

低能离子束注入不同蔬菜种子后的剂量效应

梁秋霞¹, 黄群策¹, 曹刚强², 应芳卿³, 吴小波³

(1. 郑州大学河南省离子束生物工程重点实验室, 450052; 2. 郑州大学生物工程系, 450001;
3. 河南省郑州市蔬菜研究所, 450000)

摘要:以能量为 30 KeV 的氮离子束为诱变源,采用不同的离子注入剂量对6种蔬菜 19 个品种进行处理后,对其种子发芽率与离子注入剂量效应之间的关系进行了研究。结果表明:低能离子束所导致的生物学效应因不同的蔬菜种类而表现出一定的差异,其离子注入剂量与种子发芽率的关系总趋势呈现出先降后升再降的“马鞍型”曲线,同时,由于不同蔬菜品种的基因型存在着明显的差异,有的品种表现为先升后降再升高或者再继续下降,试验材料在受到离子注入后总会表现出种子发芽率的一个升高的趋势点。多数蔬菜品种的发芽率随着注入离子剂量的提高而呈现出波浪状变化,在发芽率曲线的波谷(即发芽率最低点),后代群体内发生变异的频率最高。

关键词:离子束;发芽率;剂量
中图分类号: S 63; S 604⁺.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2007)05-0001-04

食品安全问题已经受到越来越多有识之士的关注。在食品安全问题中蔬菜的食用安全问题显得尤为重要,以致于许多学者都花费大量的精力探讨无公害蔬菜的问题。通过现代生物技术对现有蔬菜品种进行有效地遗传改良,进而筛选出具有更强的抗性、更广泛的适应性和更大的实用价值的新品种是解决蔬菜食用安全的有效途径之一。离子束生物技术是具有我国独立知识产权的在生物物理研究领域内的实用性技术。20 世纪 80 年代,中国科学院等离子体物理研究所的余增亮先生首先揭开了离子束生物工程的研究序幕^[1]。目前,其遗传改良的实用性已经在小麦^[2]、水稻^[3]、棉花^[4]、西瓜等作物上得到了充分地证实。然而,利用离子注入技术对蔬菜的遗传性状进行改良的文献报道比较少见。我们以氮离子束为诱变源,采用不同的离子注入剂量对 6 种蔬菜 19 个品种进行了离子注入处理,对其种子发芽率与离子注入剂量效应之间的关系进行了研究,旨在为离子束生物技术在蔬菜遗传改良中应用提供参考资料。

1 材料与方法

在试验中选用番茄(F₃-29、Y94-11-1、L23、L20)、辣椒(LZ51、LZ52、LZ53、LZ54、LZ56、LZ57)、上海青(矮莴青)、大白菜(郑研小包 65)、萝卜(791)和黄瓜(A₃₂-1、A₁₉-

1、B₃₂-1、B₁₉-1、B₂₇、B₂₂-1)等 6 种蔬菜共计 21 个品种为试验材料。在进行试验之前已经证实,每一个品种均具有稳定的遗传基础和整齐一致的特征特性。

离子注入试验在郑州大学河南省离子束生物工程重点实验室的离子注入机(俄罗斯生产的 TITAN 低能离子注入机)上进行。选用能量为 30KeV 的不同剂量的氮离子束处理各份试验材料的干种子,离子注入剂量见表 1。在每份被处理的材料中包括 300 粒种子,以未经任何处理的 100 粒种子作为对照。试验设 3 次重复。试验材料经过离子注入处理后进行发芽试验。对种子发芽状况的鉴定标准参照 Whitting 等(1972)鉴定方法即试验材料经过离子注入处理后将实验处理种子及对照各 100 粒,置于垫有直径 9cm 双层滤纸的培养皿中,倒入 8mL 蒸馏水,加盖后放置在 26℃人工温室内发芽,种子以胚根明显露白为发芽,每隔 24h 将发芽种子进行统计计数,对试验资料的鉴定和统计延续至发芽后第 10d 为止。

表 1 低能 N⁺ 离子束注入蔬菜作物的干种子的剂量

作物种类	品种名称或编号	注入剂量(×10 ¹⁷ ions/cm ²)
番茄	F ₃ -29、Y94-11-1、L23、L20	1、2、3、4、5
辣椒	LZ51、LZ52、LZ53、LZ54、LZ56、LZ57	2、3、4、5、6
上海青	矮莴青	3、5、7
大白菜	郑研小包 65	3、4、5
萝卜	791	3、4、5
黄瓜	A ₃₂ -1、A ₁₉ -1、B ₃₂ -1、B ₁₉ -1、B ₂₇ 、B ₂₂ -1	3、5、7

