

DOI:10.11937/bfyy.201610002

^{60}Co - γ 辐射对越橘组培苗和营养钵苗的诱变效应

魏 鑫, 魏永祥, 刘 成, 张 舵, 蒋明三, 杨艳敏

(辽宁省果树科学研究所, 辽宁 营口 115009)

摘 要:以‘斯巴坦’及‘蓝丰’越橘组培苗、1年生‘斯巴坦’及‘蓝丰’和‘奥尼尔’越橘营养钵苗为试材,采用7个剂量的 ^{60}Co - γ 射线辐射处理,观察比较不同辐射处理条件下组培苗的生长植株比例、株高和增殖系数及营养钵苗的株高、茎粗和成活率。结果表明:随着 ^{60}Co - γ 辐射剂量的增加,组培苗的生长植株比例、株高和增殖系数呈下降趋势。‘蓝丰’组培苗辐照剂量大于50 Gy时生长受到严重抑制,‘斯巴坦’辐照剂量大于70 Gy时生长受到严重抑制;‘斯巴坦’和‘奥尼尔’株高和茎粗随辐射剂量的增加总体上呈下降趋势,‘蓝丰’茎粗随辐射剂量的增加总体上呈下降趋势,但株高随辐射剂量的增加总体上呈上升趋势。

关键词:越橘; ^{60}Co - γ ; 诱变效应

中图分类号:S 666.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)10-0006-04

越橘(blueberry)属杜鹃花科(Ericaceae)越橘属(*Vaccinium* spp.)多年生落叶或常绿灌木或小灌木植物,又称蓝莓。越橘果实甜酸适宜,风味独特,含有丰富的维生素、蛋白质以及独特的高含量花青素,具有清除自由基、延缓衰老、抗癌等作用,是世界粮农组织推荐的五大健康食品之一。越橘植株喜空气湿润,喜酸性土壤。而我国东北地区冬季严寒、干燥,土壤多为中性或中性偏碱^[1-3]。越橘生长对气候、环境土壤要求苛刻的特性是影响越橘生长并限制产业发展的重要因素之一。生产中可通过在本地气候地理环境下选育出适合本地种植的优良品种,但新品种的选育需要遗传基础多样化的种质资源和较长的选育年限、繁重的工作。因此,不能在短期内有效的解决这一限制问题。

辐射诱变是创造植物新种质的有效手段之一^[4]。该方法育种成本低,突变率高,突变率一般可达千分之几,比自然突变率高100~1 000倍^[5-6],它可以提高植物在基因水平上的突变率,有利于打破性状连锁和促进基因重组,扩大植物的变异范围,减小亲本对变异类型的限制,缩短育种年限,最终促进新种质的产生^[7]。据

FAO/IAEA官方网站统计,截至2008年,通过诱变手段共育成62个水果(我国育成11个),其中苹果11个,欧洲甜樱桃9个,梨8个,柑橘5个,欧洲酸樱桃4个,桃4个,石榴、枣、柚、香蕉各2个,枇杷、无花果、柠檬、李、杏、甜橙、黑穗醋栗、醋栗、葡萄、扁桃、树莓、沙棘及木瓜各1个,共涉及20种果树^[8]。但越橘在 ^{60}Co - γ 辐射诱变育种方面的研究尚鲜见报道。该研究以‘斯巴坦’、‘蓝丰’组培苗和1年生‘斯巴坦’、‘蓝丰’与‘奥尼尔’越橘营养钵苗为试材,应用不同剂量 ^{60}Co - γ 射线进行辐射诱变处理,探讨不同剂量的射线对组培苗、营养钵苗存活、生长的影响及可能发生的形态变异,以期越橘材料辐射诱变体系的建立及其突变体的形成提供理论基础和方法参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为‘斯巴坦’、‘蓝丰’越橘组培苗;1年生‘斯巴坦’、‘蓝丰’和‘奥尼尔’越橘营养钵苗。组培苗培养基为改良WPM培养基+玉米素 $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,添加蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,琼脂 $4.6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,pH 5.5。培养室温度 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$,光照强度 $2\ 000\sim 3\ 000\text{ lx}$,光照时间 $16\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。营养钵苗基质为草炭:园田土=1:2,pH 5.5,选择植株高度、粗度一致的试材进行辐射试验。辐射后试材常规管理。

