

文章编号: 1000-3924(2006)02-17-03

## γ 射线辐照对大蒜、甘薯、酸枣、木薯、茉莉愈伤组织生长的影响

戚文元, 吴富兰

(上海市农业科学院作物育种栽培研究所, 上海 201106)

**摘要:** 应用不同剂量的 γ 射线对大蒜 (*Allium sativum*)、甘薯 (*Ipomoea batatas*)、酸枣 (*Zizyphus jujuba* var. *spinosa*)、木薯 (*Manihot esculenta*) 和茉莉 (*Jasminum sambac*) 等 5 种植物的愈伤组织进行辐照, 测定其对愈伤组织生长的影响, 进而提出诱发突变辐照剂量的适合范围。

**关键词:** 大蒜; 甘薯; 酸枣; 木薯; 茉莉; 组织培养; 愈伤组织; γ 射线辐照

**中图分类号:** Q691

**文献标识码:** A

应用 γ 射线对植物种子、枝条、茎、块根和块茎等进行辐照, 能够诱导植株的突变, 培育出新的品种。这种传统的辐照诱变方法, 其突变后代往往会出现嵌合体, 即 2 个或 2 个以上的性状同时出现在一个单株中, 造成良莠混杂, 这已成为突变育种中的一个难题。随着植物生物技术的日益发展, 采用 γ 射线辐照植物愈伤组织的方法, 从愈伤组织中分化出幼苗。因为这些幼苗是从愈伤组织的单细胞中分化产生, 不易出现嵌合体。有关诱导体细胞变异已有许多学者报道<sup>[1,2]</sup>, 但是变异频率较低, 如与辐照结合可大大提高变异频率, 通过 γ 射线辐照愈伤组织的方法已经成为一种有效的突变育种手段。

Robert<sup>[3]</sup>在组织培养中的自然和诱变变异中, 对离体植物组织培养能引起细胞染色体变化和愈伤组织器官变异作了详细的报道。Shama 等<sup>[4]</sup>用 γ 射线辐照豌豆外植体组织研究它对细胞繁殖和植株再生的影响。Sripichitt 等对辣椒的组织培养, γ 射线辐照子叶外植体的辐照剂量, 剂量率对幼苗形成的影响并且对获得的辣椒突变苗的突变一代性状进行了分析<sup>[5-7]</sup>。Dolezel 等<sup>[8]</sup>对大蒜在组织培养过程中的变异进行了详细的描述。Zhen<sup>[9]</sup>通过黄皮洋葱的组织培养结合辐照洋葱花器官, 获得了突变株。本研究通过测定 γ 射线不同剂量对大蒜、甘薯、酸枣、木薯和茉莉等植物愈伤生长的影响, 为利用愈伤组织产生突变提供有效的辐照剂量范围。

### 1 材料与方 法

**1.1 材料** 5 种植物的试验品种分别为: 嘉定白蒜、苏薯 1 号、酸枣野生种, 海南木薯 1 号和茉莉双瓣种。

**1.2 外植体准备** 大蒜、酸枣、甘薯、木薯、茉莉外植体分别为叶片、茎段、叶柄等, 试验材料均先用 70% 酒精溶液表面消毒 20 s, 然后用 1% 升汞溶液消毒 8 min, 无菌水冲洗 3 次, 消过毒的叶片切成 3 mm × 3 mm 方块, 叶柄、下胚轴、茎切成 3 mm 长段作为外植体。

**1.3 组织培养条件** 外植体和愈伤组织培养的温度均为 25 ℃, 光照为每日 16 h, 光照强度为 3000 lx。

**1.4 培养基** 外植体诱导愈伤组织均采用 MS 基本培养基, 分别添加不同种类的植物生长素和细胞分裂素。

大蒜叶片: MS+KT 1 mg/L+IAA 1 mg/L+2,4-D 2 mg/L; 甘薯茎: MS+NAA 1 mg/L+IAA 2 mg/L+BA 0.01 mg/L; 酸枣叶片: MS+ZEA 1 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L; 木薯叶柄: MS+2,4-D 8 mg/L; 茉莉幼茎: MS+BA 2 mg/L。

