463b	72.727±6.172b
100	47.826±7.017c	54.545±9.500b
150	30.435±6.127d	27.273±10.750c
200	13.044±10.580de	22.727±11.634c
250	4.384±6.178e	0.000±0.000d
300	21.739±5.712d	18.182±6.274c

注:小写字母表示在 0.05 水平差异。下同。

Note:Lowercase letters showed significant difference at 0.05 level. The same below.

金桂、银桂种子的相对发芽率在不同剂量处理间存在明显的效应差异。统计分析表明,金桂种子辐射剂量 150 Gy 与 200 Gy 间,200 Gy 与 250、300 Gy 间无显著差异。银桂种子辐射剂量 50 Gy 与 100 Gy 间,150 Gy 与 200、300 Gy 间无显著差异。说明,金桂种子辐照处理有效的剂量水平设置应为 50、100、150 Gy;银桂种子辐照

处理有效的剂量水平设置应为 50、150、250 Gy。

在金桂与银桂品种间存在辐射敏感性差异。当辐射剂量为 50 Gy 时,金桂与银桂种子相对发芽率分别下降了 13.224、18.940 个百分点,其中下降幅度最大的是银桂。当辐射剂量为 100~250 Gy 时,随着辐射剂量增大,金桂种子相对发芽率下降值均大于银桂。由此表明,金桂的辐射敏感性高于银桂。

利用相关系数公式计算表明,金桂与银桂种子相对发芽率与所接受辐射剂量间相关系数分别为  $r=-0.910$ 、 $r=-0.934$ ,整体上呈高度负相关,发芽率随辐射剂量的增加而下降。

值得注意的是,当辐射剂量为 300 Gy 时,虽然金桂与银桂种子相对发芽率下降了 74.094 与 73.485 个百分点,但是与辐射剂量为 250 Gy 的发芽率相比,2 个品种的相对发芽率反而都有不同程度的上升。

### 2.2 不同桂花品种辐射的半致死剂量

通过回归分析,得出 2 个桂花品种的回归方程为  $y$  (金桂)= $86.575-0.295x$ ;  $y$  (银桂)= $83.631-0.284x$ 。根据方程计算,金桂与银桂 2 个不同桂花变种的种子 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐射的半致死剂量分别为 123.807、118.381 Gy。当剂量为 150 Gy 时,所有品种的桂花相对发芽率均低于 50%;当剂量为 250 Gy 时,各品种的相对发芽率均低于 5%。

### 2.3 不同辐射剂量对桂花植株胚根生长的影响

由表 2 可知,不同变种桂花种子受到 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐射处理后,胚根长度均呈现缩短趋势,不同剂量处理与对照相比都存在显著差异。当辐射剂量为 250 Gy 时,金桂与银桂种子胚根长度降至最低,与对照相比分别下降了 86.98%、81.57%,下降幅度最大的是金桂。再次表明 250 Gy 是辐射剂量影响胚根生长的临界值,金桂的辐射敏感性高于银桂,与相对发芽率的试验结果一致。

表 2 不同辐射剂量对桂花植株胚根长度的影响

Table 2 Effect of different doses of radiation on radicle length of *Osmanthus fragrans* plant mm

辐射剂量 Radiation dosage/Gy	金桂 var. <i>thunbergii</i> Makino	银桂 var. <i>latifolius</i> Makino
0	31.233±2.491a	23.767±2.421a
50	15.867±2.501b	13.667±0.451b
100	9.667±1.501c	7.633±1.358c
150	7.067±2.294c	6.387±0.820c
200	5.667±1.026d	5.653±0.532c
250	4.067±0.961d	4.380±0.255d
300	5.967±0.737cd	5.367±0.551cd

