

东方百合组培芽增殖阶段⁶⁰Co γ 射线 辐射效应研究

王 丹^{1,2}, 张冬雪^{1,*}, 张志伟^{1,2}

(1. 西南科技大学 生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010;
2. 核废物与环境安全国防重点学科实验室, 四川 绵阳 621010)

摘要:采用⁶⁰Co γ 射线辐照东方百合鳞片, 组培后以其诱导的不定芽进行增殖培养, 对芽 3 次增殖过程中的辐射效应进行研究。试验结果表明, 辐照明显影响芽的增殖, 但随增殖次数的增加, 芽增殖数和芽增殖率受辐照因素的影响明显降低。在第 1 次增殖期, 辐照对芽增殖的影响表现为抑制作用, 这种现象在高剂量辐照时表现得更加明显; 在第 3 次增殖期, 辐照对芽增殖的抑制作用已消失, 但芽的生理状态仍处于损伤修复作用的末期。辐照剂量对不同培养基上接种不同部位鳞片产生的不定芽蛋白质、MDA 含量有不同影响。

关键词: ⁶⁰Co γ 射线辐照; 东方百合; 不定芽; 增殖; 辐射效应

中图分类号: S603.6; Q142.6

文献标志码: A

文章编号: 1000-6931(2009)01-0071-06

Effect of ⁶⁰Co γ-ray Radiation on Bud Proliferation of Oriental Lily Scales Cultured *in vitro*

WANG Dan^{1,2}, ZHANG Dong-xue^{1,*}, ZHANG Zhi-wei^{1,2}

(1. Life Science and Engineering College, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China; 2. National Defence Key Subject Laboratory in Nuclear Waste and Environment Security, Mianyang 621010, China)

Abstract: The effects of ⁶⁰Co γ-ray radiation on the bud proliferation of the oriental lily scales cultured *in vitro* were studied. The results show that the irradiation significantly inhibits bud proliferation, but the effects of radiation on the number of bud proliferation and the bud proliferation rate are obviously depressed along with the increasing of times of bud proliferation. The effect of radiation on the bud proliferation is repressive during the first time of bud proliferation and the effect is more significant in the higher radiation dosage treatment. The repressive effect of radiation on the bud proliferation disappears during the third time of bud proliferation, but the physiologic status is in the telophase of the damage repair action. The contents of protein and MDA of the bud were

收稿日期: 2007-08-06; 修回日期: 2007-10-10

基金项目: 中国工程物理研究院军民两用技术开发资助项目(200305)

作者简介: 王 丹(1962—), 女, 重庆涪陵人, 教授, 硕士, 园艺植物遗传育种专业

* 通信作者: 张冬雪, E-mail: zhdx1980@126.com

(3) 生理生化指标测定方法

MDA含量测定、蛋白质含量测定均采用参考文献[13]的方法。

(4) 数据分析

数据分析采用 spss11.5 进行方差分析及相关分析。

2 结果与分析

2.1 培养基、外植体和辐照剂量对百合鳞片不定芽增殖的影响

在不定芽增殖过程中,培养基、外植体和辐照剂量对不定芽增殖的影响示于图1。

在第1次增殖阶段(图1a),培养基A2中芽增殖率除对照外其余辐照组均高于培养基A1,且在培养基A2中剂量为0.5~2.0 Gy时芽增殖率均明显高于对照组,仅在辐照剂量超过2.0 Gy后芽增殖率才急剧下降,表明培养基A2在低剂量照射时,可能对芽增殖率有一定的刺激作用。在第3次增殖阶段(图1c),两种培养基上芽增殖率不但变化趋势趋于一致,且芽增殖率本身也基本相等,只是A2中的芽增殖率为2.0~4.0 Gy时略高于培养基A1,说明培养基A2上鳞片诱导芽的生长增殖情况好于培养基A1。

在第1次增殖阶段(图1b),两种外植体的芽增殖率随辐照剂量的变化情况基本一致,均呈现先上升后下降的趋势,且均在1.0 Gy达到最高值,在4.0 Gy达到最低值,但总体是外层鳞片芽增殖率普遍高于中部鳞片,说明外层鳞片的芽在芽增殖阶段生长情况好于中部鳞片。在第3次增殖中(图1d),外层鳞片和中部鳞片芽增殖率差异不大,随辐照剂量的变化趋势也不明显,因此,说明辐照处理对第3次增殖阶段两种外植体的芽增殖率的影响已很弱。

