

# 波士顿蕨 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐射育种研究

余蓉培<sup>1,2,4</sup>, 王 颀<sup>1</sup>, 李 东<sup>1</sup>, 詹选怀<sup>3</sup>, 石 雷<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>中国科学院植物研究所北方资源植物重点实验室, 中国科学院植物研究所北京植物园, 北京 100093; <sup>2</sup>云南农业科学院花卉研究所, 国家观赏园艺工程技术研究中心, 昆明 650205; <sup>3</sup>中国科学院庐山植物园, 江西庐山 332900; <sup>4</sup>云南大学生命科学学院, 昆明 650091)

**摘 要:** 以波士顿蕨 (*Nephrolepis exaltata* ‘*Bostoniensis* Murano’) 的绿色球状体 (Green Globular Bodies, GGB) 为辐照材料, 采用不同剂量的  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线处理, 结合组织培养技术进行育种研究。结果表明: 绿色球状体辐照半致死剂量约为 128 Gy。随着辐照剂量的增加, 绿色球状体的增殖和分化受到抑制。绿色球状体辐射表型损伤表现为: 颜色变深, 变紧实, 增殖和分化受抑制; 细胞学损伤表现为: 胚性细胞减少, 出现微核。50 ~ 200 Gy 剂量下, 随着辐照剂量的增加, 绿色球状体分化植株变矮, 叶形变异率增加。在 150 Gy 剂量下筛选得到叶片变异性状显著的突变体 *Neg1*。

**关键词:** 波士顿蕨; 绿色球状体;  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线; 辐射育种

**中图分类号:** S 682.35

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2018) 05-0988-09

## Radiation Breeding of Boston Fern via $^{60}\text{Co-}\gamma$ Rays

YU Rongpei<sup>1,2,4</sup>, WANG Di<sup>1</sup>, LI Dong<sup>1</sup>, ZHAN Xuanhuai<sup>3</sup>, and SHI Lei<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>The Key Laboratory of Plant Resources and Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; <sup>2</sup>Flower Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, National Engineering Research Center for Ornamental Horticulture, Kunming 650205, China; <sup>3</sup>Lushan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Lushan, Jiangxi 332900, China; <sup>4</sup>School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650091, China)

**Abstract:** Through the combination of tissue culture and radiation mutation, radiation breeding of Boston fern (*Nephrolepis exaltata* ‘*Bostoniensis* Murano’) was investigated by using green globular bodies (GGB) as materials radiated by various dose of  $^{60}\text{Co-}\gamma$  rays. The results showed that the LD<sub>50</sub> of GGB was about 128 Gy. With increasing dose of  $^{60}\text{Co-}\gamma$  rays, the multiplication and differentiation of Boston fern GGB were depressed. Morphology damage of Boston fern GGB radiated by  $^{60}\text{Co-}\gamma$  rays included darken color, increased density and the depression of multiplication and differentiation, and cellular damage included reduction of embryonic cell and initiation of cellular micronucleus. At 50 - 200 Gy, with increasing dose of  $^{60}\text{Co-}\gamma$  rays, the height of Boston fern plants differentiated from GGB became dwarf, and leaf mutation rate increased. Moreover, leaf mutant *Neg1* was obtained at 150 Gy.

**Keywords:** *Nephrolepis exaltata*; boston fern; green globular bodies;  $^{60}\text{Co-}\gamma$  ray; radiation breeding

**收稿日期:** 2018 - 03 - 04; **修回日期:** 2018 - 05 - 02

**基金项目:** 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2-EW-B-5); 天津市种业科技重大专项 (12ZCDZNC04100); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31600264); 云南省科技惠民计划项目 (2014RA053)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: shilei@ibcas.ac.cn)

波士顿蕨隶属肾蕨科肾蕨属, 为高大肾蕨 (*Nephrolepis exaltata*) 的一个栽培品种, 其主要育种方式是匍匐茎的芽变选种 (Benedict, 1923; Hovenkamp & Miyamoto, 2005)。自然条件下波士顿蕨不能产生孢子, 商业上主要通过组织培养技术进行规模化生产 (Hvoslef-Eide, 1991)。在蕨类组织培养中, 绿色球状体 (Green Globular Bodies, GGB) 组培繁殖途径被认为是效率最高的方法之一 (李杨 等, 2012; Yu et al., 2017)。绿色球状体是指由蕨类植物的孢子体外植体诱导得到的由大量单个绿色球状颗粒组成的球状集合体, 具有分生组织特性, 接种于基本培养基上可分化得到大量孢子体幼苗, 具有较高的繁殖系数 (Higuchi et al., 1987)。

辐射诱变是观赏植物的重要育种手段之一, 辐射诱变与组织培养相结合, 可以在有限的时空范围内进行大量筛选, 进而提高育种效率 (Zhou et al., 2006; Matsumura et al., 2010)。通过该技术已获得众多观赏植物的突变体, 如香石竹 (Okamura et al., 2003)、玉兰 (姜长阳 等, 2003)、菊花 (Matsumura et al., 2010)、兜兰 (Luan et al., 2012) 等。目前尚未见以绿色球状体为辐照材料的波士顿蕨辐射育种报道。