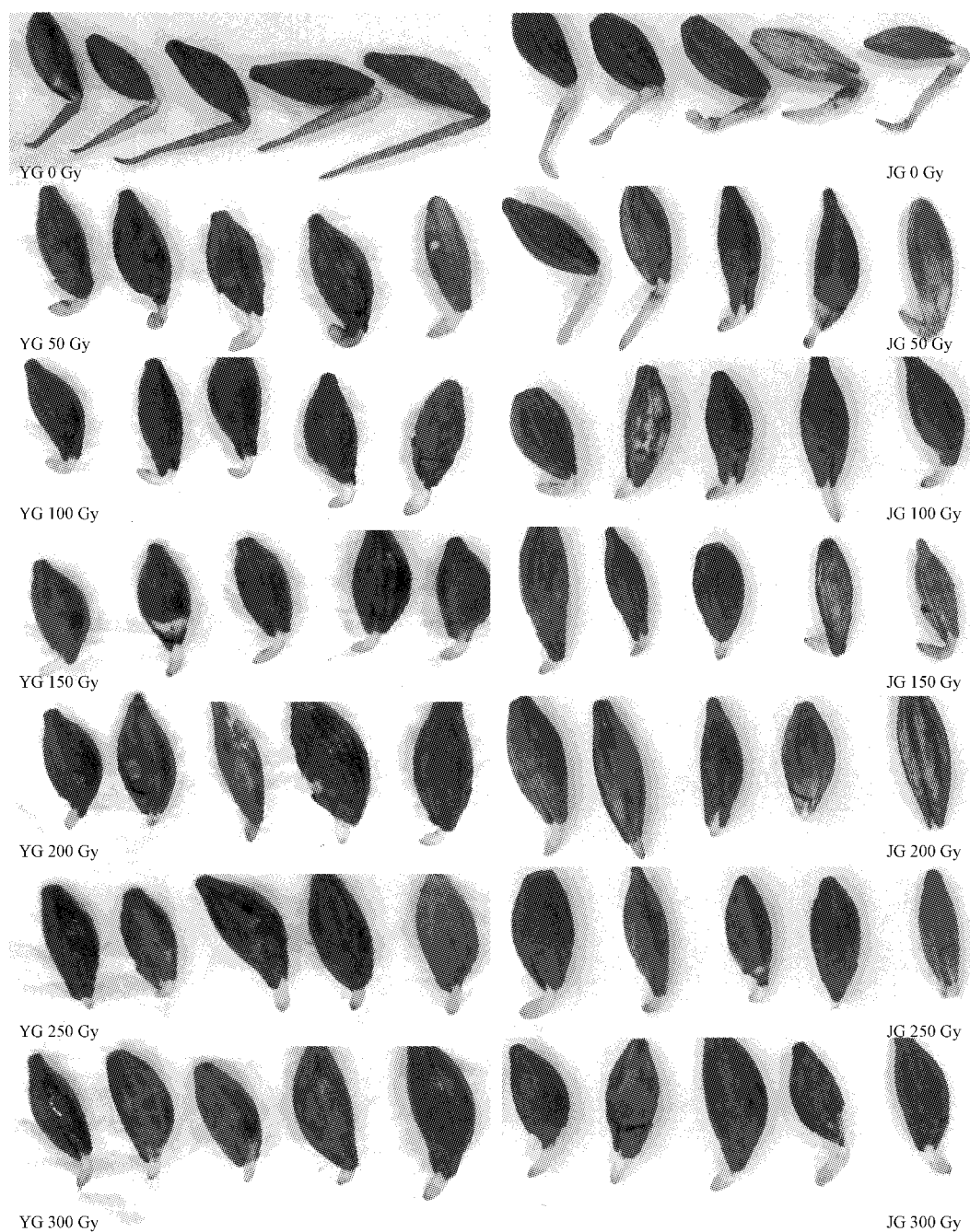
值得注意的是,当辐射剂量为 300 Gy 时,虽然金桂与银桂种子胚根长度分别下降了 80.89%、77.42%,但是与辐射剂量为 250 Gy 的下降率相比,2 个桂花变种的胚根长度反而都有不同程度的上升,与相对发芽率的试

验结果一致。

在金桂、银桂种子处理的各剂量水平间也存在明显的效应差异。统计分析表明,金桂种子辐射剂量 100 Gy 与 150 Gy 间无显著差异;200、250、300 Gy 间无显著差异。银桂种子辐射剂量 100 Gy 与 150、200 Gy 间无显著差异;250、300 Gy 间无显著差异。说明,金桂种子辐照处理有效的剂量水平设置应为 50、100、200 Gy;银桂种子辐照处理有效的剂量水平设置应为 50、100、250 Gy。结合

桂花种子的相对发芽率分析结果、半致死剂量与临界辐射剂量值综合推断,金桂种子辐照处理有效的剂量水平设置应为 50、100、150、200、250 Gy;银桂种子辐照处理有效的剂量水平设置应为 50、100、150、250 Gy。

与对照植株相比,辐射处理后的许多植株胚根先端膨大,胚根缩短,辐射剂量越大,现象更明显。而且随着辐射剂量的增加,桂花胚根的长度又有适度增加的趋势(图 1)。



注:YG 为银桂,JG 为金桂。

Note: YG is var. *latifolius* Makino, JG is var. *thunbergii* Makino.

图 1 不同剂量<sup>60</sup>Co-γ射线处理对银桂与金桂胚根生长的影响

Fig. 1 Effect of different doses of radiation process on radicle growth of var. *latifolius* Makino and var. *thunbergii* Makino

### 3 结论与讨论

对于辐射育种而言,适宜辐射剂量的确定十分重要,选择适当的辐射剂量,可使  $M_1$  代有足够的植株成活率的同时,保证  $M_2$  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。一般采用辐射后种子发芽率为 50% 时的半致死剂量为适宜的辐射剂量<sup>[8]</sup>。但目前半致死剂量的测定还没有一个统一的标准,可采用的指标包括种子发芽率、植株成活率、生长抑制程度和植株不育程度等<sup>[9]</sup>。该研究中,发芽率受辐射影响显著,辐射后能够萌发的种子大部分能存活并继续生长,所以选用种子发芽率为 50% 的辐射剂量作为半致死剂量,即适宜的辐射剂量。低剂量  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线辐射使处理后的种子发芽率升高的现象曾经在日日春<sup>[10]</sup>、毛竹<sup>[11]</sup> 种子的辐射诱变研究中报道过,这可能与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。该试验观察到的这种随辐射剂量增加,发芽率先下降、然后又上升的现象与前人研究一致。

