



^{60}Co - γ 射线对蓝莓组培苗的诱变效应

朱宏芬, 刘 健, 黄 坚

(宁波市农业科学研究院, 浙江 宁波 315040)

摘要:为探讨不同剂量 ^{60}Co - γ 射线对蓝莓组培苗的诱变效应,以奥尼尔、南大、南金、莱格西蓝莓无菌组培苗为试材,采用6个剂量的 ^{60}Co - γ 射线辐射处理,研究辐照组培苗继代和移栽的存活率以及生长变异情况。结果表明:随着辐射剂量的增加,组培继代苗的存活率、增殖率、苗高都呈下降趋势,高剂量辐射使叶片变小,叶色变淡,超过80 Gy后生长停滞,逐渐褐化死亡。辐照对蓝莓组培移栽苗的存活率和长势均有显著影响,存活率、苗高和基生枝粗随着剂量增加而显著下降,辐照各处理对继代组培苗移栽存活率影响较小。4个品种组培苗继代生长的半致死剂量分别为79.4、68.2、81.7和72.2 Gy;组培辐照苗直接移栽的半致死剂量分别为69.2、57.5、75.6和67.6 Gy。

关键词:蓝莓; ^{60}Co - γ ; 诱变效应

辐射诱变具有增加变异频率,扩大变异谱,生物安全性高的特点,能缩短育种周期,改良品种单一性状,特别是在株高、抗性、生育期、品质改良、花色改变等方面,具有很好的效果^[1]。据联合国粮农组织统计的资料显示,果树诱变育种的目标主要是改变成熟期,诱发植株矮化,提高果树的抗病性和品质等方面,涉及的落叶果树的树种主要有樱桃、板栗、苹果、山楂、桃子、银杏、梨和枣等^[2]。组织培养具有快速有效的分离和保存优良性状的优点,通过辐射诱变结合组织培养的方法,已成功地获得了多种新种质。如河南省科学院同位素研究所利用辐射与组培复合育成“霞光”等14个菊花新品种^[3],郭建辉等^[4]在香蕉离体试管芽诱变育种辐照后代中筛选出优良株系“漳农8号”。姜长阳等^[5]通过辐射玉兰由茎尖生长点诱导的愈伤组织,从再生植株中选育出玉兰新品系。日本福岛县果树试验场用 γ 射线照射桃茎尖育成了早熟桃品种“辐靛”^[6]。但对于大多数种类植物来说,辐射与组培相结合的处理方法还处在对于辐射源、适宜辐射剂量等的摸索阶段。伴随着离体培养技术的发展,利用辐射组培苗将能更有效地增加变异频率,快速稳定变异,提高育种效率。

蓝莓是有较高经济价值和广阔开发前景的新兴果树,品种选育主要有引种、杂交育种、诱变育

种、实生选种等,品种选育周期长。本试验以4个品种蓝莓组培苗为试材,进行不同剂量 ^{60}Co 源 γ 射线辐射诱变处理,探讨不同剂量的射线对组培苗存活、移栽和生长的影响,为蓝莓诱变育种提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试蓝莓品种为奥尼尔、南大、南金、莱格西无菌组培苗,苗生长健壮、长势一致,均为宁波种植面积较大的品种,组培苗来源于宁波市农业科学院生物研究所组培中心。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验于2016年3月在宁波市农业科学院东钱湖农业技术实验园区进行,使用浙江省农业科学院作物与核技术研究所 ^{60}Co 源 γ 射线进行辐射处理,辐射剂量分别为20、40、60、80、100、120 Gy,剂量率为 $1\text{ Gy}\cdot\text{min}^{-1}$,以未辐射组培苗为对照,每处理14瓶,每瓶10~15颗种子。经辐射处理后的组培苗每处理7瓶接种到 $\text{wpm}+\text{Zt } 0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基中培养,继代增殖2次,继代周期为45 d,另取每处理7瓶组培苗直接在培养间放置,培养基附加蔗糖3%,琼脂0.7%,调pH至5.3,培养温度为 $(25\pm 2)^\circ\text{C}$,光照时间为 $12\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$,同时出苗移栽。苗床上方搭小拱棚,覆盖一层透明薄膜,四周保持密闭,上盖遮阳网,穴盘为105孔,基质为草炭+珍珠岩+蛭石(2:1:1),喷雾保持湿度,30 d后去膜,90 d后转入 $12\text{ cm}\times 12\text{ cm}$ 营养钵。

