

文章编号: 1007-4627(2014)01-0106-06

$^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束与电子束辐照对薰衣草当代诱变效应的比较

刘瑞媛¹, 王朴², 李文建¹, 路喆², 李欣¹, 曲颖¹, 金文杰¹, 董喜存¹

(1. 中国科学院近代物理研究所, 兰州 730000;

2. 新疆生产建设兵团第四师农业科学研究所, 新疆 伊宁 835004)

摘要: 采用 100 MeV 的 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束和 1.2 MeV 的电子束辐照薰衣草干种子, 研究了 2 个品种的薰衣草干种子对不同辐射源的辐照生物学效应, 以期找到薰衣草干种子的最佳诱变参数。结果表明: 不论是薰衣草 701 还是 702, 经 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照后, 其发芽率表现为先增大后减小的趋势; 经电子束辐照后, 发芽率随着剂量的升高而降低, 电子束辐照后的发芽率要低于 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束。另外, 2 个品种的薰衣草经 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照后, 其胚轴胚根长度以及幼苗鲜重也较电子束辐照后的大。由此可知, 重离子的辐照效果优于电子束的, 有利于后期筛选出新的薰衣草突变株。

关键词: 薰衣草; $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子; 电子束; 诱变效应

中图分类号: Q691.5; Q946.5 **文献标志码:** A **DOI:** 10.11804/NuclPhysRev.31.01.106

1 引言

薰衣草 (*Lavandula angustifolia* Mill) 属于唇形科薰衣草属, 是一类多年生草本或半灌木植物。目前有 39 个种, 400 多个栽培品种, 主要应用于观赏与精油的提取^[1-3]。薰衣草作为一种芳香族植物, 其精油提取物在医药、食品、日用化工等行业具有重要的经济意义, 是世界香料种植产业中重要的组成部分^[4-6]。中国新疆伊犁地区因其所处纬度与法国相同, 且自然地理环境相似, 非常适合薰衣草的栽培和生产, 如今已成为全国最大的薰衣草基地, 世界著名高品质薰衣草的第三产地, 被农业部称为“中国薰衣草之乡”^[7]。近年来, 由于新疆薰衣草种植品种较为单一、遗传背景复杂, 品种来源模糊, 且其扩繁主要靠扦插无性繁殖, 连年栽培后导致严重的品种退化, 进而造成品种抗性和精油含量下降, 故采用先进的科学育种手段, 加快对薰衣草优良品种的选育, 优化其品种结构, 已成为我国薰衣草产业发展的一项重要方向^[8]。

辐射诱变育种是近代发展起来的育种新技术。早

期辐射育种主要以 X 射线为主, 20 世纪 60 年代后期 γ 射线、中子流应用逐渐增多。但自 80 年代以后, 空间诱变、中子诱变、电子束诱变、激光诱变、重离子束诱变也应用到植物诱变育种工作中^[11]。各种辐射诱变均可导致植物基因突变, 促进基因重组、提高基因重组率, 从而获得更多的变异类型, 创造遗传新种质^[9]。辐射诱变育种既是常规育种的重要补充, 又是常规育种不可取代的手段^[10]。由于电子束辐射具有电子流聚束性能好、可利用的能区宽、操作简单、能量利用率高以及可以转化为穿透能力更强的 X 射线等特点, 近年来越来越多地应用于植物辐射诱变工作中^[12]。我国通过电子束辐照诱变育种已成功选育了 3 个禾本科作物品种^[13]、多个菊花优良品种。重离子束辐照是一种新型的辐照源, 由于它比 γ 、X 射线等物理诱变处理生理生化作用强、突变率高、突变谱广、易稳定, 而引起人们广泛的重视^[14-16]。在作物方面, 利用重离子束辐照技术选育出矮秆、抗逆、高产、优质的春小麦 M-920 和丰产、高蛋白含量、抗黑穗病的陇辐 2 号 2 个春小麦品种^[17-18]; 董喜存等^[19]利用 C

收稿日期: 2013-02-20; 修改日期: 2013-04-12

基金项目: 新疆生产建设兵团科技局科技援疆项目(Y106470XZO); 中科院西部行动计划项目(KZCX2-XB3-07-01)

作者简介: 刘瑞媛(1983-), 女, 甘肃定西人, 硕士, 研究实习员, 从事辐射育种及分子机理的研究;

E-mail: liury002@impcas.ac.cn

通信作者: 董喜存, E-mail: dongxicun@impcas.ac.cn.

