

DOI:10.11937/bfyy.201712002

^{60}Co - γ 射线辐照对花椒的诱变效应

王冬梅¹, 孙 燕¹, 李庆芝²

(1. 莱芜职业技术学院, 山东 莱芜 271100; 2. 莱芜市农业科学研究院, 山东 莱芜 271100)

摘 要:以莱芜“大红袍”花椒为试材,利用不同剂量 ^{60}Co - γ 射线(0、50、100、150、200、250、300 Gy)辐照处理休眠态和萌芽态花椒种子,测定出苗率、初生苗高度、节间长度、节间数、叶型及株型等生理指标。结果表明: ^{60}Co - γ 射线辐照剂量与休眠态和萌芽态种子的出苗率呈极显著负相关,与致死率呈极显著正相关,休眠态种子的最适辐照剂量为100 Gy,萌芽态种子的最适辐照剂量为50 Gy。萌芽态种子实生苗的株高和节间数随辐照剂量增加先降后升,休眠态种子随剂量增加而不断下降,其中50 Gy辐照后的萌芽态种子的苗高和节间数与100 Gy辐照后的休眠态种子的苗高和节间数基本相同。突变体主要为株型异形和叶型异形,休眠态种子实生苗的变异率受辐照剂量的影响显著,辐照剂量为150 Gy时,其变异率接近100.0%。由此表明,休眠态种子对高剂量 ^{60}Co - γ 射线辐照更敏感,萌芽态种子对辐照损伤的自我修复能力更强。研究结果将为花椒稳定突变体的获得和花椒新种质的获得奠定良好的基础。

关键词:花椒;辐照;诱变效应

中图分类号:S 573⁺.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)12-0006-05

花椒(*Zanthoxylum bungeanum*)属芸香科(Rutaceae)花椒属(*Zanthoxylum*)植物^[1],是中国特有的调料植物。果实既能作调味品,又可提取芳香油^[2];入药具有散寒祛湿、开胃健脾、增强体质的功效^[3]。然而,因品种单一及产量较低等特点大大制约了花椒产业的效益和发展,因此快速培育具有较高产量、较好商品价值的新品种,创建丰富的种质资源已成为花椒产业发展亟待解决的关键问题^[4]。

辐射育种是利用各种射线照射植物组织、器官,使之产生变异,以便在较短时间内获得性状优良的突变体,根据育种目标筛选出作物新品种^[5-7]。因其具有变异频率高、变异范围大、后代稳定快、育种年限短等特点,已被广泛应用于各类作物育种^[8-11]。据国际原子能机构统计,到2002年世界范围内已经通过辐射诱变技术育成新品种2 316个,中国占625个^[12]。目前这些新品种已经在农业生产上起到了积极的作用,带来了很大的经济效益。但辐射育种在花椒上的应用还很罕见,相关报道也较少。董丹等^[13]通过不同剂量 ^{60}Co - γ 射线辐照研究了花椒粉

微生物的灭杀效果及辐照对其抗氧化活性的影响。该试验首次使用 ^{60}Co - γ 射线对莱芜“大红袍”花椒种子进行辐照处理,对发芽率、半致死率、苗高、节间数、平均节间长度、变异率等进行了研究,探明了花椒种子有效的辐照诱变剂量,旨在为花椒稳定突变体获得及品种选育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试莱芜“大红袍”休眠态和萌芽态花椒种子,由莱芜市农业科学院提供。

1.2 试验方法

1.2.1 种子的辐照处理及出苗率的调查 辐照处理在安徽省滁州市原子能利用研究所进行。取花椒休眠态和萌芽态种子各6份,每份100 g(含种子6 700粒),依次用50、100、150、200、250、300 Gy 6种剂量的 ^{60}Co - γ 射线辐照,处理后的种子每剂量随机取500粒,按每穴3粒、每剂量一畦的方式种植;同时,取未辐照的休眠态和萌动态种子各500粒作对照,管理方式与辐照处理种子一致。剩余种子每剂量种成一畦,以便日后观察其变异情况。种植3周后,对种子出苗情况每周调查一次,待出苗数恒定后,计算各剂量处理的种子出苗率。根据处理与对

第一作者简介:王冬梅(1975-),女,硕士,讲师,研究方向为生物工程。E-mail:250881303@qq.com.

