

猕猴桃⁶⁰Co-γ射线辐射诱变育种适宜剂量的研究

叶开玉, 李洁维*, 蒋桥生, 龚弘娟, 张静翹

(广西壮族自治区 广西植物研究所, 广西 桂林 541006)
中国科学院

摘要: 以果肉红色的‘红阳’猕猴桃、果肉黄色‘桂海4号’猕猴桃和果肉绿色的‘长果’猕猴桃的枝条为试材,用4种剂量的⁶⁰Co-γ射线辐射处理,以未照射枝条为对照,采用随机区组设计进行田间嫁接。对嫁接成活率、植株生长量的调查分析。结果显示:在25~150 Gy辐射剂量范围内,随辐射剂量的加大,对嫁接成活率及生长的抑制作用逐渐增强。不同品种的猕猴桃对辐射的敏感性差异较大。3个品种猕猴桃辐射半致死剂量分别为50.6 Gy(红阳)、64.4 Gy(桂海4号)、71.7 Gy(长果猕猴桃)。试验结果可以为猕猴桃辐射育种适宜剂量的确定提供依据。

关键词: 猕猴桃; ⁶⁰Co-γ射线; 辐射育种; 半致死剂量

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)05-0694-04

Search for proper dose of ⁶⁰Co-γ ray in *Actinidia chinensis* radiation breeding

YE Kai-Yu, LI Jie-Wei*, JIANG Qiao-Sheng,
GONG Hong-Juan, ZHANG Jing-Chi

(Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China)

Abstract: In this experiment red flesh *Actinidia chinensis* ‘HongYang’, yellow flesh *A. chinensis* ‘GuiHai No. 4’ and green flesh *A. chinensis* ‘ChangGuo’ branches were treated with ⁶⁰Co-γ ray in dose of 25 Gy, 50 Gy, 100 Gy and 150 Gy respectively and cultivated in randomized blocks design after treatment. The untreated branches used as control. Survival rate and height of plant were examined. The result indicated that it was obviously that the inhibition of both the survival rate and the height of plant would be enhanced with increase of the radiation dose ranged in this experiment. Different varieties of *A. chinensis* quite different sensitivity to radiation. The medial lethal dose of ⁶⁰Co-γ radiation for these three varieties of *A. chinensis* branches were 50.6 Gy (Hong Yang), 64.4 Gy (GuiHai NO. 4), 71.7 Gy (Chang Guo). The results would provide an important experimental basis for the radiation breeding of other varieties of *A. chinensis*.

Key words: *Actinidia chinensis*; ⁶⁰Co-γ ray; radiation breeding; medial lethal dose

猕猴桃是猕猴桃科(Actinidiaceae)猕猴桃属(*Actinidia*)植物的总称,为多年生藤本植物。和其他绝大多数果树一样,猕猴桃童期长,基因高度杂

合,占地面积大,使得常规杂交育种和实生选种受到很大限制,造成育种效率低,目标性状选育困难等现象。利用辐射诱变育种,加大变异频率与幅度,能够

* 收稿日期: 2012-02-29 修回日期: 2012-06-30

基金项目: 广西自然科学基金(2011GXNSFA018092); 广西科技攻关项目(桂科攻10100006-4A,桂科攻1132002D); 广西植物研究所科学研究基金(桂植业09007) [Supported by the Natural Science Foundation of Guangxi (2011GXNSFA018092); Key Technology Research and Development Program of Guangxi (10100006-4A,1132002D); Science Research Foundation of Guangxi Institute of Botany (09007)]