离子束辐照甜高粱干种子, 选育出早熟、茎秆含糖量高、抗性强的KFJT-1甜高粱新品种。在花卉方面, 2005年中国科学院近代物理研究所与甘肃省定西市临洮新兴公司合作成功选育出了大丽花“新型红”、大丽花“新型白”2个花卉品种^[20]。故选择合适的离子束及其诱变剂量, 对于辐射诱变育种技术能否选育出适宜于我国西部地区种植的薰衣草新品种是至关重要的。

2 材料与方法

2.1 材料

实验材料为新疆伊犁地区薰衣草主栽品种701与702干种子。

2.2 方法

2.2.1 辐照处理

(1) 电子束辐照处理

薰衣草干种子电子束辐照在中国科学院近代物理研究所电子束加速器辐照装置上进行。能量为1.2 MeV, 辐照剂量分别是0 Gy(对照), 200 Gy, 400 Gy, 800 Gy, 1000 Gy, 1600 Gy以及2000 Gy。

(2) $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照处理

薰衣草干种子 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照实验是在兰州重离子研究装置(HIRFL) TL2终端上进行的。实验所用 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束初始能量为100 MeV, 是电子束的83倍, 因此不能与电子束的辐照剂量简单等同, 辐照时应小于电子束辐照剂量。故所设 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照剂量分别为0 Gy(对照), 40 Gy, 100 Gy, 160 Gy, 240 Gy以及300 Gy。

2.2.2 测量指标

选取每个剂量籽粒饱满、大小均一的薰衣草701及702干种子各50粒, 清水浸泡24 h后用300 mg/L赤霉素处理3 h, 用水冲洗数遍后置于铺有3层滤纸的培养皿中培养, 培养条件为光照16 h, 暗培养8 h, 温度为25 °C, 光照强度为1600 lx。发芽以子叶展开为标准, 第14天开始统计发芽率,

$$\text{发芽率} = \frac{\text{发芽种子数}}{\text{萌发种子数}} \times 100\%,$$

并测量其胚根、胚轴长度以及幼苗鲜重。实验重复3次, 测量时每个剂量测定10株, 存活不到10株的全部测量。

2.2.3 数据统计分析

数据利用SPSS18.0软件分析处理, 组间显著性比较用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

3 结果

3.1 电子束及 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束对薰衣草发芽率的影响

由图1可知, 薰衣草701和702经不同剂量 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照后, 发芽率均在25%以上, 且发芽率表现为下降趋势。薰衣草701经100 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐照后, 发芽率大于对照组, 其余剂量均小于对照组, 说明在100 Gy左右剂量下更有利于后续实验的进行。由图2可得, 薰衣草701及702经不同剂量电子束辐照后, 相同能量下发芽率较 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照后的低, 且最高剂量的发芽率分别为4%和9%。这表明, $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照较电子束致死率低, 更适宜用于促进薰衣草的发芽, 有利于后续突变株的筛选工作。

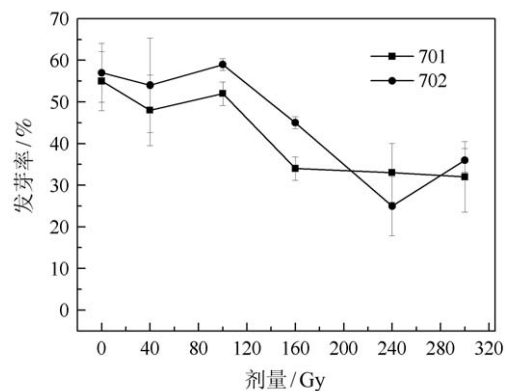


图1 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照对薰衣草701及702发芽率的影响

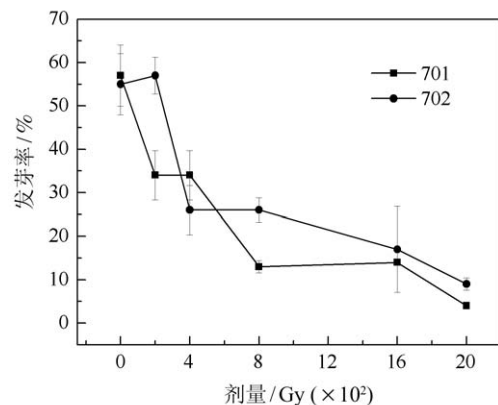


图2 电子束辐照对薰衣草701及702发芽率的影响

3.2 电子束及 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束对薰衣草胚根的影响

胚根是种子植物胚的重要组成部分之一，是胚的下部未发育的根，直接发育成幼苗的主根，故胚根发育的好坏直接关系到植物后期的生长。从图3和图4可以看出，薰衣草701、702经不同剂量的电子束和 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照后，其胚根长度均随剂量的增大而变短；经统计，辐照组与对照组相比差异极显著。薰衣草701、702经 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照后，胚根长度随剂量增加呈缓慢下降趋势，最低剂量40 Gy辐照组胚根长度分别为对照组的77.3%和101.6%；高剂量300 Gy辐照组胚根长度分别为对照组的10.4%和13.3%。与 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照相比，薰衣草701、702经电子束辐照后，胚根长度随剂量增加呈骤降趋势，最低剂量200 Gy的电子束就能对胚根的生长产生严重的抑制作用，其胚根长度分别为对照组的16.3%和22.6%；高剂量2000 Gy辐照组的胚根长度分别为对照组的1.9%和4.9%，这也是薰衣草经