收稿日期:2017-03-13

照的结果关系,计算各处理剂量种子的校正出苗率,校正出苗率表示辐照处理对出苗率的影响效果,其绝对值可视致死率。校正出苗率(%)=(对照出苗率-实际出苗率)/对照出苗率 $\times 100^{[10]}$ 。

1.2.2 辐照种子的幼苗生长的情况 对各剂量处理的3月苗龄的实生苗进行统一调查,每幅照剂量随机选取高、中、矮各形态苗木各50株(出苗数小于50的几个剂量未作调查),分别测量苗高、节间长度、节间数等指标,分析各性状受辐照剂量的影响效果。

1.2.3 辐照实生苗的当代表型效益 调查各辐照剂量处理的3月苗龄实生苗,统计幼苗的表型效应,主要为2类:一是节间明显缩短、节间数变少的簇缩株称为株型异形;二是叶片白化黄化、叶色皱缩的统称为叶型异形,通过幼苗表现分析辐照处理引起的花椒种子幼苗表型变化的类型及比例。

表 1 不同剂量辐照下花椒休眠态种子的出苗率

Table 1 Effect of irradiation dose on the emergence rate of pepper dormant seed

剂量 Dose/Gy	处理种子数 Seed number/粒	出苗粒数 Number of seedling emergence/粒	出苗率 Seedling emergence rate/%	校正出苗率 Correction of emergence rate/%
0(CK)	500	376	75.20	0.0
50	500	320	64.00	-14.9
100	500	194	38.80	-48.5
150	500	144	28.80	-63.7
200	500	2	0.16	-99.8
250	500	4	0.33	-99.6
300	500	0	0.00	-100.0

表 2 不同剂量辐照下花椒萌芽态种子的出苗率

Table 2 Effect of irradiation dose on the emergence rate of pepper germination seed

剂量 Dose/Gy	处理种子数 Seed number/粒	出苗粒数 Number of seedling emergence/粒	出苗率 Seedling emergence rate/%	校正出苗率 Correction of emergence rate/%
0(CK)	500	483	96.60	0.0
50	500	234	46.88	-51.6
100	500	134	26.80	-72.3
150	500	54	10.80	-88.8
200	500	36	6.80	-93.0
250	500	10	2.00	-97.9
300	500	0	0.00	-100.0

不同剂量 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照对花椒萌芽态和休眠态种子的致死率结果见图1。可以看出,当辐照剂量为50 Gy时,萌芽态种子达到了半致死率(51.6%),而休眠态种子的致死率仅为14.9%;当辐照剂量为100 Gy,休眠态种子达到半致死率时(48.5%),萌芽态种子的致死率已经达到了72.3%。但是相反的,当辐照剂量为200 Gy时,休眠态种子几乎达到了全致死率(99.8%),而萌芽态种子的致死率仅为93.0%。因此,花椒休眠种子的半致死剂量接近并略高于100 Gy,致死剂量接近200 Gy;而萌芽态种子的半致死剂量仅为50 Gy,致死剂量却高达250 Gy。

1.3 数据分析

采用 Excel 和 SPSS 16.0 软件对试验数据进行分析并作图。

2 结果与分析

2.1 辐射对花椒休眠态和萌芽态种子出苗率的影响

表1、2分别为不同剂量 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线处理休眠态和萌芽态花椒种子40 d后的出苗率情况。可以看出,辐照处理显著降低了花椒种的出苗率。当辐照剂量为50 Gy时,休眠态种子的出苗率为64.00%,萌芽态种子的出苗率为46.88%;而当辐照剂量达到200 Gy时,休眠态种子的出苗率仅为0.16%,萌芽态种子的出苗率为6.80%。由此可以看出,休眠态种子对低剂量 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照的耐受力较强,而萌芽态种子对高剂量辐照的耐受力更强。