1.2.2 调查项目与方法 统计辐照组培苗初代

收稿日期:2018-01-08

基金项目:宁波市科技局农业科技重大专项资助项目(2014 C11004)。

第一作者简介:朱宏芬(1974-),女,学士,高级农艺师,从事蓝莓育种、栽培技术研究。E-mail:nbnkyzhu@163.com。

增殖的存活率、存活植株的增殖率,未生长但茎秆保持绿色的苗计入存活数量,每一处理测量 25 株苗高,少于 25 株的按实际苗数;统计移栽 30 和 90 d 的存活率,茎秆保持绿色的均计入存活株数,270 d 后测量苗高和最粗的基生枝粗度,每一处理取 25 株,少于 25 株的按实际苗数。

1.2.3 数据分析 采用 Excel 2010 对数据进行单因素方差显著性分析,计算直线回归方程、相关系数、辐照组培苗继代增殖生长和移栽的半致死剂量 LD₅₀。

2 结果与分析

2.1 ⁶⁰Co-γ 辐射对蓝莓组培苗存活率和增殖率的影响

辐照后的组培苗,转接入增殖培养基中继代培养。由表 1 可见,⁶⁰Co-γ 辐射对 4 个品种组培苗生长有显著影响。超过 20 Gy 剂量后,组培苗生长明显受到抑制,存活率、增殖率和苗高降低,奥尼尔、南金、莱格西品种的平均苗高随剂量增大呈先上升后下降趋势,在 20 Gy 处苗高比对照略有上升,但未达显著水平,在 40 Gy 处显著下降,

表明低剂量的辐射对这些品种的组培苗生长能起到一定程度的促进作用,4 个品种的组培苗在超过 80 Gy 后基本不生长,叶片黄化脱落,茎段褐化死亡,存活率随时间增加而降低。经两次继代培养后,南大和莱格西 40 Gy 以上处理叶片明显变小、叶色黄、苗细、丛生多,植株变矮,莱格西 20 Gy 处理叶色最深,长势最好。奥尼尔 60 Gy 以上叶色明显变淡,植株变矮,南金各处理间叶色变化不明显,60 Gy 处理叶片最大。100 和 120 Gy 处理的组培苗在第二次转接培养(Zt 0.5 mg·L⁻¹)后,生长仍然受到抑制,陆续褐化死亡,本试验未获得这两个处理的组培苗。

2.2 ⁶⁰Co-γ 辐射对蓝莓组培苗移栽存活率的影响

2.2.1 直接移栽 经辐射处理过的组培苗在培养间放置 2 个继代周期后,与对照相比,黄叶增加,未见死苗,移栽到穴盘后,奥尼尔 30 d 存活率随着辐照剂量的增加先降低再上升,其它 3 个品种中处理剂量与存活率基本呈负相关,4 个品种 90 d 成活率随着剂量增加而明显下降,表明辐照对组培苗的损伤是缓慢影响的(表 2)。

表 1 ⁶⁰Co-γ 辐射对蓝莓组培苗继代培养存活率和增殖率的影响
Table 1 Effect of different ⁶⁰Co-γ radiation on survival and multiplication rate of blueberry tissue culture plants

