

锂离子束诱发青椒变异的初步研究

耿月伟¹, 郭亚华¹, 谢立波¹, 王雪¹, 高永利¹, 刘录祥²

(1. 黑龙江省农业科学院 园艺分院, 黑龙江 哈尔滨 150069; 2. 中国农业科学院 作物科学研究所, 国家农作物基因资源与基因改良重大科学工程, 北京 100081)

摘要:以青椒品种为“宇椒一号”为试材, 通过地面模拟装置锂离子束处理青椒干种子, 利用不同剂量分析其生物效应, 探讨青椒辐射诱变变异机理。结果表明: 不同剂量的锂离子对青椒影响效应差异较大, 其中种子发芽率、幼苗成苗率、苗期长势以及分子检测变异较大, 说明锂辐射可以造成青椒的遗传变异, 是改良青椒的一种好方法。

关键词:青椒; 锂辐射; 诱变

中图分类号:S 641.303.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)08-0118-02

空间环境诱发作物遗传变异具有显著的特点和效应。但是由于空间试验投资大、技术需求高、试验机会也十分有限。因此探讨地面模拟空间环境因素的试验研究工作对于空间诱变机理的揭示、空间诱变育种研究及其产业的持续发展意义重大。

虽然目前国内还不能对空间环境因素综合模拟, 但在单因素地面模拟方面已做了大量工作。近年来在水稻、小麦、马铃薯等大田作物育种中发挥了非常重要的作用, 培育出一大批具有优质、抗病、抗逆的作物新品种^[1-3]。而该研究中利用的锂离子作为一种重要的重离子在辣椒育种中却鲜见报道。重离子作为一种辐射源, 可以通过其自身强烈的辐射效果诱导生物体发生变异, 从而在生命科学领域中发挥一定的作用, 尤其是在植物育种过程中产生了巨大的经济效益, 因此是改良植物品种的新途径, 是诱发突变体的新技术^[4-5]。

该研究利用不同剂量的锂离子处理青椒种子, 通过与地面对照相结合分析其生物效应, 探讨青椒辐射诱变的变异机理, 为青椒辐射诱变育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试品种 供试青椒品种为“宇椒一号”, 由黑龙江省农业科学院园艺分院提供, 同时以地面种植为对照材料。

1.1.2 锂离子束处理剂量 地面模拟装置(锂离子束)

处理分为 2 次, 第 1 次锂离子束处理剂量: 0(CK)、10、30、50、100、150 Gy; 第 2 次锂离子束处理剂量: 0(CK)、211.20、174.60、108.36、87.80、75.20、58.60 Gy。

1.2 试验方法

1.2.1 种子发芽率试验 用种量 150 粒, 均分 3 等份做重复试验。于 45℃温水浸种 48 h, 取出后在 26℃恒温条件下催芽。每天投洗 1 次, 并观察出芽情况。催芽 4 d 后调查各处理的芽率。

1.2.2 幼苗成苗率、苗期长势的变化 在苗龄 18 d 时开始调查植株长势, 每处理随机取苗 20 株, 3 次重复取平均值。

1.2.3 RAPD 检测 试材与处理同上。该试验选用上海生物工程公司生产的 30 对随机引物, 筛选出 15 对引物用于 RAPD 分析。利用改良的 SDS 法, 取幼嫩叶片提取 DNA。

2 结果与分析

2.1 幼苗成苗率、苗期长势的变化测定

通过对不同锂剂量辐射后的青椒成苗率及苗期(苗龄 18 d)的植株长势进行测定发现(表 1), 调查的 4 个指标均低于对照, 而且不同剂量的差异较大。从成苗率来看, 剂量为 211.20 Gy 和 174.60 Gy 均未成苗(出苗后死亡), 而剂量为 108.36 Gy 和 87.80 Gy 处理的青椒成苗率仅为 0.5%。可以初步认为锂离子辐射可以导致青椒植株的形态改变, 而且随着剂量的不同造成了明显差异。

2.2 RAPD 检测

通过 15 个随机引物(经 50 个引物中选择到的可行、可用的引物)对青椒“宇椒一号”及其对照(未经辐射)进行 RAPD 分析(图 1)。结果发现, 锂辐射处理的位点总数 286, 多态位点数随剂量不同而不同, 各剂量的多态

