



易立飒, 李文锋, 崔之益, 等. ^{60}Co - γ 辐照对广宁红花油茶种子发芽及幼苗生长的影响[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(5): 93-97.

^{60}Co - γ 辐照对广宁红花油茶种子发芽及幼苗生长的影响

易立飒, 李文锋, 崔之益, 奚如春

(华南农业大学 林学院/广东省森林植物种质创新与利用重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】给广宁红花油茶 *Camellia semiserrata* 辐射诱变育种提供理论和技术参考, 以便进一步改良广宁红花油茶种质资源。【方法】用不同剂量的 ^{60}Co - γ 射线辐照广宁红花油茶干种子, 对种子萌发和幼苗生长受到的影响进行研究。【结果和结论】辐照处理后种子发芽率和幼苗成活率降低, 10~90 Gy 的辐照剂量与幼苗死亡率呈极显著正相关, 广宁红花油茶的辐射半致死剂量为 47 Gy。辐照后幼苗苗高、地径生长也受到不同程度的抑制作用, 并有部分幼苗产生了少量分枝, 但幼苗还没有出现明显的畸形形态。

关键词: 广宁红花油茶; ^{60}Co - γ 辐照; 诱变育种

中图分类号: S722.35

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2014)05-0093-05

Effects of ^{60}Co - γ ray irradiation on the seed germination and seedling growth of *Camellia semiserrata*

YI Lisa, LI Wenfeng, CUI Zhiyi, XI Ruchun

(College of Forestry, South China Agricultural University/Guangdong Key Laboratory for Innovative Development and Utilization of Forest Plant Germplasm, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】This study aimed to provide theoretical foundation and technical procedures of radiation mutation breeding for *Camellia semiserrata* and to improve the germplasm resource of this species.【Method】Different doses of ^{60}Co - γ ray irradiation were applied to the dry seed of this species, and the effects on seed germination and seedling growth were investigated.【Result and conclusion】Seed germination rate and seedling survival rate were reduced after irradiation treatment. Extremely significant positive correlation existed between irradiation and seedling mortality in the range of 10–90 Gy dose. The half lethal dose of radiation of the test samples was 47 Gy. The inhibition effect on seedling height and its ground diameter growth was found after different irradiations, and some seedlings produced a few branches. However, no obvious deformity in the seedling morphology is found.

Key words: *Camellia semiserrata*; ^{60}Co - γ radiation; mutation breeding

广宁红花油茶 *Camellia semiserrata*。又名红花油茶、南山茶, 是山茶科 Theaceae 山茶属 *Camellia* 常绿乔木, 因其模式标本采自广东省广宁县, 故名广宁红花油茶。该树种树形、花、果优美, 是优良木本油料和

观赏景观树种, 其经济、社会和生态效益较好, 综合开发利用价值较高^[1]。

辐射诱变育种技术对农业生产发展和现代化建设起到了重要推动作用^[2], 它可提高基因突变率、打

收稿日期: 2013-02-21 优先出版时间: 2014-07-17

优先出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20140717.0922.044.html>

作者简介: 易立飒 (1989—), 女, 硕士研究生, E-mail: seagarden@yeah.net; 通信作者: 奚如春 (1963—), 男, 教授, 博士, E-mail: xirc2006@scau.edu.cn

基金项目: 广东省林业科技创新专项 (2012KJCX011-02); 广东省自然科学基金团队项目 (9351064201000002)

破性状连锁和促进基因重组,创造出自然界没有或少有的类型或性状,具有育种时间短并能在保持某个品种多数优良性状的基础上改善一两个不良性状的特点^[3-4],辐射诱变育种技术在生产应用中取得了可喜成就^[5].然而油茶辐射育种技术的应用报道甚少,文献多为油茶种子、插条以及花粉的⁶⁰Co- γ 辐射育种试验^[4-6],以及以油茶干种子为辐照材料,探究了辐射对幼苗同工酶活性的影响^[7].而广宁红花油茶种质创制技术研究鲜见报道.

广宁红花油茶自20世纪80年代开始得到了一定程度的应用推广.目前南方各省区营建了近万亩推广示范林.特别是近几年来,该树种的发展已引起华南区域内的高度重视,已成为各地营造经济林、风景林和防护林的主要树种之一.然而,由于广宁红花油茶幼龄期长,树体高大采果困难,果皮过厚,鲜果出籽率太低,主要经济性状差异明显,致使目前广宁红花油茶的经营保存面积骤减.本文采用⁶⁰Co- γ 辐照技术,以其干种子为材料,测定分析经辐照后其种子萌发和幼苗生长等性状指标的变化,以期探索获得最佳育种辐射剂量,并选择辐射诱变的特异目标个体,为广宁红花油茶更深入的种质创制提供理论和技术指导.

