



研究报告

Research Report

基于 ISSR 揭示草莓种子不同剂量 γ 辐射效果及遗传多样性

聂传朋¹, 杨盼盼¹, 马宗新², 李焰焰¹

1. 阜阳师范学院, 抗衰老中草药安徽省工程技术研究中心, 阜阳, 236037

2. 阜阳市农科所, 阜阳, 236066

✉ 通讯作者, linie@126.com; ✉ 作者

分子植物育种, 2016 年, 第 14 卷, 第 8 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2016.14.0008

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

聂传朋等, 2016, 基于 ISSR 揭示草莓种子不同剂量 γ 辐射效果及遗传多样性, 分子植物育种(online), 14(8): 1048-1054 (doi: 10.5376/mpb.cn.2016.14.0008)

引用格式(英文):

Nie et al., 2016, Effects of γ Ray Irradiation with Different Dosages on Strawberry Seeds and their Genetic Diversity Revealed by ISSR, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding), 14(8): 1048-1054 (doi: 10.5376/mpb.cn.2016.14.0008)

摘要 为了研究丰香草莓种子辐射诱变后培育的植株性状遗传变异程度, 本研究用 3 种剂量梯度的 γ 射线(⁶⁰Co)对丰香草莓的种子进行辐射诱变处理, 并筛选合适的 ISSR 引物进行辐射效果及辐射后群体的遗传多样性分析。结果表明: (1)筛选出的 4 个 ISSR 引物可用于草莓辐照选育后的遗传变异分析; 4 条引物共扩增出 31 条条带, 其中 24 条为多态性条带, 多态性比例达 79.14%。(2) 3 个辐照群体的遗传相似均在 96% 以上, 高于与未辐照处理对照的平均遗传相似系数, 辐照群体间的基因多样性、分化指数以及分子方差变异分析结果均表明遗传变异主要是由辐照引起的。(3)对遗传相似系数进行聚类分析表明辐照群体产生了较大的遗传变异; Shannon's 信息指数及 Nei's 遗传多样性指数分析结果显示高剂量辐照的遗传多样性也相对高。

关键词 草莓, γ 射线(⁶⁰Co), 辐射诱变, ISSR, 遗传变异

Effects of γ Ray Irradiation with Different Dosages on Strawberry Seeds and their Genetic Diversity Revealed by ISSR

Nie Chuanpeng¹, Yang Panpan¹, Ma Zongxin², Li Yanyan¹

1 Engineering Technology Research Center of Anti-aging Chinese Herbal Medicine of Anhui Province, Fuyang Normal University, Fuyang, 236037

2 Fuyang Institute of Agricultural Sciences, Fuyang, 236066

✉ Corresponding author, linie@126.com; ✉ Authors

Abstract In order to study the degree of genetic variation of plant characters that derived from the Toyonoka strawberry seeds treated by radiation mutation, we adopted 3 gradient doses of the gamma ray (⁶⁰Co) to treat Toyonoka strawberry seeds irradiated by ⁶⁰Co., screened suitable ISSR primers to detect irradiation mutant effects and analyzed genetic variation of the irradiated groups. The results presented: (1) The selected 4 ISSR primers were used to analyze the genetic variation of irradiated strawberry; 4 ISSR primers generated 31 DNA bands, in which 24 were polymorphic bands with the ratio of 79.14%; (2) The genetic similarity of three irradiation groups was more than 96%, higher than that of the control with no irradiation treatment. The analysis results about Dst, Gst and AMOVA among irradiation groups showed that genetic variation was mainly caused by irradiation. (3) Combined with the clustering analysis of the genetic similarity coefficient, it showed that irradiation groups produced a larger genetic variation. The analysis results of Shannon's information index and Nei's genetic diversity index demonstrated that the genetic diversity that treated with high dosage irradiation was relatively high.