作者简介: 叶开玉(1981-),男,河南信阳人,硕士,助理研究员,从事果树生理与遗传育种研究, (E-mail)yekaiyu36@163.com。

* 通讯作者: 李洁维,研究员,从事果树引种驯化与良种选育研究, (E-mail)lijw@gxib.cn。

大大提高育种成功率。我国果树的辐射育种工作开始于 20 世纪 60 年代(马庆华等, 2003), 目前已广泛应用到苹果、梨、桃、板栗、山楂、柑橘、枇杷等多种果树(林存峰等, 2008; 陈秋芳等, 2007; 郑少泉等, 1996), 并取得较大的成就, 已成为果树育种的一种快速途径。但辐射诱变在猕猴桃育种中仍然是一个薄弱的环节。目前, 只限于对部分品种猕猴桃种子、幼芽辐射的初步研究(胡延吉等, 2009), 不同辐射剂量对猕猴桃种或品种的辐射效应以及半致死剂量的确定还缺少系统的研究。

本研究采用⁶⁰Co- γ 射线, 对 3 个不同品种的猕猴桃枝条进行辐射处理, 并初步观察辐射后嫁接成活率和生长量的差异变化, 以确定辐射诱变的适宜剂量, 加快育种进程, 为猕猴桃辐射育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 接穗的采集

用于试验的‘红阳’猕猴桃(以下简称为“HY”)、‘桂海四号’猕猴桃(以下简称为“GH”)和‘长果’猕猴桃(以下简称为“CG”)接穗, 均采自于广西植物研究所(桂林)猕猴桃种质圃。其中 HY 为 5 年生高接品种、GH 和 CG 为 20 年生嫁接成年树。于树体休眠期, 从长势中庸的一年生结果枝, 选择处于休眠状态尚未萌动的中部饱满芽, 每根枝条留 8~10 个芽进行剪截。每处理一捆, 10 条接穗。用湿毛巾包裹保湿、并在低温冷藏保存, 防止芽体萌发。

1.2 接穗的处理

2009 年 2 月 14 日, 在广西南翔环保有限公司辐照中心进行辐射处理。设置 0 Gy(CK)、25 Gy、50 Gy、100 Gy 和 150 Gy 5 个⁶⁰Co- γ 射线剂量, 用 50 Gy/min 的剂量率照射供试材料。

1.3 辐射处理后的嫁接与嫁接后管理

2009 年 2 月 16 日, 在广西植物研究所实验场地进行露天嫁接, 嫁接砧木为提前 3 个月按照 30 cm×30 cm 株行距定植的一年生美味实生苗。试验采用单因素随机区组设计, 每个处理设 3 个重复, 每个重复嫁接 20 株。嫁接后, 及时抹除砧木上原有隐芽萌发后长出的新芽, 以免与接穗争夺养分, 影响接穗萌发生长。加强栽培后水肥管理, 保证嫁接苗的正常生长。

1.4 试验观测和数据分析

嫁接后 20 d 开始观察萌芽情况, 每 10 d 或 20 d

观测 1 次, 以萌芽率最高的一次作为实际萌芽率, 萌芽稳定之后的最后一次观测结果作为实际成活率。嫁接后 50 d 开始观测植株生长量, 每 10 d 或 20 d 测量一次。试验数据采用 DPS 分析软件做方差分析和 LSD 多重比较。对各品种的相对成活率与辐射剂量的相关性进行分析。并参考王兆玉等(2009)的直线回归方程方法计算出各品种枝条的辐射半致死剂量, 以及嫁接成活率与辐射剂量的相关性。

2 结果与分析

2.1 不同辐射剂量对嫁接萌芽率的影响

由表 1 看出, 3 个不同品种的猕猴桃枝条, 在不同的辐射剂量条件下嫁接成活率达到显著或极显著的差异水平。且随着辐射剂量的逐渐加大, 3 个品种猕猴桃嫁接成活率逐渐降低, HY 和 GH 均是在辐射剂量增大至 100 Gy 时成活率为 0, CG 为 28.33%, 在增至 150 Gy 时仍有 8.33% 的成活率。说明不同猕猴桃品种对辐射的敏感性差异较大, CG 耐辐射能力较强, HY 和 GH 耐辐射能力相对较弱。