辐照剂量/Gy Irradiation dose	存活率/% Survival rate				增殖率/% Proliferation rate				平均苗高/cm Average plant height			
	奥尼尔	南大	南金	莱格西	奥尼尔	南大	南金	莱格西	奥尼尔	南大	南金	莱格西
	O'Neal	Southbig	Southgold	Legacy	O'Neal	Southbig	Southgold	Legacy	O'Neal	Southbig	Southgold	Legacy
0	100	100	100	100	3.79	4.16	4.89	4.67	5.46 a	5.77 a	6.18 a	6.23 a
20	93.1	86.2	95.6	90.3	3.99	4.13	4.94	4.62	5.98 a	5.67 a	6.66 a	6.70 a
40	77.9	67.6	75.9	72.6	2.63	1.90	3.11	1.89	3.78 b	3.06 b	4.30 b	3.24 b
60	65.1	53.3	61.8	52.3	0.61	0.72	1.28	0.52	2.12 c	1.96 c	2.98 c	1.68 c
80	49.3	40.8	50.7	40.9	0.44	0.40	0.92	0.31	1.48 d	1.52 c	2.17 c	1.45 c
100	36.1	25.0	40.1	31.1	-	-	-	-	-	-	-	-
120	20.9	12.4	23.6	18.2	-	-	-	-	-	-	-	-

同组数据后不同小写字母表示在 5% 水平上差异显著,下同。
Different lowercase in the same column indicate significant difference at 5% level,the same below.

2.2.2 继代增殖 2 代后移栽 如表 3 所示,经 2 次继代以后的组培苗移栽存活率明显高于直接移栽的组培苗,不同辐照剂量处理相关性不大,因本试验继代增殖时未获得 100 和 120 Gy 组培苗,继代增殖 2 代后移栽苗存活率只有 0~80 Gy 的数据。

2.3 ⁶⁰Co-γ 辐射剂量与存活率的相关性以及半致死剂量

2.3.1 继代生长存活率的相关性以及半致死剂量 以不同辐射量 x 为自变量,不同剂量下组培苗继代生长的存活率 y 为因变量,以未辐照组培苗为对照,利用 Excel 2010 软件得出直线回归方

程和相关系数,计算组辐照培苗继代生长和移栽品种组培苗继代生长的半致死剂量分别为79.4、半致死剂量 LD₅₀。由表 4 可知线性相关系数 68.2、81.7、72.2 Gy。
R²均超过 0.97,奥尼尔、南大、南金、莱格西 4 个

表 2 ⁶⁰Co-γ 辐射对蓝莓直接移栽组培苗移栽存活率的影响

Table 2 Effect of different ⁶⁰Co-γ radiation on transplanting survival rate of blueberry tissue culture plants

辐照剂量/Gy Irradiation dose	30 d 成活率/% The survival rate of 30 d				90 d 成活率/% The survival rate of 90 d			
	奥尼尔 ONeal	南大 Southbig	南金 Southgold	莱格西 Legacy	奥尼尔 ONea	南大 Southbig	南金 Southgold	莱格西 Legacy
0	94.8	92.8	95.9	94.0	91.2	92.0	91.7	90.2
20	94.3	83.3	81.4	83.9	84.3	75.6	91.2	85.7
40	84.8	80.5	82.0	77.0	68.1	64.4	82.0	73.8
60	81.0	84.1	73.5	65.8	60.5	49.2	63.5	49.2
80	92.1	81.3	67.7	71.4	41.8	27.5	47.6	38.1
100	93.4	55.7	66.2	64.8	31.9	15.7	26.2	34.3
120	91.5	51.2	56.0	57.1	13.2	10.7	22.0	12.8

表 3 ⁶⁰Co-γ 辐射对蓝莓组培继代苗移栽存活率的影响

Table 3 Effect of different ⁶⁰Co-γ radiation on transplanting survival rate of blueberry tissue subculture plants