**1.5 辐照处理** 辐照源为 <sup>60</sup>Co γ 射线。

大蒜: 与辐照源的距离为 2.8 m, 剂量率为 2.11 Gy/min。大蒜叶片外植体培养 14 d 后进行辐照, 辐照剂量分别为 CK、1 Gy、3 Gy、5 Gy、8 Gy、10 Gy; 辐照后第 50 天将愈伤组织称重, 每处理 40 个样本。

甘薯: 与辐照源距离为 2.2 m, 剂量率为 3.50 Gy/min。甘薯茎外植体培养 14 d 后进行辐照, 辐照剂量分别为 CK、1 Gy、5 Gy、10 Gy、30 Gy、50 Gy、100 Gy; 辐照后第 66 天将愈伤组织称重, 每个处理 25 个样本。

酸枣:与辐照源的距离为 2.2 m,剂量率为 3.50 Gy/min。酸枣叶外植体在培养 30 d 后进行辐照,辐照的剂量分别为 CK、3 Gy、6 Gy、9 Gy、12 Gy;辐照后第 50 天将愈伤组织称重,每个处理 20 个样本。

木薯:与辐照源的距离为 2.8 m,剂量率为 2.11 Gy/min。木薯叶柄外植体在培养 14 d 后进行辐照,辐照的剂量分别为 CK、3 Gy、6 Gy、9 Gy、12 Gy 和 15 Gy;辐照后第 50 天将愈伤组织称重,每个处理 16 个样本。

茉莉:与辐照源的距离为 4 m,剂量率为 1 Gy/min。茉莉茎外植体在培养 14 d 后进行辐照,辐照剂量分别为 CK、3 Gy、6 Gy、9 Gy、12 Gy 和 15 Gy;辐照后第 50 天将愈伤组织称重,每个处理 15 个样本。

## 2 结果与分析

**2.1 大蒜** 叶片外植体培养 14 d 后进行辐照,培养 50 d 后将愈伤组织称重(表 1)。结果表明 1 Gy 和 3 Gy 剂量的  $\gamma$  射线辐照对大蒜叶片愈伤组织生长具有促进作用,当剂量增加到 8 Gy 和 10 Gy 时,愈伤组织生长显著受到影响,其重量分别比对照减少 32.21% 和 76.27%。因此,8 Gy 和 10 Gy 的辐照剂量用来诱发愈伤组织细胞突变,方差分析表明,愈伤组织重量的  $F = 5.90(5, 234)$ ,  $F_{0.01} = 3.05$ , 差异显著, LSD 测验处理间的差异显著。

**2.2 甘薯** 茎外植体培养 14 d 后辐照,培养 66 d 后将愈伤组织称重(表 1)。结果表明,1 Gy 和 5 Gy 剂量  $\gamma$  射线辐照可促进愈伤组织生长,当辐照剂量增加到 10 Gy 时生长受到少许影响,30 Gy、50 Gy 和 100 Gy 剂量辐照,愈伤组织生长受到显著抑制。方差分析表明,愈伤组织重量的  $F = 3.26(6, 123)$ ,  $F_{0.01} = 2.89$ , 差异显著, LSD 测验显示 30 Gy 和 50 Gy 处理与 1 Gy、5 Gy 和 10 Gy 处理间差异显著。

**2.3 酸枣** 叶外植体培养 30 d 后辐照,辐照后 50 d 愈伤组织称重(表 1)。结果表明,3 Gy 和 6 Gy 剂量辐照可促进愈伤组织生长。当辐照剂量增加到 9 Gy 以上时,愈伤组织的生长受到显著抑制。方差分析表明,愈伤组织重量的  $F = 3.05(4, 1971)$ ,  $F_{0.01} = 2.79$ , 差异显著, LSD 测验显示 9 Gy 和 12 Gy 处理与 3 Gy 和 6 Gy 之间的差异显著。

