

H 离子注入耧斗菜干种子对萌发率的影响

朱蕊蕊¹, 杨姗姗¹, 王宇钢², 徐连江³, 高亦珂¹

(1. 北京林业大学 园林学院, 北京 100083; 2. 北京大学 重离子物理研究所重点开放实验室, 北京 100083; 3. 北京东升种业有限公司, 北京 100083)

摘要: 利用不同能量、剂量的 H 离子分别辐照耧斗菜干种子, 以期研究离子注入能量、剂量与经处理后耧斗菜种子萌发率的关系, 为确定耧斗菜离子注入诱变育种适宜的辐照剂量提供理论参考依据。结果表明: H 离子辐照后种子的发芽曲线随着离子能量、剂量的增加呈不规则曲线变化, 并对上述现象可能机理进行了讨论。

关键词: 离子注入; 耧斗菜; 萌发率

中图分类号: S 682.1⁺9; S 604⁺.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)10-0088-03

1986 年, 中国科学院等离子体物理研究所发现了离子注入对生物的诱变效应, 证实了质量(粒子)沉积生物效应的存在, 开辟了低能离子与生物体相互作用的新的研究方向。近年来, 离子注入诱变育种作为我国首创开发的具有自主知识产权的育种新技术, 已被应用于生物改良、生命起源和进化以及环境辐射生物学效应等多个研究领域。其中, 在植物遗传育种、创造新种质资源方面的成果尤为突出, 近年来在花卉离子注入诱变育种研究与开发方面也取得了重要的进展^[1]。

传统辐照方式如 X 射线、 γ 射线和高能离子, 能完全穿透生物体, 并且在生物体内传能线密度(LET)基本不变。与之相比, 低能离子具有高的传能线密度, 而且离子射程短并最终停留在生物样品内, 会引起局部损伤和质量沉积效应, 这使得低能离子生物效应具有区别与其它辐照手段的优势。近年来国内针对低能离子生物效应进行的大量研究表明, 低能离子具有马鞍型的存活-剂量曲线^[2]、超长穿透深度以及高效的基因突变率等特点。但对于低能离子注入的物理过程和对生物体的诱变机制还需要多方面的试验深入研究和论证^[3]。

耧斗菜(*Aquilegia* spp.) 是良好的宿根花卉, 其观赏性状优良, 适合在花境、草坪边缘、灌木丛下栽植, 一次栽培多年观赏, 是园林布置的重要材料, 可以很好的延长绿化美化时间、改善环境条件, 也是盆栽、切花的好材料, 深受西方人的喜爱, 在国外有着悠久的历史。

现介绍能量从 8 MeV 到 10 MeV 的 H 离子对耧斗菜干种子萌发率的影响, 以期研究离子注入能量、剂量与经处理后耧斗菜种子萌发率的关系, 为确定耧斗菜离子注入诱变育种适宜的辐照剂量提供理论参考依据。

1 材料与方 法

试验选用 3 种不同花色的杂种耧斗菜(*Aquilegia hybrida*) 自然结实的干种子为辐照材料, 耧斗菜种子椭圆形黑色有光泽, 耧斗菜种子长约 2~2.5 mm、宽约 1.5~1.8 mm, 千粒重约 1.45 g。

离子注入试验在北京大学重离子物理研究所进行, 能量分别为 8、9、10 MeV, 将耧斗菜干种子均匀粘在贴有双面胶的金属片上, 随机排列, 置于 3×10^{-6} Pa 的真空靶室中进行辐照。为了避免热效应束流强度不超过 100 nA, 通过静电扫描得到均匀宽束, 离子注入剂量在 10^{10} ions \cdot cm⁻² \cdot s⁻¹ 到 10^{11} ions \cdot cm⁻² \cdot s⁻¹ 之间, 由束流积分仪监测。

辐照后将种子进行催芽处理, 播种于 8 cm \times 8 cm 营养钵中, 待长出真叶, 生长状态稳定统计存活率, 所用种子样品数统计见表 1。每组均设 100 粒未处理的干种子作为对照。

2 结果与分析

2.1 萌发率与离子注入能量、剂量的关系

处理后种子萌发率最高的能量为 8 MeV 剂量为 10^{10} ions \cdot cm⁻² \cdot s⁻¹ 处理的白色杂种耧斗菜, 萌发率为 11%, 最低的能量为 8 MeV 剂量 10^{10} ions \cdot cm⁻² \cdot s⁻¹ 处理的紫红色杂种耧斗菜, 萌发率为 0, 明显低于对照组的萌发率 85.6%, 可见带电 H 离子的注入对耧斗菜种胚造成损伤, 严重影响种子的萌发。

3 种不同花色杂种耧斗菜种子经 H 离子注入后发芽率与离子注入参数关系见图 1。从图 1 可以看出, 不同离子注入参数对耧斗菜干种子萌发率的影响与离子

第一作者简介: 朱蕊蕊(1985-), 女, 在读硕士, 研究方向为园林植物遗传育种。E-mail: yemil1985@yahoo.cn.