1 材料与方法

1.1 钴源

广州华大生物科技有限公司的⁶⁰Co- γ 射线源,辐照剂量率0.7 Gy/min.

1.2 预备试验

于2011年10月下旬采集广东省广宁县的广宁红花油茶球果,在室内经自然风干脱粒得其干种子.选用网袋分别盛装标记,0~5℃冰箱冷藏备用.2012年1月进行预备辐照试验,设置0(空白对照)、10、20、30、40、50、60、70、80、90 Gy等10个辐照剂量,每个剂量设3个重复,每个重复辐照100粒种子.辐射

后种子按不同处理分别播于培养皿内,底部加3层滤纸,定时喷水保持湿润,置于恒温培养箱中催芽,培养温度设为(26±1)℃.种子开始萌发时,每3 d记录1次萌发种子数,并将萌发种子种植入育苗容器袋(8 cm×12 cm),置于温室大棚培养,常规管理.2012年5月统计幼苗成活率.

1.3 辐照试验

于2012年10月下旬按照预备试验的方法进行种子采集与处理,并根据2011年预备辐照的试验结果,设置0(对照)、10、20、30、40、50 Gy 6个辐照剂量,每个剂量设3个重复,每个重复辐照100粒种子.辐照后种子采用温水浸种4 h,然后按不同辐照剂量分别播于沙床中催芽(沙床上加盖拱膜保持水分和温度),经常检查水分及种子情况.种子经1个月的沙床催芽,具有活力的种子种胚基本破壳,观察记载种子胚根和胚芽特征后,将萌发种子植入容器袋(8 cm×12 cm),置于温室大棚培养,常规管理.每5 d统计1次萌发种子数直至齐苗.

1.4 幼苗生长指标及测定方法

每月按时观察记录各处理所有幼苗的分枝数等形态指标,并从每个辐照剂量处理中随机选取15株幼苗,测定苗高、地径.3月末,幼苗第1、2片真叶完全展开时,从每个辐照剂量处理中随机选取30片叶测定叶长、叶宽.

1.5 数据分析与处理

采用Microsoft Excel 2003整理数据和制图;以SPSS 17.0软件进行方差分析,多重比较采用Duncan's 检验法.

2 结果与分析

2.1 辐照对种胚形态的影响

辐照后萌发种子的种胚形态见图1.由图1可看到,在经10~90 Gy辐照剂量处理后,种胚形态特征表现出差异性,30 Gy以下低剂量辐照后的幼胚形态

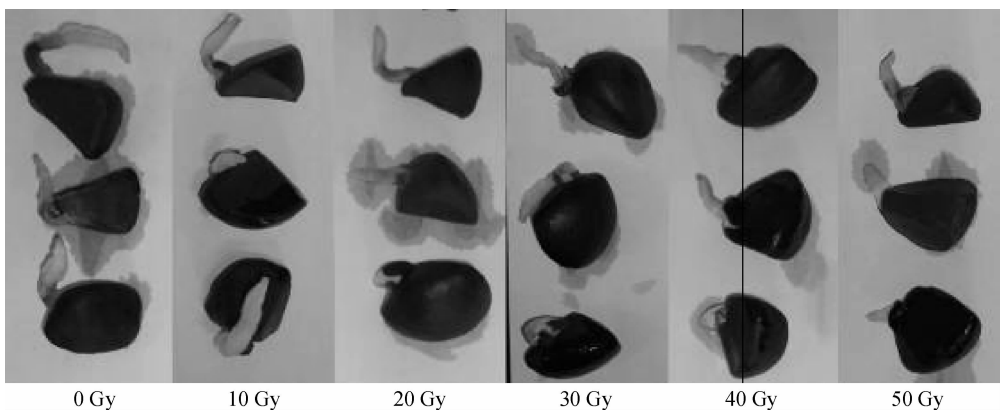


图1 不同辐照剂量下的种胚形态

Fig. 1 Effects of irradiation doses on the shape of seed embryo

与对照基本相似,其胚根长出后,根毛区较长,幼胚表面有绒毛,种胚活性良好;经40 Gy 剂量辐照后,种子部分幼胚已变粗变短;到50 Gy 辐照剂量时,种胚出现钝化,胚根伸长量总体变小,根毛区变短,幼胚明显变得肥大且表面绒毛减少,种子萌发数量显著减少,种胚死亡数量增多.在60 Gy 以上剂量后,只有少量种子露出胚点,但基本没有生活力.说明广宁红花油茶种子在经40 Gy 以上的剂量辐照后,其种胚已受损并可能导致胚根畸形.