2 结果

- 2.1 N⁺束注入对茄科蔬菜发芽率的影响
- 2.1.1 N⁺束注入对番茄发芽率的影响 试验结果表

第一作者简介:梁秋霞(1971-),女,博士研究生,主要从事离子束生物技术的研究工作, E-mail: liangqiuxia@zzu.edu.cn.
通讯作者:黄群策。
基金项目:国家“十五”科技攻关资助项目(2001BA302B-(B))。
收稿日期:2006-12-20

明 Y94-11-1 番茄对 $0 \sim 1 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 的离子注入剂量反应敏感, 发芽率呈现急剧下降趋势, 在 $2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时发芽率下降为 0。随着离子注入剂量的增加, 发芽率又开始升高, 到 $4 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时其发芽率为 70.8%, 达到最高值, 而后增大离子注入剂量其发芽率又开始下降。

L20 番茄对 $1 \sim 2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量的离子注入反应敏感, 发芽率呈现急剧下降趋势, $2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时发芽率为 0。随着剂量的增加, 发芽率又开始升高, 至 $4 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时发芽率达到最高值 91.1%, 而后随着离子注入剂量的继续提高其发芽率开始下降。

L23 番茄在 $2 \sim 3 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量处理条件下反应较敏感, 由于该品种本身出苗率低, 相对其它品种发芽率降低较慢, $2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时, 其发芽率为 45.3%, $3 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时发芽率降至 0, 随着剂量的增加, 发芽率又开始升高, 至 $4 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时发芽率为 44.9%, 离子注入剂量继续提高则发芽率又开始下降。

F₃-29 番茄在剂量为 $0 \sim 4 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 离子束处理条件下发芽率变化不大, 在 $3 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 时, 其发芽率为 78.9%, 比对照降低了 2.3%。其后随着离子注入剂量的增加其发芽率呈现急剧下降趋势。

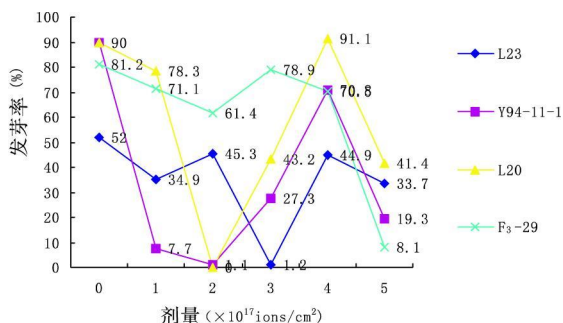


图1 不同剂量的 N^+ 束注入对不同番茄品种发芽率的曲线图

注: 剂量: 0-CK, 1- $1 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$, 2- $2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$, 3- $3 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$, 4- $4 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$, 5- $5 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$, 6- $6 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$, 7- $7 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$, 以下图同。

2.1.2 N^+ 束注入对辣椒发芽率的影响 试验结果表明: L56 辣椒在剂量分别为 $2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 、 $4 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 、 $6 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 的离子束注入时其发芽率为 0, 在 $3 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 、 $5 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 注入剂量时发芽率为 2% 和 2.8% 与对照的发芽率 2.9% 基本相同。

L51 辣椒对低于 $2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量的离子束处理不影响发芽率, 高于 $2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量其发芽率开始下降, $3 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时降至 0。随着离子注入剂量的继续增加则发芽率开始提高, 至 $5 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂

量时其发芽率达到最高值 41.9%, 比对照的发芽率高 22.5%, 剂量再继续增加, 其发芽率呈现持续下降趋势, 到 $6 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时其发芽率为 0.6%。

L52 辣椒在 $2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量的离子束注入时, 发芽率比对照提高了 13.7%, $2 \sim 3 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量范围内维持较高的发芽率, 高于 $3 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量发芽率降低, 至 $4 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时到最低值 5.5%, 随着离子注入剂量的继续提高, 其发芽率呈现急剧上升趋势, 在 $5 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时发芽率达到最高值 34.3%, 再增加剂量, 发芽率又急剧下降。

L53 辣椒在剂量为 $0 \sim 2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 的离子束注入处理时其发芽率急剧下降直到 0, 当离子注入剂量继续增加至 $3 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 时发芽率较对照提高 2 倍, 再继续增加发芽率持续下降, 到 $6 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时, 发芽率降至 0。