Keywords Strawberry, ⁶⁰Co γ -ray, Radiation mutation, ISSR marker, Genetic variation

研究背景

在诸多育种方法中, 辐射诱变育种是一个重要的补充, 越来越受到从业人员的重视, 取得了很多有目共睹的实际成果(刘春泉等, 2007)。加强对辐射诱变后代遗传变异的研究, 是探讨提高辐射诱变育种效率的重要保证(李奇等, 2011; 任莹, 2014)。目

收稿日期: 2016 年 02 月 29 日

接受日期: 2016 年 04 月 02 日

发表日期: 2016 年 04 月 07 日

基金项目: 本研究由安徽省高校自然科学重点项目(KJ2015A217)和阜阳师范学院科研项目(2015FSKJ15)共同资助。



前, 我国草莓辐射诱变的研究大多集中在植株上、集中在其生长水平上, 对种子辐射诱变以及分子水平的研究鲜见报道(张慧琴等, 2007a; 2007b)。

分子标记是 20 世纪 80 年代初发展起来的遗传标记, 特点是遗传方式简单、稳定, 能够反映研究对象的个体及群体特征(陈琼娥等, 2011)。其中 ISSR 标记被认为适合于草莓遗传变异的研究, 实验证明利用 ISSR 标记进行草莓亲缘关系是完全可行的, 可作为鉴定草莓亲缘关系的参考依据(花秀凤, 2013)。

本研究利用 ISSR 标记来分析不同辐照剂量的对种子诱变的遗传多态性特点和多样性差异; 经过

辐照后, 通过基因层面确定草莓种子其遗传变异状况, 为相关突变体的筛选、利用提供一些参考, 更快速有效的推动草莓的新品种选育及发展。

1 结果与分析

1.1 辐照群体的遗传多样性分析

筛选出的 4 条 ISSR 引物对 3 个辐照群体的 19 个样品进行扩增检测, 共产生 31 个条带, 其中具有多态性条带 24 条(表 1)。3 辐照群体的各遗传多样性指数(表 2)表现出辐照群体 3 和 2 相对最大, 1 次之。从其他遗传多样性指数可以看出辐照群体具有较高的遗传多样性。

表 1 ISSR 引物序列及扩增

Table 1 Sequences of ISSR primers and their amplification

引物 Primer	序列 Sequences	T/°C	总带数 Total bands	多态性带数 Polymorphic bands	多带率(%) Percentage of polymorphic bands
824	(TC) ₈ G	62.0	7	6	85.71
841	(AG) ₈ Y ^a T	62.0	6	5	83.33
854	(TC) ₈ R ^b G	56.9	10	6	60.00
864	(ATG) ₆	58.4	8	7	87.50
总和 Total			31	24	
平均 Mean			7.75	6	79.14

注: a: Y: T/C; b: R: A/G

Note: a: Y: T/C; b: R: A/G

表 2 辐照群体遗传多样性分析

Table 2 Statistical analysis of irrigation population genetic diversity

辐照群体 Irrigation population	个体数 No.	观测等位基因数 Observed number of alleles (<i>N_a</i>)	有效等位基因数 Effective number of alleles (<i>N_e</i>)	Nei's 遗传多样性 Nei's (1973) gene diversity (<i>h</i>)	Shannon's 信息指数 Shannon's information index (<i>I</i>)
1	20	1.680 0±0.471 2 ^a	1.442 2±0.401 9	0.250 4±0.208 5	0.368 9±0.292 8
2	20	1.820 0±0.388 1	1.496 4±0.356 9	0.290 0±0.181 7	0.433 1±0.250 3
3	20	1.820 0±0.388 1	1.499 5±0.356 1	0.290 9±0.184 1	0.433 3±0.253 9
4	2	1	1	0	0
总数 Total	62	1.762 9±0.427 5	1.378 5±0.334 9	0.232 6±0.177 7	0.358 1±0.250 6