本研究中, 探究了<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线对波士顿蕨绿色球状体存活、增殖、分化、辐射损伤以及分化植株变异的影响, 以期构建以绿色球状体为辐照材料的波士顿蕨辐射育种方法。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 绿色球状体组培繁殖途径的构建

供试波士顿蕨 (*N. exaltata* 'Bostoniensis Murano') 于 2010 年 7 月种植在中国科学院植物研究所北京植物园蕨类温室中, 光照 2 000 lx, 温度 (25 ± 2) °C。

参照 Higuchi 等 (1987) 的方法, 对绿色球状体增殖培养基和分化培养基进行改良, 绿色球状体增殖培养基为: 1/2MS + 2.0 mg · L<sup>-1</sup> BA + 0.2 mg · L<sup>-1</sup> NAA + 30 g · L<sup>-1</sup> 蔗糖 + 7 g · L<sup>-1</sup> 琼脂; 绿色球状体分化培养基为: MS + 30 g · L<sup>-1</sup> 蔗糖 + 7 g · L<sup>-1</sup> 琼脂。每 4 周更换 1 次培养基。分化培养后, 待组培苗长至 4 ~ 5 cm 时, 炼苗 3 d, 之后种植于装有泥炭基质的育苗盒内进行育苗。育苗完成后, 将小苗定植于装有混合基质 (泥炭: 珍珠岩 = 7: 2, 体积比) 的花盆中。泥炭为 Jiffy 公司生产 (粒度 0 ~ 20 mm, pH 5.0, EC 值 0.26 mS · cm<sup>-1</sup>, 无营养成分), 珍珠岩粒度为 2 ~ 4 mm。按比例混合后, 混合基质的 pH 5.1, EC 值为 0.20 mS · cm<sup>-1</sup>。定植后于温室中进行培养, 培养条件同上。

### 1.2 绿色球状体的<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐照处理

将绿色球状体切成 2 mm 大小 (初始质量约 8 mg), 接种于装有增殖培养基的培养皿中, 沿培养皿中线排列, 用 Parafilm 密封。使用北京大学应用化学所<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线进行辐照处理, 剂量为 0、5、10、20、50、100、150、200 和 250 Gy, 剂量率均为 10 Gy · min<sup>-1</sup>, 每个处理 8 个培养皿, 每个培养皿 20 个绿色球状体。辐照处理时排列有绿色球状体的培养皿中线与钴源的剂量标线重合。

### 1.3 绿色球状体辐照后处理及数据统计

辐照处理后, 将各剂量下的绿色球状体平均分成两组, 分别接种于新的绿色球状体增殖培养基和分化培养基上。8 周后计算增殖培养基上的绿色球状体的存活率和鲜样质量增加量 (绿色球状体死亡是指绿色球状体整体变黑且无单个绿色球状颗粒存活); 对分化培养基上的绿色球状体进行分化时间和分化率的统计, 分化是指绿色球状体上有 3 片以上的幼叶形成。对定植 6 个月后的植株株高

和叶片变异情况进行统计。相关数据使用 SPASS 16.0 软件进行线性回归分析和最小显著差数分析 (Least Significant Difference, *LSD*), 并用 Sigma Plot 12.0 软件进行绘图。

采用 Nikon SMZ800 体视镜在辐射处理后数小时、2 周、3 周、6 周分别进行辐射表型损伤观察和拍照, 并用 FAA 固定, 参照李和平 (2009) 的方法制作石蜡切片。使用 Nikon ECLIPSE E600 显微镜对石蜡切片进行观察, 探查辐照后的绿色球状体细胞损伤情况。

数据统计所用的计算公式如下:

存活率 (%) = (存活的绿色球状体数量/辐照处理的绿色球状体数量)  $\times$  100;

鲜样质量增加量 = 培养后绿色球状体鲜样的质量 - 接种时绿色球状体鲜样的原始质量;

分化率 (%) = (分化的绿色球状体数量/辐照处理的绿色球状体数量)  $\times$  100;

变异率 (%) = (叶形变异的植株数量/植株总数)  $\times$  100。

## 2 结果与分析

### 2.1 辐照剂量对绿色球状体存活率的影响

如图 1 所示, 5 ~ 20 Gy 辐照后, 绿色球状体存活率均为 100%, 50 ~ 250 Gy 剂量下, 绿色球状体存活率随辐照剂量的增加而下降, 250 Gy 时, 绿色球状体全部死亡, 可知波士顿蕨绿色球状体的  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线全致死剂量 ( $\text{LD}_{100}$ ) 在 200 ~ 250 Gy 之间。

对绿色球状体存活率和辐照剂量进行线性回归分析, 得到线性方程  $y = -0.432x + 105.376$ , 决定系数  $R^2 = 0.961$ ,  $F = 171.742$ ,  $P < 0.01$ , 说明波士顿蕨绿色球状体存活率与辐照剂量之间存在极显著的线性关系, 半致死剂量 ( $\text{LD}_{50}$ ) 为 128 Gy。

