

^{60}Co - γ 辐射对桂花种子发芽 出苗及幼苗生长的影响

熊运海, 王 义

(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(0、50、100、150、200、250、300 Gy) ^{60}Co - γ 射线辐射种子,观察辐射对桂花种子出苗率及幼苗生长的影响,以探讨桂花种子辐射效应问题,选育具有较高观赏价值的优良新品种。结果表明:辐射处理导致桂花相对生长率下降、种子发芽势降低、出苗时滞延长、出苗整齐度降低、根系发育受抑制等效应;辐射剂量与金桂和银桂种子的相对出苗率间呈负相关,相关系数分别为-0.86、-0.83; ^{60}Co - γ 射线辐射可引起桂花幼苗产生较多的表型变异,50 Gy 处理金桂与银桂种子变异率分别达(13.6 \pm 5.23)%、(12.4 \pm 4.78)%;采用相对出苗率为指标,金桂与银桂种子辐射半致死剂量分别为 92.39、73.63 Gy,银桂种子辐射敏感性高于金桂种子。

关键词:桂花;种子出苗;幼苗生长;半致死剂量;辐射育种

中图分类号:S 685.13 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)04-0051-05

桂花(*Osmanthus fragrans* (thumb.) Lour.) 属木樨科(*Oleaceae*)木樨属(*Osmanthus* Lour.)常绿灌木或小乔木,是中国传统名花,现广泛栽培于长江流域各省区,常见变种有银桂(var. *latifolius* Makino)、金桂(var. *thunbergii* Makino)等,与其它名花相比,品种较贫乏^[1]。辐射育种已被广泛应用于花卉品种培育,而 ^{60}Co - γ 射线是最常用的辐射诱变源。目前,通过 γ 射线辐射育成新品种占观赏植物新品种总数的56.5%以上^[2-4],但尚鲜见在桂花上应用。该试验采用不同剂量 ^{60}Co - γ 射线辐射处理金桂与银桂种子,分析了辐射后种子萌发出苗与幼苗生长变化,确定辐射诱变的适宜剂量和幼苗变异效应,以期为进一步利用 ^{60}Co - γ 射线诱发变异、创新桂花种质和品种选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试金桂、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荫下的竹筐中保存。金桂与银桂种子千粒质量分别为 362.842、374.436 g。

1.2 试验方法

1.2.1 ^{60}Co - γ 辐射处理 于 2014 年 7 月 10 日在四川省农业科学院原子能农业应用研究所进行。筛选饱满、大小均匀的沙藏种子放入信封,以 ^{60}Co - γ 射线为辐射源,辐射剂量分别为 50、100、150、200、250、300 Gy,剂量率为 1.5 Gy \cdot min⁻¹,以未辐射的种子为对照(CK)。金桂、银桂种子每处理 500 粒种子。辐照后种子仍沙藏待用。

1.2.2 萌发育苗试验 于 2014 年 9 月 10 日在重庆文理学院花卉工程中心的自然温室进行。采用穴盘(5 cm \times 10 cm)播种,穴盘基质为草炭和河沙按 2:1 混合。播种时取出沙藏的金桂与银桂种子并用蒸馏水洗净,然后用浓度为 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。播种深度为 1.0 cm,每种处理选取 100 粒种子为 1 组,试验重复 5 次。播种后放置温室中,经常喷水保持基质湿润,143 d 出苗后统计出苗数,每 3 d 记录 1 次,2015 年 4 月 20 日萌发结束。选同一天出苗(3 月 2 日)的金桂、银桂 2 组桂花的对照与 50 Gy 处理幼苗各 10 株,每隔 6 d 观测株高变化,测量苗高 30 d,结束时测

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: xiongyunhai621@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:2016-10-08