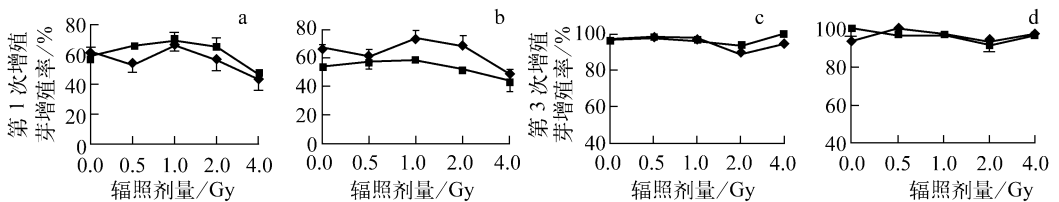


图1 不同培养时间辐照剂量对百合不定芽增殖率的影响

Fig. 1 Effect of radiation dose on bud proliferation rate of lily with different culture time

a, c: ◆——培养基 A1, ■——培养基 A2; b, d: ◆——外植体 B1, ■——外植体 B2

2.2 辐照对增殖芽可溶性蛋白合成的影响

1) ⁶⁰Co γ射线辐照对增殖芽可溶性蛋白合成的影响及随时间的变化规律

对A2培养基接种中部鳞片处理3次增殖阶段百合不定芽蛋白质含量的测定结果列于表2。

表2 辐照对百合增殖芽蛋白质含量的影响

Table 2 Effects of irradiation on soluble protein content of proliferation bud of lily

辐照剂量/ Gy	蛋白质含量/(mg·g ⁻¹)		
	第1次增殖	第2次增殖	第3次增殖
0.0	0.89eE	6.54dC	7.77b
0.5	3.90bB	8.62bA	10.39a
1.0	1.84dD	7.36cB	7.78b
2.0	2.94cC	7.78cB	8.81ab
4.0	5.60aA	9.15aA	8.46b

注:同一栏中,不同大小写字母分别表示差异达0.01和0.05水平,有相同字母表示差异不显著,有不同字母表示差异显著

从表2可看出,在第1次增殖阶段,各辐照组的蛋白质含量极显著高于对照组;不同辐照剂量间蛋白质含量差异达到极显著水平,4.0 Gy组极显著高于其余各辐照剂量组,1.0 Gy组在辐照组中蛋白质含量最低,1.0~4.0 Gy剂量范围内蛋白质含量随辐照剂量升高而升高。蛋白质含量随辐照剂量升高总体呈现升高-降低-升高的趋势。在第2次增殖阶段,各辐照组的蛋白质含量仍极显著高于对照组,变化趋势与第1次增殖阶段相同。

第3次增殖阶段,除0.5 Gy处理外,其余各辐照组的蛋白质含量与对照组差异不显著,各辐照组间的差异也不显著,说明在第3次增

殖阶段辐照引起的损伤效应减轻,辐照剂量间的差异降低,蛋白质含量受辐照影响较前两次增殖阶段明显减弱。

2) 培养基、外植体与辐照剂量间交互作用对第2次增殖芽可溶性蛋白质含量的影响

培养基、外植体与辐照剂量间交互作用对第2次增殖芽可溶性蛋白质含量的影响示于图2。

从图2a中可见,在培养基A1中,0.5~2.0 Gy处理间的蛋白质含量差异不大,与对照也无明显差异。但4.0 Gy处理蛋白质含量明显高于其余4个处理及对照。在培养基A2中,辐照组蛋白质含量均明显高于对照,0.5 Gy时处理呈现峰值,1.0~4.0 Gy时依次升高。总体看,培养基A1中各辐照剂量蛋白质含量均高于培养基A2,其受低剂量(0.5~2.0 Gy)辐照影响不明显,受大于2.0 Gy辐照剂量照射影响显著;培养基A2则反之。

从图2b中可知,两种外植体的不定芽蛋白质含量均随辐照剂量的升高呈现上升-下降-上升的趋势,其中,外层鳞片在1.0 Gy时最低,略低于对照,中部鳞片在2.0 Gy时最低,但略高于对照。对照的外部鳞片蛋白质含量略高于中部鳞片。