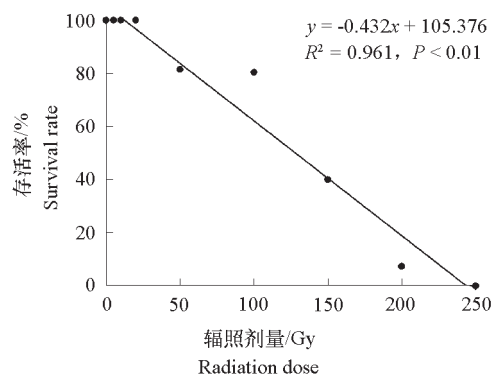


图 1 培养 8 周后波士顿蕨绿色球状体存活率和  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐照剂量的线性回归分析  
Fig. 1 Linear regression between survival rate of Boston fern GGB and  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  irradiation dose after 8 weeks culture

### 2.2 辐照剂量对绿色球状体增殖和分化的影响

如表 1 和图 2, A 所示,  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐照处理后, 波士顿蕨绿色球状体鲜样质量增加量显著小于未经辐射的对照, 说明其增殖受到抑制。10 ~ 150 Gy 辐照时, 绿色球状体鲜样质量增加量随辐照剂量的增加而下降, 150 ~ 250 Gy 时, 急剧降低, 但彼此差异不显著, 这是由于该剂量范围已超过半致死剂量 ( $\text{LD}_{50}$ ) 128 Gy, 仅有少量绿色球状体存活, 且有严重的辐射损伤, 鲜样质量增加量均很小, 或几乎没有增加。

绿色球状体分化率 (表 1 和图 2, B) 在 5 ~ 20 Gy 剂量下与对照没有显著差异, 且分化时间基本相同, 但分化出的幼苗数减少。50 Gy 时, 分化率显著降低, 分化时间为 42 d, 明显长于对照的 23 d。100 ~ 200 Gy 时, 分化率继续下降, 分化时间延长。200 Gy 时, 分化时间长达 57 d。250 Gy 时, 绿色球状体全部死亡, 无分化苗产生。

表 1 经  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线辐照后波士顿蕨绿色球状体培养 8 周的增殖和分化情况  
 Table 1 Multiplication and differentiation of Boston fern GGB radiated by  $^{60}\text{Co-}\gamma$  rays after 8 weeks culture

编号 Number	剂量/Gy Radiation dose	鲜样质量增加量/mg Increase of fresh weight	分化率/% Differentiation rate	分化时间/d Differentiation period
1	0	386.47 ± 4.09 a	98.33 ± 1.67 a	23
2	5	342.30 ± 3.30 b	98.33 ± 1.67 a	23
3	10	333.13 ± 5.21 b	96.67 ± 1.67 a	24
4	20	187.30 ± 4.77 c	93.33 ± 4.41 a	26
5	50	52.30 ± 5.34 d	44.44 ± 3.21 b	42
6	100	36.14 ± 3.91 e	28.07 ± 3.51 b	50
7	150	8.12 ± 1.54 f	11.67 ± 3.33 c	54
8	200	2.58 ± 0.75 f	5.00 ± 2.89 cd	57
9	250	0.20 ± 0.82 f	0 d	—

注: 同一列中标记有不同小写字母的数据表示在显著水平为 0.05 的最小显著性差数法 (LSD) 检测中相互间存在显著差异; 鲜样质量增加量和分化率均表示为平均值 ± 标准误。

Note: In each column datas followed by the different lowercase letters are significantly different from each other at  $P < 0.05$  according to LSD test. Increase of fresh weight and differentiation rate are indicated as mean ± SE.

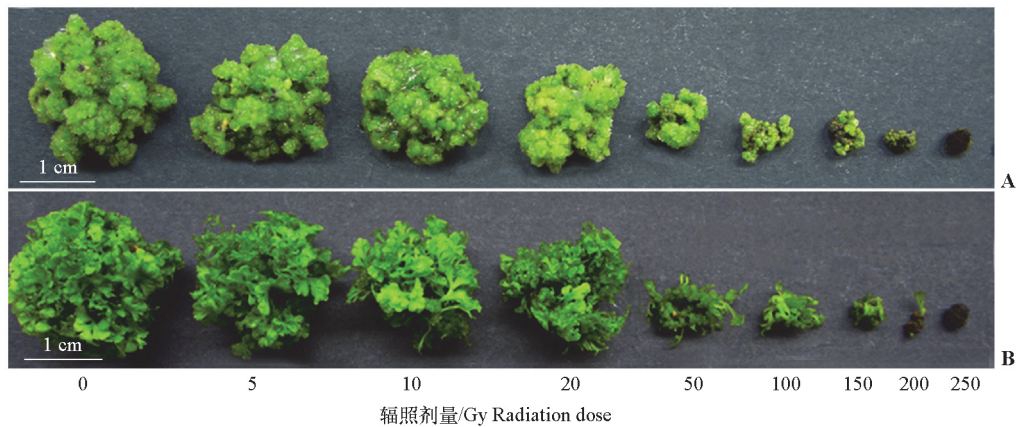


图 2 培养 8 周后不同  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线剂量下波士顿蕨绿色球状体的增殖 (A) 和分化 (B) 情况

Fig. 2 Multiplication (A) and differentiation (B) of Boston fern GGB radiated by various dose of  $^{60}\text{Co-}\gamma$  rays after 8 weeks culture