1.2 试验方法

试验设置10、30、50、70、90、110 Gy ^{60}Co - γ 射线辐射剂处理,处理代号分别为A、B、C、D、E、F,以0 Gy ^{60}Co - γ 射

第一作者简介:魏鑫(1982-),男,硕士,助理研究员,研究方向为蓝莓种质资源与栽培生理。E-mail:run2010@163.com.

责任作者:杨艳敏(1975-),女,本科,副研究员,研究方向为小浆果种质资源。E-mail:yymzcb@163.com.

基金项目:科技部科技支撑计划资助项目(2013BAD02B04-04);辽宁省科技厅农业攻关计划资助项目(2014204007)。

收稿日期:2016-02-14

线辐射剂量处理为对照,随机区组设计,每处理分别选择5瓶组培苗(每瓶10株)、5株营养钵苗,3次重复。钴源剂量率 $3.25\text{ Gy}\cdot\text{min}^{-1}$,辐射时间分别为3.08、9.23、15.38、21.54、27.69、33.85 min。以未经辐照处理的组培苗和营养钵苗为对照。处理时间为5月30日。处理3个月后调查植株存活率及生长状况。

1.3 项目测定

10月8—10日观测组培苗生长植株比例、株高和增殖系数;观测营养钵苗株高、茎粗和成活率。

1.4 数据分析

采用Excel 2003软件进行数据处理并制作图表,应用DPS 7.05软件进行数据的统计分析。

2 结果与分析

2.1 辐射后转继代培养的组培苗生长情况

2.1.1 不同剂量辐射对同一品种生长情况的影响 取不同剂量辐射后组培苗的茎段在改良的WPM培养基上继代培养。3个月后,调查生长植株比例、株高及增殖

系数。由表1可知,‘蓝丰’品种在辐照剂量大于50 Gy时,其生长受到明显的抑制,无组培苗生长、增殖。处理A的生长植株比例显著高于处理B,与对照差异不显著。株高和增殖系数3个处理间差异不显著;‘斯巴坦’品种在辐照剂量50 Gy时也只有大约5%的组培苗可以生长、增殖,当剂量大于70 Gy时无组培苗生长、增殖。生长植株比例与株高3个处理间差异不显著,但对照的分化量显著高于处理B,与处理A差异不显著。

2.1.2 辐射对不同品种生长情况的影响 ‘蓝丰’和‘斯巴坦’越橘组培苗对辐照处理的反应有所差别。10月9日调查发现‘蓝丰’品种在辐照剂量大于50 Gy时,其生长受到明显的抑制,无组培苗生长、增殖;‘斯巴坦’品种在辐照剂量50 Gy时也只有大约5%的组培苗可以生长、增殖,当剂量大于70 Gy时无组培苗生长、增殖。2个品种的生长植株比例和株高在处理A、B与对照间无显著差异。而‘蓝丰’品种对照及处理A的分化量显著高于‘斯巴坦’,但在处理B间2个品种差异不显著。

表1 不同剂量辐照处理对同一品种生长情况的影响

Table 1 Effect of different irradiation doses on the growth of the same varieties

处理 Treatment	‘蓝丰’ ‘Bluecrop’			‘斯巴坦’ ‘Spartan’		
	生长植株比例 Growth ratio/%	株高 Plant height/cm	增殖系数 Multiplication constant	生长植株比例 Growth ratio/%	株高 Plant height/cm	增殖系数 Multiplication constant
A	96a	4.10a	2.53a	100a	3.99a	1.67ab
B	80b	4.25a	2.09a	89a	3.80a	1.33b
C	—	—	—	5b	2.78a	0.27b
D	—	—	—	—	—	—
E	—	—	—	—	—	—
F	—	—	—	—	—	—
CK	95ab	3.22a	3.22a	100a	3.61a	1.87a

注:“—”表示植株死亡,无法测定指标,下同。

Note:“—” means the plant dead,unable to determine the index,the same as below.