2.2 半致死辐照剂量确定

本文采用的半致死辐照剂量(LD₅₀)为辐射后种子成苗率为50%时的辐照剂量.以对照组的苗木死亡率标定为0,其他处理的苗木死亡率折合为相对死亡率进行比较,相对死亡率=(对照处理成苗数-各处理剂量的成苗数)/对照处理成苗数,分析结果见表1,辐射剂量与致死率的拟合结果见图2.由图2可看出,其死亡率和辐照剂量间表现极显著的正相关性,拟合方程为 $Y=0.0003X^3-0.0447X^2+2.35X+3.8257$ (Y 为辐射剂量, X 为相对死亡率; $R^2=0.9832$).从拟合方程中可求得,当 $X=50$ (即幼苗相对死亡

表1 幼苗死亡率统计

Tab.1 Seedling mortality statistics

辐射剂量/Gy	幼苗成活数量	相对死亡率/%
90	1	96.67
80	1	96.67
70	3	90.00
60	5	83.33
50	14	53.33
40	23	23.33
30	25	16.67
20	27	10.00
10	29	0
0	29	0

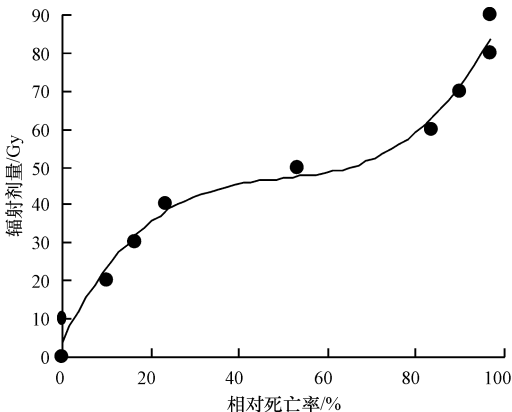


图2 辐照剂量与幼苗死亡率的相关性

Fig.2 The correlation between irradiation dose and seedling mortality

率为50%)时, $Y=47.07$,即LD₅₀约为47 Gy.

2.3 辐照对种子发芽率的影响

不同剂量辐照后种子发芽进程分析结果见图3.在0~50 Gy 剂量间,经不同剂量辐射后,种胚萌发的开始时间和发芽进程基本一致,供试种子于2013年1月开始萌发,4月上旬种子萌发趋于稳定或停止.但辐照组种子发芽时间不如对照组集中,部分种子在随后30~60 d 内还有萌发出土.

4月份种子萌发趋于稳定或停止时,统计得到0、10、20、30、40和50 Gy 处理的种子发芽率分别为24.00%、22.33%、21.33%、22.33%、22.00%和10.67%,可见,随辐照剂量增加,发芽率出现下降趋势,说明辐照会影响种胚活力和发芽率.但在40 Gy 以下的各辐照剂量内,种子发芽率虽比对照组低,但变化不大,说明在40 Gy 以下的辐照剂量还未影响到种子胚性的改变.然而当辐照剂量增大到50 Gy 时,辐照种子的发芽率急剧下降,其下降幅度已达50%以上,说明50 Gy 以上的辐照剂量已导致其胚性的改变,从而降低了种子的发芽率.如果按种子发芽率的50%来确定其半致死剂量,与“2.2”中根据种子成苗率确定的半致死剂量相吻合,因此广宁红花油茶的辐射半致死剂量可确定为47 Gy.