辐照剂量/Gy Irradiation dose	30 d 成活率/% The survival rate of 30 d				90 d 成活率/% The survival rate of 90 d			
	奥尼尔 ONeal	南大 Southbig	南金 Southgold	莱格西 Legacy	奥尼尔 ONeal	南大 Southbig	南金 Southgold	莱格西 Legacy
0	94.8	92.8	95.9	94.0	91.2	92.0	91.7	90.2
20	98.7	90.0	98.9	91.3	95.0	89.0	93.8	89.3
40	93.2	84.5	97.9	98.4	89.8	81.5	93.2	91.4
60	94.6	87.7	93.8	90.2	90.1	86.5	90.7	83.9
80	89.2	89.4	98.6	93.6	87.3	83.7	91.6	85.1

表 4 ⁶⁰Co-γ 辐射蓝莓组培苗继代生长的半致死剂量和相关系数

Table 4 Semi lethal dose and relevant coefficient of ⁶⁰Co-γ radiation in blueberry subculture plantlet growth

品种 Varieties	组培增殖苗存活率/% Survival rate of tissue plants							直线回归方程 Linear regression equation	半致死剂量/Gy Semi lethal dose	相关系数 R ² Relevant coefficient
	0 Gy	20 Gy	40 Gy	60 Gy	80 Gy	100 Gy	120 Gy			
奥尼尔 O'Neal	100	97.7	77.9	65.1	49.3	36.1	20.9	y=−0.007x+1.0556	79.4	0.9870
南大 Southbig	100	93.5	67.6	53.3	40.8	25.0	12.4	y=−0.0076x+1.018	68.2	0.9883
南金 Southgold	100	95.6	75.9	61.8	50.7	40.1	23.6	y=−0.0065x+ .0308	81.7	0.9890
莱格西 Legacy	100	95.1	72.6	52.3	40.9	31.1	18.2	y=−0.0072x+1.0202	72.2	0.9795

2.3.2 继代增殖 2 代后移栽存活率的相关性以及半致死剂量 以不同辐射量 x 为自变量,不同剂量下继代增殖 2 代后移栽存活率 y 为因变量,以未辐照组培苗为对照,利用 Excel 软件得出直线回归方程和相关系数,计算继代苗移栽的半致死剂量 LD₅₀。由表 5 可知,线性相关系数 R²均超

过 0.95,奥尼尔、南大、南金、莱格西 4 个品种组 75.6、67.6 Gy。
培继代苗移栽的半致死剂量分别为 69.2、57.5、

表 5 ⁶⁰Co-γ 辐射蓝莓组培继代苗移栽的半致死剂量和相关系数

Table 5 Semi lethal dose and relevant coefficient of ⁶⁰Co-gamma radiation in blueberry transplanting plants

品种 Varieties	组培移栽苗存活率/% Survival rate of transplanting plants							直线回归方程 Linear regression equation	半致死剂量/Gy Semi lethal dose	相关系数 R ² Relevant coefficient
	0 Gy	20 Gy	40 Gy	60 Gy	80 Gy	100 Gy	120 Gy			
奥尼尔 O'Neal	91.2	84.3	68.1	60.5	41.8	31.9	13.2	y=-0.0065x+0.9497	69.2	0.9875
南大 Southbig	92.0	75.6	75.6	49.2	27.5	15.7	10.7	y=-0.0071x+0.9079	57.5	0.9843
南金 Southgold	91.7	91.2	82.0	63.5	47.6	26.2	22.0	y=-0.0067x+1.0062	75.6	0.9559
莱格西 Legacy	90.2	85.7	73.8	49.2	38.1	34.3	12.8	y=-0.0066x+0.9459	67.6	0.9693

2.4 ⁶⁰Co-γ 辐射对蓝莓组培苗生长的影响 金和莱格西不同剂量辐照处理间均达 5%显著水平,奥尼尔和南大在 80 和 100 Gy 两处理间差异不显著,4 个品种在剂量超过 60 Gy 后,均表现为植株明显矮小,生长缓慢。

