

浙江大学学报(农业与生命科学版) 33(2): 180~183, 2007

Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.)

文章编号:1008-9209(2007)02-0180-04

## $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线对草莓组培苗诱变效应

张慧琴<sup>1</sup>, 谢鸣<sup>1</sup>, 蒋桂华<sup>1</sup>, 吴庆<sup>2</sup>, 孙崇波<sup>1</sup>

(1. 浙江省农业科学院 园艺研究所, 浙江 杭州 310021; 2. 浙江省农业科学院 作物与核技术研究所, 浙江 杭州 310021)

**摘要:** 开展以 20~100 Gy  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐照处理丰香、章姬两品种试管苗辐射诱变育种试验。试验结果表明各处理对草莓植株的生长和发育均有影响,但不同品种对  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射敏感性不同,半致死剂量也不同,丰香半致死剂量约为 55 Gy,章姬的半致死剂量约为 64.4 Gy;  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射对丰香品种有明显的抑制作用,主要表现在植株变矮,开花延迟,花朵数减少,且随着剂量增大,这种趋势更加明显;不同  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射处理对章姬开花影响较对生长影响更为明显,单从较高变异率和优良情况来看,20 Gy 处理变异率最高,达到 36.53%,且优良多,是章姬品种  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射育种的较适宜剂量。

**关键词:** 草莓;  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线; 辐射诱变育种; 试管苗

**中图分类号:** S668.4; S335.2 **文献标识码:** A

ZHANG Hui-qin<sup>1</sup>, XIE Ming<sup>1</sup>, JIANG Gui-hua<sup>1</sup>, WU Qing<sup>2</sup>, SUN Cong-bo<sup>1</sup> (1. Institute of Horticulture, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China; 2. Institute of Crop Research and Atomic Technique Utilization, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Effects of  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  rays on *in vitro* mutagenesis of strawberry. Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.), 2007, 33(2):180-183

**Abstract:** Two strawberry cultivars (Toyonoka, Akihime) *in vitro* were irradiated by  $^{60}\text{Co}$  gamma rays from 20 Gy to 100 Gy for induced mutation breeding. The results indicated that all treatments had effects on the growth and development of strawberry, but different cultivars had different sensitivity to the irradiation of gamma rays. And the LD<sub>50</sub> was also different, which was 55 Gy for strawberry cultivar 'Toyonoka' and 64.6 Gy for strawberry cultivar 'Akihime'. Inhibition was obviously produced by  $^{60}\text{Co}$  gamma rays for strawberry cultivar 'Toyonoka', which the plants became short in height, blooming time was put back, and the number of flowers was reduced, and this inhibition was more obvious with increase of the irradiation dose. The effect of  $^{60}\text{Co}$  gamma rays on flowering was more distinct than that on growth for strawberry cultivar 'Akihime'. As to the high aberrance and the excellent aberrance, the most suitable dose to strawberry cultivar 'Akihime' was 20 Gy, at which the plants had high aberrance percent by 36.53% and much excellent aberrance.

**Key words:** strawberry; radiation with  $^{60}\text{Co}$  gamma rays; induced mutation breeding; plantlet *in vitro*

收稿日期: 2006-08-28

基金项目: 浙江省科技厅重点科研资助项目(2005C22062)。

作者简介: 张慧琴(1975—), 女, 浙江兰溪人, 硕士研究生, 助理研究员, 从事生物技术与遗传育种方面的研究。E-mail: guoheng0702@sohu.com.

通讯作者: 谢鸣, 男, 研究员, 硕士生导师, 从事果树方面的研究。Tel: 0571-86401007; E-mail: xieming1957@yahoo.com.cn.

20 世纪 80 年代前诱变育种研究达到了高峰,包括诱变剂作用,诱变方法以及改良性状和遗传性等方面,之后这些研究有所减慢<sup>[1-2]</sup>. 目前由于现代科学技术和组织培养技术的发展及离体细胞不定器官再生技术的完善,又为利用诱变进行植物品种的改良提供了新的可能. 果树中,自然突变和人工诱变对许多果树品种的改良已起到很重要作用. 到 1999 年末,通过诱变方法,选育出了 50 多个果树新品种. 改良性状包括:果实大小、颜色,果实成熟期、耐藏性、自交可育、无籽、抗寒性、矮化及抗病等. 使用的诱变剂包括 X 射线、 $\gamma$  射线、化学诱变剂及  $\gamma$  射线和诱变剂并用等. 诱变材料主要取自果树枝、芽<sup>[3]</sup>. 但有关草莓这方面的报道却甚少. 因此本试验以草莓试管苗为试材,应用  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线进行草莓辐照诱变育种试验,探索适宜的诱变剂量和方法,及辐照对草莓生长发育的影响,以期为组织培养育种更为广泛开展,创造新的种质材料奠定基础.