## 2.3 绿色球状体 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 射线辐射损伤研究

### 2.3.1 表型损伤

未经辐照的对照绿色球状体是由大量单个绿色球状颗粒组成的疏松组织 (图 3, A、B), 接种于分化培养基上 3 周后能分化出幼叶 (图 3, C), 6 周时分化出大量幼苗 (图 3, D)。50 ~ 150 Gy 辐照当天, 绿色球状体未观察到表型损伤 (图 3, E、I、M)。辐照后 2 周, 绿色球状体变紧实, 颜色变深 (图 3, F、J、N)。辐照后 3 周, 绿色球状体更紧实, 颜色更深, 50 Gy 剂量下的绿色球状体有分化迹象 (图 3, G), 其余剂量下均无分化迹象 (图 3, K、O)。辐照后 6 周, 50 Gy 剂量下的绿色球状体虽有局部坏死, 但存活下来的单个球状绿色颗粒已分化出幼苗 (图 3, H), 100 Gy 剂量下的绿色球状体出现大面积坏死, 但有少量存活并有分化迹象 (图 3, L), 150 Gy 剂量下的绿色球状体除个别的单个绿色球状颗粒存活外, 其余全部死亡, 且存活的单个绿色球状颗粒无分化迹象 (图 3, P)。

不同剂量绿色球状体表型损伤程度差异随着培养时间延长逐步显现, 并最终表现为绿色球状体存活率、鲜样质量增加量及分化率的差异。



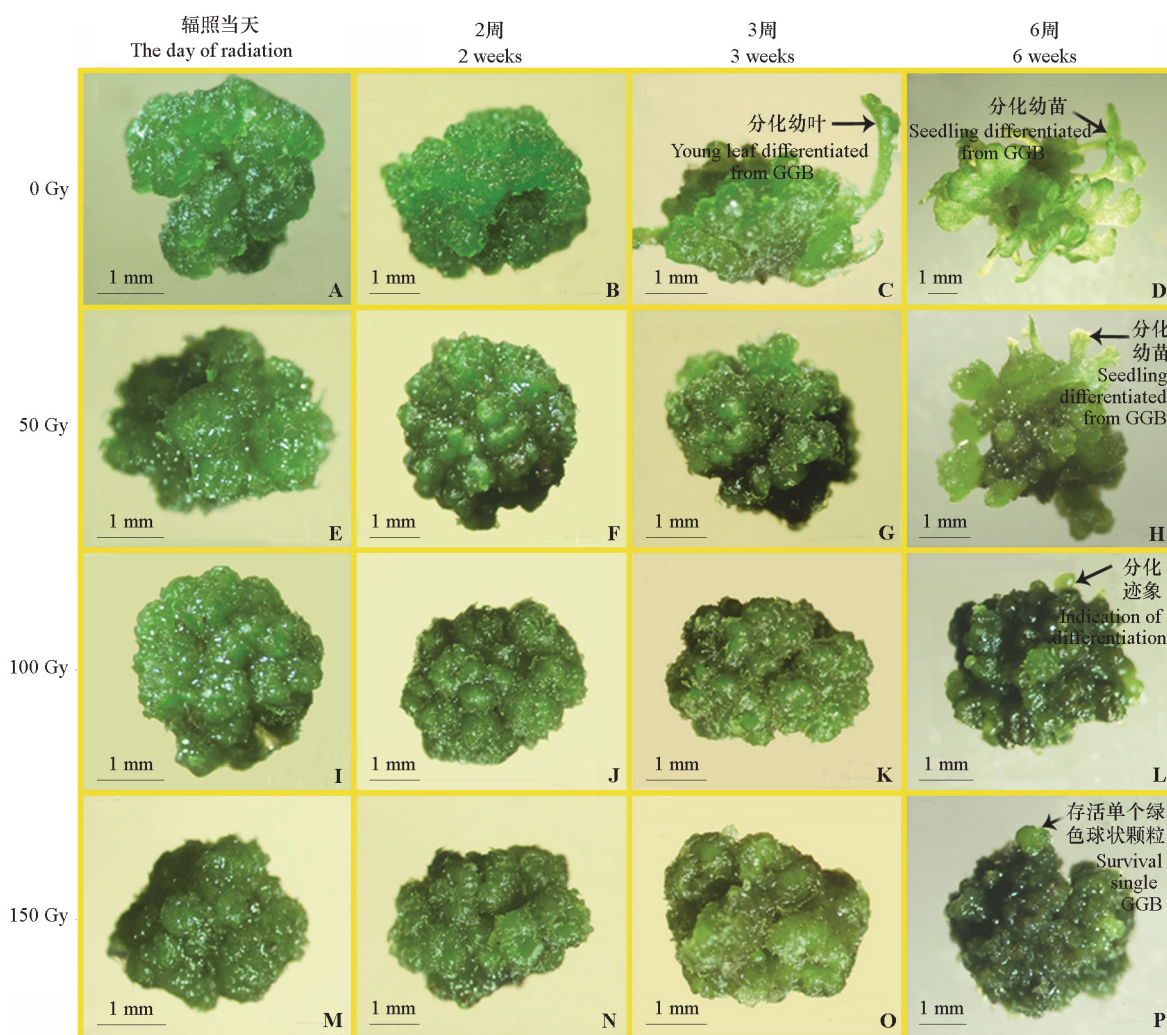


图3 波士顿蕨绿色球状体  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线辐射的表型损伤  
Fig. 3 Morphology damage of Boston fern GGB radiated by  $^{60}\text{Co-}\gamma$  rays