2.4.1 直接移栽 如表 6 所示,辐照对直接移栽的蓝莓组培苗移栽 270 d 内的长势有明显的抑制作用,苗高和基生枝粗均随着剂量加大而降低,南

表 6 ⁶⁰Co-γ 辐射对蓝莓直接移栽组培苗生长的影响

Table 6 Effect of different ⁶⁰Co-γ radiation on growth of blueberry tissue culture plants

辐照剂量/Gy Irradiation dose	270 d 平均苗高/cm Average height of 270 d plant				270 d 平均基生枝粗/mm Average branch diameter of 270 d plant			
	奥尼尔 O'Neal	南大 Southbig	南金 Southgold	莱格西 Legacy	奥尼尔 O'Neal	南大 Southbig	南金 Southgold	莱格西 Legacy
0	31.08 a	34.04 a	38.40 a	38.72 a	1.92 a	2.66 a	3.08 a	2.82 a
20	26.52 a	29.58 b	35.92 b	32.94 b	1.74 a	2.44 b	2.78 b	2.58 b
40	22.24 ab	22.42 c	30.86 c	23.98 c	1.58 b	1.74 c	2.58 c	1.76 c
60	16.84 c	17.74 d	22.04 d	18.94 d	1.40 b	1.60 c	1.84 d	1.32 d
80	11.24 d	11.98 e	19.14 e	15.70 e	0.98 c	0.98 d	1.64 e	1.16 e
100	10.14 d	10.84 e	12.92 f	12.40 f	0.86 c	0.86 d	1.40 f	0.98 f
120	9.70 d	9.76 ef	10.66 g	10.26 g	0.82 d	0.82 e	1.22 g	0.82 g

2.4.2 继代增殖 2 代后移栽 由表 7 蓝莓辐照 0~80 Gy 处理的组培 2 代苗 270 d 长势可知,南金各处理对辐照剂量不敏感,生长较好,其余 3 个品种均表现为随着剂量加大,苗高和基生枝粗降低,苗生长势变差,超过 60 Gy 后,生长进一步抑制,与直接移栽的辐照组培苗相同。

表 7 ⁶⁰Co-γ 辐射对蓝莓组培继代苗生长的影响

Table 7 Effect of different ⁶⁰Co-gamma radiation on growth of blueberry tissue subculture plants

辐照剂量/Gy Irradiation dose	270 d 平均苗高/cm Average plant height of 270 d				270 d 平均基生枝粗/mm Average branch diameter of 270 d			
	奥尼尔 O'Neal	南大 Southbig	南金 Southgold	莱格西 Legacy	奥尼尔 O'Neal	南大 Southbig	南金 Southgold	莱格西 Legacy
0	31.08 a	34.04 a	38.40 a	38.72 a	1.92 a	2.82 a	3.08 a	2.82 a
20	27.10 a	31.62 a	36.12 a	34.06 b	1.78 a	2.50 b	2.96 a	2.66 a
40	24.16 b	23.96 b	32.38 b	28.36 c	1.76 a	1.78 c	2.62 b	2.30 b
60	20.04 c	18.26 c	35.90 b	19.90 d	1.50 b	1.66 c	2.80 b	1.32 c
80	12.80 d	12.36 d	30.84 b	15.38 e	1.06 c	1.04 d	2.58 b	1.24 c

3 结论与讨论

魏鑫等^[7]对斯巴坦、蓝丰组培苗进行 10~110 Gy 射线辐射处理后,发现蓝丰在辐照剂量大于 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。说明高剂量射线辐射对蓝莓组培苗生长受到抑制,与本研究结果一致,但是本试验中 4 个品种组培苗在 80 Gy 剂量处理下,继代培养后,均获得增殖苗,表明不同品种蓝莓对辐射剂量的耐受力不同。继代组培苗移栽存活率较高,与剂量的相关性不大,与张慧琴^[8]和刘丽强^[9]等在草莓和观赏海棠组培苗辐照诱变效应的研究所得结果不同。

