

Co⁶⁰- γ 射线诱变宝巾(*Bougainvillea*)的生物学效应研究

陈 庭¹, 范雅文¹, 刘 伟^{2*}

(1. 中国科学院仙湖植物园, 广东 深圳 518004; 2. 华南农业大学 生命科学院, 广东 广州 510642)

摘要: 研究宝巾品种辐射处理后 VM1 代的生物学效应, 为宝巾的辐射育种提供理论依据。以宝巾(*B. glabra*)和毛宝巾(*B. spectabilis*)为材料, 通过不同剂量水平的 Co⁶⁰- γ 射线处理, 研究辐射剂量与其存活率、变异率的相关性, 观察记录不同剂量下诱变株的生长表现, 总结主要的变异性状类型。结果表明: 在一定剂量 Co⁶⁰- γ 射线范围内, 辐射剂量和宝巾品种存活率呈负相关, 和变异率呈正相关; 毛宝巾的剂量敏感区域在 50~150 Gy, 而宝巾的剂量敏感区域可能在 150~200 Gy, 毛宝巾的辐射敏感性要高于宝巾; 建立了毛宝巾剂量与存活率的线性回归方程: $y = -0.4098x + 85.176$, $R^2 = 0.9898$, 并由此计算毛宝巾的半致死剂量(LD₅₀)为 86 Gy; VM1 代出现的各类叶变异性状主要为叶卷曲、叶残缺、叶皱缩、黄化叶等。

关键词: 宝巾; Co⁶⁰- γ 射线; 辐射; 生物学效应

中图分类号: S685 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2012)06-0133-04

Study on the Biological Effect of *Bougainvillea* Induced by Co⁶⁰- γ Ray

CHEN Ting¹, FAN Ya-wen¹, LIU Wei^{2*}

(1. Shenzhen Fairy Lake Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518004, China;

2. College of Life-Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: This paper studied the biological effect in VM1 generation of *Bougainvillea* varieties treated by Co⁶⁰- γ ray and provided the theoretical reference for *Bougainvillea* irradiation breeding. The correlations of the dose and survival was studied, as well as variation rates by different dosage levels of Co⁶⁰- γ ray with *B. glabra* and *B. spectabilis*. The growth performance for the variants was observed and recorded, and then the variation character types were generalized. The results showed that there is a negative correlation between dose and survival, but a positive between dose and variation rates. The radio sensitivity for *B. spectabilis* is superior to *B. glabra*. The regression equations were built with dose and survival for *B. spectabilis*: $y = -0.4098x + 85.176$, $R^2 = 0.9898$, calculating the half a lethal dose: 86 Gy. In VM1 the leaf variations mainly were characterized by curly leaf, leaf deformity and leaf shrinkage, yellowing leaf, etc.

Key words: *Bougainvillea*; Co⁶⁰- γ ray; irradiation; biological effect

宝巾(*Bougainvillea*)为紫茉莉科(Nyctaginaceae)宝巾属灌藤本植物, 又名叶子花、三角梅、九重葛、簕杜鹃等, 最早从南美地区引种至世界各地, 现主要分布于热带、亚热带地区^[1-3]。宝巾的主

要观赏部位是苞片, 其颜色艳丽且形式多样, 极具观赏性。宝巾的花期长而花色多, 品种丰富且易繁殖, 是我国南方各大城市广泛应用的园林观赏植物之一^[4]。

收稿日期: 2012-01-31

基金项目: 深圳市科技局基础研究项目(JC200903190758A)

作者简介: 陈 庭(1974-), 男, 湖南岳阳人, 高级工程师, 硕士, 主要从事植物种质资源与花卉园艺研究。E-mail: reasl@126.com

* 通讯作者: 刘 伟(1964-), 男, 陕西西安人, 教授, 博士, 主要从事植物发育与分子生物学研究。E-mail: liuweil@scau.edu.cn

