

DOI:10.11937/bfyy.201512017

快中子辐射百日草当代的生物学效应

李多芳,董亚净,耿金鹏,曹天光,田安然,展永

(河北工业大学 生物物理研究所,天津 300401)

摘要:以百日草为试材,采用 14 MeV 的单能快中子辐照百日草干种子,研究了不同剂量快中子辐射对当代百日草种子的萌发及幼苗的生长状况的影响。结果表明:各辐射剂量处理组的百日草种子发芽率和幼苗株高与对照相比无显著性变化;在表型性状的观察中,辐射后的百日草叶片和花部性状均发生较明显变异,其中叶子变异性状在植株生长过程中逐渐恢复,而花型花色的变异性状基本稳定;百日草病害调查结果显示中子辐射处理后的幼苗感染黑斑病的比率明显减低。综上所述,中子辐射技术对百日草品种改良是可行的。中子辐照百日草生物性状的研究为培育优良花卉新品种提供了重要的参考和依据。

关键词:快中子;诱变效应;百日草;变异性状

中图分类号:Q 691 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)12-0058-05

辐射诱变育种是利用电磁波和加速粒子流辐照生物个体、组织、细胞等,使其产生可遗传的变异,通过对有益变异筛选培育新的优良动植物新品种的新型育种技术^[1]。辐射诱变育种技术在农作物、蔬菜、花卉等植

物育种中已取得一些成果^[2-4]。而中子作为诱变源也被应用于多种植物的诱变研究中^[5-9]。根据能量的不同,中子可以分为快中子、中能中子和热中子(亦称为慢中子)。不同能量的中子与生物体的相互作用机制不同^[10]。对于快中子来说,其与组织的相互作用主要是与组织元素的原子核发生碰撞形成反冲质子,进而引起生物体 DNA 断裂、染色体畸变、基因组不稳定和细胞凋亡等生物效应^[11-13]。中子辐射造成的多种生物损伤大多难以修复,从而使生物体发生多种结构和功能变异,为动植物育种提供丰富的基础材料。

百日草(*Zinnia elegans* Jacq.)属菊科百日草属一年生草本植物,又名百日菊、步步高。因其花色花型纷繁亮丽,花期较长,被广泛的应用于花坛装点和室内切

第一作者简介:李多芳(1985-),女,博士研究生,现主要从事辐照植物育种与生物进化等研究工作。E-mail:duofang_6608@163.com.

责任作者:展永(1954-),男,教授,现主要从事生物大分子动力学与离子通道及辐射生物学等研究工作。E-mail:yongz2013@163.com.

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(C2013202192);航天育种迁安基地建设资助项目(607023)。

收稿日期:2015-01-28

Abstract: The seeds of five kinds of forage grasses which included *Agropyron desertorum*, *Agropyron mongolicum*, *A. groppyon cristatum* × *A. desertorum* cv. Hycrest Mengnong, *Psathyrostachys juncea* (Fisch.) Nevski and *Bromus inermis* Leyss were selected and germinated under different drought stress conditions by simulating with different concentrations of PEG-6000 (−0.3 MPa, −0.6 MPa, −0.9 MPa, −1.2 MPa). The relative germination percentage, relative germination rate, radicle germ ratio, simplified vigor index and germination index were determined. The results showed that, the low concentration of PEG (−0.3 MPa) significantly promoted seed germination of *Agropyron mongolicum* and *A. groppyon cristatum* × *A. desertorum* cv. Hycrest Mengnong. According to average values of radicle germ ratio, simplified vigor index and germination index, −0.6 MPa water potential may be the critical value for drought resistance of the forage grasses. The drought resistances of the five forage grasses were comprehensively evaluated by using membership function. The evaluation value of the five kinds of forage grasses from high to low were *Bromus inermis* Leyss, *Agropyron mongolicum*, *Agropyron cristatum* × *A. desertorum* cv. Hycrest Mengnong, *Agropyron desertorum* and *Psathyrostachys juncea* (Fisch.) Nevski.