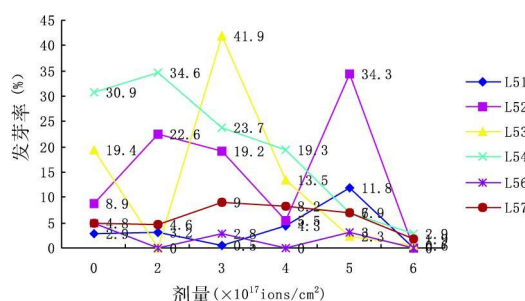


图2 不同剂量的 N^+ 束注入对不同辣椒品种发芽率的曲线图

L54 辣椒在 $0 \sim 2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量范围内发芽率略有升高, 在 $2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量的离子注入时其发芽率为 34.6%, 高于 $2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时其发芽率持续下降。

在 $0 \sim 2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量范围内对 L57 辣椒的发芽率影响不大, 高于 $2 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时发芽率呈上升趋势, $3 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时发芽率达最高 9%, 比对照的发芽率高 5%, 在 $3 \sim 5 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量范围内持续维持较高的发芽率, 下降较慢, 高于 $5 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时其发芽率又开始下降。

2.2 N^+ 束注入对十字花科蔬菜发芽率的影响

2.2.1 N^+ 束注入对萝卜发芽率的影响 试验结果表明: 791 萝卜干种子在 $0 \sim 4 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量处理时, 发芽率由 98% 下降至 45.2%, 在剂量为 $3 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 的离子注入时其发芽率为 81.7%, 比对照降低了 16.3%, 随着注入离子剂量的提高, 其发芽率下降幅度较大, 在 $4 \times 10^{17} \text{ ions/cm}^2$ 剂量时其发芽率比对照下降了 52.8%, 达到最低值 45.2%, 而后呈现上升趋势(见图 3)。不同剂量的 N^+ 束注入 791 萝卜种子后, 从总体上

观察其变异苗的发生率有所提高。在 3×10^{17} ions/cm² 和 5×10^{17} ions/cm² 剂量时, 其变异苗的发生率提高了 1.1%~1.7%, 在出苗率 (45.2%) 最低的 4×10^{17} ions/cm² 剂量时, 变异苗率达 34.4%, 较对照提高 26.2% (见表 2)。

表 2 不同剂量的 N⁺ 束注入 791 萝卜种子后
变异苗的发生率

剂量($\times 10^{17}$ ions/cm ²)	0	3	4	5
变异苗率(%)	8.2	9.3	34.4	9.9

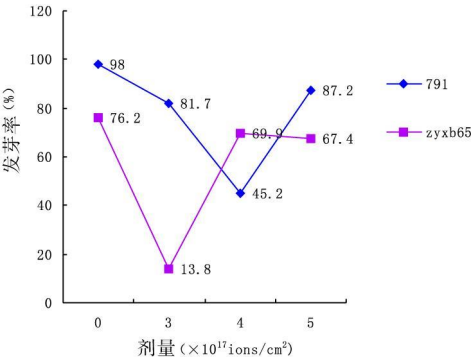


图 3 不同剂量的 N⁺ 束注入不同萝卜、白菜品种的发芽率曲线图

2.2.2 N⁺ 束注入对白菜发芽率的影响 试验结果表明: 郑研小包 65(zyxb65) 白菜在 $0 \sim 3 \times 10^{17}$ ions/cm² 剂

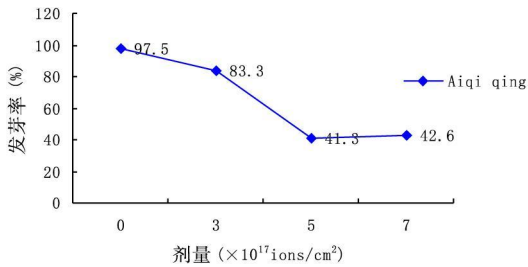


图 4 不同剂量的 N⁺ 束注入上海青(矮莴青)种子的发芽率曲线图

量下进行离子注入处理时, 发芽率由 76.2% 下降至 13.8%, 随着离子注入剂量的增加其发芽率有所提高, 到 4×10^{17} ions/cm² 剂量时发芽率为 69.9%, 比对照降低了 6.3%, 而后随着注入离子束剂量的增大, 其发芽率呈现缓慢下降趋势。