注: a: “±”后面的值为标准差

Note: a: Values behind with “±” are standard deviations

1.2 辐照群体的遗传结构分析

辐照群体基因多样性的 Nei 分析揭示(表 3), 辐

照群体间基因多样性($D_{st}=H_t-H_s$)为 0.046 6, 辐照群体间的分化指数(G_{st})为 0.214 0, 表明总的遗传变异



主要来自于居群内部, 辐照群体内的遗传分化大于辐照群体间。分子方差变异分析(AMOVA)结果(表 4), 也再次证实, 总的遗传变异中有 78.9%的变异存在于辐照群体内, 0.5%发生在辐照群体间, 20.6%发生在组间。

1.3 遗传距离和聚类分析

通过(表 5)可以看出经过辐照处理的 3 个辐照

群体间遗传距离近, 相似程度高, 而对照群体与之相距较远, 相似程度略低。从辐照群体关系聚类图(图 1)中可看出, 4 个辐照群体聚为 2 支: 一支包括了 3 个辐照处理辐照群体; 另一支为对照群体, 其中辐照剂量高的 2 个辐照群体先聚为一类, 然后再与辐照群体 1(辐照剂量低)相聚。4 个辐照群体的聚类结果表现出了明显的特征。

表 3 辐照群体的遗传结构分析

Table 3 Nei's analysis of genetic diversity of irrigation populations

	居群总遗传多样性 Total gene diversity (<i>Ht</i>)	居群内遗传多样性 Gene diversity within population (<i>Hs</i>)	各居群间的遗传分化指数 The coefficient of gene differentiation (<i>Gst</i>)	基因流 Indicates gene flow (<i>Nm</i>)
平均值 Mean	0.264 4	0.207 8	0.214 0	1.836 0
标准差 SD	0.033 8	0.018 1		

表 4 分子变异的 AMOVA 分析

Table 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) within/among irrigation populations

变异来源 Source of variation	自由度 d. f.	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	方差比率 Percentage of variation	<i>Fst</i>	<i>P</i> -value
组间 Among groups	1	0.201	0.110 00 Va	20.6		
组内辐照群体间 Among irrigation populations	2	0.733	0.002 72 Vb	0.5		
辐照群体内 within groups	58	24.000	0.421 05 Vc	78.9		
总变异 Within irrigation populations	61	24.934	0.533 77		0.211	0.050

注: Va: 组间变异组分; Vb: 辐照群体间变异组分; Vc: 辐照群体内变异组分。

Note: Va: Varinace components among groups; Vb: Varinace components among irrigation populations; Vc: Varinace components within irrigation population

表 5 辐照群体的遗传相似系数(上三角)及遗传距离(下三角)
 Table 5 Nei's genetic identity (*Id*) (above diagonal) and genetic distance (*D*) (below diagonal) of 5 populations

	1	2	3	4
1	****	0.963 6	0.982 4	0.883 5
2	0.037 1	****	0.989 5	0.819 2
3	0.017 8	0.010 5	****	0.859 5
4	0.123 9	0.199 4	0.151 4	****



图 1 UPGMA 法构建的试验群体的聚类

Figure 1 Dendrogram of tested strawberry clustered using UPGMA

1.4 单倍型分析

由 62 个样本共享 19 个单倍型, 它们在各群体中的分布表 6。根据遗传相似度通过 UPGMA 聚类(图 2),



表 6 单倍型数量及在辐照群体中的分布
 Table 6 Number and distribution of haplotypes in populations

单倍型 Haplotype	辐照群体 Irrigation populations			
	1	2	3	4
Hap1	10	5	8	2
Hap2	2	1		
Hap3	3		1	
Hap4		1	1	
Hap5		1	1	
Hap6		1	1	
Hap7		1	1	
Hap8		1	1	
Hap9		1	1	
Hap10	1	1	1	
Hap11	1	1	1	
Hap12	2	1	1	
Hap13		1		
Hap14		1		
Hap15		1		
Hap16		1		
Hap17		1		
Hap18			1	
Hap19	1			