表2 辐照处理对不同品种生长情况的影响

Table 2 Effect of irradiation doses on the growth of the different varieties

处理 Treatment	生长植株比例 Growth ratio/%		株高 Plant height/cm		增殖系数 Multiplication constant	
	‘蓝丰’	‘斯巴坦’	‘蓝丰’	‘斯巴坦’	‘蓝丰’	‘斯巴坦’
	‘Bluecrop’	‘Spartan’	‘Bluecrop’	‘Spartan’	‘Bluecrop’	‘Spartan’
A	96a	100a	4.1a	3.99a	2.53a	1.67b
B	80a	89a	4.25a	3.80a	2.09a	1.33a
C	—	5	—	2.78	—	0.27
D	—	—	—	—	—	—
E	—	—	—	—	—	—
F	—	—	—	—	—	—
CK	95a	100a	3.22a	3.61a	3.22a	1.87b

2.2 辐射后营养钵苗生长情况

2.2.1 不同剂量辐射对同一品种生长情况的影响 不同辐射剂量对‘斯巴坦’等3个品种生长的影响有所不同。‘斯巴坦’品种受不同剂量辐照后株高表现出差异,其中处理A的株高为46.11 cm,显著高于处理C、D、E、F

与CK,与处理B差异不显著。处理B的株高为44 cm,显著高于处理D、F和CK,与处理C、E间差异不显著。处理F与CK差异不显著;处理A、B和CK的茎粗显著高于处理C、D、E、F。处理A、B和CK以及处理C、D、E、F间差异不显著;苗木成活率处理间也存在着显著差异,其中处理A、B、C、D和CK显著高于处理E、F。处理A、B、C、D和CK间以及处理E、F间差异不显著。‘奥尼尔’品种对照株高为52.22 cm,显著高于6个处理,各处理间差异不显著;受不同剂量辐照后奥尼尔品种茎粗表现出差异,对照显著高于处理B、D、E、F,与处理A、C差异不显著。处理A显著高于处理E,与其它处理差异不显著;‘奥尼尔’品种各处理及对照的苗木成活率均为100%。‘蓝丰’品种受不同剂量辐照后株高及茎粗表现出差异,处理F的株高为48.22 cm,显著高于处理A、B、C和对照,与处理D、E差异不显著;处理A、B及对照的茎粗显著高于处理C、D、F,与处理E差异不显著;各处理间苗木成活率差异不显著。

表 3 不同剂量辐照处理对同一品种生长情况的影响

Table 3 Effect of different irradiation doses on the growth of the same variety

处理 Treatment	‘斯巴坦’ ‘Spartan’			‘奥尼尔’ ‘O’Neal’			‘蓝丰’ ‘Bluecrop’		
	株高 Plant height/cm	茎粗 Stem diameter/mm	成活率 Survival rate/%	株高 Plant height/cm	茎粗 Stem diameter/mm	成活率 Survival rate/%	株高 Plant height/cm	茎粗 Stem diameter/mm	成活率 Survival rate/%
A	46.11a	4.30a	100a	41.56b	3.54ab	100	40.56bc	4.55a	100a
B	44.00ab	4.28a	100a	41.67b	3.40bc	100	39.67bc	4.59a	100a
C	40.56bc	3.22b	93a	41.89b	3.46abc	100	39.44bc	3.47cd	100a
D	39.33c	3.48b	93a	39.00b	3.42bc	100	45.11ab	3.92bc	100a
E	40.56bc	3.26b	73b	36.33b	3.16c	100	42.33abc	4.27ab	100a
F	30.45d	3.44b	60b	35.78b	3.43bc	100	48.22a	3.36d	93a
CK	33.67d	4.38a	100a	52.22a	3.82a	100	36.67c	4.69a	100a