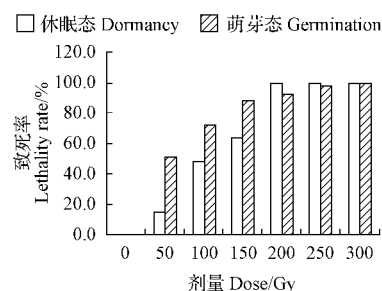


图 1 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐照对花椒种子致死率的影响

Fig. 1 Effect of $^{60}\text{Co-}\gamma$ rays irradiation on pepper lethality rate

表明同等剂量下, 萌芽态种子较休眠态种子的辐射效应更明显, 对辐照剂量更敏感, 但随剂量的增加萌芽态种子的出苗率下降幅度缓和(表 2), 说明萌芽态种子对辐照损伤的自我修复能力较休眠态种子强。

在种子的诱变育种中, 通常需要确定一个比较合适的辐照剂量。如果剂量过高, 会导致 M1 植株全部或大部分死亡, 如果剂量过低, 产生变异则会较少, 不利于后代突变体的筛选, 通常情况下, 采用半

致死剂量作为辐照的最适剂量。从表 3 可以看出, ^{60}Co - γ 射线辐照剂量与休眠态和萌芽态种子的出苗率呈极显著负相关, 与致死率呈极显著正相关, 因此可以根据半致死率来确定最适宜的辐照剂量。根据该试验设置的诱变剂量梯度可以确定, 休眠态种子的最适辐照剂量为 100 Gy, 萌芽态种子的最适辐照剂量为 50 Gy (图 1)。

表 3 辐照剂量与出苗率及致死率的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of irradiation dose, emergence rate and lethality rate

剂量 Dose/Gy	休眠态种子 Dormancy seed		萌芽态种子 Germination seed	
	出苗率 Emergence rate	致死率 Lethality rate	出苗率 Emergence rate	致死率 Lethality rate
	-0.960 **	0.959 **	-0.886 **	-0.886 **

注: ** 表示达到 0.01 显著水平。

Note: ** Correlation is significant at 0.01 level.

2.2 辐照对花椒实生苗苗高及节间长度的影响

苗高是反映花椒苗木长势的明显特征, 通常辐照处理后苗生长势会明显受到抑制。图 2 为不同剂量 ^{60}Co - γ 射线辐照后, 花椒休眠态和萌芽态种子出苗后的苗高、节间数和平均节间长等指标的分布情况, 由于出苗数小于 50 的几个剂量未作调查, 所以对花椒休眠态种子仅统计了 0、50、100 Gy 3 种剂量辐照后的实生苗数, 对花椒萌芽态种子仅统计了 0、50、100、150 Gy 4 种剂量辐照后的实生苗数。

由图 2a 可以看出, ^{60}Co - γ 射线辐照花椒种的抑制效应在苗高上得到了明显体现, 辐照后各状态种子的实生苗均明显矮化。苗高下降幅度为 20.8%~40.4%, 其中萌芽态种子的实生苗高度表现为 50 Gy 辐照后最矮, 且变异最小; 休眠态种子的实生苗高度则随辐照剂量的增加不断变小, 苗高和辐照剂量具有一定的线性关系, 且 100 Gy ^{60}Co - γ 射线辐照后休眠态种子的苗高与 50 Gy 辐照后萌芽态种子的苗高基本相同 (分别是 13.15、13.27 cm)。由此可以看

出, 休眠态种子实生苗高度受高剂量 ^{60}Co - γ 射线辐照的影响更强。

由图 2b、c 可知, ^{60}Co - γ 射线辐照后各状态种子实生苗的节间数较对照明显减少。休眠态种子节间数随剂量增大不断降低, 100 Gy 辐照的节间平均长度与对照基本相同 (分别是 1.70、1.72 cm), 但 50 Gy 辐照的节间平均长度却明显高于对照, 达到了 2.1 cm。萌芽态种子的节间数在 50 Gy 辐照条件下最低, 与 100 Gy 辐照后休眠态种子的节间数基本相同 (分别是 7.62、7.55 个), 然后随剂量增加节间数也不断增加。萌芽态种子的节间长度随辐照剂量增大呈下降趋势, 但下降幅度较小, 且同比均小于休眠态种子。