### 2.3.2 细胞损伤

未经辐照的单个绿色球状颗粒顶端为分生组织区域，有大量胚性细胞（图4，A）。

辐照后2周观察，150 Gy剂量下绿色球状体的胚性细胞显著减少，但仍具增殖能力，可以产生新的绿色球状颗粒（图4，B）。

50~150 Gy剂量下的绿色球状体细胞内均发现微核存在。微核是由脱离细胞核的染色体片段或整条染色体形成，是判断细胞辐射损伤的一个重要标志。微核主要集中于100~150 Gy剂量下的绿色球状体细胞内（图4，C），50 Gy剂量下微核相对较少。

此外还观察到正在脱离细胞核的两个染色体片段（图4，D），未来将可能形成双微核。

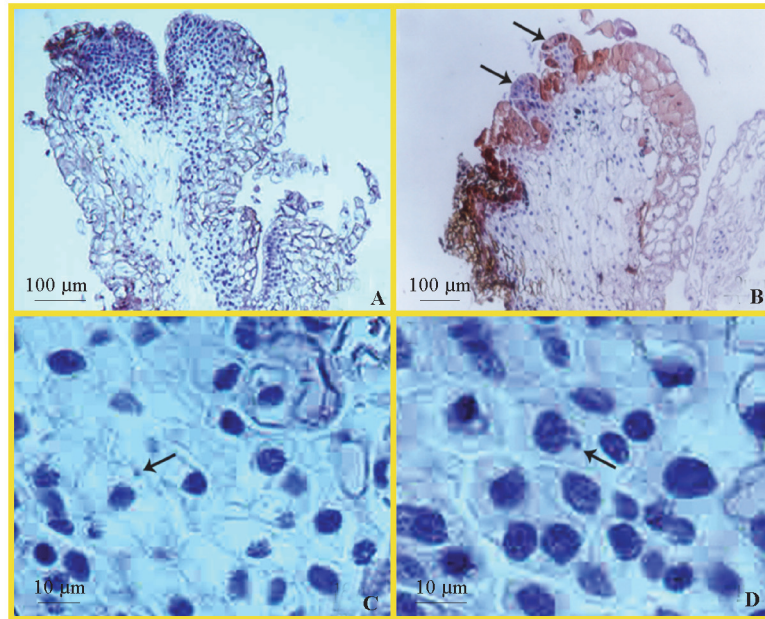


图4 波士顿蕨绿色球状体  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐射的细胞损伤

A. 组成绿色球状体的单个绿色球状颗粒 (0 Gy); B. 绿色球状体的胚性细胞数量减少, 箭头示形成新的单个绿色球状颗粒 (150 Gy 辐照后 2 周); C. 箭头示绿色球状体细胞的微核 (100 Gy 辐照后 2 周); D. 箭头示正在脱离细胞核的染色体片段 (100 Gy 辐照后 1 周)。

Fig. 4 Cellular damage of Boston fern GGB radiated by  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  rays

A. Single green globular bodies of GGB (0 Gy); B. Reduction of embryogenic cells in GGB, arrow indicates the new single GGB (2 weeks after irradiated at 150 Gy); C. Arrow indicates cellular micronucleus in GGB (2 weeks after irradiated at 100 Gy); D. Arrow indicates chromosome fragment separating from cell nucleus (1 week after irradiated at 100 Gy).

## 2.4 波士顿蕨 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线诱变情况

如图 5 所示, 波士顿蕨对照植株为一回羽状复叶, 小叶羽状中裂, 小叶边缘褶皱 (图 5, A)。在 5 ~ 20 Gy 剂量下, 叶片均未出现变异。50 ~ 200 Gy 剂量下, 叶片变异的主要类型为二回羽状

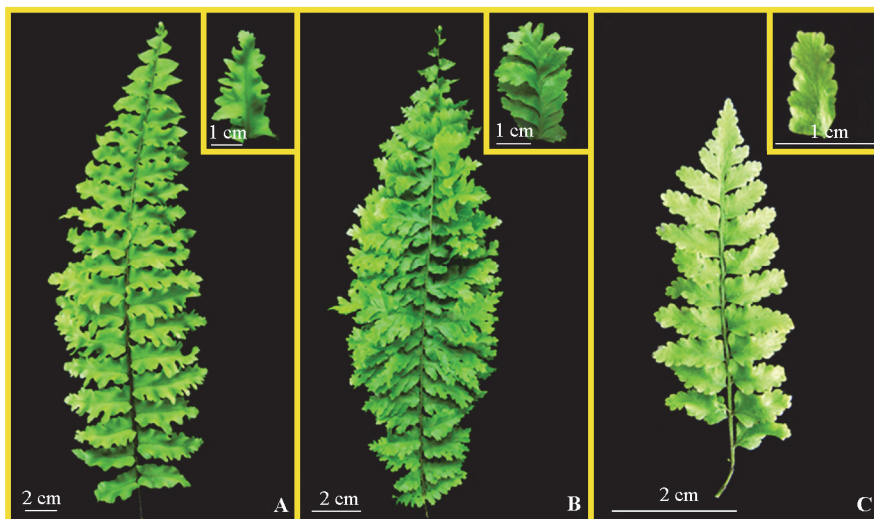


图5  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐照后波士顿蕨绿色球状体分化植株的叶片变异情况

A. 对照 (0 Gy); B. 突变体 *Neg1* (150 Gy); C. 白化突变体 (200 Gy)。

Fig. 5 Leaf mutation of Boston fern plants differentiated from GGB radiated by  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  rays