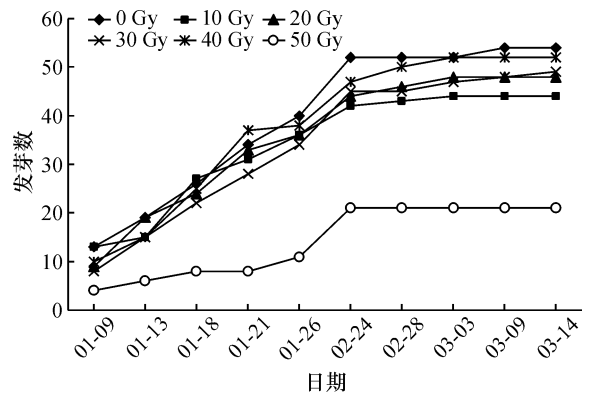


图3 不同辐照处理的种子发芽进程

Fig.3 Seed germination with different irradiation doses

2.4 辐照对幼苗成活率的影响

图4为经不同辐照剂量处理后的幼苗成活率.由图4可看到,0、10、20、30、40和50 Gy 辐照剂量的幼苗成活率分别为18.33%、16.00%、17.33%、18.00%、17.00%和7.00%.由此可见,0、10、20、30和40 Gy 辐照剂量处理的种子,其幼苗成活率差别不大;但50 Gy 辐照剂量处理的种子,其幼苗成活率急剧下降,不及其他处理剂量的50%.

幼苗成活率与种子发芽率在不同辐照剂量下的变化趋势基本一致,在0、10、20、30、40、50 Gy 辐照剂量下,两者之比分别为76.39%、71.64%、81.25%、

80.60%、77.27%和65.63%。说明幼苗成活率与种子发芽率之比受辐照处理的影响不大,20、30和40 Gy 3个处理甚至稍大于对照,表明广宁红花油茶种子自然成苗率较低,辐照对发芽种子胚芽的继续发育没有明显的抑制作用。但观察发现辐照后有个别弱小幼苗会自然枯死,枯死主要发生在两片真叶伸展后不久,幼苗弱小且生长缓慢,然后枯萎死亡。

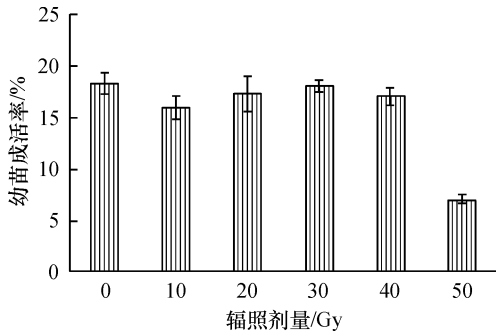
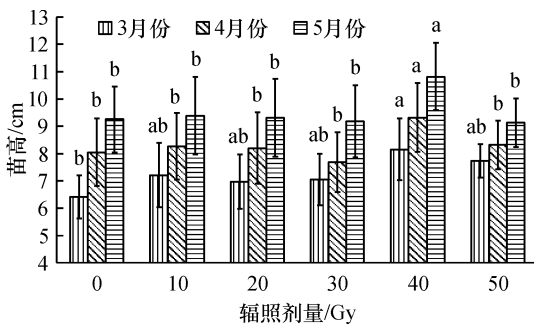


图4 辐照对幼苗成活率的影响

Fig. 4 Effects of irradiation doses on the seedling survival rate

2.5 辐照对幼苗生长性状指标的影响

2.5.1 对苗高的影响 图5为2013年3—5月平均苗高的变化特征。由图5可看出,3月份0、10、20、30、40和50 Gy辐照剂量下的平均苗高分别为6.42、7.21、6.97、7.05、8.15和7.74 cm,辐照组苗高较对照组均有增加,且40和50 Gy处理组的苗高最大;4月份0、10、20、30、40和50 Gy处理组的平均苗高分别为8.05、8.27、8.20、7.69、9.32和8.32 cm,其中30 Gy处理组比对照小,其他处理组的苗高仍大于对照,40 Gy处理组的苗高仍最大;5月份0、10、20、30、40和50 Gy处理组的平均苗高分别为9.25、9.39、9.32、9.19、10.82和9.13 cm,其中10、20和40 Gy处理组的苗高比对照增加了1.5%、0.7%和17.0%,30和50 Gy处理组的苗高比对照减少了0.6%和1.3%,40 Gy处理组苗高仍最大。说明辐照可一定程度上促进苗木的高生长。



相同月份中,凡柱子上方具有一个相同小写字母者,表示相同月份不同剂量处理间差异不显著(Duncan's法, $P > 0.05$)。

图5 辐照对苗高的影响

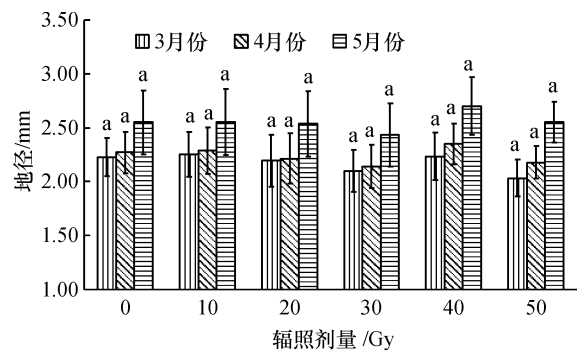
Fig. 5 Effects of irradiation doses on the seedling height