在嫁接后萌芽过程中, 随着时间的推移, 对照和辐射处理的枝条萌芽率都是逐渐增加的, 但辐射处理的枝条在增大到一定“峰值”后, 有一个急剧降低的趋势, 并且随着辐射剂量的增加, 萌芽死亡率加大, 造成最后嫁接成活率较低。这也是试验中在成活率稳定下来之后, 把最后一次调查时的萌芽率确定为最终成活率的原因。从表 1 中不同辐射处理 3 个猕猴桃品种死亡植株比例, 可以初步判断 HY、GH 和 CG 的半致死剂量分别处于 25~50 Gy、50~100 Gy、50~100 Gy 之间。

2.2 不同辐射剂量对生长量的影响

各处理的主芽茎生长速度调查结果见图 1, 由于 HY 和 GH 两个品种当辐射剂量大于 100 Gy 处理的嫁接芽相继死亡, 故图 1 中 HY 和 GH 两个品种仅表示 CK、25 Gy 和 50 Gy 3 个处理, CG 为全部的处理。从图 1 可以看出, 3 个品种的猕猴桃的主芽茎生长速度, 出现一个共同的现象, 即经过辐射的嫁接苗植株高度, 均明显低于对照(CK), 且辐射强度越大, 植株相对越矮, 生长量越缓慢, 植株高度与辐射剂量呈负相关。上述结果表明, 辐射处理和 CK, 以及不同强度的辐射处理间的差异十分明显, 3 个品种间对辐射的敏感度差异也较大, 从植株的生长速度看, CG 耐辐射能力最强, 其次是 GH, 而 HY

表 1 不同辐射剂量对萌芽率的影响
Table 1 Effect of different radiation dosage on the rate of sprouting

品种 Variety	辐射剂量 Radiation dosage	总嫁接数 No. of graft	萌芽 Sprouting		成活植株 Survival plant		死亡植株 Death plant	
			个数 No.	比例 (%) Percentage	个数 No.	比例 (%) Percentage	个数 No.	比例 (%) Percentage
HY	CK(0)	60	56	93.33 aA	55	91.67 aA	5	8.33 dC
	25	60	54	90.00 aA	43	71.67 bA	17	18.33 cC
	50	60	37	61.67 bB	13	21.67 cB	47	88.33 bB
	100	60	7	11.67 cC	0	0.00 dC	60	100.00 aA
	150	60	0	0.00 dC	0	0.00 dC	60	100.00 aA
GH	CK(0)	60	58	96.67 aA	58	96.67 aA	2	3.33 cC
	25	60	54	90.00 aA	54	90.00 aA	6	10.00 cC
	50	60	49	81.67 aA	41	68.33 aB	19	31.67 bB
	100	60	2	3.33 bB	0	0.00 cC	60	100.00 aA
	150	60	0	0.00 bB	0	0.00 cC	60	100.00 aA
CG	CK(0)	60	60	100.00 aA	60	100.00 aA	0	0.00 dB
	25	60	56	93.33 aA	56	93.33 aAB	4	6.67 cdB
	50	60	53	88.33 aA	47	78.33 bB	13	21.67 cB
	100	60	24	40.00 bB	17	28.33 cC	43	71.67 bA
	150	60	12	20.00 bB	5	8.33 dC	55	91.67 aA

注：表中小写字母和大写字母分别表示差异显著和极显著(LSD 多重比较)。
Note: Small letters and capital letters show significant differences at 0.05% and 0.01% level, respectively(LSD).

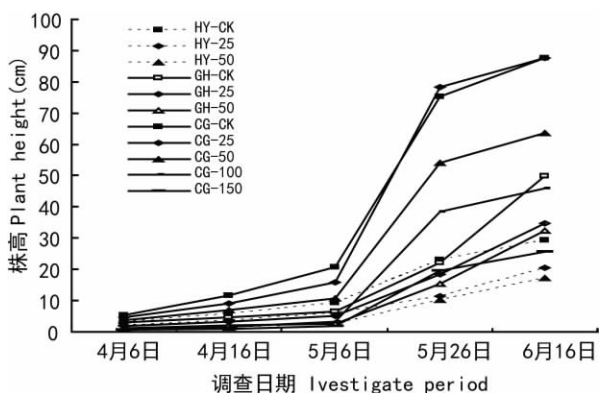


图 1 不同辐射剂量对植株生长量的影响
Fig. 1 Effects of different radiation dose on the height of plants