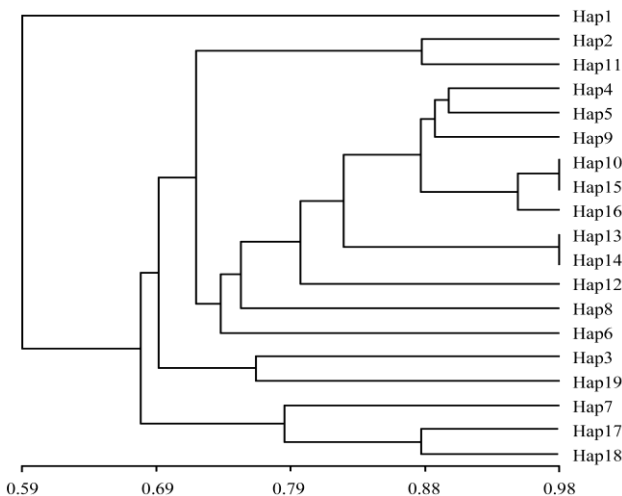


图 2 基于 Nei 遗传距离的 19 个单倍型的 UPGMA 聚类图
 Figure 2 UPGMA dendrogram illustrating relationship of 19 haplotypes

可知单倍型各单倍间相似性较高, 属于同一处理群体的个体并不完全聚在一起, 有一些的样本聚在离辐照群体较远的位置, 这些样品表现了较高的遗传多样性, 可作为育种材料。

2 讨论

2.1 辐照处理的遗传多样性及效果

花秀凤等人的研究结果显示 ISSR 标记能有效反映草莓的多态性, 可作为判定其亲缘关系的参考依据(安娜等, 2009)。本研究筛选 4 个 ISSR 引物对不同剂量辐照处理样本进行扩增, 共获得 31 个带, 其中 24 个为多态性带, 多态性位点比率为 79.14%, 表明辐照处理后的遗传多样性较高, 有利于种质的选育。在 62 个体中共定义 19 个单倍型。从表 6 可以看出, 很多单倍型就只有一个样本, 表明辐照产生了很好的效果。研究结果都可以为草莓的选育研究提供一定的参考。

对辐照处理的 3 个剂量辐照群体的研究, 基于 Shannon 指数(I)平均值为 0.3581 ± 0.2506 和 Nei 指数遗传多样性(He)平均值为 0.2326 ± 0.1777 , 表明处理后的辐照群体遗传多样性很高。相对而言, 在遗传多样性上, 剂量愈大, 遗传多样性愈高。从各剂量包含的单倍型来看, 中间剂量处理后出现的单倍型最好, 相对来说, 剂量愈大, 单倍型愈多。

遗传变异方面, 总遗传多样性(Ht)为 0.2644, 辐照群体内的基因多样性(Hs)为 0.2078, Nei 指数显示的辐照群体间的遗传分化系数(Gst)为 0.2140, 通过 AMOVA 分析显示 21.1% 的遗传变异存在于辐照群体间, 有 78.9% 存在于辐照群体内, 0.5% 发生在辐照群体间, 20.6% 发生在组间, 这些结果都表明 3 个剂量处理后的辐照群体遗传变异主要来自辐照群体内, 且组间也较大, 说明这些遗传变异主要是由辐照引起的。Wright 认为种群间基因流(Nm)大于 1, 则能发挥其均质化作用; 反之若小于 1, 则表明基因流(Nm)成为遗传分化的主要原因(Wright, 1990)。辐照群体内的基因流为 1.836, 大于 1, 表明不同辐照处理后的辐照群体并没有出现明显的遗传分化。

3 个辐照处理后的辐照群体间遗传相似度高, 而对照与它们的相似性程度较低。聚类结果 2 个高剂量辐照群体先聚合在一起, 然后再和低剂量辐照群体相聚, 最后与对照相聚。表明随着辐照剂量的增大, 其处理后的辐照群体越远离对照辐照群体。



另外, 3 个辐照处理后的辐照群体聚在一起, 也表明其遗传关系很近, 它们的遗传变异主要来源于辐照。从聚类图可看出, 虽然辐照处理辐照群体先聚成一支再和对照辐照群体相聚, 但辐照群体间遗传距离总体还是比较小的, 说明这 4 个辐照群体其实总体还可以认为是一个辐照群体。