**2.4 木薯** 叶柄外植体培养 14 d 后进行辐照,培养 50 d 后将愈伤组织称重(表 1)。方差分析表明,愈伤组织重量的  $F = 5.22(5, 102)$ ,  $F_{0.05} = 2.90$ ,  $F_{0.01} = 3.46$ , 差异极显著。从表中可看出,3 Gy、6 Gy  $\gamma$  射线辐照对愈伤组织的生长影响不大,9 Gy 剂量辐照对愈伤组织的生长产生抑制作用,12 Gy 和 15 Gy 剂量辐照显著抑制愈伤组织生长。LSD 测验结果表明组间的差异极显著,3 Gy 与 15 Gy, 0 Gy 与 9 Gy, 0 Gy 与 15 Gy, 6 Gy 与 15 Gy 处理间差异极显著。

**2.5 茉莉** 对培养了 14 d 的茉莉茎愈伤组织进行辐照,50 d 后称重,结果见表 1。方差分析表明,愈伤组织重量的  $F = 5.81(5, 84)$ ,  $F_{0.05} = 2.92$ ,  $F_{0.01} = 3.48$ , 差异极显著。从表中可看出,3 Gy 和 6 Gy 剂量的  $\gamma$  射线辐照可促进愈伤组织的生长,9 Gy 以上的 3 个辐照剂量均对愈伤组织的生长产生抑制作用,15 Gy 剂量辐照的愈伤组织的生长量只有对照的 54.02%。LSD 测验结果表明,除 3 Gy 与 9 Gy 外,3 Gy 与 15 Gy, CK 与 15 Gy, 6 Gy 与 15 Gy 处理间差异极显著。

表 1  $\gamma$  射线辐照对大蒜、甘薯、酸枣、木薯和茉莉愈伤组织生长的影响

Table 1 The effects of gamma irradiation on the calli growth of garlic, sweet potato, spine date, cassava and Arabian jasmine

辐照剂量 Irradiation dose	大蒜 (Garlic)		甘薯 (Sweet potato)		酸枣 (Spine date)		木薯 (Cassava)		茉莉 (Arabian jasmine)	
	愈伤组织 重量 Callus weight(mg)	与对照 相比(%) Compared with CK								
CK	0.0885	100.00	2.038	100.00	1.824	100.00	0.10439	100.00	0.2820	100.00
1	0.0975	110.17	2.222	109.03	-	-	-	-	-	-
3	0.0965	109.90	-	-	1.873	102.69	0.09283	88.93	0.29140	127.69
4	0.0858	96.94	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	2.126	104.32	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	1.975	108.28	0.08494	81.37	0.24320	106.57
8	0.0600	67.79	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	1.442	77.06	0.07483	71.68	0.15973	69.99
10	0.0210	3.72	2.009	98.58	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	1.171	64.20	0.05656	54.18	0.19360	84.84
15	-	-	-	-	-	-	0.04372	41.88	0.12327	54.02
30	-	-	1.765	86.60	-	-	-	-	-	-
50	-	-	1.795	88.08	-	-	-	-	-	-
100	-	-	1.310	64.28	-	-	-	-	-	-

### 3 讨 论

大蒜、甘薯、酸枣、木薯和茉莉等 5 种植物分属不同的科,而它们的愈伤组织对  $\gamma$  射线的反应似乎相同。愈伤组织在 3 Gy 或 6 Gy 剂量辐照时并未出现生长抑制,有的反而促进生长。当辐照剂量提高到 9 Gy 或 10 Gy 时,这 5 种植物的愈伤组织生长均受到抑制,12 Gy 和 15 Gy 剂量辐照的愈伤组织生长明显受到抑制,这些结果为利用愈伤组织诱发植物突变提供了科学依据。传统的辐照突变剂量的确定以它的半致死剂量为标准。辐照愈伤组织以出现愈伤组织细胞生长受抑制的剂量较为合适,剂量大细胞损伤增大。较高剂量辐照的愈伤组织虽然损伤很重,生长受到显著抑制,但有的个体生长仍很正常,这些个体仍有可能获得突变苗。本试验认为 6~9 Gy 这一辐照剂量范围可有效地诱发突变。以木薯为例,其愈伤组织受到 15 Gy 剂量辐照 50 d 后,它的 18 个愈伤组织的重量分别是 0.039、0.085、0.080、0.050、0.057、0.038、0.034、0.043、0.031、0.042、0.070、0.036、0.029、0.039、0.045、0.018、0.011mg 和 0.040 mg(单个愈伤组织的平均重量是 0.04372 mg)。在这些个体中,重量在 0.03 mg 以上的愈伤组织均有可能诱导出突变;重量小于 0.03 mg 的愈伤组织,在诱导苗分化时会出现困难,不易诱导出幼苗。