A. Control (0 Gy); B. Mutant *Neg1* (150 Gy); C. Albinism mutant (200 Gy).

复叶（图 5，B）、白化（图 5，C）和小叶边缘褶皱程度的改变（图 5，B、C），其中白化植株在后期生长过程中会逐渐死亡。如图 5，B 所示为 150 Gy 剂量下突变单株的叶片，二回羽状复叶，小羽片边缘有缺刻，且边缘无褶皱，将此突变单株记为 *Negl*。

如表 2 所示，对照波士顿蕨株高为  $(35.81 \pm 1.00)$  cm，5 ~ 20 Gy 剂量下，株高未发生显著变化，50 ~ 200 Gy 剂量下，株高随剂量的增加而变矮，200 Gy 时株高仅为  $(11.10 \pm 1.30)$  cm。

表 2  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线辐照后波士顿蕨绿色球状体分化植株的株高和叶片变异情况  
 Table 2 Leaf mutation of Boston fern plants differentiated from GGB radiated by  $^{60}\text{Co-}\gamma$  rays

剂量/Gy Dose	植株数量 Number of plants	株高/cm Plant height	叶片变异株数 Number of mutants in leaf	叶片变异情况（数量） Mutants in leaf (Number)	叶形变异率/% Leaf mutation rate
0	102	$35.81 \pm 1.00$ a	0	—	—
5	147	$34.92 \pm 1.51$ a	0	—	—
10	201	$34.97 \pm 1.29$ a	0	—	—
20	148	$32.83 \pm 1.00$ a	0	—	—
50	208	$29.13 \pm 0.95$ b	1	白化 (1) Albinism (1)	0.48
100	258	$25.71 \pm 1.03$ c	3	白化 (2)，小叶叶形改变 (1) Albinism (2)，mutation of leaflet shape (1)	1.16
150	342	$19.40 \pm 1.12$ d	9	白化(6)，小叶叶形改变(2)，二回羽状复叶及小叶叶形改变(1) Albinism (6)，mutation of leaflet shape (2)，mutation of bipinnate leaves and leaflet shape (1)	2.63
200	96	$11.10 \pm 1.30$ e	3	白化及小叶叶形改变 (1)，小叶叶形改变 (2) Mutation of albinism and leaflet shape (1)，mutation of leaflet shape (2)	3.13
250	—	—	—	—	—

注：同一列中标记有不同小写字母的数据，表示在显著水平为 0.05 的最小显著性差数法 (LSD) 检测中相互间存在显著差异；株高表示为平均值  $\pm$  标准误。

Note: In each column datas followed by the different lowercase letters are significantly different from each other at  $P < 0.05$  according to LSD test. Plant height is indicated as mean  $\pm$  SE.

### 3 讨论

波士顿蕨绿色球状体的存活率随  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线辐照剂量的增加而下降，并呈线性关系，这与香蕉属 (*Musa*) 和荚果蕨 (*Matteuccia struthiopteris*) 等一致 (Kulkarni et al., 2007; 余蓉培 等, 2015)。半致死剂量 ( $\text{LD}_{50}$ ) 是辐射诱变的常用剂量，同种植物不同材料的半致死剂量存在差异，Howland 和 Boyd (1974) 采用  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线对蕨 (*Pteridium aquilinum*) 的干燥孢子、浸泡 1 h 和 24 h 的孢子进行辐照处理，得到半致死剂量分别为 80、40 和 30 Gy，而李洪艳等 (2010) 得到蕨愈伤组织  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线的半致死剂量约为  $5.16 \times 10^{-1} \text{C} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。荚果蕨绿色球状体的  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线半致死剂量为 69 Gy (余蓉培 等, 2015)，而在本研究中，波士顿蕨绿色球状体的  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线半致死剂量为 128 Gy。半致死剂量的差异主要源于不同材料之间的辐射敏感性差异 (Morishita et al., 2003; 邢莉莉 等, 2010; 孔滢 等, 2013)。

通常认为射线辐照对植物组织生长发育的影响表现为低剂量促进而高剂量抑制 (Kovalchuk et al., 2007)，低剂量的  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线对木薯 *Manihot esculenta* (Owoseni et al., 2006)、*Hebe ochracea* (Gallone et al., 2012)、刺山柑子 *Capparis spinosa* (Al-safadi & Elias, 2011) 外植体的鲜样质量增加量和不定芽的形成均起到促进作用。而在本研究中，5 ~ 20 Gy 的低剂量  $^{60}\text{Co-}\gamma$  射线辐照对波士顿蕨绿色球状体的增殖和分化未产生显著影响，在 50 ~ 250 Gy 高剂量下产生抑制作用。类似的情况也出现在荚果蕨绿色球状体 (余蓉培 等, 2015) 以及山葵 (*Wasabia japonica*) 愈伤组织 (Hung &