<http://xuebao.scau.edu.cn>

方差分析表明:3月份不同剂量处理的苗高差异不显著($F = 1.33, P > 0.05$),4月份40 Gy剂量处理组的苗高与其他处理组差异显著($F = 4.21, P < 0.05$),5月份40 Gy剂量处理组的苗高也与其他处理组差异显著($F = 4.62, P < 0.05$)。

2.5.2 对幼苗地径的影响 图6为2013年3—5月幼苗平均地径的变化特征。由图6可看出,3月份0、10、20、30、40和50 Gy辐照剂量下的平均地径分别为2.23、2.26、2.20、2.10、2.24和2.03 mm,10和40 Gy处理组的地径比对照大,20、30和50 Gy处理组比对照小,且地径随辐照剂量的增加而减小(40 Gy除外);4月份0、10、20、30、40和50 Gy处理组的平均地径分别为2.27、2.29、2.21、2.14、2.35和2.18 mm,同样是10和40 Gy处理组的地径比对照大,20、30和50 Gy处理组比对照小,不同剂量之间地径的差异变小,40 Gy处理组的地径最大;5月份0、10、20、30、40和50 Gy处理组的平均地径分别为2.55、2.55、2.54、2.44、2.70和2.55 mm,不同剂量之间地径的差异进一步变小,但10~30 Gy处理组的地径仍随剂量的增加而减小,40 Gy处理组的地径仍然最大,50 Gy处理组的地径生长变快。

方差分析表明,每个处理剂量之间每月地径生长差异均不显著。



相同月份中,凡柱子上方具有一个相同小写字母者,表示相同月份不同剂量处理间差异不显著(Duncan's法, $P > 0.05$)。

图6 辐照对幼苗地径的影响

Fig. 6 Effects of irradiation doses on the seedling ground diameter

2.5.3 对幼苗形态特征的影响 表2为幼苗完全展开的成熟真叶的平均叶长、叶宽及长宽比例。由表2可看出,随着辐照剂量的增加,叶片长、宽及叶片长宽比例均有变大的趋势,说明辐照组幼苗叶片变大,形状变狭长,但变幅不大,叶片外部形态观察不到显著的变化。叶片形状、叶色、叶缘锯齿形状、叶脉形态等没有明显的变化,也没有出现叶片畸形等常见的辐照反应,说明本试验的辐照剂量对叶片没有致畸作用。

调查发现,辐照处理的幼苗在根颈部位会萌生分枝,通常1~3根不等,试验中经辐射处理的少量

幼苗植株基部有1~4枝萌条,但由于幼苗生长时间短,辐照对幼苗萌条的影响还有待观察.另外,辐照组幼苗与对照相比,幼苗分枝形态、芽形态、茎颜色等外部形态,均未观察到显著的变化.

表2 辐照对叶长、叶宽和长宽比的影响¹⁾

Tab.2 Effects of irradiation doses on the leaf shape

剂量/Gy	叶长/cm	叶宽/cm	叶长宽比
0	7.26 ± 1.65a	3.44 ± 0.74a	2.11 ± 0.29a
10	8.12 ± 1.60a	3.77 ± 0.75a	2.15 ± 0.26a
20	7.30 ± 1.77a	3.45 ± 0.97a	2.12 ± 0.31a
30	7.14 ± 1.76a	3.46 ± 0.87a	2.06 ± 0.22a
40	8.10 ± 1.87a	3.69 ± 0.90a	2.19 ± 0.23a
50	7.74 ± 1.76a	3.52 ± 0.88a	2.20 ± 0.27a

1) 表中数据为观测数据的平均值 ± 标准误,同列数据后凡是有有一个相同小写字母者,表示差异不显著(Duncan's法, $P > 0.05$).

3 讨论与结论

辐照能改变种胚形态,过高的辐照剂量(40 Gy以上)会损伤种胚导致种胚畸形,表现为胚根变粗变短,种胚表面变光滑,根毛分布区变短.浙江省林业科学研究所营林室油茶组^[6]以及黄永芳等^[7]研究发现,较高剂量的辐照会导致胚根肥大无毛,失去发芽能力,称为“肥根”现象.这是由于过高剂量的辐照抑制了种胚分生细胞的有丝分裂,细胞分裂受阻仅发生分生细胞液泡化和伸长,胚突破种皮造成假萌发现象^[6-7].