从图2c、d中可见,在培养基A1和A2上接种外层鳞片处理的蛋白质含量变化不同。前者表现随辐照剂量升高呈现下降-上升的趋势,0.5~2.0 Gy各处理均低于对照;后者则表现随辐照剂量升高呈现上升-下降-上升的趋势,其中在0.5 Gy时出现高峰,0.5~4.0 Gy各处理均高于对照;在培养基与外植体组成的4个处理中,仅A2外层鳞片中4.0 Gy蛋白质含量表现出下降的趋势,可推测,在第2次芽增殖阶

段,A2外层鳞片处理受辐照损伤较轻,即对辐照承受能力较强,辐射损伤已修复。

从图2c、d看出,在培养基A2中两类外植体芽蛋白质含量随辐照剂量的变化规律基本呈现相同的趋势;在培养基A1上,0~2.0 Gy范围内呈现相反的不变化趋势,在大于4.0 Gy时均呈现上升趋势。培养基A2中蛋白质含量明显低于培养基A1。

同时对外层鳞片,在培养基A2上各辐照剂量间对其芽蛋白质含量的影响不明显,在培养基A1上辐照各剂量间对其芽蛋白质含量的影响明显;对中部鳞片,蛋白含量在两种培养基上的变化基本相同。

2.3 ^{60}Co γ 射线辐照对增殖芽膜脂(MDA)稳定性的影响

1) ^{60}Co γ 射线辐照对增殖芽MDA含量的影响及随时间的变化规律

对A2培养基上接种中部鳞片处理第1、3次增殖的百合不定芽MDA含量的测定结果列于表3。从表3可看出,第1次增殖期间,辐照处理对增殖芽MDA含量的影响均未达到显著水平。除1.0 Gy辐照组外,其余各辐照组的MDA含量均高于对照组。

第3次增殖期间,各辐照组MDA含量极显著高于对照组,其中,1.0 Gy组最高,4.0 Gy组最低,0.5 Gy与2.0 Gy组差异不显著。MDA含量随辐照剂量升高总体呈现先升高后降低的趋势。

从表3可见,在本试验的两个时间段,辐照组的MDA含量都高于对照组,均表现随辐照剂量升高呈现升高-降低的趋势。第3次增殖芽的MDA含量明显低于第1次,说明膜透性损伤修复系统在早期阶段启动,在第3次增

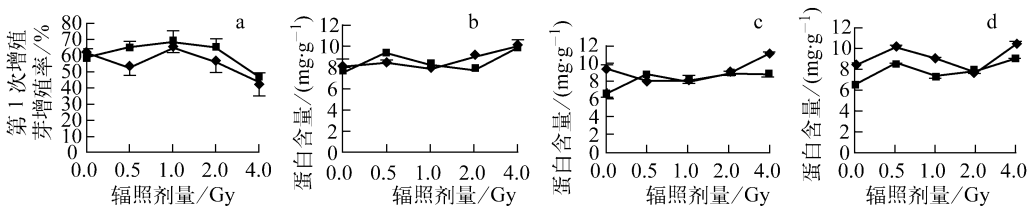


图2 三因素交互作用对百合增殖芽可溶性蛋白含量的影响

Fig. 2 Effects of interactions of three factors on soluble protein content of proliferation bud of lily

a: ◆——培养基 A1, ■——培养基 A2; b: ◆——外植体 B1, ■——外植体 B2;
c: 外植体 B1, ◆——培养基 A1, ■——培养基 A2; d: 外植体 B2, ◆——培养基 A1, ■——培养基 A2

表3 辐照对百合增殖芽MDA含量的影响
Table 3 Effects of irradiation on MDA content of proliferation bud of lily

辐照剂量/Gy	MDA含量/(nmol·g ⁻¹)	
	第1次增殖	第3次增殖
0.0	3.75a	1.56cC
0.5	5.12a	2.17abAB
1.0	3.58a	2.38aA
2.0	5.31a	2.17abAB
4.0	5.22a	1.89bBC