2.2 种子辐照处理在草莓选育中的可行性

吴伟民等采用 30~80 Gy 剂量的 γ 射线辐照 5 个草莓品种的匍匐茎植株, 对辐照结果进行了研究, 结果表明, 且各品种的死亡率均有随着剂量增加而提高的趋势(吴伟民等, 2007)。张慧琴等以丰香草莓的无根无菌苗为试材, 研究了 γ 射线辐射对草莓叶片再生及植株继代增殖的影响。结果表明, 其叶片对辐射敏感, 半致死剂量为 10~20 Gy (张慧琴等, 2007a)。张慧琴等以 20~100 Gy 射线辐照处理丰香试管苗辐射诱变育种试验。试验结果表明各处理对草莓植株的生长和发育均有影响, 丰香半致死剂量约为 55 Gy (张慧琴等, 2007b)。而本研究是对种子进行辐照, 并对辐照后的种子进行发芽, 未涉及其致死情况。

经分析可知, 62 个样本共得 19 个单倍型, 其中有 18 个均为辐照后出现的, 从它们在各辐照群体中的分布看, 中高剂量辐照处理所获得的单倍型更多。各单倍型 UPGMA 聚类图, 可以看出有很多的变异性比较大的单倍型存在, 这些单倍型表现了较高的遗传多样性, 选取这些具有较高遗传多样性的个体, 对其进行后期性状的评价, 再结合相关性状参数, 最终将可以作为很好的育种材料。研究结果同时认为对种子进行辐照处理可以为草莓选育提供一个可操作的手段, 可以作为草莓选育的前期筛选工具。

3 材料与方法

3.1 供试草莓品种材料

试验的研究材料是于阜阳市农科所提供的, 种子经 60 Gy、100 Gy 和 150 Gy, 3 个剂量的 γ 射线(^{60}Co)辐照处理后, 进行培育, 共选取 60 份(每个剂量 20 份)单株形成三个辐照群体, 以其为试验材料, 未处理丰香草莓单株 2 份为实验对照(表 7)。草莓样品要进行处理, 在摘取的两天前要对样品进行遮光, 然后摘取草莓未展开的嫩叶, 把采下的嫩叶装在样品袋中, 做好标记后立即置于冰盒内, 带回实验室, 再用蒸馏水冲洗一遍, 晾干后放在 -20℃ 的冰箱中备用。

表 7 草莓样本信息

Table 7 Samples of Strawberry used in this study

编号 No.	辐照群体 Populations	样品数 Numbers
1	60Gy 射线辐照 60Gy-ray irradiation	20
2	100Gy 射线辐照 100Gy-ray irradiation	20
3	150Gy 射线辐照 100Gy-ray irradiation	20
4	未辐照处理对照 No irradiation	2

3.2 DNA 提取

取叶片用植物基因组 DNA 提取试剂盒提取总 DNA。超微量分光光度计(Thermo Nano Drop 2000)检测浓度均在 100-300 mg/ μL 范围, 纯度 OD260/OD280 的比值均介于 1.7~2.0 之间, 0.7% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 大小和完整性, 可用于 ISSR 分析。稀释浓度至 50 mg/ μL , -20℃ 保存备用(Nie et al., 2014)。

3.3 PCR 扩增及引物筛选

最佳 PCR 反应体系优化: 总体积 20 μL , 含 10 \times PCR Buffer (含 Mg^{2+}) 2.0 μL 、DNA 模板 (50 mg/ μL) 1 μL 、dNTP (2.5 $\mu\text{mol/L}$) 1.6 μL 、引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 1.2 μL 、*Taq* DNA 聚合酶(2.5 U/ μL) 0.4 μL , 加 ddH₂O 13.8 μL 。