不同剂量辐射后,种子萌发的开始时间和发芽进程基本一致.但辐照降低了种子发芽率,10~40 Gy处理的种子发芽率降幅不大,50 Gy处理的发芽率则不及其他处理的50%.另外,辐照可推延种子的发芽时间,受辐照的部分种子在正常发芽高峰期过后还陆续发芽,但个别弱小的幼苗随后会自然枯死.这与曹达人^[8]、周巨根^[9]的研究结论一致,在10~40 Gy剂量范围内,其成苗率并没有随辐照剂量的增大而减小.

小于40 Gy的辐照剂量能促进幼苗生长,但50 Gy的剂量则起抑制作用.张悦等^[10]研究指出,辐射对五味子幼苗生长初期的抑制作用并不明显,但二三个月后的幼苗生长受阻现象才突现,而李志军^[11]认为,辐照对紫薇幼苗初期生长表现出明显的抑制作用.一般认为辐照对植物生长普遍有抑制作用,但抑制效应会因植物种类的不同而异,抑制作用的表现时间或影响部位也不同.本研究表明,辐照处理对幼苗初期生长的抑制作用也并不明显,辐照常有的

致畸作用在广宁红花油茶幼苗形态上没有明显出现.这可能因为幼苗生长期较短,辐照效应未能表达.相关研究也有指出,某一高剂量可轻微促进幼苗初期生长,并认为这是因为辐照使细胞分裂受到抑制,但细胞死亡率反而较低剂量为少^[12].至于40 Gy的辐照剂量对广宁红花油茶幼苗初期生长始终表现出较强的促进作用,还有待进一步研究.

有研究认为辐射剂量和生长量成负相关,一般可采用生长量为对照的70%,或采用植株成活率50%的剂量来确定其半致死剂量^[12].本文依据植株成活率的50%来判断,得出广宁红花油茶种子的⁶⁰Co-γ射线辐照半致死剂量为47 Gy.但实际操作中种子含水量、辐射材料生理状态、辐照条件、剂量率、辐照前后处理、种植条件等都会影响诱变效果.邹德炎^[13]提出,茶树种子的适宜辐射剂量,应当依据其萌动状态、照射后第1年的茶苗突变频率和二三年内茶树生长表现来确定,且茶树是多年生植物,照射的作用不会在1年内充分表现出来,而是在二三年内才能看出辐照效果.因此,广宁红花油茶的辐射育种技术有待进一步研究.

参考文献:

- [1] 庄瑞林. 中国油茶[M]. 2版. 北京:中国林业出版社, 2008:71-72.
- [2] 陈子元. 从辐射育种的发展来展望航天育种的前景[J]. 核农学报, 2002, 16(5):261-263.
- [3] 张小静,陈富. 辐射育种及其在马铃薯育种中的应用前景[J]. 现代农业科技, 2008(13): 14-17.
- [4] 张日清,丁植磊,张勘,等. 油茶育种研究进展[J]. 经济林研究, 2006, 24(11): 1-8.
- [5] 黄欣,张乃燕,马锦林,等. 我国油茶品质育种研究进展与展望[J]. 广西林业学, 2010, 39(4):235-238.
- [6] 浙江省林业科学研究所营林室油茶组. 油茶辐射育种试验初报[J]. 浙江林业科技, 1976(4):35-39.
- [7] 黄永芳,袁中桂,钟伟良,等. 油茶种子辐射对幼苗两种同工酶活性的影响[J]. 经济林研究, 2009, 27(2):85-87.
- [8] 曹达人. 茶树的辐射育种[J]. 中国茶叶, 1982(2):29-31.
- [9] 周巨根. 茶树辐射育种研究:第I报:Co⁶⁰-γ射线对茶籽的辐射效应[J]. 福建茶叶, 1984(2):13-18.
- [10] 张悦,徐海军,魏殿文. 五味子辐射育种初报[J]. 国土与自然资源, 2009(3):90-91.
- [11] 李志军. 紫薇辐射育种初探[J]. 现代园艺, 2009(8):88-89.
- [12] 徐冠仁. 植物诱变育种学[M]. 北京:中国农业出版社, 1996:111-112.
- [13] 邹德炎. 茶树辐射育种的几个问题的探讨[J]. 湖北农业科学, 1981(9):31-33.

【责任编辑 李晓卉】

<http://xuebao.scau.edu.cn>