对辐射较为敏感。

2.3 成活率与辐射强度的相关性以及半致死剂量的确定

利用相关系数公式计算出各个品种的嫁接成活率与辐射剂量的相关系数(r),根据直线回归方程计算出半致死剂量(LD_{50})列于表 2。从表 2 可以看出,3 个品种猕猴桃的嫁接成活率与辐射强度均是呈负相关,成活率随辐射强度的加大而降低。HY、GH 和 CG 与辐射强度的相关系数分别为-0.8978、-0.9492 和-0.989。

3 个品种半致死剂量最高的是 CG,为 71.7 Gy,其次为 GH(64.4 Gy),HY 最低(50.6 Gy)。在

辐射剂量为 100 Gy 时, HY 和 GH 的嫁接植株全部死亡,CG 相对成活率也低于 50%,当辐射强度为 150 Gy,CG 仍有少量能够存活。这种不同品种对辐射的差异性,为确定各个猕猴桃品种辐射育种的适宜剂量,辐射敏感性的划分,提供了依据。

表 2 各品种相对成活率、半致死剂量和相关系数
Table 2 Relative survival rate, medial lethal dose and correlation coefficient of three *A. chinensis* varieties

品种 Varieties	相对成活率 Relative survival rate (%)	LD ₅₀ (Gy)					r
		0(CK)	25	50	100	150	
HY	100	78.18	23.63	0	0	50.6	-0.8978
GH	100	93.1	70.68	0	0	64.4	-0.9492
CG	100	93.33	78.33	28.33	8.33	71.7	-0.9890

注: LD_{50} 代表半致死剂量, r 代表相关系数。
Note: LD_{50} represents medial lethal dose; " r " represents correlation coefficient.

3 结论与讨论

3.1 不同猕猴桃品种的辐射效应

不论是种子繁殖还是无性繁殖,不同种或品种的作物对射线的敏感度都不一致。当辐射剂量为 50 Gy 时, HY 萌芽率和成活率明显下降,而对 GH 和 CG 影响不是很大。但辐射剂量达到 100 Gy 时, HY 和 GH 萌芽率和成活率均为 0,而 CG 却依然有 28.33%的成活率,甚至在 150 Gy 辐射剂量条件下

仍然有 8.33% 的成活率。猕猴桃有 60 多个种和变种, 不同的种或品种基因型差异较大, 也表现出不同的生物学特性(李瑞高等, 1996), 这种因种或品种不同而表现出来的差异性, 可能与它们各自生物学特性差异有关。也可能与选择接穗母树的树龄有关, 具体原因还有待进一步研究确定。

猕猴桃嫁接成活率与辐射剂量呈负相关, 同一品种、不同辐射剂量处理间的嫁接成活率差异达到显著、极显著水平, 不同品种之间的辐射敏感性差异较大, 这与胡延吉等(2009)、廖飞雄等(2001)的研究结果相一致。众多研究表明植物的辐射敏感性在不同的植物种类甚至不同品种之间都有很大差异。影响植物辐射敏感性的因素很复杂, 植物的进化程度、倍性水平、核体积、生长及生理代谢状况等都会影响到辐射的敏感性(胡春根等, 1996)。

3.2 不同猕猴桃品种半致死剂量的确定

对于辐射育种而言, 适宜辐射剂量的确定十分重要。一般采用辐射后种子发芽率为 50% 时的剂量, 即半致死剂量, 作为适宜的辐射剂量(Fairless, 2007)。但是目前半致死剂量的测定还没有一个统一的科学的标准, 一般可采用的指标包括种子的发芽率、植株成活率、生长抑制程度和植株的不育程度等。本研究中, 3 个品种半致死剂量最高的是 CG 为 71.7 Gy, 其次为 GH 为 64.4 Gy, HY 最低为 50.6 Gy。不同品种嫁接成活率和植株生长量受辐射剂量影响显著, 所以选用相对嫁接成活率 50% 时的辐射剂量作为半致死剂量, 即该品种的适宜剂量。研究认为, 在确定半致死剂量时, 应考虑嫁接成活的影响因素, 同时要确定适宜的调查时间以区分正常成活和非正常成活, 因此用相对成活率来确定辐射的适宜剂量更为准确, 以免因试验操作造成误差甚至错误。