国内绝大部分宝巾品种都不能收获种子,主要采用扦插繁殖。对于无性繁殖的植物,通常采用诱变育种的方法。无性繁殖植物营养世代的划分与种子植物明显不同,由于其产生的体细胞突变是以营养世代传递的,因此,以营养代每繁殖一次作为一个世代,通常其营养世代分别用 VM1、VM2、VM3……来表示。辐照插条或接穗称为 VM0,其腋芽萌发出的初生枝即为 VM1 代,以此类推^[5]。辐射诱变是目前花卉品种培育与改良过程中一种非常重要的手段,Co⁶⁰- γ 射线是花卉和农作物育种上最常用的辐射诱变源^[6-12],其诱发突变频率高且变异谱广,在较短时间内即可收效甚高,因此,得到广泛应用。目前,通过辐照育成的花卉品种种类繁多^[13],但宝巾的辐照育种少见报道。鉴于此,对辐照诱变后宝巾的生物学效应进行探讨,旨在为宝巾的品种改良提供实践方法和理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

试验材料来源于深圳市中科院仙湖植物园科普试验苗圃,2009 年 11 月份取材,分别选择宝巾(*B. glabra* spp.)和毛宝巾(*B. spectabilis* spp.)的 2 个深色花系品种为母本材料。

1.2 方法

1.2.1 材料预处理 取 1 年生木质化的枝条,修剪成长 10~15 cm,至少带两芽一叶。扦插条的生物学顶端用固体蜡封闭,下端削成楔形,每个品种各处理按 90~100 个扦插条分类捆扎好待用。

1.2.2 辐照处理及种植 将准备好的扦插条送至广州华大辐照中心进行 Co⁶⁰- γ 射线辐照,采用 50、100、150、200、300、400 Gy 共 6 个剂量水平,剂量率为 3.71 Gy/min,每个品种各设 1 组对照。辐照后将材料种植于深圳市仙湖植物园科普试验苗圃基地,置于稀疏阳光处,保温保湿,扦插基质为泥炭土:珍珠岩=1:1。扦插条生根后,约 60 d 后移

栽,移栽基质配方为黄土:干牛粪=1:1。

1.2.3 田间观察统计与数据处理 对辐照处理材料的 VM0 和 VM1 代进行生物学观察,统计辐照处理后扦插条的存活率、VM1 代突变性状的变异率、各变异性状类型等。存活率=存活数/母本扦插条数 $\times 100\%$,突变频率=表型变异数/扦插条成活数 $\times 100\%$ 。所有图片均为 Canon50D 数码相机拍照,利用 Adobe Photoshop 7.0.1 软件对图片进行编辑处理,图形绘制由 Excel 2003 统计软件完成,一元回归和相关性分析则由 SPSS 13.0 软件完成。

2 结果与分析

2.1 不同辐射剂量水平对宝巾扦插条存活率和变异率的影响

宝巾、毛宝巾在经 Co⁶⁰- γ 射线处理后,其生长表现有较大差异,但存活剂量范围均小于 200 Gy(表 1、2),超过 200 Gy 以上的剂量均无存活株。宝巾在 50 Gy 和 100 Gy 2 个剂量水平的存活率分别为 82.10%和 83.84%,与对照存活率(82.98%)无明显差异,而在 150 Gy 的剂量水平其存活率降至 70.53%,50~150 Gy 剂量范围对其存活率的影响较小,分析其剂量敏感区域可能在 150~200 Gy。在 50~150 Gy 剂量范围内,宝巾的变异率介于 16.67%~61.19%。毛宝巾在各剂量水平的存活率有较大差异,其变化趋势较为明显。在 50 Gy、100 Gy、150 Gy 的存活率分别为 68.04%、45.84%和 25.77%,与对照的存活率(81.32%)有较大差异,因此,毛宝巾的剂量敏感区域在 50~150 Gy。在 50~150 Gy,毛宝巾的变异率介于 83.33%~100.00%,诱变效应明显。VM1 代 2 个宝巾品种的变异类型主要表现为叶性状的变异,分别为叶绿素缺失、畸形叶和大型叶(突变株的叶面积平均指数大于对照水平)3 种类型。其中,畸形叶是主要的类型,在 2 个品种的变异株中占有较大比例,宝巾诱变群体中未见大型叶出现。