量根长(根基部至根尖的距离)。

1.3 项目测定

以子叶全部露于土面为出苗,连续 9 d 没有种子继续出苗时为结束,统计出苗率,然后计算各辐射剂量下的发芽势和相对出苗率。出苗时滞为播种后至种子出苗的天数。出苗时长为观察处理种子开始出苗日至最后结束出苗日所经历的天数。出苗后 50 d 采用 LA-S 型植物根系分析仪测定金桂、银桂对照与 50 Gy 辐射处理幼苗根系。叶绿素相对含量采用 SPAD-502 叶绿素仪测定。苗高系茎基部到子叶生长点的距离,采用游标卡尺测量。出苗率(%)=萌发出苗的种子数/播种的种子数 \times 100;发芽势(%)=萌发出苗日至出苗最高值日的出苗种子数/播种的种子数 \times 100;相对出苗率(%)=实测出苗率/对照组出苗率 \times 100;幼苗相对生长率(%)=(测定时苗高一出苗时苗高)/出苗时苗高 \times 100。参照王兆玉等^[5]的直线回归方程方法,采用桂花种子的相对出苗率与辐射剂量的相关性分析,将辐射剂量 x 作为自变量,不同剂量下的相对出苗率 y 作为因变量,利用直线回归方程 $y=a+bx$ 计算桂花种子的半致死剂量。

1.4 数据分析

将所得数据以处理为单位求平均值,采用 DPS

v7.05 软件进行单因素方差分析,并用 Duncan 的新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 辐射处理对桂花幼苗出苗的影响

2.1.1 对出苗率与发芽势的影响 由表 1 可知,辐射处理导致桂花种子出苗率降低,金桂与银桂不同剂量处理出苗率变化趋势一致。与对照相比,随着处理剂量的增加,金桂与银桂种子出苗率快速下降,250 Gy 处理时出苗率分别降至 0.00%;在 300 Gy 时略有回升,出苗率与辐射剂量呈负相关,金桂、银桂相关系数分别为-0.86、-0.83。金桂种子 200、250、300 Gy 剂量处理间出苗率无显著差异,其余剂量处理间存在显著差异;而银桂种子 150、200、250、300 Gy 剂量处理间出苗率无显著差异,其余剂量处理间存在显著差异。金桂种子 50、100、150 Gy 剂量处理的出苗率均显著高于银桂,表明银桂受辐射伤害高于金桂。从表 1 中还可以看出,不同剂量水平辐射处理导致桂花种子发芽势降低,发芽势与辐射剂量呈负相关。不同剂量处理差异性与出苗率变化一致。低剂量(50 Gy)与高剂量(100、150 Gy)处理,金桂种子发芽势降低值显著大于银桂,250 Gy 处理时发芽势分别降至 0.00%;在 300 Gy 时略有回升,这充分表明桂花不同变种间存在辐射敏感性差异。

表 1 不同处理桂花种子出苗率与发芽势

Table 1 Germination rate and germination energy of <i>Osmanthus fragrans</i> seed with different treatments %						
辐射剂量 Radiation dose/Gy	金桂 var. <i>thunbergii</i> Makino			银桂 var. <i>latifolius</i> Makino		
	发芽势	出苗率	相对出苗率	发芽势	出苗率	相对出苗率
0	53.67 \pm 1.53a	86.67 \pm 1.53a	100.00	49.33 \pm 1.63a	85.33 \pm 1.53a	100.00
50	32.33 \pm 2.08b	76.67 \pm 2.52b	88.46	41.67 \pm 2.08b	58.00 \pm 2.00b	67.97
100	7.67 \pm 1.16c	12.33 \pm 2.08c	14.23	4.33 \pm 1.16c	8.33 \pm 1.53c	9.76
150	3.33 \pm 1.16d	4.33 \pm 1.16d	5.00	1.0 \pm 1.0d	1.67 \pm 1.16d	1.96
200	0.67 \pm 0.58e	1.00 \pm 1.00e	1.15	0.33 \pm 0.58d	0.33 \pm 0.58d	0.04
250	0.00e	0.00e	0.00	0.00d	0.00d	0.00
300	0.33 \pm 0.58e	0.33 \pm 0.58e	0.04	0.67 \pm 0.58d	1.00 \pm 1.00d	0.12

注:同列数据后不同字母表示在 $P=0.05$ 水平差异显著。

Note: The different letters after the same column mean significant difference at 0.05 level.