本研究比较了在相同的剂量率的条件下猕猴桃的辐射差异, 而不同辐射剂量率对猕猴桃的辐射效应还不明确, 今后应加强这方面的研究; 另外, 为加快猕猴桃辐射育种效率, 还应对用于杂交授粉的花粉进行辐射, 以及采用分子手段快速检测猕猴桃辐射的遗传分化状况, 以便更快捷的确定遗传分化比

较大、更易出现变异的植株。

参考文献:

- Chen QF(陈秋芳), Wang M(王敏), He MM(何美美), *et al.* 2007. Advances in induced mutation breeding by radiation for fruit plants(果树辐射诱变育种研究进展)[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报), 23(1): 240-243
- Fairless D. 2007. The little shrub that could-maybe[J]. *Nature*, 449: 652-655
- Hu CG(胡春根), Deng XX(邓秀新). 1996. Soft x-ray radio-sensitivities of pollens in several fruit species(几种果树花粉对软 X 射线的辐射效应差异)[J]. *J Huazhong Agric Univ* (华中农业大学学报), 15(4): 376-380
- Hu YJ(胡延吉), Liang H(梁红), Li HC(黎毓昌), *et al.* 2009. Preliminary study of mutation effect on kiwi fruit(猕猴桃辐射诱变效应的初步研究)[J]. *Northern Horti*(北方园艺), (5): 23-26
- Li RG(李瑞高), Liang MY(梁木源), Li JW(李洁维), *et al.* 1996. Studies on the biological characteristic of genus *Actinidia* (猕猴桃属植物生物学特征特性观测)[J]. *Guihaia*(广西植物), 16(3): 265-2
- Liao FX(廖飞雄), Pan RC(潘瑞炽). 2001. The effects of seeds irradiation with⁶⁰Co-γray on seed germination and shoot growth of *Brassica campestris* ssp. *Chinensis* var. *utilis*(⁶⁰Co-γ 辐射对菜心种子萌发和幼苗生长的效应)[J]. *Acta Agric Nucl Sin*(核农学报), 15(1): 6-10
- Lin CF(林存峰), Li Y(李燕). 2008. A preliminary report on current effect of ⁶⁰Co-γ radiation on Jinfeng pears branches(钴 60-γ 射线辐射锦丰梨枝条的当代效应初报)[J]. *Gansu Agric Sci Technol* (甘肃农业科技), (7): 13-14
- Ma QH(马庆华), Mao YM(毛永民), Shen LY(申连英), *et al.* 2003. Advances in induced mutation breeding by radiation for fruit plants(果树辐射诱变育种研究)[J]. *J Agric Univ Hebei* (河北农业大学学报), 26(5): 57-63
- Wang ZY(王兆玉), Lin YM(林业明), Luo L(罗莉), *et al.* 2009. Sensitivity of *Jatropha curcas* seeds to ⁶⁰Co-γ radiation and their medial lethal doses in radiation breeding(小油桐种子的⁶⁰Co-γ 射线辐射敏感性及其半致死剂量的研究)[J]. *J S Med Univ*(南方医科大学学报), 29(3): 506-508
- Zheng SQ(郑少泉), Xu XD(许秀淡), Xu JH(许家辉), *et al.* 1996. Study on the mutation of loquat after ⁶⁰Co gamma ray radiation I. adaptive doses for shoot treatment and character variation(枇杷辐射诱变育种研究—枝条辐射的适宜剂量及性状变异)[J]. *S Chin Fruits*(中国南方果树), 25(3): 25-27