表 1 宝巾 VM1 代的诱变效应

辐射剂量/Gy	扦插数/条	存活数/条	存活率/%	叶性状变异及其数量/个		变异数/个	变异率/%
				叶绿素缺失	畸形叶		
0	94	78	82.98	0	0	0	0
50	95	78	82.10	0	13	13	16.67
100	99	83	83.84	8	15	23	27.71
150	95	67	70.53	15	26	41	61.19
200	85	0	0.00	0	0	0	0.00

2.2 辐射剂量水平与存活率、变异率的相关性分析

由表 2 可知,扦插条存活率随剂量的增加而下降,根据趋势线计算其回归方程为 $y = -0.4098x +$

85.176 , $R^2 = 0.9898$, $F = 290.083^{**}$, $P < 0.001$,可知毛宝巾扦插条的存活率和剂量呈极显著线性负相关,由此计算其半致死剂量(LD₅₀)约为 86 Gy。而

当小于 150 Gy,宝巾的存活率在 70.53%~83.10%窄幅变化,存活率与剂量呈较弱的负相关;在 150~200 Gy,存活率出现较大变化,从 70.53%降至 200 Gy 剂量水平的 0%,此区间存活率和剂量呈明

显的负相关(表 1)。因此,在后续试验中可以考虑在此剂量范围内梯度取值,以确定宝巾的适宜诱变剂量。根据以上分析,可知 2 个宝巾品种在同一剂量水平下对辐照的敏感程度:毛宝巾要高于宝巾。

表 2 毛宝巾 VM1 代的诱变效应

辐射剂量/Gy	扦插数/条	存活数/条	存活率/%	叶性状变异及其数量/个			变异数/个	变异率/%
				叶绿素缺失	畸形叶	大型叶		
0	91	74	81.32	0	0	0	0	0.00
50	97	66	68.04	3	50	2	55	83.33
100	96	44	45.84	1	34	7	42	95.45
150	97	25	25.77	0	24	1	25	100.00
200	95	0	0.00	0	0	0	0	0.00

对辐射剂量与变异率进行相关性分析,2 个宝巾品种在小于 150 Gy 的剂量范围内,其变异率和剂量各呈一定程度的正相关。由于毛宝巾对辐照敏感性强,即使在低剂量条件下,也能获得较高的变异群体。在 50~150 Gy 的剂量水平上,随着剂量的增加,变异率也逐渐增大,但增幅趋缓,变异率在 83.33%~100%变化,这可能与随着剂量的增加导致的致死突变相应增加有关。而宝巾在小于 150 Gy 剂量范围内辐照敏感性弱,形成的变异群体较小,变异率最高至 61.19%,此范围内剂量和存活率呈正相关变化,形成的致死株也较少,而 200 Gy 水平以上为完全致死剂量。在同一剂量水平下,毛宝巾的变异率要远远高于宝巾。

2.3 各辐射剂量水平下 VM1 代的生长情况和变异类型

各辐射剂量水平下,VM1 代 2 个宝巾品种的生长受抑制程度存在较大差异,毛宝巾的长势明显弱于对照(图 1),宝巾的长势和对照无明显变化,其区别主要在叶片的变异(图 2)。50 Gy 剂量水平下,毛宝巾的生长受到一定抑制,大部分能萌发出初生枝,少部分叶片颜色暗绿,叶边缘缺刻、卷曲,叶表面出现皱缩;宝巾则出现少量的黄化叶,其他未见异常,

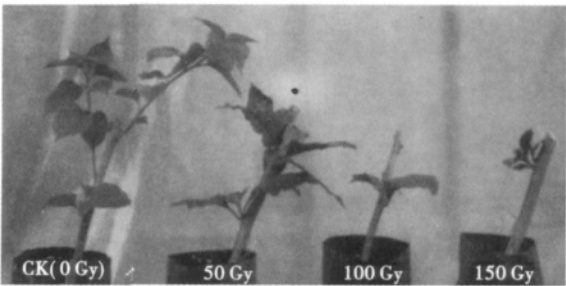
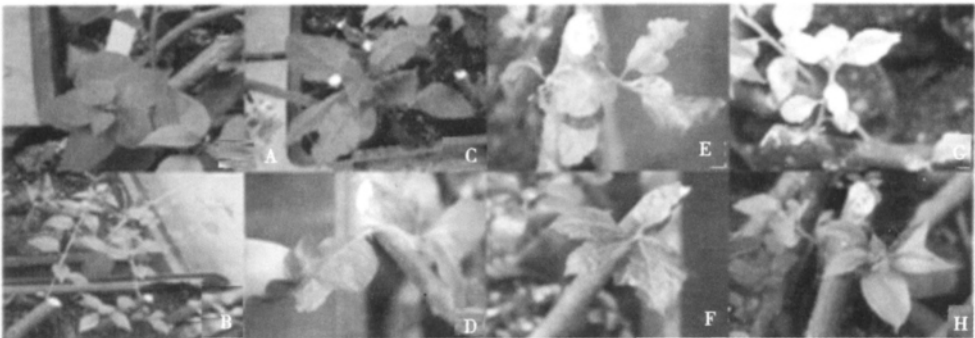