扩增程序(安娜等, 2009; 陈大霞等, 2007): 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 40 s, 退火 60 s(退火温度随引物而定), 72℃ 延伸 1.5 min, 共 35 个循环; 最后 72℃ 延伸 7 min。PCR 扩增在 BIO-RAD T100TM Thermal Cycler PCR 仪上完成。电泳条件: 1.5% 的琼脂糖凝胶上电泳(1.0 \times TAE, 100V)分离, 溴化乙啶(EB)染色显带(Mchandrika et al., 2010)。DNA 片段通过凝胶成像系统(Alpha Innotech)观察记录。

3.4 数据分析与处理

ISSR 电泳图谱按 Weising 的方法将有带或弱带记“1”、无带记“0”, 转化为 0/1 矩阵的二元数据计算多态性(Nie et al., 2012)。用 POPGENE v1.32 软件将处理好的图谱数据进行相关分析: 计



算多态位点百分率(PPB)、Nei's 基因多样性(He)、Shannon's 信息指数(I)、观测等位基因数(Na)、有效等位基因数(Ne)、居群总遗传多样性(Ht)、多态位点(Np)、居群内遗传多样性(Hs)、各居群间的遗传分化指数(Gst)、基因流(Nm)、和 Nei's 遗传距离(D)。用软件 Arlequin 3.1 进行 AMOVA 分析, 计算组间, 辐照群体间及辐照群体内的遗传多样性。根据辐照群体及单倍型遗传距离, 用软件 NTSYS-pc version 2.1 采用 UPGMA 进行聚类分析 (Nie et al., 2012; 2014)。

作者贡献

聂传朋为本研究的论文执行者, 负责数据整理与分析、论文撰写; 杨盼盼负责做相关分子实验; 李焰焰负责论文设计、指导及论文修改; 马宗新负责样品的辐照处理。

致谢

本研究由安徽省高校自然科学重点项目(KJ2015A217)和阜阳师范学院科研项目(2015FSK-J15)共同资助。

参考文献

An N., Guo H.B., Zhou T.S., and Wu Q.H., 2009, DNA isolation optimization of ISSR-PCR system and primers screening of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf, *Zhiwu Yanjiu* (Bulletin of Botanical Research), 29(3): 346-351 (安娜, 郭宏波, 周铜水, 吴千红, 2009, 党参基因组 DNA 提取、ISSR-PCR 反应体系优化及引物筛选, 植物研究, 29(3): 346-351)

Chen D.X., Peng R., Li L.Y., Sun N.X., Zhong G.Y., and Cai Y.F., 2009, Study on genetic diversity of *Codonopsis tangshen* by SRAP and ISSR markers, *Zhongguo Zhongyao Zazhi* (China Journal of Chinese Materia Medica), 34(3): 255-259 (陈大霞, 彭锐, 李隆云, 孙年喜, 钟国跃, 蔡应繁, 2009, 利用 SRAP 和 ISSR 标记分析川党参的遗传多样性, 中国中药杂志, 34(3): 255-259)

Chen Q.E., Zhong F.L., Pan D.M., and Li K.T., 2011, Progress of molecular mark on genetic research of strawberry, *Yaredai Nongye Yanjiu* (Subtropical Agriculture Research), (1): 64-67 (陈琼娥, 钟凤林, 潘东明, 李开拓, 2011, 草莓分子标记技术研究进展, 亚热带农业研究, (1): 64-67)

Hua X.F., Zhong F.L., Lin Y.Z., Chen W.H., Chen X., and Zhu H.S., 2013, Genetic diversity analysis of Strawberry accession with ISSR, *Fujian Nongye Xuebao* (Fujian

Journal of Agricultural Sciences), 28(3): 232-236 (花秀凤, 钟凤林, 林义章, 陈文辉, 陈锐, 朱海生, 2013, 草莓种质资源遗传多样性 ISSR 分析, 福建农业学报, 28(3): 232-236)