Keywords: PEG; seed germination; drought resistance

花^[14]。目前,国内花卉市场上的百日草栽培品种多以进口为主,如梦境系列(Dreamland)、丰盛系列(Profusion)、明星系列(Star)等,自主知识产权的百日草品种较少。Samaha 等^[15]研究表明,百日草属自交不亲和植物,百日草的育种多以不育系和系谱法杂交选育为主^[16-19]。但常规育种中优良的不育系材料较难获得且育种周期长。诱变育种作为一种有效的育种手段已被应用于多种花卉品种改良中^[20-21],而对百日草诱变效应研究较少。现利用快中子辐射百日草种子,对其诱变生物效应进行分析,以期培育优良花卉新品种提供了重要的参考和依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

辐照材料为性状稳定的百日草(*Zinnia elegans* Jacq.)种子。百日草种子分为对照组和处理组,对照种子 20 粒,处理组种子共 30 粒。

1.2 试验方法

1.2.1 中子辐照 采用中国原子能科学研究院 600 kV 高压倍加器产生的 14 MeV 的单能中子对百日草干种子进行辐照处理。产生中子的核反应为 $T(d,n)\alpha$,可通过记录 α 粒子的方法来检测中子的剂量^[22]。该试验百日草的辐射剂量分别为 1、3、5、10、15 Gy 5 个剂量水平,以同一批次未辐照的种子为对照(CK)。

1.2.2 幼苗培养 将单能快中子辐照处理的百日草种子 30 粒和未经处理的同一批次的对照百日草种子 20 粒分别播种于穴盆中,再将其置于温室中培育。7 d 后统计对照组及各剂量处理组种子的发芽率,25 d 后统计幼苗的成活株数。对百日草生长初期的幼苗株高进行观察记录。在播种 27 d 后对幼苗的株高进行测量和统计。在生长过程中对中子辐射后的百日草幼苗黑斑病的染病情况进行了观察记录。待植物开花后记录花型花色的变异情况。

1.3 数据分析

通过统计描述和方差分析的方法对不同剂量处理的百日草发芽率、株高、病害情况进行分析。通过观察辐照后百日草叶片和花部性状的变异情况进行对比研究。

2 结果与分析

2.1 不同剂量快中子辐射对当代百日草种子活力的影响

种子发芽率是植物种子活力和幼苗生命力的体现,同时也是检测辐射诱变生物效应的重要指标。较高的幼苗发芽率和存活率也是辐射诱变育种有效性的重要体现。从表 1 可以看出,对照组(CK)百日草的发芽率为 80%。辐照组中 3 Gy 辐照组的发芽率为 100%。其它

剂量处理组均为 83%。25 d 后对照组幼苗成活株数为 19 株,辐照组幼苗成活株数共 26 株。由此可见,在该试验的剂量范围内快中子辐照对百日草种子的发芽率没有明显影响。

表 1 不同剂量快中子辐射对百日草幼苗发芽率和成活株数的影响

Table 1 Effect of irradiated by different doses of fast neutrons on germination rate and survival plant number of *Zinnia elegans* Jacq.

剂量 Dose /Gy	播种数 Seed number	7 d 发芽数 Number of germination in 7 days	发芽率 Germination rate/%	成活植株数 Number of survival plants
0(CK)	20	16	80	19
1	6	5	83	5
3	6	6	100	6
5	6	5	83	5
10	6	5	83	5
15	6	5	83	5

2.2 不同剂量快中子辐射对百日草幼苗株高的影响

由表 2 可知,对照组的百日草幼苗株高平均值为 10.26 cm,各剂量处理组的幼苗株高平均值分别为 12.54、12.57、10.54、9.42、12.20 cm。除 10 Gy 辐照组之外,其它剂量处理百日草的平均株高均有所升高。值得注意的是 10 Gy 剂量处理组有 1 株幼苗生长受到明显抑制,27 d 的幼苗株高仅为 1.8 cm。表 3 方差分析结果表明,各剂量处理组的幼苗株高与对照相比无显著性差异。这也表明在该试验辐射条件下快中子对百日草幼苗的株高无明显影响。

表 2 不同剂量快中子辐射对百日草幼苗株高的影响

Table 2 Effect of irradiated by different doses of fast neutrons on seedling height of *Zinnia elegans* Jacq.