2.1.2 相对出苗率与辐射半致死剂量分析 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幼苗可供选择。一般剂量的选择通常采用半致死剂量或临界剂量^[6-7]。采用桂花种子的相对出苗率(见表 1)进行各辐射剂量的相关性分析。 $y(\text{金桂})=71.30-0.30x$; $y(\text{银桂})=62.49-0.27x$ 。经计算金桂与银桂 2 个不同桂花变种的种子 γ 射线辐射的半致死剂量分别为 92.39、73.63 Gy。

金桂与银桂种子的最大辐射剂量分别为 184.78、147.26 Gy。超过 150 Gy 时,金桂与银桂种子相对出苗率均低于 5%,这可为桂花辐射育种适宜剂量选择提供参考依据。

2.1.3 对桂花出苗时滞与出苗时长的影响 由图 1、2 可知,金桂与银桂对照的出苗时间一致,为播种后翌年 1 月 28 日,出苗时滞均为 141 d,而出苗时长分别为 51.60 d,与金桂种子发芽势高于银桂种子相关。由表 2 可知,辐射处理导致桂花出苗时长呈现不同变化。低剂量 50 Gy 处理导致出苗时长延长,与对

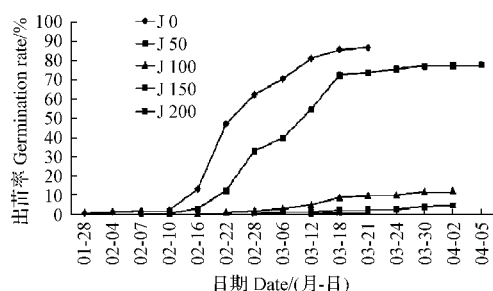


图1 金桂种出苗率变化

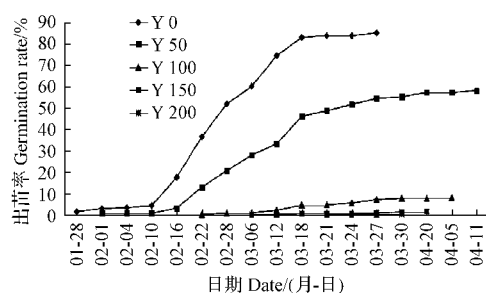
Fig. 1 Change of germination rate of var. *thunbergii* Makino

图2 银桂种出苗率变化

Fig. 2 Change of germination rate of var. *latifolius* Makino

表2

辐射处理对桂花出苗时滞与持续时间的影响

Table 2

Effect of *Osmanthus* seedlings delay and duration in radiation treatment

辐射剂量 Radiation dose/Gy	金桂 var. <i>thunbergii</i> Makino				银桂 var. <i>latifolius</i> Makino			
	出苗持续时间/d	出苗时长变化/%	出苗时滞/d	出苗时滞变化/%	出苗持续时间/d	出苗时长变化/%	出苗时滞/d	出苗时滞变化/%
0	51		141		60		141	
50	60	+17.65	+9	+6.29	72	+20.00	+3	+2.13
100	48	-5.90	+15	+10.49	39	-35.00	+24	+17.02
150	36	-29.41	+27	+18.88	33	-45.00	+30	+21.28
200	9	-82.35	+39	+27.27	9	-85.00	+48	+34.04
250	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
300	15	-70.58	+33	+23.07	15	-75.00	+18	+12.77