总的来说, 苗高和节间数与剂量基本遵循如下的关系: 萌芽态种子随剂量增加先降后升, 休眠态种子随剂量增加不断下降, 表明休眠态种子实生苗对高剂量 ^{60}Co - γ 射线辐照更敏感。节间平均长度除 50 Gy 辐照后的休眠态种子变化较大, 其它处理与对照相比均未发生明显变化。

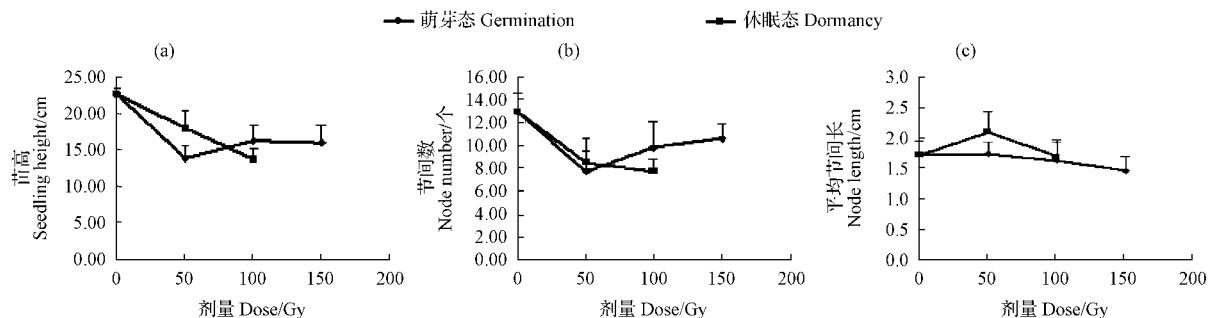


图 2 ^{60}Co - γ 射线辐照对花椒苗高度(a)、节间数(b)和节间长度(c)的影响

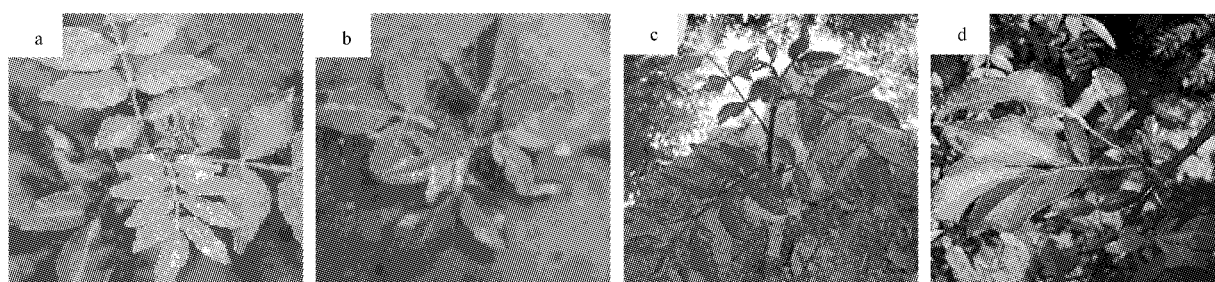
Fig. 2 Effect of ^{60}Co - γ rays irradiation on seedling height(a), node number(b) and node length(c) in pepper seedlings

2.3 辐照花椒实生苗的表型效应

如图3所示,不同剂量 ^{60}Co - γ 射线辐照休眠态和萌芽态花椒种子后,其实生苗主要产生2种变异类型:株型异形和叶型异形,株型异形主要表现在植株的簇缩(图3b),叶型异形主要表现为白化叶及不同形状的畸形叶(图3c,d)。

图4为不同剂量 ^{60}Co - γ 射线辐照休眠态和萌芽态花椒种子出苗后的株型变异率和叶型变异率情况。可以看出,株型异形率随辐照剂量增大而增加,其中休眠态种子实生苗的变异率受辐照剂量的影响更大,50 Gy辐照时其变异株占总株数的9.2%,而