通讯作者: 高亦珂(1966-), 女, 博士, 副教授, 主要研究方向为园林植物遗传育种及园林植物应用设计。E-mail: gaoyken@yahoo.com.cn.

基金项目: 北京大学重离子物理研究所开放课题资助项目。

收稿日期: 2009-05-20

束处理微生物和多数已报道的植物上的诱变效应一样,随着注入能量和剂量的升高呈现类似的“马鞍形曲线”,总体呈现逐步上升的趋势。随着能量的增加,峰值出现

所需剂量递减,在能量为 8 MeV 时萌发率的峰值出现在 $5 \times 10^{10} \text{ ions} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,而在 9 MeV、10 MeV 时峰值均出现在 $1 \times 10^{10} \text{ ions} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

表 1 不同能量剂量处理样品数

离子种类 能量/MeV	H								
	8			9			10		
剂量/ $\text{ions} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	1×10^{10}	5×10^{10}	1×10^{11}	1×10^{10}	5×10^{10}	1×10^{11}	1×10^{10}	5×10^{10}	1×10^{11}
白色	156	147	192	180	200	196	195	216	180
紫红黄色	182	195	188	172	153	156	178	176	198
蓝紫色	155	146	142	137	133	99	108	151	134

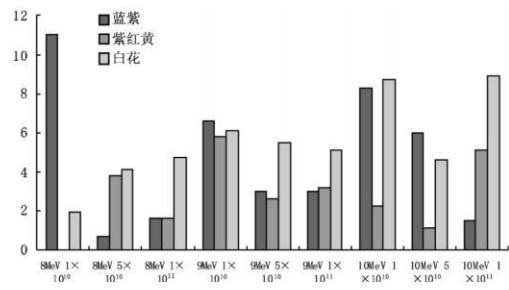


图 1 萌发率与注入能量剂量关系

2.2 M1 代变异性状分析

经过处理的种子播种后与对照组相比出苗慢,需要 1 个月左右长出子叶,比对照组延迟 15 d 左右,出苗后大部分存活的植株均出现了变异性状,在对照组已长出 4~5 片真叶时,有些处理后的种子出苗 1 个多月以后仍然停留在子叶阶段不长真叶,并且发现三子叶以及子叶变红、变紫等变异;较多植株长出的真叶后叶型变化较大,最明显的是由处理前的深裂叶变异成处理后的全缘叶,且叶片深绿肥厚具有子叶的特征;出现幼苗植株整株变红变紫现象;还有的变异植株节间明显缩短,在长出 4~5 片叶时株高还不足 1 cm,并伴随叶片发黄叶片边缘向上卷曲的现象;有些幼苗的第 1 片真叶上,沿中央小叶叶脉处出现块状叶绿素缺失变异;少数植株与对照相比出现了生长优势,表现在生长速度加快,株高显著高于对照,叶片变大等方面。

3 讨论

3.1 变异性状的遗传分析

目前,8 MeV 1×10^{10} 处理的蓝紫矮斗菜中出现 2 株叶绿素缺失变异的植株,观赏效果好,且变异率达到了 1.3%,下一步希望对具相关优良变异性状的变异株进

行无性繁殖和有性繁殖,进一步确定此性状可否遗传。目前尚未见到其它研究中对离子注入出现的变异性状做过相关的遗传分析。

3.2 离子注入诱变育种机理研究

总体来看萌发率随着注入能量和剂量的升高呈不规则曲线变化,说明当质子能量大于 8 MeV 时其辐射损伤反而变小,分析原因可能为:入射离子能量较高时将整个种子穿透使注入离子并未停留在种子胚内部,并未产生复杂的生物学效应,而入射离子能量较低时,注入离子停留在种胚内部与种胚相互作用,它们在沉积过程中不断与生物分子键合、置换或者填充着空位,使生物分子电离或激发导致电离损伤,形成新的分子基团^[4]。

从能量守恒的角度来看,在一定范围内经离子加速器获得较高能量的注入离子对生物体产生的电子溅射所引起的蚀刻程度将更加严重,选育优良突变体的几率也会显著增加,针对不同的植物,或同一植物的不同品种间,或同一品种的不同部位所需的最佳能量、剂量是不同的^[9]。在以后试验中需要根据试验材料,需要继续筛选适合于矮斗菜的离子注入诱变的最佳参数。

参考文献

[1] 虞龙,余增亮. 离子束生物工程及其应用研究[J]. 中国兽药杂志, 2001(1): 55-59.
[2] 余增亮. 离子束生物技术引论[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1998.
[3] 覃怀莉,薛建明,王宇钢等. MeV 离子辐照拟南芥的萌发规律研究[J]. 核技术, 2005(9): 675-677.
[4] 刘录祥,程俊源. 植物诱变育种新技术研究进展[J]. 核农学通报, 1997(4): 187-190.
[5] 陈慧选,余增亮,陈慧平. 浅谈离子束在生物品种改良上的应用[J]. 山西农业科学, 1998, 26(1): 83-84.