## 1 材料与方 法

以草莓主栽品种丰香和章姬的无菌增殖苗为试材,用浙江省农科院作物与核技术研究所  $^{60}\text{Co}$  源  $\gamma$  射线辐射,辐射材料为未生根的完整无菌苗,每瓶绿苗 10~15 株,辐射剂量为 20 Gy、40 Gy、50 Gy、60 Gy、70 Gy、100 Gy,剂量率为  $1\text{Gy}\cdot\text{min}^{-1}$ ,每一剂量处理重复 5 次. 草莓苗继代培养基为:MS+BA  $0.5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IBA  $0.03\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +GA  $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,生根培养基为:1/2 MS+IBA  $0.3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,均附加蔗糖 3%,琼脂 0.7%,调 pH5.8. 培养条件:培养温度为  $(25\pm 2)^\circ\text{C}$ ,光照时间为  $14\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$ .

## 2 结果与分析

### 2.1 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 辐射对不同草莓品种组培苗植株生长及形态的影响

经辐照过的组培苗,通过 3 次继代分离培养,丰香在增殖培养过程中  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射对其有显著影响,随着剂量增加叶色由绿变黄至白化,这可能是  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射处理对丰香草莓叶绿素合

成有抑制作用. 不管剂量高低,  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射对丰香草莓植株长势有明显抑制,且从 60 Gy 开始叶片明显缩小,苗丛生,单叶多,玻璃化明显. 章姬草莓叶色随着剂量增加也有所改变,但没有丰香严重,株高与对照无显著差异,叶片大小及形态只有在 100 Gy 处理时出现玻璃化苗及小叶丛生现象. 可见,  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射对丰香的抑制作用强于章姬. 在增殖培养过程中,20 Gy 处理时其增殖系数高于对照,但之后随着剂量增加,增殖系数呈现下降趋势,生根率及生根所需时间也随着剂量增加而下降及时间延长(表 1). 可见,高剂量的  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射对草莓增殖有抑制作用,而低剂量的  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射反而有促进作用.

表 1  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射对草莓组培苗植株增殖、生根的影响  
Table 1 Effect of different  $^{60}\text{Co}$  gamma rays on multiplication and rootages of strawberry plantlet *in vitro*

| 辐射剂量/Gy | 草莓品种 | 增殖系数   | 生根率/%  | 生根所需时间/d |
|---------|------|--------|--------|----------|
| 0       | 章姬   | 4.25 b | 100 a  | 7~10     |
|         | 丰香   | 3.78 c | 100 a  | 7~10     |
| 20      | 章姬   | 5.62 a | 100 a  | 7~10     |
|         | 丰香   | 4.88 b | 100 a  | 7~10     |
| 40      | 章姬   | 4.02 b | 100 a  | 7~10     |
|         | 丰香   | 3.16 c | 100 a  | 7~10     |
| 50      | 章姬   | 3.33 c | 94.3 b | 10~12    |
|         | 丰香   | 2.74 d | 95.6 b | 10~12    |
| 60      | 章姬   | 2.92 d | 91.2 b | 12~15    |
|         | 丰香   | 2.51 d | 89.3 b | 12~15    |
| 70      | 章姬   | 2.88 d | 80.6 c | 15~18    |
|         | 丰香   | 2.42 d | 79.1 c | 15~18    |
| 100     | 章姬   | 1.83 e | 69.8 d | 18~20    |
|         | 丰香   | 1.25 e | 70.5 d | 18~20    |

注:表中同列不同字母表示邓肯氏新复极差测验差异显著( $P<0.05$ ).

### 2.2 不同 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 辐射处理对田间草莓植株生长发育状况的影响

$^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射处理过的组培苗经 3 次继代以后,移栽到大田进行常规栽培. 从表 2 可以看出章姬草莓的成活率随着剂量增加而下降,本试验以草莓植株成活率比对照(不经  $\gamma$  射线辐射)下降 50% 来计算半致死剂量,据此可得出章姬草莓半致死剂量约为 64.4 Gy;株高除 70 Gy

外,其余处理均低于对照,株高性状表现在处理间及处理与对照间有差异;叶片长度除 50 Gy 外,其余剂量所处理的叶片均比对照的叶片长,而叶片宽除 100 Gy 略有增加外,其余均下降,可见<sup>60</sup>Co- $\gamma$  辐射使章姬草莓大多叶片的形状发生了变异.叶柄长度各处理间差异显著,以 50 Gy 处理时最低.各处理间花朵数在 50 Gy 处出现拐点,表现为随着剂量的增加而降低,50 Gy 处理时最低,而后随着剂量的增加又略有升高,到 70 Gy 后,花朵数急剧下降,当剂量达到 100 Gy 时又呈最低.可见<sup>60</sup>Co- $\gamma$  辐射对章姬花朵数有较强的抑制作用,当剂量超过 50 Gy 时,则剂量越高对开花抑制作用越强.始果期在 20 Gy