Johnson, 2008) 的<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐照处理中。

在蕨类植物辐射损伤研究中, 辐照处理的孢子萌发形成的配子体会出现白化、叶绿体畸形、细胞分裂受抑制、形成深绿色瘤状物, 配子体培养数月仍不能形成孢子体, 并最终死亡 (Haigh & Howard, 1973; Palta & Mehra, 1973)。而在本研究中, 波士顿蕨绿色球状体的<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐射表型损伤为: 颜色变深, 变紧实, 单个绿色颗粒死亡, 增殖及分化受抑制, 这与荚果蕨、鸟巢蕨、扇蕨和凤尾蕨绿色球状体的<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐射损伤相似 (余蓉培 等, 2015; 叶晓青 等, 2016)。波士顿蕨绿色球状体的<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐射细胞损伤主要表现为出现微核。微核是判断细胞辐射损伤的重要标志, 也在辐照处理后的荚果蕨 (余蓉培 等, 2015)、豌豆 *Pisum sativum* (Vasilenko & Sidorenko, 1995) 等植物细胞中发现。

在本研究中, 50 ~ 200 Gy 剂量下, 筛选出了波士顿蕨变异植株, 并在 150 Gy 剂量下得到了叶片变异性状显著的突变体 *Neg1*, 其变异性状表现为: 二回羽状复叶, 小羽片边缘有缺刻, 且边缘无褶皱, 这与波士顿蕨芽变性状 (Benedict, 1916, 1922) 具有一定的相似性。但与芽变选种相比, 辐射诱变与组织培养相结合缩小了育种筛选群体, 同时也缩短了筛选周期。

## References

- Al-Safadi B, Elias R. 2011. Improvement of caper (*Capparis spinosa* L.) propagation using *in vitro* culture and gamma irradiation. *Scientia Horticulturae*, 127 (3): 290 - 297.
- Benedict R C. 1916. The origin of new varieties of *Nephrolepis* by orthogenetic saltation. I. progressive variations. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 43 (5): 207 - 234.
- Benedict R C. 1922. The origin of new varieties of *Nephrolepis* by orthogenetic saltation. II. regressive variation or reversion from the primary and secondary sports of Boston Murano. *American Journal of Botany*, 9 (3): 140 - 157.
- Benedict R C. 1923. New bud sports in *Nephrolepis*. *Genetic*, 8: 75 - 95.
- Gallone A, Hunter A, Douglas G C. 2012. Radiosensitivity of *Hebe* 'Oratia Beauty' and 'Wiri Mist' irradiated *in vitro* with  $\gamma$ -rays from <sup>60</sup>Co. *Scientia Horticulturae*, 138: 36 - 42.
- Haigh M V, Howard A. 1973. Radiation-induced tumorous outgrowths in young gametophytes of *Osmunda regalis*. *Radiation Botany*, 13: 113 - 119.
- Higuchi H, Amaki W, Suzuki S. 1987. *In vitro* propagation of *Nephrolepis cordifolia* Prsel. *Scientia Horticulture*, 32: 105 - 113.
- Hovenkamp P H, Miyamoto F. 2005. A conspectus of the native and naturalized species of *Nephrolepis* (Nephrolepidaceae) in the world. *Blumea*, 50: 279 - 322.
- Howland G P, Boyd E L. 1974. Genetic control of photomorphogenesis isolation of nonfilamentous mutants after gamma irradiation of *Pteridium aquilinum* spores. *Radiation Botany*, 14: 281 - 285.
- Hung C D, Johnson K. 2008. Effects of ionizing radiation on the growth and allyl isothiocyanate accumulation of *Wasabia japonica* *in vitro* and *ex vitro*. *In Vitro Cell Development Biology Plant*, 44: 51 - 58.
- Hvoslef-Eide A K. 1991. The effect of temperature, daylength and irradiance on the growth of mother plants of *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott and on the subsequent growth *in vitro* of runner tip explants. *Acta Scientia Horticulturae*, 47 (1): 137 - 147.
- Jiang Chang-yang, Ning Shu-xiang, Yang Wen-xin, Xiao Rong-jun. 2003. Selective breeding of a new breeding of *Magnolia denudata* from radiation-induced mutation of callus. *Acta Horticulturae Sinica*, 29 (5): 473 - 476. (in Chinese)
- 姜长阳, 宁淑香, 杨文新, 肖荣俊. 2003. 愈伤组织辐射诱变选育玉兰新品系. *园艺学报*, 29 (5): 473 - 476.
- Kong Ying, Bai Jin-rong, Shang Hong-zhong, Wang Nai-yan. 2013. Application of heavy ion beam irradiation in ornamental flowers breeding. *Horticulturae Sinica*, 40 (9): 1837 - 1845. (in Chinese)
- 孔 滢, 白锦荣, 尚宏忠, 王乃彦. 2013. 重离子束辐射技术在花卉育种中的应用. *园艺学报*, 40 (9): 1837 - 1845.
- Kovalchuk I, Molinier J, Yao Y, Arkhipov A, Kovalchuk O. 2007. Transcriptome analysis reveals fundamental differences in plant response to acute