注:同一栏中,不同大小写字母分别表示差异达0.01和0.05水平,有相同字母表示差异不显著,有不同字母表示差异显著。

殖阶段修复作用已处于修复的末期阶段。

2) 培养基、外植体与辐照剂量间交互作用对第3次增殖芽MDA含量的影响

培养基、外植体与辐照剂量间交互作用对第3次增殖芽MDA含量的影响示于图3。

从图3a可见,两种培养基上芽MDA含量随辐照剂量升高均呈现上升-下降的变化趋势,培养基A1上各辐照处理的MDA含量均高于A2培养基。辐照组芽MDA含量明显高于对照组,但辐照组间差异不明显,两条曲线基本上呈现出平行关系,说明培养基与辐照剂量的交互作用对芽MDA含量无显著影响。

从图3b可见,两种外植体上芽MDA含量在0.0~4.0 Gy范围内随辐照剂量升高的变化趋势恰好相反,外植体与辐照剂量的交互作用极显著影响继代芽中MDA含量。两种外植体在0.5 Gy时MDA含量差异最大。

从图3c、d可见,在培养基A2中两类外植体芽MDA含量随辐照剂量的变化规律基本呈

现相同的趋势;在培养基A1上,0.0~4.0 Gy范围内呈现相反的变化趋势。培养基A2中MDA含量明显低于培养基A1。

对外层鳞片,在两种培养基上MDA含量随辐照剂量变化而变化的趋势基本相同。在培养基A1中各辐照组MDA含量明显高于对照,且各辐照组间差异明显;在培养基A2中各辐照组MDA含量与对照差异不大,说明外层鳞片在培养基A1上芽的MDA含量受辐照影响大于培养基A2上的芽。对中部鳞片,在培养基A2上MDA含量随辐照剂量升高呈现升高-下降的变化趋势,在培养基A1上MDA含量随辐照剂量升高呈折线形缓慢上升,说明中部鳞片在两种培养基中的芽受辐照影响后的膜氧化程度不同。

3 结论与讨论

1) 辐照明显影响芽的增殖,但随着增殖次数的增加,芽增殖数和芽增殖率受辐照因素的影响明显降低。在第1次增殖期,辐照对芽增殖的影响表现为抑制作用,这种现象在高剂量辐照时表现得更加明显;在第3次增殖期,辐照对芽增殖的抑制作用已消失。

2) 在第3次增殖期,辐照组增殖芽的蛋白质含量及MDA含量均高于对照组,但与前两次增殖相比,两指标在辐照组与对照组间的差异减小,说明各辐照剂量引起的修复作用在芽第3次增殖阶段仍存在,或其生理状态处于损伤修复作用的末期。

从本试验测定增殖芽的生理指标随时间变化的趋势分析,在本试验辐照剂量0.5~4.0 Gy范围内,各辐照剂量生理指标大致可经历先上升后下降,然后再微升再降,第1阶段上

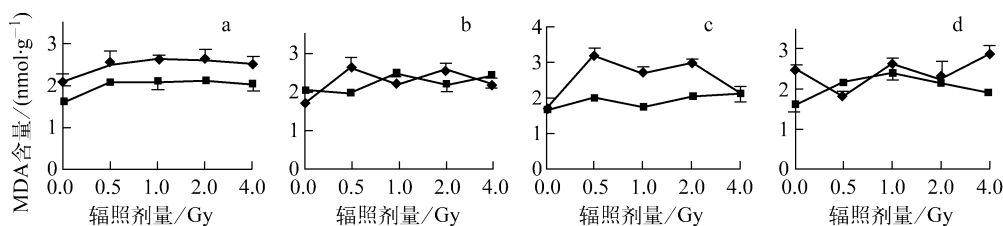


图3 三因素交互作用对百合增殖芽MDA含量的影响

Fig. 3 Effects of interactions of three factors on MDA content of proliferation bud of lily

a: ◆—培养基 A1, ■—培养基 A2; b: ◆—外植体 B1, ■—外植体 B2;
c: 外植体 B1, ◆—培养基 A1, ■—培养基 A2; d: 外植体 B2, ◆—培养基 A1, ■—培养基 A2

升后下降表明损伤修复阶段;第2阶段再微升表明辐射损伤修复后,辐射效应在植物体内的残留效应,或在修复系统全面抵御伤害后,植物体内各系统间的配合效率提高而表现出的刺激效应;第3阶段表明在未引起任何可遗传变异的情况下,长时间的繁衍生长导致辐射效应完全消失。