剂量 Dose /Gy	样本数 Number of samples	株高平均值 Average of seedling height/cm	标准差 Standard deviation/cm	最小值 Minimum /cm	最大值 Maximum /cm
0(CK)	10	10.26	2.38	7.1	13.7
1	5	12.54	2.59	9.8	16.6
3	6	12.57	1.67	9.8	14.6
5	5	10.54	2.67	8.2	13.5
10	5	9.42	4.37	1.8	12.2
15	5	12.20	2.10	10.1	15.4

表 3 不同剂量辐射后百日草幼苗株高的方差分析

Table 3 The variance analysis of seedling height of *Zinnia elegans* Jacq. radiated by different doses of fast neutrons

对照组 The control group (I)	剂量处理组 The radiated groups (J)/Gy	均值差 Mean difference (I - J)	标准误 Standard error	显著性 Signification
CK	1	-2.28444	1.49726	0.138
	3	-2.31111	1.41478	0.113
	5	-0.28444	1.49726	0.851
	10	0.83556	1.49726	0.581
	15	-1.94444	1.49726	0.204

2.3 不同剂量快中子辐射对百日草叶片和花部性状变异的影响

通过对百日草表型性状的观察发现中子辐射能够引起 M1 代植株叶片和花发生丰富的变异。快中子辐射的百日草叶片表现出局部小面积损伤,如叶绿素缺失,

叶型不规则,叶片部分萎缩,叶序变化等。从图 1 可以看出,处理植株 N1-1 叶基部位出现残缺,叶形不规则。N3-1 变异株叶片边缘表现出对称的叶绿素缺失,叶片颜色变黄。快中子辐射百日草 M1 代植株中发现 2 个叶序变异植株,分别为 N5-2 和 N15-1。野生型的百日草为垂



图 1 快中子辐射百日草 M1 代幼苗叶子的变异情况

Fig. 1 The variations on leafs of *Zinnia elegans* Jacq. irradiated by fast neutron in M1 generation



图 2 快中子辐射百日草 M1 代花部的变异情况

Fig. 2 The variations on flowers of *Zinnia elegans* Jacq. irradiated by fast neutron in M1 generation

直对生叶序,而突变株 N5-2 在第 2、3 对叶片着生处出现 3 叶共生叶序。突变株 N15-1 从第 3 对叶片处出现叶序紊乱,叶序呈现不规则变化。随着植株的生长,绝大多数百日草叶子的变异逐渐被修复而恢复正常。因此,中子的辐射效应对植物营养器官的生理代谢过程有明显的影响,且这种影响是不稳定的。

百日草的花部性状也受到中子辐射的显著影响。该试验中野生型的百日草为粉白色单层花序,花瓣为平展舌状。中子辐照处理组的花朵在花型花色上均发生较大变异。从图 2 可以看出,花色变异最为明显,有渐变色、浅紫色、浅绿色、乳白色等。花瓣变异主要是由平展型变为褶皱型、边缘锯齿型和管型。此外,花瓣的数量和花朵中小花的数量也有一定的变异。对同一株植物来说,不同分支上花部性状基本一致。由此可见,中子辐射对百日草花部性状的影响是稳定的。

2.4 不同剂量快中子辐射对百日草黑斑病感染抗性的影响

黑斑病又称褐斑病,初期表现为叶片尖端出现黑褐色斑状枯萎,是百日草培育过程中重要病害之一^[23]。从图 3 可以看出,对照组的 19 株植株中有 5 株染病,中子辐照组 26 株植物中 4 株染病。对照组与中子辐照组的染病率分别为 26.30% 和 15.40%。表明中子辐照对百日草植株当代黑斑病的感染情况有一定的影响。由此可见,中子辐射在一定程度上能够提高植株的成活率和观赏性。

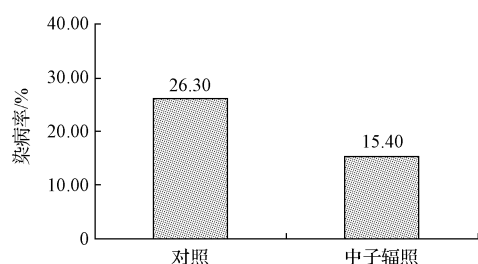


图 3 快中子辐射对百日草黑斑病染病率的影响

Fig. 3 The effect of fast neutron radiation on the infection rate of black spot disease in *Zinnia elegans* Jacq.