2.2.2 辐射对不同品种生长情况的影响 ‘斯巴坦’、‘奥尼尔’和‘蓝丰’营养钵苗对辐照处理的反应有所差别。10月8日调查发现,3个品种的株高在处理A、C、D间差异不显著。‘奥尼尔’对照的株高显著高于另2个品种,‘斯巴坦’与‘蓝丰’间差异不显著。‘斯巴坦’品种处理B的株高显著高于‘蓝丰’,与‘奥尼尔’差异不显著。处理F的株高显著低于‘蓝丰’,与‘奥尼尔’差异不

显著。‘蓝丰’品种处理E的株高显著高于‘奥尼尔’,与‘斯巴坦’差异不显著。3个品种处理C、D、F的茎粗差异不显著。‘蓝丰’品种对照及处理A的茎粗显著高于‘奥尼尔’,与‘斯巴坦’差异不显著,而处理B、E显著高于‘奥尼尔’和‘斯巴坦’。3个品种的成活率在处理A、B、C、D和CK间无显著差异。‘蓝丰’和‘奥尼尔’2个品种的处理E、F及对照显著高于‘斯巴坦’。

表 4 辐照处理对不同品种生长情况的影响

Table 4 Effect of irradiation doses on the growth of the different varieties

处理 Treatment	株高 Plant height/cm			茎粗 Stem diameter/mm			成活率 Survival rate/%		
	‘斯巴坦’ ‘Spartan’	‘奥尼尔’ ‘O’Neal’	‘蓝丰’ ‘Bluecrop’	‘斯巴坦’ ‘Spartan’	‘奥尼尔’ ‘O’Neal’	‘蓝丰’ ‘Bluecrop’	‘斯巴坦’ ‘Spartan’	‘奥尼尔’ ‘O’Neal’	‘蓝丰’ ‘Bluecrop’
A	46.11a	41.56a	40.56a	4.30a	3.54b	4.55a	100a	100a	100a
B	44.00a	41.67ab	39.67b	4.28b	3.40c	4.59a	100a	100a	100a
C	40.56a	41.89a	39.44a	3.22a	3.46a	3.47a	93a	100a	100a
D	39.33a	39.00a	45.11a	3.48a	3.42a	3.92a	93a	100a	100a
E	40.56ab	36.33b	42.33a	3.26b	3.16b	4.27a	73b	100a	100a
F	30.45b	35.78b	48.22a	3.44a	3.43a	3.36a	60b	100a	93a
CK	33.67b	52.22a	36.67b	4.38ab	3.82b	4.69a	100a	100a	100a

3 讨论与结论

以诱发突变为目的的辐射处理会引起植物的生理损伤。在一定范围内增加辐射剂量可以提高突变率和突变谱,但过高的辐射剂量会导致存活率下降和不良突变性状增多^[9]。生理损伤限制了辐射剂量的增加,当剂量增加到一定数值后,可引起100%的死亡率。对辐射剂量的要求是引起植物的损伤小同时遗传性和变异性高。以往多采用半致死剂量作为植物的适宜诱变剂量,但在无性繁殖植物辐射育种工作中,一些学者建议,将植物的成活率为60%~70%时所对应的辐射剂量定为其最适辐射剂量。因为这样的辐射剂量不仅可获得较高的诱变效率,而且辐射损伤率低,又利于伪突变的体现,特别是在试材少和群体小的情况下^[10-11]。该试验结果显示,‘蓝丰’组培苗辐照剂量大于50 Gy时生长受到严重抑制,‘斯巴坦’辐照剂量大于70 Gy时生长受到严重抑制,表现为植株生长停滞、无增殖,2品种处理A、B和CK的生长植株比例差异不显著。由于该试验旨在分析⁶⁰Co- γ 辐射剂量对越橘组培苗诱变效应的影响并探索其临界值,因此不同处理间辐射剂量间幅较大,造成了2