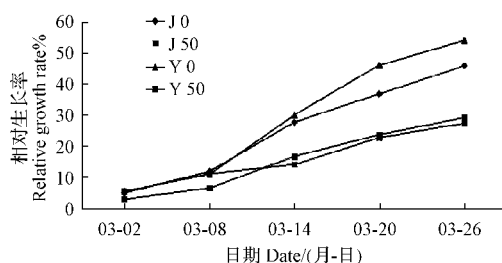


图3 不同时段桂花相对生长率变化

Fig. 3 Change of *Osmanthus* relative growth rate in different dates

2.2.2 根系生长 由表3可知,金桂、银桂辐射处理的幼苗各项测定值均小于对照,银桂辐射处理幼苗

照相比,金桂、银桂分别延长 17.65%、20.00%;随辐射剂量增加,金桂、银桂出苗时长又分别缩短,至 250 Gy 时,缩短为零,不同变种的变化趋势一致,这与发芽势变化趋同。由表2还可知,辐射处理导致桂花出苗时滞延长。随辐射剂量增加出苗时滞延长值增大,至 200 Gy 时,金桂与银桂出苗时滞延长分别达最大值,比对照分别延长 27.27%、34.04%;在 250 Gy 时,呈现拐点为 0,在 300 Gy 时,又略有回升,与发芽势减低趋势一致。这表明随辐射剂量增大种子受伤害程度加重。

2.2 辐射处理对桂花幼苗生长的影响

2.2.1 苗高 由图3可知,辐射处理的桂花幼苗在各时段相对生长率均低于对照。在出苗初期,均表现出生长率较低,处理与对照间无显著差异,到观察后期,相对生长率增大,对照相对生长率增加较快,观察结束时(3月26日)金桂与银桂相对生长率分别为 45.80%、54.02%;而经辐射处理桂花相对生长率变化较平缓;金桂、银桂2组辐射处理幼苗相对生长率分别低于对照 16.63、26.70 个百分点,处理与对照间差异显著。表明辐射处理具有抑制桂花幼苗生长的效应。

的各项测定指标除总根长外,其余均显著低于对照;金桂辐射处理幼苗的各项测定指标除总根系体积、总根表面积显著低于对照外,其余各项指标与对照均无显著差异。这进一步表明,辐射处理具有抑制根系发育效应,不同变种间存在差异,银桂根系的受害效应大于金桂。

2.2.3 植株变异 由图5可以看出,辐射处理后幼苗能产生较多的表型变异,植株真叶出现变形、扭曲、开叉、叶数增多(一节着生2、3、4叶)等变异现象,变异具有很大的随机性,金桂与银桂变异现象趋同。50 Gy 处理金桂与银桂种子叶形变异率分别为 $(13.6 \pm 5.23)\%$ 、 $(12.4 \pm 4.78)\%$,金桂变异率高于银桂,但彼此间差异不显著。

表 3 50 Gy 辐射对桂花植株根系生长的影响

Table 3 Effect of 50 Gy radiation on plant root growth in *Osmanthus*

处理 Treatment	总根系体积 Total root volume/cm ³	总根长 Total root length/cm	总根表面积 Total root surface area/cm ²	平均根系直径 Average root diameter/mm	根尖数 Root tip number	分枝数 Branch number	根长(直径大于 1.4 mm) Root length (diameter>1.4 mm)
金桂(CK)	0.095 * ±0.015	18.309±3.066	4.586 * ±0.852	0.796±0.014	63.000±9.540	115.667±13.170	2.206±0.521
金桂 50 Gy	0.059±0.008	13.558±4.161	2.906±0.687	0.746±0.086	56.000±36.000	107.667±26.308	1.584±0.504
银桂(CK)	0.157 * ±0.051	22.267±2.261	6.090 * ±0.489	0.872 * ±0.028	55.667 * ±14.572	232.000 * ±3.605	3.279 * ±0.518
银桂 50 Gy	0.074±0.005	18.095±4.586	4.141±0.892	0.734±0.062	43.333±29.366	130.333±30.665	1.506±0.401

注: * 表示 $P<0.05$ 水平差异性相关。
Note: * indicates significant correlation at 0.05 level.