处理时比对照提前 4 d,而其余处理均迟于对照,且 20 Gy 处理时最大单果重和平均单果重及可溶性固形物含量均高于对照,可见 20 Gy 这一辐射剂量对章姬草莓而言是一个较适宜产生优良性状变异的剂量.

从表 3 可以看出丰香草莓的成活率随着剂量增加而下降,其半致死剂量约为 55 Gy.通过<sup>60</sup>Co- $\gamma$  辐射的丰香草莓株高、叶片长、叶片宽、叶柄长及花朵数均显著低于对照,始花期和始果期均推迟,最大单果重、平均单果重和可溶性固形物均不及对照,可见<sup>60</sup>Co- $\gamma$  辐射处理对丰香草莓生长、开花及果实品质均有显著抑制作用.

表 2 章姬草莓<sup>60</sup>Co- $\gamma$  辐射试验的不同处理植株生长发育状况

Table 2 Growth and development of strawberry cultivar 'Akihime' after radiated with <sup>60</sup>Co gamma rays

|          | 对照       | 20Gy     | 40 Gy    | 50 Gy    | 60 Gy   | 70 Gy    | 100 Gy   |
|----------|----------|----------|----------|----------|---------|----------|----------|
| 成活率/%    | 86.3 b   | 91.2 a   | 89.6 a   | 72.1 c   | 52.1 d  | 31.8 e   | 15.4 f   |
| 株高/cm    | 17.72 ab | 14.40 bc | 17.50 ab | 17.22 ab | 16.41 b | 18.44 a  | 15.67 bc |
| 叶片长/cm   | 7.64 b   | 8.21 a   | 8.30 a   | 7.53 b   | 8.05 a  | 8.28 a   | 8.44 a   |
| 叶片宽/cm   | 6.50 a   | 6.05 b   | 6.25 ab  | 6.25 ab  | 6.00 b  | 6.04 b   | 6.78 a   |
| 叶柄长/cm   | 14.74 a  | 15.25 a  | 13.75 b  | 10.50 c  | 14.98 a | 15.23 a  | 12.92 b  |
| 花朵数      | 39.35 a  | 37.53 a  | 27.67 b  | 16.44 c  | 24.07 b | 20.22 bc | 13.83 c  |
| 始果期(月-日) | 11-22    | 11-18    | 11-24    | 11-25    | 11-24   | 12-06    | 12-07    |
| TSS/%    | 13.1 b   | 14.2 a   | 12.9 b   | 11.5 c   | 13.2 b  | 11.9 c   | 14.5 a   |
| 最大单果重/g  | 38.4 b   | 42.3 a   | 30.2 c   | 36.8 b   | 29.8 c  | 28.5 c   | 27.9 c   |
| 平均单果重/g  | 15.9 b   | 23.9 a   | 17.2 b   | 20.4 ab  | 15.6 b  | 13.6 c   | 13.3 c   |

注:表中同列不同字母表示邓肯氏新复极差测验差异显著( $P < 0.05$ ).

表 3 丰香草莓<sup>60</sup>Co- $\gamma$  辐射试验的不同处理植株生长发育状况

Table 3 Growth and development of strawberry cultivar 'Toyonoka' after radiated with <sup>60</sup>Co gamma rays

|          | 对照      | 20Gy    | 40 Gy   | 50 Gy   | 60 Gy   | 70 Gy   | 100 Gy |
|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|
| 成活率/%    | 82.3 a  | 85.4 a  | 81.6 a  | 50.7 b  | 31.7 c  | 26.2 cd | 9.8 d  |
| 株高/cm    | 13.54 a | 8.42 b  | 10.33 b | 7.38 bc | 7.89 bc | 7.50 bc | 5.75 c |
| 叶片长/cm   | 7.14 a  | 4.55 c  | 6.63 b  | 4.70 c  | 4.76 c  | 4.97 c  | 4.88 c |
| 叶片宽/cm   | 6.53 a  | 5.44 b  | 6.70 a  | 4.57 c  | 4.40 c  | 4.49 c  | 3.85 d |
| 叶柄长/cm   | 11.92 a | 5.64 c  | 7.27 bc | 4.83 c  | 5.66 c  | 5.24 c  | 4.00 c |
| 花朵数      | 25.1 a  | 11.2 b  | 12.9 b  | 9.8 bc  | 10.2 b  | 10.1 b  | 6.2 c  |
| 始果期(月-日) | 11-25   | 11-30   | 12-01   | 12-04   | 12-08   | 12-11   | 12-19  |
| TSS/%    | 12.2 a  | 9.3 b   | 10.1 b  | 8.2 c   | 8.3 c   | 7.8 c   | 7.6 c  |
| 最大单果重/g  | 33.8 a  | 18.9 bc | 24.1 b  | 16.3 c  | 15.2 c  | 16.1 c  | 14.2 c |
| 平均单果重/g  | 12.2 a  | 8.2 b   | 10.0 ab | 7.1 bc  | 7.2 bc  | 6.8 c   | 6.3 c  |