个品种组培苗在处理C时生长受到明显抑制。这与射线对生物体的伤害随辐射剂量的加大而加深的原理相符,与前人的报道结论一致^[12-14];‘斯巴坦’、‘蓝丰’和‘奥尼尔’3个品种营养钵苗受辐射处理后,植株成活率表现有所不同。‘斯巴坦’植株成活率随辐射剂量的增加呈逐渐降低的趋势,其中处理A、B、C、D和CK显著高于处理E、F。处理A、B、C、D和CK间以及处理E、F间差异不显著。‘蓝丰’植株成活率除处理F为93%外,其余各处理和CK均为100%,各处理和CK间差异不显著。‘奥尼尔’各处理和CK的植株成活率均为100%。说明‘斯巴坦’的营养钵苗对辐射剂量较‘蓝丰’和‘奥尼尔’更加敏感。同时组培苗较营养钵苗对辐射剂量更为敏感,原因可能是组培苗较营养钵苗具有较高的含水量,而生物体在含水量较高的情况下对辐射的敏感性更大^[15]。

辐射会导致许多农艺性状发生变化,而这种变化也是评价辐照处理效果的依据。株高、茎粗等性状通常会随辐照剂量的增加显著的影响^[16-18]。该试验结果显示,‘蓝丰’组培苗株高随辐射剂量的增高呈升高趋势,但处理A、B与对照间差异不显著。‘斯巴坦’组培苗株高随

辐射剂量的增高呈下降趋势,但处理 A、B 与对照间差异不显著。2 个品种的株高在处理 A、B 和对照间差异不显著;辐照对斯巴坦、奥尼尔和蓝丰 3 个品种营养钵苗的株高和茎粗均有影响。其中,‘斯巴坦’和‘奥尼尔’株高和茎粗随辐射剂量的增加总体上呈下降趋势,‘蓝丰’株高随辐射剂量的增加总体上呈上升趋势,但茎粗随辐射剂量的增加总体上呈下降趋势。3 个品种的株高、茎粗在不同处理间差异显著性也有所不同。说明辐射对不同品种的生长或起到促进作用或起到抑制作用,存在此差异可能是由于品种不同基因型对辐射的敏感性及其响应不同,又或是受环境条件、田间管理水平等外界因素的影响^[11]。由于辐射诱变效应具有很大的随机性,该试验仅为初步研究结果。对辐射后各处理后个体表现出的差异可能是生理性的,也可能是产生真正的变异。这种效应能否稳定遗传尚不确定,需继续对其进行连续观测。在今后的研究中,还应根据苗木的生长以及田间表现等进一步明确相应辐射剂量和处理效果以及观测变异个体的稳定性来评价越橘品种组培苗和营养钵苗的适宜辐射剂量和诱变效应,为更好地开展越橘诱变育种工作奠定基础。