由于植物的种类不同,它们的外植体诱导愈伤组织的培养基成分是完全不同的,因而在作  $\gamma$  射线辐照处理前应完成它们各自的组织培养系统(即确定外植体的来源,如:叶、叶柄、茎尖等;确定由外植体诱导愈伤组织以及由愈伤组织诱导芽和根分化的培养基成分),以选择最有效的培养基,获得尽量多的突变苗。

愈伤组织经  $\gamma$  射线辐照后会产生损伤,根据作者的经验应该有 45~60 d 的修复期,为此应将愈伤组织继代培养 1 次(通常为同一种培养基),12 Gy 和 15 Gy 剂量辐照的愈伤组织在诱导成苗时,还应对已确定的诱导培养基成分作一些调整,以期获得更多的突变苗。用  $\gamma$  射线辐照结合组织培养诱发甘薯突变苗已有成功的报道<sup>[10]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] Bottino P J. The potential of genetic manipulation in plant cell culture for plant breeding[J]. Rad. Bot., 1975,15:1-16.
- [2] Devreux M. In vitro culture and mutation breeding[C]. In: induced mutations in vegetatively propagated plants. Proceedings of a panel, IAEA, Viena, 1972:41-51.
- [3] Robet M S. Natural and induced variation in tissue culture[J]. Euphytica, 1978,27:241-266.
- [4] Shama Rao H, Narayanaswamy S. Effect of gamma irradiation on cell proliferation and regeneration in explanted tissues of pigeon pea, *Cajanus cajan* (L.)Mills[J]. Rad. Bot.,1975,15:301-305.
- [5] Sripichitt P, Nawata E, Shigenaga S. In vitro shoot forming capacity of cotyledon explants in red pepper (*Capsicum annuum* L, cv. *Yatsufusa*) [J]. Japan. J. Breed, 1987,37:133-142.
- [6] Sripichitt P, Nawata E, Shigenaga S. The effects of exposure dose and dose rate of gamma radiation on in vitro shoot-forming capacity of cotyledon explants in red pepper (*Capsicum annuum* L, cv. *Yatsufusa*) [J]. Japan. J. breed, 1988,38:27-34.
- [7] Sripichitt P, Nawata E, Shigenaga S. Radiation induced mutation by using in vitro adventitious bud technique in red pepper (*Capsicum annuum* L, cv. *Yatsufusa*). Analysis of the variant appeared in M<sub>1</sub>[J]. generation. Japan. J. Breed, 1988,38(2):141-150.
- [8] Dolezel J, Novak FJ, Havel L. Cytogenetics of garlic (*Allium sativum* L.) in vitro culture[C]//International atomic energy agency. Viena, 1986:11-19.
- [9] Zhen H R. Yellow onion mutation seeding obtained through tissue culture combined with gamma ray radiation of onion flower head[J]. Acta Agriculturae Shanghai, 1990,6(4):93-95.
- [10] Zheng Hairou. Induction of mutant plant in sweet potato (*Ipomoea batatas*) by gamma irradiation on calli[J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2001, 17(3):27-33.

## The effects of gamma irradiation on the calli growth of garlic, sweet potato, spine date, cassava and Arabian jasmine

QI Wen-yuan, WU Fu-lan

(Crop Breeding and Cultivation Research Institute,  
Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China)

**Abstract:** The calli of garlic (*Allium sativum*), sweet potato (*Ipomoea batata*), spine date (*Zizyphus jujuba* var. *spinosa*), cassava (*Manihot esculenta*) and Arabian jasmine (*Jasminum sambac*) were irradiated by gamma ray at different irradiation doses and then the effects of gamma ray on the calli growth were measured. The proper ranges of irradiation dose to induce mutation were put forward according to the experimental analysis.

**Key words:** Garlic; Sweet potato; Spine date; Cassava; Arabian jasmine; Tissue culture; Callus; Gamma irradiation