150 Gy辐照时其变异率接近100.0%,此时萌芽态种子实生苗的变异率仅为53.0%(图4a)。叶型异形率整体表现均较低,其变异率随辐照剂量增加先升高再降低,其中辐照剂量为100 Gy时变异率最高,分别为19.3%(休眠态种子)和21.6%(萌芽态种子),而当辐照剂量为150 Gy时,其叶型没有任何变异,这一点还有待于做进一步深入的研究(图4b)。总体而言,萌芽态种子随处理剂量增加表型效应变异幅度较缓和,再次验证了萌芽态种子对辐照损伤的自我修复能力更强,而休眠态种子对辐照剂量的变化反应更敏感。



注:a.对照;b.株型异形;c,d.叶型异形。

Note: a. CK; b. Plant-type mutant; c, d. Leaf-type mutant.

图3 花椒苗突变体的性状比较

Fig. 3 Characteristics comparison of pepper seedling mutant

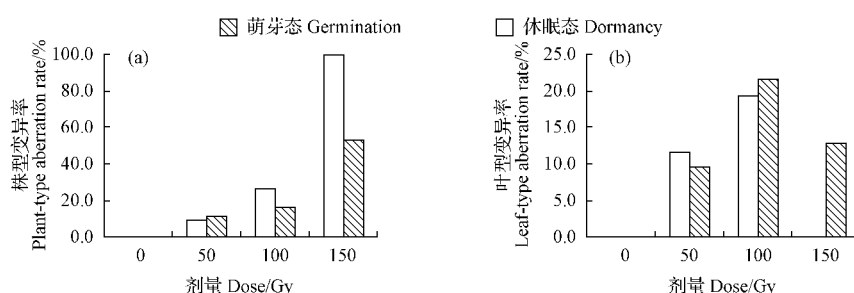


图4 花椒苗的辐照表型效应类型及所占比率

Fig. 4 Type and ratio of radiation phenotype on pepper seedlings

3 讨论

该研究首次对花椒进行了 ^{60}Co - γ 射线的辐照处理,发现不同状态下花椒种子的出苗率与辐射剂量呈极显著负相关,即随着辐射剂量的递进出苗率明显下降,这与其它研究结果略有不同。谭美莲等^[14]在研究辐照对蓖麻种子发芽率及出苗率的影响时发现,辐照处理对蓖麻种子发芽率影响不显著,且较低剂量辐照处理的蓖麻种子出苗率比对照高。蔡新玲等^[15]对毛竹辐射诱变育苗的研究也得到了相同的结论。而该试验为了能涵盖并锁定致死剂量,探讨各

状态下花椒种子半致死剂量和致死剂量与辐照剂量的关系,设计了较宽的剂量范围(50~300 Gy),没有设计较低的辐照剂量,因此无法了解较低剂量下种子的出苗率情况;另外,不同植物对 ^{60}Co - γ 射线辐照的敏感性不同,所以其发芽率和出苗率也必然存在差异。该研究通过试验得到了不同状态下花椒种子的最适辐照剂量,为花椒今后的辐照选育工作起到投石问路的积极作用。

通过花椒萌芽态种子和休眠态种子的辐射效应比较发现,低剂量下,萌芽态种子较休眠态种子的辐

射效应明显,这与刘振伟等^[16]的生姜诱变研究结论一致。但随剂量的增加萌芽态种子的出苗率下降幅度缓和,休眠态种子的出苗率下降显著。另外,辐照处理能够引起花椒株型的变化,休眠态和萌芽态种子的株型异形率均随辐射剂量的增大而增加,但萌芽态种子的株型变异幅度较小,休眠态种子的变异幅度较大,当辐照剂量为 100 Gy 时变异率还是 29.9%,辐照剂量为 150 Gy 时变异率就接近 100.0%。这些都说明了萌芽态种子对辐照损伤的自我修复能力更强,休眠态种子对辐照剂量的变化反应更敏感。

花椒生长周期较长,该试验仅分析了 VM1 代种子出苗率及实生苗生长情况,未能进行其变异种的稳定性分析及多代种植后辐照处理对花椒经济产量及品质的影响研究,因此要最终判断哪些性状为有利的可遗传的变异性状,还有待于课题组进行下一步深入的研究。

参考文献

- [1] 孙小文,段志兴.花椒属药用植物研究进展[J].药学学报,1996,31(3):231-240.
- [2] 许重远,谢立.超临界 CO₂ 流体萃取花椒挥发油化学成分的研究[J].中国中药杂志,2001,26(10):687-688.
- [3] 王双贵,赵京献,毕君,等.国内外花椒的研究现状及其发展趋势[J].内蒙古林业科技,2003(2):32-34.