3) 培养基类型和鳞片外植体所处部位均对辐照处理产生不同效应,表明其是影响百合离体诱变处理过程中辐射敏感性的重要因素。

参考文献:

- [1] DATTA S K, CHAKRABARTY D, MANDAL A K A. Gamma ray-induced genetic manipulations in flower colour and shape in *dendranthema grandiflorum* and their management through tissue culture [J]. *Plant Breeding*, 2001, 120(1): 91-92.
- [2] SINGH K P, SINGH B, RAGHAVA S P S, et al. In vitro induction of mutation in carnation through gamma irradiation [J]. *Journal of Ornamental Horticulture New Series*, 1999, 2(2): 107-110.
- [3] KASUMI M, TAKATSU Y, MANABE T, et al. The effects of irradiating gladiolus (*Gladiolus* × *grandiflora hort*) cormels with gamma rays on callus formation, somatic embryogenesis and flower color variations in the regenerated plants [J]. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 2001, 70(1): 126-128.
- [4] DWIVEDI A K, BANERJI B K, CHAKRABARTY D, et al. Gamma ray induced new flower colour chimera and its management through tissue culture [J]. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 2000, 70(12): 853-855.
- [5] 张克中,赵祥云,黄善武,等. 辐射百合鳞片扦插诱生的不定芽植株变异研究 [J]. *核农学报*, 2003, 17(3): 215-220.
- ZHANG Kezhong, ZHAO Xiangyun, HUANG Shanwu, et al. Variations of adventitious bud plants initiated from cuttings scales of irradiation lily [J]. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 2003, 17(3): 215-220 (in Chinese).
- [6] 陆长甸,黄善武,梁励,等. 辐射亚洲百合鳞茎(M1)染色体畸变研究 [J]. *核农学报*, 2002, 16(3): 148-151.
- LU Changxun, HUANG Shanwu, LIANG Li, et al. The chromosome aberration of the asiatic lily (M1) after irradiation on bulbs [J]. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 2002, 16(3): 148-151 (in Chinese).
- [7] 张冬雪,王丹,张志伟. 离体培养条件对百合鳞片辐射敏感性的影响 [J]. *核农学报*, 2007, 21(3): 224-228.
- ZHANG Dongxue, WANG Dan, ZHANG Zhiwei. Effects of conditions in vitro on the irradiation sensitivity of scales [J]. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 2007, 21(3): 224-228 (in Chinese).
- [8] 刘选明,周朴华,屈姝存,等. 百合鳞片叶离体诱导形成不定芽和体细胞胚 [J]. *园艺学报*, 1997, 24(4): 353-358.
- LIU Xuanming, ZHOU Puhua, QU Shucun, et al. In vitro induction of lily scale and adventitious bud formation and somatic embryogenesis [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 1997, 24(4): 353-358 (in Chinese).
- [9] 张云,原雅玲,刘青林. 百合品种改良与生物技术研究进展 [J]. *北京林业大学学报*, 2001, 23(6): 56-59.
- ZHANG Yun, YUAN Yaling, LIU Qinglin. Proceedings on cultivar improvement and biotechnology in lily [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2001, 23(6): 56-59 (in Chinese).
- [10] 唐东芹,黄丹枫,唐克轩,等. 东方百合鳞片的组织培养 [J]. *植物生理学通讯*, 2003, 39(5): 450-452.
- TANG Dongqin, HUANG Danfeng, TANG Kexuan, et al. Tissue culture of oriental lily from bulb scale [J]. *Plant Physiology Communications*, 2003, 39(5): 450-452 (in Chinese).
- [11] 中国科学院上海植物生理研究所,上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 2004: 294-308, 321-371.
- [12] PANIZZA M, SODI A M, TOGNONI F. Effects of various factors on in vitro propagation of lily *speciosum* thumb and lily *longiflorum* thumb [J]. *Adv Hort Sci*, 1990, 4(2): 103-106.
- [13] 张冬雪,王丹,张志伟. ^{60}Co - γ 射线辐照对东方百合鳞片不定芽诱导的影响 [J]. *北方园艺*, 2007(2): 152-155.
- ZHANG Dongxue, WANG Dan, ZHANG Zhiwei. Effect of ^{60}Co γ -rays radiation on induction of adventitious bud of orient lily scales [J]. *Northern Horticulture*, 2007(2): 152-155 (in Chinese).