2.2.3 N⁺ 束注入上海青发芽率的影响 上海青(矮莴青)种子在 $0 \sim 5 \times 10^{17}$ ions/cm² 剂量范围的离子束注入中, 在 3×10^{17} ions/cm² 剂量时发芽率由 97.5% 下降至 83.3%, 到 5×10^{17} ions/cm² 剂量时, 其发芽率下降到最低值 41.3%, 在 $5 \sim 7 \times 10^{17}$ ions/cm² 剂量范围内该种子持续保持较低的发芽率, 到 7×10^{17} ions/cm² 剂量时其发芽率为 42.6%, 升高并不明显。

2.3 N⁺ 束注入对黄瓜种子发芽率的影响

不同剂量的离子束注入 A32-1、A19-1、B19-1、B27、B22-1 五个黄瓜品种的种子, 其发芽率的影响趋势一致, 在 $0 \sim 3 \times 10^{17}$ ions/cm² 剂量范围内发芽率持续下降, $3 \sim 5 \times 10^{17}$ ions/cm² 剂量下其发芽率又表现为上升趋势, 在 $5 \sim 7 \times 10^{17}$ ions/cm² 剂量范围内其发芽率再次下降。

B32-1 黄瓜受注入离子的影响, 发芽率降低相对较慢, 在 3×10^{17} ions/cm² 剂量时有一个起伏点, 发芽率为 70%, 5×10^{17} ions/cm² 剂量时其发芽率降至最低值 12%, 高于 5×10^{17} ions/cm² 剂量时其发芽率呈现缓慢上升趋势。

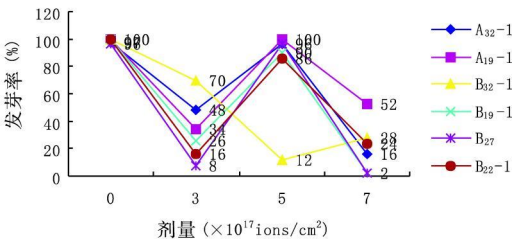


图 5 不同剂量的 N⁺ 束注入不同的黄瓜品种的种子发芽率曲线图

3 讨论

离子束作为新的诱变源, 由于在具体的操作过程中注入离子的数量可以调节, 注入离子的射程可以控制, 在损伤力比较轻的状态中可以获得比较高的诱变率和比较宽的诱变谱, 又具有无毒、无污染等很多独特的优点, 无疑是人工诱变方法的新发展, 具有十分重要的理论价值和实际意义^[9]。

前人^[1] 研究表明低能离子束与生物体的相互作用并不像载能离子与金属或半导体相互作用的有序晶体间的“弹-靶”作用体系, 而是非晶体那样的无序状态, 因为生物体是由细胞构成的特定组织和器官, 内部结构复杂, 具有特定的生物活性, 其“弹-靶”碰撞是随机的; 带电的离

子束注入生物体之后, 其效应包括物理效应、化学效应和生物效应。试验结果表明: 采用能量为 30 keV 的 N⁺ 束用 5 个不同剂量注入 4 个不同类型番茄品种(F3-29、Y94-11-1、L23、L20)的干种子处理中, 在较低的剂量范围内, 即 $0 \sim 1 \times 10^{17}$ ions/cm² 剂量范围内其发芽率随剂量的升高呈现下降趋势, 低能 N⁺ 束离子束总体上降低了发芽率, 不同番茄品种对低能离子束的反应有较大的差别, 其敏感程度由高到低依次是: Y94-11-1>L20>L23>F3-29, 但是当剂量超过 4×10^{17} ions/cm² 时, 所有品种的发芽率均很快下降。F3-29 番茄在 3×10^{17} ions/cm² 离子注入剂量时, 其发芽率达到一个较高值为 78.9%。Y94-11-1、L23、L20 番茄在 4×10^{17} ions/cm² 离子注入剂量时, 其发芽率