图 4 桂花真叶辐射变异类型

Fig. 4 *Osmanthus* leaf variation types with radiation

3 结论

辐射剂量直接影响桂花种子发芽出苗与幼苗的

生长,随辐射剂量增加桂花种子受伤害加重。辐射处理导致桂花种子出苗率降低,出苗率与辐射剂量

呈负相关,金桂、银桂相关系数分别为 -0.86 、 -0.83 。进一步研究发现,辐射处理导致桂花种子发芽势降低、出苗时滞延长、出苗时长改变而整齐度降低、相对生长率降低、根系发育减弱,与一串红、木槿等花卉辐射育种试验结论一致^[8-10]。该试验发现,辐射诱变育种是一种有效的育种方法,一次处理能产生较多的表型变异材料。50 Gy 处理金桂与银桂幼苗叶形变异率差异不显著,但辐射诱变具有很大的随机性,与万寿菊、一串红等花卉辐射育种试验结论一致^[8-10]。从实际应用出发,该试验采用相对出苗率为指标,金桂与银桂种子适宜的辐射剂量(LD_{50})分别为 92.39、73.63 Gy;最大辐射临界剂量分别为 250、200 Gy。桂花不同变种间辐射效应存在差异,银桂种子辐射敏感性高于金桂。该试验对少量种子在自然温室进行了试验,在 M_1 代表现出来的与对照之间的差异可能是生理性的。因此在桂花辐射育种实践中,还应根据种子播种后田间的表现,以及 M_2 代进一步明确相应辐射剂量的辐射效果,从而指导桂花辐射育种工作的更好开展。

参考文献

- [1] 王宏伟. 中国桂花育种的历史、现状和发展方向[J]. 现代园林, 2007(7):74-75.
- [2] 杨再强,王立新. 我国观赏植物辐射诱变育种研究进展[J]. 广西园艺, 2006,17(2):44-47.
- [3] 王旭军,吴际友,程勇,等. 辐射育种及其在林木育种中的应用前景[J]. 湖南林业科技, 2007,34(2):13-15.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] FAIRLESS D. The little shrub that could-maybe[J]. Nature, 2007,449:652-655.
- [7] 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.
- [8] 王慧娟,孟月娥,赵秀山,等. $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐射万寿菊对发芽率及生长的影响[J]. 中国农学通报, 2009,25(19):161-163.
- [9] 傅巧娟,陈一,赵航平,等. $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线处理对一串红种子发芽及幼苗形成的影响[J]. 浙江农业学报, 2009,21(2):135-138.
- [10] 李秀芬,朱建军,王一涵,等. $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线对锦葵科 3 个树种发芽及幼苗生长的影响[J]. 上海农业学报, 2010,26(2):66-69.

Effect of $^{60}\text{Co-}\gamma$ Ray Treatment on Seed Germination and Seedling Growth in *Osmanthus*

XIONG Yunhai, WANG Yi

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

Abstract: In order to study the radiative mutation breeding of *Osmanthus fragrans*, explore the radiation effects of *Osmanthus fragrans* and select new variety of *Osmanthus fragrans* that having high ornamental value, the *Osmanthus fragrans* seeds from two different varieties (var. *thunbergii* Makino and var. *latifolius* Makino) were treated with different dosages to $^{60}\text{Co-}\gamma$ ray (0, 50, 100, 150, 200, 250 and 300 Gy), and the seed germination rate and seedling growth were observed. The results showed that $^{60}\text{Co-}\gamma$ radiation caused *Osmanthus* seedling relative growth rate decreased, the seeds germination potential was reduced, delays extend emergence, emergence uniformity was reduced, root development were inhibiting. The seeds germination rate of *Osmanthus fragrans* had a high negative correlation between radiation dose, the correlation coefficient was -0.86 , -0.83 . $^{60}\text{Co-}\gamma$ radiation could cause the leaf of *Osmanthus* produce more phenotypic variation, the variation rate of var. *thunbergii* Makino and var. *latifolius* Makino were $(13.6 \pm 5.23)\%$, $(12.4 \pm 4.78)\%$ with 50 Gy treatment respectively. Using relative germination rate as an indicator, LD_{50} doses of $^{60}\text{Co-}\gamma$ radiation for the seeds of var. *thunbergii* Makino and var. *latifolius* Makino were 92.39 Gy and 73.63 Gy, respectively. The radiation sensitivity of var. *thunbergii* Makino seeds was higher than var. *latifolius* Makino seeds.

Keywords: *Osmanthus fragrans* (thumb.) L.; seed germination; seedling growth; medial lethal dose; radiation breeding