利用多因子正交试验建立桑的无菌快繁体系

李想韵, 朱 鸿, 饶 灿, 李 鹏, 宋 锋

(西南大学 生命科学学院 四川 重庆 400715)

摘 要:以桑侧枝茎段为材料, 利用 $L_9(3^4)$ 正交设计探讨培养基种类和激素配比对桑茎段丛生芽诱导效率的影响, 并对影响桑外植体生根的主要因子进行了研究。结果表明: $A_2B_2C_1$ 为诱导出芽的最佳培养基与激素组合, 并且可同时实现芽增殖; 生根培养基为 $WPM+1.0\text{ mg/L IBA}$ 。

关键词:桑; 正交设计; 不定芽诱导; 生根

中图分类号: S 686 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)10-0090-03

桑(*Morus alba* L.)是桑科(Moraceae)桑属(*Morus*)多年生木本双子叶植物。桑树全身是宝, 桑树的果、根、茎、叶以及加工副产物都具有很高的药用价值和保健价值^[1-3]。桑叶中富含人体所需的 18 种氨基酸, 其中有 8 种是人体所必需的, 桑叶中还含有槲皮素、超氧化物歧化酶、多糖、葫芦巴碱等特殊的功能性成分; 桑枝是一种很好的中药材, 其中所含的黄酮类化合物具有抗菌、抗病毒、抗氧化、抗衰老、抗肿瘤等功能, 在农业、医药、化工等领域有着重要的应用价值^[4,5]; 桑根具有显著的降压作用, 还有一定的抗 HIV 活性^[1]。采用正交设计的方法

筛选和建立桑的无菌快繁体系, 目前还未见报道。试验旨在探讨不同激素、不同培养基对桑茎段诱导出芽、芽增殖以及生根培养的影响, 以期快速筛选出最佳芽诱导、增殖和生根的培养基与激素组合, 为进一步开展桑的遗传转化工作奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材采自西南大学蚕桑种植基地 2 a 生嘉陵 16 号桑。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体表面消毒 2008 年 7 月采摘 5 月萌发的桑侧枝茎段, 在低浓度洗衣粉中用小毛刷轻轻刷洗 3 min 后于清洁流水下冲洗 2~3 h、用 70% 酒精消毒 30 s、0.1% 升汞采用 2 次消毒法^[6]分段消毒 5 min 和 6 min、无菌水漂洗 6~8 次、在灭菌滤纸上将外植体表面的水吸干, 切成 1 cm 长的带芽小段, 接入不同的培养基中。

1.2.2 桑无菌体系的建立 桑茎段诱导不定芽无菌体系的建立^[7], 设置细胞分裂素浓度、生长素浓度和基本培养基种类 3 个因素, 每个因素 3 个水平, 每处理接种

第一作者简介: 李想韵(1985-), 女, 四川宜宾人, 硕士, 现主要从事植物生物学与生物技术研究。E-mail: yun731@swu.edu.cn.

通讯作者: 孙敏(1957-), 男, 四川巴中人, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事植物生物学与生物技术方向研究工作。E-mail: jwscm@swu.edu.cn.

基金项目: 三峡库区生态环境教育部重点实验室开放基金资助项目(EF200609)。

收稿日期: 2009-05-20

The Research Advances of Plant Mutation Breeding with Ion-beam Irradiation

ZHU Rui-rui¹, YANG Shan-shan¹, WANG Yu-gang², XU Lian-jiang³, GAO Yi-ke¹

(1. College of Landscape Architecture Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. Peking University Institute of Heavy Ion Physics, Key laboratory of Heavy Ion Physics, Ministry of Education, Beijing 100871, China; 3. Beijing Dongsheng Seed Industry Company, Beijing 100085, China)

Abstract: Dry seeds of *Aquilegia hybrida* were irradiated by H ion beams with different energy and dose, in order to study the effect of different energy and dose of ion-beam irradiation on the seed germination of *Aquilegia* and provide valuable information for the mutation breeding of *Aquilegia*. The results indicated that seed germination present irregular curve with the increasing of irradiation doses of H ion beams with different energy. The possible mechanism were also discussed.

Key words: Ion-beam irradiation; *Aquilegia*; Seed germination