图 1 不同剂量下毛宝巾的长势情况

且能抽出初生枝。100 Gy 剂量水平下,毛宝巾绝大部分不能萌发出初生枝,仅从生长点抽出 2~3 片叶,簇生状,叶色暗绿或暗紫,同样出现叶片缺刻、皱缩、卷曲等特征,少量突变株有大型叶出现(叶型指数大于对照);宝巾的长势没有受到明显抑制,有初生枝,少部分突变株出现黄化叶和叶边缘缺刻。150 Gy 剂量水平下,毛宝巾生长受到较大抑制,全部存活株不能萌发出初生枝,叶色褐绿,生长点抽出 2~3 片叶呈簇生状,长时间不能恢复长势,甚至出现死亡,同样有叶边缘缺刻、卷曲,皱缩等特征;宝巾的生长受到一定程度抑制,但能萌发出初生枝,长势弱于对照,叶色暗绿,有较多植株出现黄化叶,少部分初生枝有叶缘缺刻特征。



A. 母本(*B. spectabilis*); B. 母本(*B. glabra*); C. 大型叶,叶边缘缺刻(*B. spectabilis*); D. 叶卷曲(*B. spectabilis*); E. 叶残缺(*B. glabra*); F. 叶皱缩(*B. spectabilis*); G. 黄化叶类型 1(*B. glabra*); H. 黄化叶类型 2(*B. spectabilis*)

图 2 2 个宝巾品种诱变株(C—H)VM1 代的叶片变异性状

3 结论与讨论

3.1 不同宝巾品种对辐射敏感性的差异

在同一剂量范围内,从 2 个宝巾品种的存活率、突变频率以及 VM1 代的生长受抑制程度来衡量,毛宝巾的辐射敏感性要远远高于宝巾,宝巾的辐射敏感剂量区域应在 150~200 Gy,这还需要重新设计剂量梯度进行研究,以选择其合适的诱变剂量。在对其他植物的辐射敏感性研究中,研究人员也得到了品种间辐射敏感性差异的结论^[14-15],明确品种的辐射敏感性有助于确定合适的诱变剂量。关于品种间辐射敏感性差异的原因,有研究表明:辐照引起细胞膜系统损伤,使其选择透性发生改变或破坏,细胞间的物质转移发生紊乱,认为生物细胞膜结构的差异是辐照敏感性不同的原因之一^[16];同一物种不同品种或突变体之间敏感性的差异也可归之于遗传结构的差异、细胞修复能力的差异和代谢过程的差异,可从品种的遗传性和生理性两方面得到解释^[5]。

3.2 宝巾品种合适剂量的选择

对于植物诱变育种中合适剂量的选择,研究人员一般以半致死剂量(LD_{50} ~ LD_{60})作为合适剂量的选择标准^[17]。本研究以毛宝巾存活率和剂量的相关性曲线,建立线性回归方程,得出其半致死剂量(LD_{50})为 86 Gy,虽然只是一个理论值,但可在实际研究中找到佐证。研究中发现剂量水平超过 100 Gy,毛宝巾的生长点很难萌发初生枝,大部分变异株的生长点仅有簇生状的叶片,世代繁殖和变异性状分离的研究很难进行下去。相反,50 Gy 剂量水平下,毛宝巾能够保持一定的存活率和变异率,且有初生枝萌发(VM1 代),能够保持世代繁殖的可能性,所以介于 50 Gy 和 100 Gy 之间的这个理论值有一定的实践基础。综合评价来说,对于无性繁殖的植物,剂量水平只有兼顾存活率和变异率,以及世代繁殖的可能性,才是合适的剂量。本研究也确证了半致死剂量的合理性。