3 讨论与结论

在该试验中,快中子辐照对百日草种子发芽率和幼苗株高无明显影响。韩微波等^[24]研究表明快中子辐照紫花苜蓿后其发芽率和发芽势明显高于对照。张银洁等^[25]在中子辐射蝴蝶兰球茎的研究中得出低注量的快中子辐射对原球茎存活率影响不显著;高注量的快中子辐射后原球茎的存活率显著降低。潘多峰等^[7]研究快中子

辐照 3 种禾草种子后的发芽率发现一定的剂量范围内不同的品种发芽率随剂量变化不尽相同。李梦等^[26]对大豆的诱变效应研究表明随剂量的增加发芽率呈下降趋势。因此,中子辐射对不同品种发芽率的影响有所不同。

在中子辐射当代的诱变效应中,叶子和花的变异较大。其中叶序、不规则叶形的变异在植物的生长过程中阶段性出现,变异性状不稳定。花部性状的变异类型多样,且同一株的变异性状基本稳定。Venkatachalam 等^[27]报道了不同剂量的 γ 射线辐射百日草种子得到多种花色变异的突变株。叶子和花的多样性是观赏性花卉的 2 个重要的性状,尤其是花部性状,其观赏价值在于以“新、奇、特”为代表的变异性状^[28-29]。该试验快中子辐射百日草花型花色的稳定变异为中子辐射植物诱变效应的研究提供了有益的参考。除观赏性状的变异之外,改良花卉品种的抗性也是花卉育种的主要目标之一。百日草褐斑病一直是影响百日草植株的成活率和观赏性的主要病害之一。提高植物本身的抗病性对于百日草新品种的培育来说至关重要。该试验百日草褐斑病感染的研究结果表明,快中子辐射能够提高百日草植株对褐斑病的抗性。段雪梅^[30]研究发现中子辐射能够增强红三叶对白粉病的抗性,与该研究结果相似。由此可见,中子辐射诱变对改良植物抗性有一定的影响。

综上所述,快中子辐射对百日草当代的生物性状有一定的影响。中子辐射作为一种有效的诱变手段,在花卉新品种的培育中应用前景十分广阔。

(致谢:感谢中国原子能科学研究院核物理研究所王潇研究员、隋丽副研究员、孔福全副研究员在辐照试验上提供的帮助。)

参考文献

- [1] 李鹏,李新华,张锋,等. 植物辐射诱变的分子机理研究进展[J]. 核农学报,2008,22(5):626-629.
- [2] Esnault M A, Legue F, Chenal C. Ionizing radiation: Advances in plant response[J]. Environmental and Experimental Botany, 2010, 68(3): 231-237.
- [3] 王志东. 我国辐射诱变育种的现状分析[J]. 同位素, 2005, 18(3): 183-185.
- [4] 马爽,李文建,周利斌,等. 观赏植物诱变育种的 research 现状和展望[J]. 核农学报, 2007, 21(4): 378-382.
- [5] Alessio F, Paola T, Mario D, et al. Neutron irradiation affects the expression of genes involved in the response to auxin, senescence and oxidative stress in Arabidopsis[J]. Plant Signaling and Behavior, 2010, 5(8): 959-967.
- [6] Hanafy M S, Mohamed H A. Effect of irradiation of wheat grains with fast neutrons on the grain yield and other characteristics of the plants[J]. Applied Radiation and Isotopes, 2014, 86: 71-78.
- [7] 潘多峰,张月学,申忠宝,等. 快中子辐射对禾草种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 草业科学, 2012, 29(8): 1240-1244.