都达到一个较高值,分别为70.8%、44.9%、91.1%,但是比对照的发芽率低。通过对6个不同类型辣椒品种的离子注入处理发现,低能离子束在一定程度上可以提高辣椒的发芽率,不同品种对低能离子束注入的反应有较大的差别,当注入剂量超过 5×10^{17} ions/cm²剂量时,所有辣椒品种的发芽率均迅速下降。对于十字花科的蔬菜作物,791萝卜种子用不同剂量的N⁺束注入后,从总体上其变异苗的发生率有所提高。在 3×10^{17} ions/cm²和 5×10^{17} ions/cm²剂量时,其变异苗的发生率提高了1.1%~1.7%,在出苗率(45.2%)最低的 4×10^{17} ions/cm²剂量时,变异苗率达34.4%,较对照提高26.2%;郑研小包65(zyxb65)白菜在 $0 \sim 4 \times 10^{17}$ ions/cm²剂量范围内,其发芽率的变化较大,但是成苗后的变异观察并不明显。上海青种子随着离子注入剂量的增加,其发芽率呈现下降趋势,但是在 3×10^{17} ions/cm²剂量时发芽率为83.3%,有一个升高的趋势点。对于黄瓜种子随注入离子剂量的提高呈波伏状变化,A₁₉₋₁、A₂₋₁黄瓜种子在 5×10^{17} ions/cm²剂量时,其发芽率与对照相同。

由于荷能离子与生物体发生相互作用后所表现出来的生物学效应存在着原初阶段的能量沉积效应、动量传递、质量沉积效应和电荷交换四种生物学效应,从而产生较高的突变频率和丰富的诱变图谱。因此从一定程度上,该试验研究的低能N⁺束注入蔬菜种子所产生的剂量效应与发芽率的关系与前人研究的离子注入剂量与存活率间的先降后升再降的“马鞍型”曲线有一定程度的吻合,同时由于不同蔬菜品种基因型的差异,有的品种表现为先升后降再升高或者再继续下降。但是其剂量变化曲线与传统辐射(紫外线和Y射线)引起的剂量-存活率曲

线指数递减的肩型曲线变化完全不同,也不是随着离子注入剂量的提高起发芽率呈现直线下降的趋势,而是总有一个发芽率的升高趋势点。低能离子束与生物体相互作用中,由于其具有较高的LET,在离子注入的径迹内,随着带电离子能量的减少,核阻止本领急剧增大,其能量损失极快,从而在射程末端形成一个密度极大的电离峰,大多数注入离子将沉积在Bragg峰区内^[7],这就使得局部生物体内具有较高的沉积产物浓度,同时低能入射离子可以引起生物体哪几百个原子移位和重排,并伴有级联碰撞的发生。如果Bragg峰正发生在DNA链的附近时,离子的沉积作用将对DNA链的断裂与碱基重组产生重要的影响。由此根据低能离子束注入蔬菜作物种子后,其发芽率随着离子注入剂量的增加呈现波伏状变化曲线特征,因此建议应当结合所研究材料的特异性和离子束注入的敏感性对离子注入的能量和剂量加以控制,使此峰正好落在遗传物质上,加剧对遗传物质的损伤,增大突变率,而对生物样品其他部位的生理损伤较小。

参考文献

- [1] 余增亮.离子束生物技术引论[M].合肥:安徽科学技术出版社,1996.
- [2] 姬生栋,王育水,马柯,等.离子束生物技术在小麦育种上的应用[J].河南农业科学,2004,5(1):6-10.
- [3] 黄群策,李玉峰.离子束生物技术在水稻育种中的应用前景[J].杂交水稻,2002,(5):5-8.
- [4] 郑冬官,方其英,黄德祥,等.离子注入在棉花育种中的诱变功效[J].安徽农业大学学报,1994,21(3):315-317.
- [5] 王立秋.离子注入及其在小麦诱变育种上的应用[J].麦类作物学报,1994,9(5):36-38.
- [6] 余增亮,何建军,邓建国,等.离子注入水稻诱变育种机理初探[J].安徽农业科学,1989,39(1):12-16.

The Dose Effect of Vegetable Seeds Induced by low Energy Ion-beam

LIANG Qiu-xia¹, HUANG Qun-ce¹, CAO Gang-qiang², YING Fang-qing³, Wu Xiao-bo³

(1. Key Laboratory of Ion Beam Bioengineering of Henan Province, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. Department of Bioengineering Zhengzhou 450001, China; 3. Zhengzhou Vegetable Institute Zhengzhou 450000, China)

Abstract: In this study, the relations of the germination percentage of different vegetable and different implanting dose of N⁺ ion beam were studied with 30 KeV energy. Results indicated that there was different in effects of low ion beam because of different vegetable. To some degree, it took on the graph of "the type of saddle", in relation of dose effects and germination percentage, which took on descending and rising and descending. At the same time, some varieties indicated rising and descending and rising or descending again. But there was a point of trend. The percentage germination of the majority of vegetable showed the grape of wave with increasing of low ion-beam irradiation dose. Namely, in the trough, the lowest percentage germination, there had higher variation.

Key words: Ion-beam; Germination; Dose