3.3 宝巾品种辐照后 VM1 代的变异类型

宝巾品种辐照后 VM1 代的主要变异性状类型为叶性状变异,出现的叶卷曲、叶残缺、叶皱缩、黄化叶等特征与许多植物辐照育种 VM1 代的叶性状变异特征是一致的^[18]。叶性状变异是初步筛选突变株的一个早期的表型特征,说明受辐射的生长点部分细胞或全部细胞的遗传物质已经发生了变异,这可以帮助研究人员及时采取技术措施对突变点进行性状分离,以保持优势突变继续发育生长。

本研究对辐射处理后宝巾品种的 VM1 的生物

学效应作了初步研究,为宝巾属的辐射育种提供了重要的技术指标参考。对于世代繁殖中突变体的性状分离,以及突变体发育方向(如是否会引起花色、花型方面的变化)则是今后的主要研究内容。

参考文献:

- [1] 中国科学院华南植物研究所. 广东植物志(第 2 卷)[M]. 广州:广东科技出版社,1998:106-107.
- [2] 周群. 中国叶子花属植物种质资源及其繁殖技术研究[J]. 中国农学通报,2008,24(12):321-324.
- [3] 陈涛. 叶子花[M]. 北京:中国农业出版社,2008:1-6.
- [4] 吴刘萍,陈迎辉. 我国九重葛资源多样性及其园林应用[J]. 湖南林业科技,1999,26(1):71-72.
- [5] 徐冠仁. 植物诱变育种学[M]. 北京:中国农业出版社,1996:100-110.
- [6] 赵慧茹,押辉远,谷运红,等. ^{60}Co γ 辐照对小麦反转录转座子 WIS2-1A 表达活性的影响[J]. 河南农业科学,2009(3):20-23.
- [7] 赵春芝,罗建新,张建成,等. 植物诱变新技术在小麦育种上的应用[J]. 现代农业科技,2010(21):86-88.
- [8] 喻吉生,宋富根,欧阳享决,等. 辐照在农作物新品种选育上应用研究[J]. 现代农业科技,2009(22):61.
- [9] 段智英,杨致荣. 激光对苦荞陈种子萌发和生长的影响[J]. 山西农业科学,2010,38(2):28-30.
- [10] 张宾,段智英,杨苗. He-Ne 激光辐照对小麦陈种子萌发影响的研究[J]. 天津农业科学,2011,17(2):110-112.
- [11] 陈静,胡晓辉,苗华荣,等. ^{60}Co γ 射线辐照花生种子后代的 SSR 分析[J]. 华北农学报,2010,25(3):68-72.
- [12] 程志锋,杨文香,刘大群. ^{60}Co γ 射线与 EMS 对小麦近等 TcLr10 的复合诱变[J]. 华北农学报,2008,23(增刊):92-95.
- [13] 马爽,李文建,周利斌,等. 观赏植物诱变育种的研究现状和展望[J]. 核农学报,2007,21(4):378-382.
- [14] 张瑞勋,冯水英,祁永斌,等. 不同作物品种对 Co^{60} - γ 射线的辐照敏感性[J]. 中国农学通报,2008,24(8):266-269.
- [15] 马建中,鱼红斌,伊虎英. 中国北方主要牧草品种的辐射敏感性与辐射育种适宜剂量的探讨[J]. 核农学报,1997,18(3):101-105.
- [16] 廖飞雄,潘瑞炽. Co^{60} - γ 射线射心种子对苗期细胞膜及保护酶活性的影响[J]. 核农学报,2001,15(5):286-289.
- [17] 王丹,任少雄,苏军,等. 核技术在观赏植物诱变育种上的应用[J]. 核农学报,2004,18(6):443-447.
- [18] 陈学君,李文建,陈婧,等. 不同剂量重离子辐照玉米自交系的生物学效应比较[J]. 原子核物理评论,2008,25(2):176-181.