本试验结果表明,蓝莓无菌组培苗经辐照后,移栽至穴盘的半致死剂量在 55~75 Gy,继代培养的半致死剂量在 65~85 Gy,20 Gy 剂量的辐射对奥尼尔、南金、莱格西 3 个品种的组培继代苗生长起到一定的促进作用,但是高剂量辐射表现为叶片变小,叶色变淡,植株变矮,超过 80 Gy 后生长停滞,逐渐褐化死亡。辐照对蓝莓组培移栽苗的存活率和长势均有显著影响,成活率随着剂量增加而显著下降,苗高和基生枝粗均随着剂量加大而显著降低,辐照对继代组培苗移栽存活率影

响较小。

辐照对植物生长普遍有抑制作用,但抑制效应、表现时间和影响部位各不相同。本试验中辐照处理对蓝莓组培苗幼苗生长的矮化抑制作用明显,移栽的幼苗形态、叶片等未出现明显变异。蓝莓幼苗期较长,因此对开花、结果等其它性状未做相关研究。

参考文献:

- [1] 杨震,彭选明,彭伟正.作物诱变育种研究进展[J].激光生物学报,2016,25(4):302-308.
- [2] 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,2011,30(1):87-91.
- [3] 杨保安,范家霖.辐射与组培复合育成“霞光”等 14 个菊花新品种[J].河南科学,1996,14(1):57-60.
- [4] 郭建辉,黄锡栋.香蕉离体试管芽诱变育种辐照后代优良株系的筛选[J].福建农业大学学报,2001,30(4):473-476.
- [5] 姜长阳,宁淑香,杨文新,等.愈伤组织辐射诱变选育玉兰新品系[J].园艺学报,2002,29(5):473-476.
- [6] 张毅.用辐射和组培技术育成的桃新品种——辐腭[J].落叶果树,1998(1):66.
- [7] 魏鑫,魏永祥,刘成,等.⁶⁰Co-γ辐射对越橘组培苗和营养钵苗的诱变效应[J].北方园艺,2016(10):6-9.
- [8] 张慧琴,谢鸣,蒋桂华,等.⁶⁰Co-γ射线对草莓组培苗诱变效应[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2007,33(2):180-183.
- [9] 刘丽强,刘军丽,张杰,等.⁶⁰Co-γ辐射对观赏海棠组培苗的诱变效应[J].中国农业科学,2010,43(20):4255-4264.

Effects of ⁶⁰Co-γ Rays on *in vitro* Mutagenesis of Blueberry

ZHU Hong-fen, LIU Jian, HUANG Jian

(Ningbo Academy of Agricultural Sciences, Ningbo 315040, China)

Abstract: In order to investigate the mutagenic effect of different doses of ⁶⁰Co-gamma ray on blueberry tissue culture seedlings, four blueberry cultivars (O'Neal, Southbig, Southgold, and Legacy) *in vitro* were irradiated by ⁶⁰Co-γ rays from 20 to 120 Gy for induced mutation breeding, to study on the survival rate and growth variation irradiated tissue culture seedlings. The results indicated that with the increase of radiation dose, the survival rate, proliferation rate and the height of the tissue culture plants all declined. The high dose radiation made the leaves smaller and the leaf color were light, growth stagnated and died exceed 80 Gy. The survival rate and the growth potential of the transplanted blueberry plants were significantly affected by irradiation and decreased significantly with the increase of dose. However, the effects of transplanting survival rate of blueberry tissue subculture plants were less, the LD₅₀ of four varieties (O'Neal, Southbig, Southgold, Legacy) in proliferation culture were 79.4, 68.2, 81.7 and 72.2 Gy, and in transplanting were 69.2, 57.5, 75.6 and 67.6 Gy.

Keywords: blueberry; ⁶⁰Co-γ; mutagenic effect