注:表中同列不同字母表示邓肯氏新复极差测验差异显著( $P < 0.05$ ).

### 2.3 不同 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 辐射处理草莓变异株率比较

章姬草莓较耐  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐照,从 20~100 Gy 植株表型都未发生较大变异,除部分植株的叶片形状比对照显得狭长.果实发生变异较多,与对照相比产生果顶缢缩,果形由正常圆锥形变异成楔形,花枝上抽出匍匐茎、大果、早熟等变异.20 Gy 处理与其他剂量处理间的变异株率有极显著差异.20 Gy 处理不但变异株率高,而且产生优良性状变异的株率也高,可见 20 Gy  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射对章姬而言是一个较适宜产生优良性状变异的剂量.丰香草莓植株对  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射非常敏感,变异率高,大多植株的叶片都产生变异(图 1),从正常的三出复叶变成二出复叶或者单叶、四叶;花序由二歧聚伞花序变异成单生花,有的花茎显著缩短,且植株明显变矮(图 2),有的叶柄与花茎共生,种籽先成熟于果实等.丰香草莓不同剂量处理之间变异株率均高,且没有显著差异,但产生优良性状变异的剂量还没有发现,有待进一步研究.



图 1 丰香各种变异叶片

Fig.1 Aberrance of leaves of strawberry cultivar 'Toyonoka'



图 2 丰香变异植株

Fig.2 Aberrance of plant of strawberry cultivar 'Toyonoka'

## 3 讨 论

草莓组织培养结合  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射在国内还未

见类似报道.本试验结果表明草莓无菌苗辐照后田间成长植株的半致死剂量在 50~70 Gy 之间,这与 Jain S M<sup>[4]</sup>报道的草莓  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射半致死剂量约为 50~100 Gy 类似.本试验中所有处理对丰香草莓的生长开花均有显著的抑制作用,主要表现在植株变矮,叶片变小,花数减少,果实变小;而章姬草莓不同处理对开花的影响较对生长的影响更为明显,每花序的花朵数随着剂量增加而减少的趋势更加明显,但对能否开花影响不大,章姬草莓在 100 Gy 时,花朵数还能达到 13.83,且株高、叶片大小都未与对照产生显著性差异,说明章姬还能忍受更高剂量的辐射,可见不同品种间辐射效应差异极显著.在本试验中,章姬草莓在 20 Gy 处理时变异率最高,达到 36.53%,但该剂量对植株生长的影响又不明显,远不能达到半致死剂量,通常诱变育种提出的适宜处理剂量为半致死剂量的附近剂量,这与本试验章姬半致死剂量为 64.4 Gy 的结果差距较大,试验尚待进一步验证,但单从较高的变异率和优良性状变异率来看,章姬  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐照的适宜剂量为 20 Gy.本试验结果还表明,相同剂量处理的试管苗与田间植株生长发育状况相似,说明  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐照效应在后代中仍起抑制作用,这与 Bannerji B K 等<sup>[5]</sup>的试验结果一致.对 20 Gy 处理时优良性状变异较多的章姬草莓进行匍匐茎繁殖,对其后代的表现尚待进一步观察、试验.

### References:

- [1] Donini P, Sonnino A. **Induced Mutation in Plant Breeding: Current Status and Future Outlook** [M]. Kluwer Academic Publishers, 1998:255-291.
- [2] Van Harten A M. **Mutation Breeding: Theory and Practical Applications** [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1998.
- [3] Predieri S. Mutation induction and tissue culture in improving fruits [J]. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 2001, 64:185-210.
- [4] Jain S M. Creation of variability by mutation and tissue culture for improving plants [J]. **Acta Hort**, 1997, 447: 69-77.
- [5] Bannerji B K, Datta S K, Sharma S C. Gamma irradiation studies on gladiolus cv. white friendship [J]. **Nuclear Agriculture and Biology**, 1994, 23(3):127-133.