- [4] 史劲松,顾龚平,吴素玲,等.花椒资源与开发利用现状调查[J].中国野生植物资源,2003,22(5):6-8.
- [5] 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.
- [6] 叶开玉,李洁维,蒋桥生,等.猕猴桃⁶⁰Co-γ 射线辐射诱变育种适宜剂量的研究[J].广西植物,2012,32(5):694-697.
- [7] 易卫平,彭伟正,彭选明,等.湖南水稻辐射诱变创制新种质的研究进展与展望[J].湖南农业科学,2010(7):1-3.
- [8] 黄熊娟,李剑钊.我国辐射诱变育种及其在蔬菜中的应用[J].广西农业科学,2008,39(6):725-730.
- [9] 王忠华,俞超,陶灵智,等.葡萄成熟种子辐射生物学效应研究初报[J].核农学报,2012,26(5):746-749.
- [10] 蒋甲福,陈发棣,管志勇,等.小菊自交种子辐射生物学效应的研究[J].核农学报,2004,18(6):431-434.
- [11] 黄熊娟,李剑钊.我国辐射诱变育种及其在蔬菜中的应用[J].广西农业科学,2008,39(6):725-730.
- [12] 马庆华,毛永民,申连英,等.果树辐射诱变育种研究进展[J].河北农业大学学报,2003,26(5):57-59.
- [13] 董丹,刘会平,徐涛,等.辐照对花椒粉中微生物及抗氧化性的影响[J].中国调味品,2003,38(6):35-40.
- [14] 谭美莲,汪磊,严明芳,等.辐射对蓖麻种子生长及生理指标的影响[J].作物研究,2012,26(1):35-39.
- [15] 蔡新玲,吴中能,于一苏,等.毛竹辐射诱变育苗的研究初报[J].安徽农业科学,2008,36(17):7244-7246.
- [16] 刘振伟,史秀娟,任清盛,等.生姜⁶⁰Co-γ 射线辐射诱变育种研究[J].核农学报,2010,24(1):36-40.

Inducing Effects of ⁶⁰Co-γ Rays Irradiation on Pepper

WANG Dongmei¹, SUN Yan¹, LI Qingzhi²

(1. Laiwu Vocational and Technical College, Laiwu, Shandong 271100; 2. Laiwu Research Institute of Agricultural Sciences, Laiwu, Shandong 271100)

Abstract: Laiwu 'Dahongpao' pepper was used as test material, the dormancy seeds and the budding state seeds of pepper were irradiated by ⁶⁰Co-γ rays at different doses (0 Gy, 50 Gy, 100 Gy, 150 Gy, 200 Gy, 250 Gy, 300 Gy) and emergence rate, seedling height, internode length, leaf type and plant type were investigated and analyzed. The results showed that the irradiation dose correlated significantly with seedling emergence rate and lethality rate. The most appropriate irradiation dose for dormant seed was 100 Gy and for germination seed was 50 Gy. Accompanying irradiation dose increase, the seedling height and node height increased first and decreased afterwards for budding state seed. But they decreased continuously for dormant seed. The seedling height and node height of budding state seeds irradiated by 50 Gy ⁶⁰Co-γ rays were the same as those of dormant seed irradiated by 100 Gy. Phenotypic effects of irradiated seedling had two forms, plant-type mutant and leaf-type mutant. The lethality rate of dormancy seeds was nearly 100.0% when the irradiation dose was 150 Gy. In conclusion, the dormancy seeds were more sensitive to high irradiation dose and the budding state seeds had stronger self-healing ability. All the results would lay a good foundation for the acquisition of pepper stable mutants and new germplasms.

Keywords: pepper; irradiation; mutagenic effects