Li Q., Shi H.C., Ke Y.P., Yuan J.C., and Yu X.J., 2011, SSR marker analysis on genetic variation of M3 from maize inbred lines 48-2 and R08 after irradiation inducement, *Henong xueBao* (Journal of Nuclear Agricultural Sciences), 25(6): 1100-1106 (李奇, 石海春, 柯永培, 袁继超, 余学杰, 2011, 玉米自交系 48-2 和 R08 辐照后代 M3 株系遗传变异的 SSR 分析, 核农学报, 25(6): 1100-1106)

Liu C.Q., Wang C.B., Zhu J.T., and Lv J.H., 2007, Normative management on Chinese comprehensive irradiation facility (γ facility), *Henong Xuebao* (Journal of Nuclear Agricultural Sciences), 21(5): 488-493 (刘春泉, 汪昌保, 朱佳廷, 吕建华, 2007, 中国式综合辐照站 (γ 装置) 规范化管理研究, 核农学报, 21(5): 488-493)

Mchandrika, Vravishankar R., and Thoyajaksha, 2010, ISSR marker based analysis of micropropagated plantlets of *Nothapodytes foetida*, *Biologia Plantarum*, 54(3): 561-565 <http://dx.doi.org/10.1007/s10535-010-0100-5>

Nie C.P., Liu R.J., Li S.B., and Li Y.Y., 2014, Assessment of *Platycodon grandiflorum* germplasm resources from northern Anhui province based on ISSR analysis, *Molecular Biology Reports*, 41:8195-8201 <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-014-3721-5>

Nie C.P., Wu X.B., Li Y.Y., and Zhao J., 2012, ISSR Markers as a tool for assessing genetic diversity in the Chinese alligator (*Alligator sinensis*), *Asian Herpetological Research*, 3(4): 310-315

Ren Y., Zhang C.F., Komori S.D., Deng S., Xiao R., Luo H.Z., Meng Y.P., and Cao Q.F., 2014, Influence of γ -irradiated pollen on fertilization and embryo development in apple, *Fenzi Zhiwu Yuzhong* (Molecular Plant Breeding), 12(5): 937-942 (任莹, 张春芬, 小森贞男, 邓舒, 肖蓉, 罗慧珍, 孟玉平, 曹秋芬, 2014, γ 射线辐射花粉对苹果受精及胚发育的影响, 分子植物育种, 12(5): 937-942)

Wright S., 1990, Evolution in Mendelian populations, *Bulletin of Mathematical Biology*, 52: 241-295 <http://dx.doi.org/10.1007/BF02459575> [http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8240\(05\)80011-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8240(05)80011-4)

Wu W.M., Zhao M.Z., Wang Z.W., Qian Y.M., and Yuan J., 2007, The Study of the irradiation effect on runner plants of strawberry with ^{60}Co - γ Ray, *Zhongguo Nongxue Tongbao* (Chinese Agricultural Science Bulletin), 23(12): 283-287 (吴伟民, 赵密珍, 王壮伟, 钱亚明, 袁骥, 2007, ^{60}Co γ 射线对草莓匍匐茎植株辐照效应, 中国农



学通报, 23(12): 283-287)

Zhang H.Q., Xie M., Jiang G.H., Chen K.S., Wu Q., Sun C.B., Huang P.L., and Wu Y.J., 2007a, Effects of gamma radiation on shoot regeneration from leaf and bud growth of strawberry, *Guoshu Xuebao (Journal of Fruit Science)*, 24(3): 378-380 (张慧琴, 谢鸣, 蒋桂华, 陈昆松, 吴庆, 孙崇波, 黄普乐, 吴延军, 2007a, $^{60}\text{Co}\gamma$ 辐射对不同品种草莓离体叶片再生及芽生长的影响, *果树学报*,

24(3): 378-380)

Zhang H.Q., Xie M., Jiang G.H., Wu Q., and Sun C.B., 2007b, Effects of $^{60}\text{Co}\gamma$ Crays on in vitro mutagenesis of strawberry, *Zhejiang Daxue Xuebao (Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Science))*, 33(2):180-183 (张慧琴, 谢鸣, 蒋桂华, 吴庆, 孙崇波, 2007b, $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对草莓组培苗诱变效应, *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 33(2): 180-183)