第一作者简介:耿月伟(1963-), 男, 硕士, 研究员, 现主要从事生物技术及管理工作。E-mail: Ywgeng 2005@163.com。

基金项目:黑龙江省自然科学基金重点资助项目(ZD200818-01)。

收稿日期:2012-02-09

位点数在 51~63。多态位点比率在 17.83%~22.03%，变异率在 1.75%~4.20% (表 2)。

表 1 青椒的形态变化

Table 1 The changes of pepper form

锂离子束处理 Li-ion treatment /Gy	成苗率 Percent of seedlings/%	株高 The height of plant/cm	茎粗 Stem diameter/cm	主根长 Length of main root/cm	侧根数 Number of raterals
211.20	0	0	0	0	0
174.60	0	0	0	0	0
108.36	0.5	1.10	0.105	1.80	5.0
87.80	0.5	2.50	0.100	1.50	4.0
75.20	15.0	1.60	0.131	3.20	5.6
58.60	60.0	2.14	0.134	3.66	11.4
0(CK)	82.5	2.75	0.115	6.88	16.0

表 2 RAPD 检测

Table 2 The detection of RAPD

锂离子束处理 Li-ion treatment /Gy	位点总数 The total number of loci	多态位点数 The total number of polymorphism loci	多态位点率 The percentage of polymorphism loci/%	变异率 The variation percentage /%
10	286	56	19.58	1.75
20	286	57	19.93	2.10
30	286	62	21.68	3.85
50	286	63	22.03	4.20
100	286	58	20.28	2.45
150	286	58	20.28	2.45
0(CK)	286	51	17.83	0

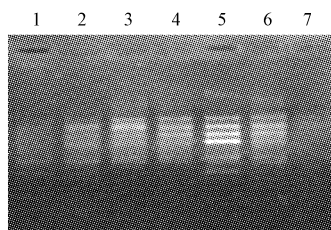


图 1 RAPD 检测

注:1;CK;2:10 Gy;3:20 Gy;4:30 Gy;5:50 Gy;6:100 Gy;7:150 Gy。

Fig. 1 The detection of RAPD

Note:1;CK;2:10 Gy;3:20 Gy;4:30 Gy;5:50 Gy;6:100 Gy;7:150 Gy.

3 结论与讨论

该试验表明,“宇椒一号”青椒对高能离子诱变的最适剂量为 30~50 Gy。但可能由于品种的基因型不同,对锂辐射的敏感性也不同^[5],该试验仅是初步探讨,有待继续研究。

利用地面模拟装置处理青椒种子,探讨地面模拟诱变机理,初步得出低剂量的锂辐射引起青椒变异。而剂量效应产生的变异因素是复杂的,该试验对种子发芽率、幼苗成苗率、苗期长势以及分子检测做了对比分析。初步探讨了青椒辐射诱变机理。同时必须注意尽管利用重离子辐射获得了一定的经济和社会效益,但仍然还有许多诱变机理还不明确。所以全面系统地研究重离子辐射的诱变规律和机理,应该是今后研究的重点,这些问题的了解和解决将有助于重离子辐射诱变机理的阐述和诱变育种效率的提高,对辐射育种也将具有非常重要的意义^[6-7]。而且随着这一技术的不断发展和完善,该技术一定会为农业创造出更大的经济效益。

参考文献

- [1] 郭高,钱坤.安徽省农科院离子束作物育种取得重大成果[J].安徽农业,1998,25(5):4.
- [2] 卫增泉,颜红梅,梁剑平,等.重离子束在诱变育种和分子改造中的应用[J].原子核物理评论,2003,20(1):38.
- [3] 赵连芝,王勇,甄东生,等.春小麦突变新品种“陇辐2号”[J].核农学报,2005,19(1):80.
- [4] 卫增泉.重离子束生物工程中的基本物理问题[J].激光生物学报,2003,12(5):321.
- [5] 王崇英,王如娟,杨汉民.低能 N⁺重离子注入处理后小麦种胚内的 DNA 期外合成[J].辐射研究与辐射工艺学报,1994(12):107-108.
- [6] 曲颖,李文建,周利斌,等.重离子辐射植物的诱变效应研究及应用[J].原子核物理评论,2007,24(4):294-298.
- [7] 王转予,李文建,王弼乾.重离子辐射诱导染色体畸变研究进展[J].辐射研究与辐射工艺学报,2011,29(4):194-195.

The Preliminary Study on the Pepper Variation by the Li-ion Beam

GENG Yue-wei¹, GUO Ya-hua¹, XIE Li-bo¹, WANG Xue¹, GAO Yong-li¹, LIU Lu-xiang²

(1. Horticultural Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150069; 2. The National Key Facilities for Crop Genetic Resources and Improvement, Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: With green pepper varieties ‘Yujiao No. 1’ as test materials, through the ground simulation device lithium ion beam processing dry seeds of green pepper, using different doses to analysis its biological effects, radiation mutagenesis variation mechanism of green pepper were discussed. The results showed that different dose of lithium influenced the pepper significantly, which indicted that lithium could induce the variation of pepper. Therefore, lithium radiation was a good method to improve pepper.

Key words: pepper; lithium radiation; mutagenesis