参考文献

- [1] 李亚东,刘海广,唐雪东. 蓝莓栽培图解手册[M]. 北京:中国农业出版社,2014.
- [2] KADER F, ROVEL B. Fractionation and identification of the phenolic compounds of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) [J]. Food Chemistry, 1996, 55(1): 35-40.
- [3] POONNACHIT U, DARNELL R. Effect of ammonium and nitrate on ferric chelate reductase and nitrate reductase in *Vaccinium* species [J]. Annals of Botany, 2004, 93(4): 399-405.
- [4] 辛培尧,周军,唐军荣,等. ⁶⁰Co-γ 辐射对华山松南方种源种子的诱变效果[J]. 贵州农业科学, 2012, 40(9): 190-191.
- [5] 胡德活,韦如萍,乐昌含笑种源与家系种子育苗试验[J]. 广州林业科技, 2006, 22(3): 1-6.
- [6] 赵剑,李建国. ⁶⁰Co-γ 射线辐射诱变提高长春花生物碱含量[J]. 分子植物育种, 2009, 7(3): 607-611.
- [7] 洪亚辉,朱兆海,黄璜,等. 菊花组织培养与辐射诱变的研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2003(6): 457-461.
- [8] 范建新,邓仁菊,李金强. 果树诱变育种研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(22): 9455-9457, 9598.
- [9] 廖飞雄,潘瑞焱. ⁶⁰Co-γ 辐射对菜心种子萌发和幼苗生长的效应[J]. 核农学报, 2001, 15(1): 6-10.
- [10] 杨静坤,黄丽萍,唐敏,等. 碧玉兰试管植株辐射诱变初探[J]. 现代园艺, 2008(10): 6-9.
- [11] 张福翠,熊作明,胡艺春,等. 大花美人蕉辐射诱变育种研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(1): 56-58.
- [12] 陈发棣,滕年军,房伟民,等. 三个菊花品种花器官愈伤组织辐射效应的研究[J]. 中南林学院学报, 2003, 23(5): 49-52.
- [13] 王红,陈发棣,房伟民,等. 平阳霉素对小菊品种离体培养的影响[J]. 西北植物学报, 2007, 27(4): 693-698.
- [14] 邢莉莉,陈发棣,陈素梅. ⁶⁰Co-γ 辐射对切花菊试管苗的诱变效应[J]. 园艺学报, 2010, 37(7): 1117-1124.
- [15] 王晶,刘录祥,赵荣,等. ⁶⁰Co-γ 射线对菊花组培苗的诱变效应[J]. 农业生物技术学报, 2006, 14(2): 241-244.
- [16] DIN R, AHMED Q K, JEHAN S. Studies for days taken to earing initiation and earing completion in M J generation of different wheat genotypes irradiated with various doses of gamma radiation [J]. Asian Journal of Plant Sciences, 2003(2): 894-896.
- [17] AKGUN I, TOSUN M. Agricultural and cytological characteristics of M I perennial rye (*Secale montanum* Guss.) as effected by the application of different doses of gamma rays [J]. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2004, 7(5): 827-833.
- [18] DIN R, QASIM M, AHMAD K. Radio sensitivity of various wheat genotypes in M I generation [J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2004, 5(6): 898-900.

Mutagenic Effect on Tissue Culture Plants and Nutritional Bowl Plants of Blueberry Induced by ⁶⁰Co-γ Irradiation

WEI Xin, WEI Yongxiang, LIU Cheng, ZHANG Duo, JIANG Mingsan, YANG Yanmin
(Liaoning Institute of Pomology, Yingkou, Liaoning 115009)

Abstract: Taking the tissue culture plants of ‘Bluecrop’, ‘Spartan’ and the nutritional bowl plants of ‘Bluecrop’, ‘Spartan’, ‘O’Neal’ trees as materials. Seven ⁶⁰Co-γ doses were selected to irradiate the growth ratio, plant height, multiplication constant of tissue culture plant and the plant height, stem diameter, survival rate of nutritional bowl plants were investigated. The results showed that with the increment of the ⁶⁰Co-γ irradiation dose, the growth ratio, plant height, multiplication constant of tissue culture plant were showed a declining trend. The growth of tissue culture plant for ‘Bluecrop’ were inhibited on more than 50 Gy irradiation dose, The growth of tissue culture plant for ‘Spartan’ were inhibited on more than 70 Gy irradiation dose; the plant height and stem diameter of nutritional bowl plants for ‘Spartan’ and ‘O’Neal’ were showed a declining trend. The stem diameter of nutritional bowl plants for ‘Bluecrop’ were showed a declining trend, but the height showed a rising trend.

Keywords: blueberry; ⁶⁰Co-γ; mutation effects