- [8] 李梦,于少华,陈光,等.热中子对大豆的诱变效应[J].吉林农业大学学报,1993(1):55-57.
- [9] Shi J M,Lu W H,Sun Y Q. Comparison of space flight and heavy ion radiation induced genomic/epigenomic mutations in rice(*Oryza sativa*) [J]. Life Sciences in Space Research,2014,2(7):74-79.
- [10] 段志凯,郭万龙,刘建功.中子辐射生物效应研究进展[J].辐射防护通讯,2008,28(5):19-22.
- [11] Tanaka K,Gajendiran N,Endo S. Journal of energy dependent Initial DNA damage and chromosome exchange[J]. Radiation Research,1999,40:36.
- [12] Lee H J,Kim S H. Radiological effectiveness of fast neutrons for apoptosis in mouse hair follicles[J]. Veterinary Science,2007,8(4):335-339.
- [13] Ishida Y,Ohmachi Y,Nakata Y. Dose response and large relative biological effectiveness of fast neutrons with regard to mouse fetal cerebral neuron apoptosis[J]. Journal of Radiation Research,2006,47(1):41-46.
- [14] Saleem B A,Nafees M,Frooq M,et al. Genetic variability estimation for growth characteristics in *Zinnia elegans* Jacq across different population densities [J]. International Journal of Agriculture and Biology,2003,5(4):496-498.
- [15] Samaha R R,Boyle T H. Self-incompatibility of *Zinnia angustifolia* HBK(compositae):II. Genetics[J]. Journal of Heredity,1989b,80(5):368-372.
- [16] 王平,赵景云,苏君伟.百日草雄性不育两用性及其在育种中的应用[J].北方园艺,2004(3):70-71.
- [17] 徐海霞,刘彤,刘霞.百日草雄性不育系的选育及研究[J].安徽农学通报,2007,13(9):51-52.
- [18] Boyle T H,Stimart D P. Effect of *Zinnia angustifolia* HBK genotype on morphology and flowering of *Z. angustifolia* × *Z. elegans* Jacq. hybrids [J]. Euphytica,1989b,44(1):73-79.
- [19] Spooner D M,Stimart D P,Boyle T H. *Zinnia marylandica* (Asteraceae: Heliantheae):a new disease-resistant ornamental hybrid[J]. Brittonia,1991,43:7-10.
- [20] 董喜存,李文建,余丽霞,等.用随机扩增多态性 DNA 技术对重离子辐照大丽花花色突变体的初步研究[J].辐射研究与辐射工艺学报,2007,25(1):62-64.
- [21] 陈秀兰,包建忠,刘春贵,等.观赏荷花辐射诱变育种初报[J].核农学报,2004(3):201-203.
- [22] 隋丽,王潇,周平坤,等.14MeV 单能中子致 DNA 链断裂及相应防护研究[J].原子能科学技术,2012,46(3):380-384.
- [23] 龚衍熙,陈少萍.百日草花期控制与病虫害防治[J].中国花卉园艺,2008(6):22-24.
- [24] 韩微波,张月学,唐凤兰,等.快中子辐照紫花苜蓿的生物学效应与 RAPD 分析[J].核农学报,2011,25(4):704-707.
- [25] 张银洁,李杰,郑春.快中子辐射对蝴蝶兰的诱变效应[J].江苏农业科学,2014,42(5):158-159.
- [26] 李梦,李国全,于少华,等.快中子对大豆的诱变效应[J].吉林农业科学,1993(1):14-16.
- [27] Venkatachalam P,Jayabalan N. Effect of gamma rayson some qualitative and quantitative characters in *Zinnia elegans* Jacq. [J]. The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding,1997,57(3):225-261.
- [28] 王雁,李璐滨,韩蕾.空间诱变技术及其在我国花卉育种上的应用[J].林业科学研究,2002,15(2):229-234.
- [29] 李谨,耿金鹏,曹天光,等.太空环境对四季薰衣草的诱变效应[J].生物物理学报,2014,30(3):207-215.
- [30] 段雪梅.中子辐射下红三叶生物学效应评价及白粉病抗性预测[D].兰州:甘肃农业大学,2009.

Mutagenic Effect of *Zinnia elegans* Jacq. Induced by Fast Neutron

LI Duo-fang,DONG Ya-jing,GENG Jin-peng,CAO Tian-guang,TIAN An-ran,ZHAN Yong

(Institution of Biophysics,Hebei University of Technology,Tianjin 300401)

Abstract: Taking dry seeds of *Zinnia elegans* Jacq. as test material, they were irradiated by fast neutron with energy 14 MeV, the effect of different doses of fast neutrons radiation on seed germination and seedling growth of *Zinnia elegans* Jacq. were investigated. The results showed that compared with the control plants, *Zinnia elegans* Jacq. plants radiated by fast neutron had no significant differences on germination rate and seedling height. In the observation about plant traits, leaves and flowers of irradiated *Zinnia elegans* Jacq. plants occurred obvious variations, of which the variations on leaves could be repaired gradually in plant growth process, while that on flowers were basically stable. The disease survey results suggested that the infection rate of black spot disease of *Zinnia elegans* Jacq. plants radiated by fast neutron was obviously lower than control plants. In conclusion, neutron radiation technology was feasible for improvement of *Zinnia elegans* Jacq. varieties. The studies on the mutagenic effect of neutron radiation on biological traits of *Zinnia elegans* Jacq. provided an important reference and basis for flower breeding.

Keywords: fast neutron; mutagenic effect; *Zinnia elegans* Jacq.; variation traits