- and chronic exposure to ionizing radiation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 624: 101 - 113.
- Kulkarni V M, Ganapathi T R, Suprasanna P, Bapat V A. 2007. *In vitro* mutagenesis in banana (*Musa spp.*) using gamma irradiation. *Protocols for micropropagation of woody trees and fruits*. Netherlands: Springer Press.
- Li He-ping. 2009. *Plant microscopy technique*. Beijing: Science Press. (in Chinese)  
李和平. 2009. *植物显微技术*. 北京: 科学出版社.
- Li Hong-yan, Li Jian-guo, Zhang Yao-fang, Huang Wei. 2010. Selective breed of cold-resistance of *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn from radiation induced mutation of callus. *Journal of Liaoning University*, 37 (3): 274 - 277. (in Chinese)  
李洪艳, 李建国, 张耀芳, 黄 威. 2010. 辐射诱变愈伤组织选育耐寒型蕨菜. *辽宁大学学报*, 37 (3): 274 - 277.
- Li Yang, Yu Rong-pei, Li Hui, Li Dong, Shi Lei. 2012. A review of the development in tissue culture of ornamental ferns. *Horticulturae Sinica*, 39 (9): 1839 - 1848. (in Chinese)  
李 杨, 余蓉培, 李 慧, 李 东, 石 雷. 2012. 观赏蕨类植物组织培养研究进展. *园艺学报*, 39 (9): 1839 - 1848.
- Luan Q L, Nguyen N H P, Ha V T T. 2012. *In vitro* mutation breeding of *Paphiopedilum* by ionization radiation. *Scientia Horticulturae*, 144: 1 - 9.
- Matsumura A, Nomizu T, Furutani N, Hayashi K, Minamiyama Y, Hase Y. 2010. Ray florets color and shape mutants induced by  $^{12}\text{C}^{5+}$  ion beam irradiation in chrysanthemum. *Scientia Horticulturae*, 123 (4): 558 - 561.
- Morishita T, Yamaguchi H, Shikazono N, Hase Y, Tanaka A, Abe T. 2003. Dose response and mutation induction by ion beam irradiation in buckwheat. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B*, 206: 565 - 569.
- Okamura M, Ohtsuka M, Tanaka A, Shikazono N, Hase Y. 2003. Wide variety of flower-color and shape mutants regenerated from leaf cultures irradiated with ion beams. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B*, 206: 574 - 578.
- Owoseni O, Okwaro H, Afza R, Bado S, Dixon A, Mba C. 2006. Radiosensitivity and *in vitro* mutagenesis in African accessions of cassava, *Manihot esculenta* Crantz. *Plant Mutation Reports*, 1: 32 - 36.
- Palta H K, Mehra P N. 1973. Radiobiological investigations on *Pteris vittata* L. - II. X-ray effects on the gametophytic generation. *Radiation Botany*, 13 (3): 155 - 164.
- Vasilenko A, Sidorenko P G. 1995. Induction of micronuclei in plant cells after exposure to accelerated ion irradiation. *Radiation and Environmental Biophysic*, 34: 107 - 112.
- Xing Li-li, Chen Fa-di, Chen Su-mei. 2010. Effects of  $^{60}\text{Co}$ -gamma rays irradiation on *in vitro* cultured cut chrysanthemum and variations of main morphological characters in the M1 generation. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (7): 1117 - 1124. (in Chinese)  
邢莉莉, 陈发棣, 陈素梅. 2010.  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  辐射对切花菊试管苗的诱变效应. *园艺学报*, 37 (7): 1117 - 1124.
- Ye Xiao-qing, She Jian-ming, Jia Xin-ping, Liang Li-jian, Liu Xiao-qing. 2016. Effect of  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  rays irradiation on shooting from the green globular bodies in pteridophyte. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 30 (5): 835 - 840. (in Chinese)  
叶晓青, 余建明, 贾新平, 梁丽建, 刘晓青. 2016.  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐照对蕨类植物绿色球状体成苗的影响. *核农学报*, 30 (5): 835 - 840.
- Yu R, Zhang G, Li H, Cao H, Mo X, Gui M, Zhou X, Jiang Y, Li S, Wang J. 2017. *In vitro* propagation of the endangered tree fern *Cibotium barometz* through formation of green globular bodies. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 128 (2): 369 - 379.
- Yu Rong-pei, Li Yang, Li Dong, Zhan Xuan-huai, Shi Lei. 2015. Radiosensitivity of green globular bodies of *Matteuccia struthiopteris* exposed to  $^{60}\text{Co}$  radiation. *Chinese Bulletin of Botany*, 50 (50): 565 - 572. (in Chinese)  
余蓉培, 李 杨, 李 东, 詹选怀, 石 雷. 2015. 荚果蕨绿色球状体对  $^{60}\text{Co}$  射线的辐射敏感性. *植物学报*, 50 (50): 565 - 572.
- Zhou L B, Li W J, Ma S, Dong X C, Yu L X, Li Q, Zhou G M, Gao Q X. 2006. Effects of ion beam irradiation on adventitious shoot regeneration from *in vitro* leaf explants of *Saintpaulia ionantha*. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B*, 244 (2): 349 - 353.