该研究表明,不同剂量  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线辐射处理金桂、银桂种子后,均呈现出相对发芽率下降、胚根长度缩短趋势,与对照相比都存在显著差异。金桂与银桂种子相对发芽率与所接受辐射剂量间整体上呈高度负相关,发芽率随辐射剂量的增加而下降,相关系数分别为  $r = -0.910$ 、 $r = -0.934$ 。 $\gamma$  射线辐射的金桂与银桂种子半致死剂量分别为 123.807、118.381 Gy。250 Gy 是辐射剂量影响相对发芽率、胚根生长的最高临界值。金桂与银桂品种间存在辐射敏感性差异。金桂的辐射敏感性

高于银桂。综合分析表明,金桂种子辐照处理有效的剂量水平应为 50、100、150、200、250 Gy;银桂种子辐照处理有效的剂量水平应为 50、100、150、250 Gy。

该研究仅仅是对少量种子在实验室里所做的初步试验结果,因此,在桂花辐射育种实践中,还应根据种子播种出苗情况、田间表现进一步明确相应辐射剂量的辐射效果,以检验研究的准确性,确定最适宜剂量,从而更好的指导桂花辐射育种工作的开展。

#### 参考文献

- [1] 陈有民. 园林树木学[M]. 北京:中国林业出版社,2000.
- [2] 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.
- [3] 陈会敏,刘从霞. 浅析我国花卉育种途径及研究进展[J]. 河北林业科技,2011(2):70-71.
- [4] 杨兆民,张璐. 辐射诱变技术在农业育种中的应用与探析[J]. 基因组学与应用生物学,2011,30(1):87-91.
- [5] 刘若楠,杨志玲,于华会,等. 栀子种子生活力测定及其与发芽率的相关性研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(27):14922-14923,14931.
- [6] 姚悦梅,潘跃平,戴忠良,等. 三叶芹种子颜色和大小对种子质量和幼苗生长的影响[J]. 江西农业学报,2011,23(8):52-53.
- [7] 王兆玉,林敬明,萝莉,等. 小油桐种子的  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线辐射敏感性及其半致死剂量的研究[J]. 南方医科大学学报,2009,29(3):506-508.
- [8] FAIRLESS D. The little shrub that could-maybe[J]. Nature,2007,449: 652-655.
- [9] 杨兆民,张璐. 辐射诱变技术在农业育种中的应用与探析[J]. 基因组学与应用生物学,2011,30(1):87-91.
- [10] 罗以贵,强继业,强影影.  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线辐照对日日春种子发芽率及幼苗生长的影响[J]. 种子,2007,26(2):72-74.
- [11] 蔡春菊,高健,牟少华.  $^{60}\text{Co-}\gamma$  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.

## Sensitivity of *Osmanthus fragrans* Seeds to $^{60}\text{Co-}\gamma$ Radiation and Its Medial Lethal Doses in Radiation Breeding

XIONG Yunhai, WAN Lusheng

(School of Forestry and Life Sciences, Chongqing University of Arts and Sciences, Chongqing 402160)

**Abstract:** In order to study the radiative mutation breeding of *Osmanthus fragrans*, explore the radiation dosages of *Osmanthus fragrans* and select new variety of *Osmanthus fragrans* having high ornamental value, the *Osmanthus fragrans* seeds from two different varieties (var. *thunbergii* Makino and var. *latifolius* Makino) were treated with different dosages of  $^{60}\text{Co-}\gamma$  ray (0, 50, 100, 150, 200, 250 and 300 Gy), and the seed germination rate and radicle growth were observed. Based on the germination rate 50%,  $\text{LD}_{50}$  doses of  $^{60}\text{Co-}\gamma$  radiation for the seeds were calculated using linear regression equation. The results showed that  $^{60}\text{Co-}\gamma$  radiation caused the seeds radicle length shortened, lower germination rate.  $\text{LD}_{50}$  doses of  $^{60}\text{Co-}\gamma$  radiation for the seeds of var. *thunbergii* Makino and var. *latifolius* Makino were 123.807 Gy and 118.381 Gy respectively. Their maximum radiation dose was 250 Gy. The seeds germination rate of *Osmanthus fragrans* had a high negative correlation with radiation dose, the correlation coefficient was  $r = -0.910$ ,  $r = -0.934$ , respectively. The radiation sensitivity of var. *thunbergii* Makino seeds was higher than var. *latifolius* Makino seeds.

**Keywords:** *Osmanthus fragrans* (Thumb.) L.; radiation breeding; medial lethal dose