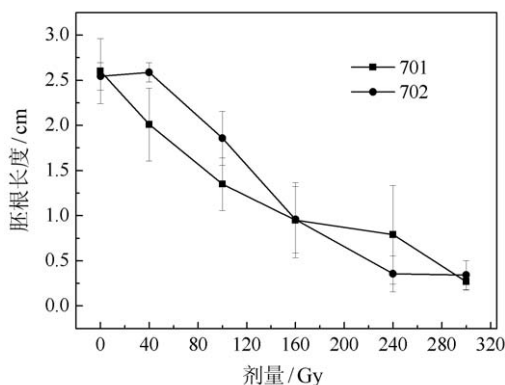


图 3 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照薰衣草701及702干种子后胚根的生长效应

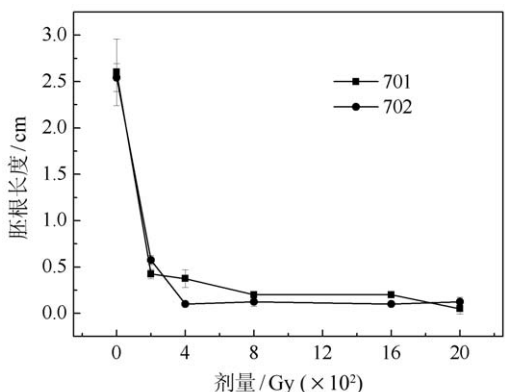


图 4 电子束辐照薰衣草701及702干种子后胚根的生长效应

2000 Gy 电子束辐照后后期不能存活的原因之一。从图3和图4中都可以看出薰衣草701的长势要优于薰衣草702，这可能与薰衣草702对辐照射线更为敏感有关。

3.3 电子束及 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束对薰衣草胚轴的影响

胚轴亦称“下胚轴”，是种子植物胚的组成部分之一，为子叶着生点与胚根之间的轴体。它能够在发育中传输营养，并发育成茎的一部分，使胚迅速发育成幼苗，因此，胚轴生长的优劣直接影响植株后期的生长发育。由图5可知，薰衣草701经 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照后，其胚轴长度变化趋势呈“马鞍”型，表现为先增大后减小，说明一定剂量的辐照可以促进生长，特别是经40 Gy和100 Gy辐照后(图5和图6(a))，其长度与对照相比极显著变长，说明该剂量下的辐照会刺激胚轴生长。薰衣草702经低剂量 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照后(图6(b))，其胚轴长度变化不明显，而经高剂量

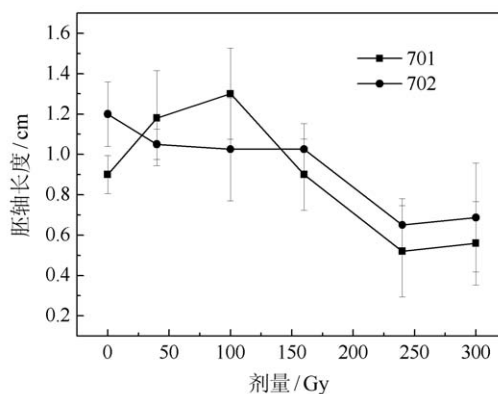


图 5 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照薰衣草701及702干种子后胚轴的生长效应

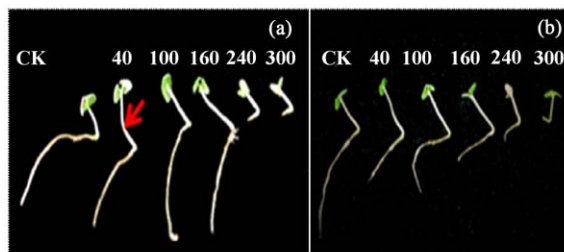


图 6 (在线彩图) $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照对薰衣草701及702胚轴的影响
箭头所指部分为胚轴部分；图(a)为 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照对薰衣草701胚轴的影响；图(b)为 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照对薰衣草702胚轴的影响。

$^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照后，其胚轴长度极显著降低，说明高剂量抑制了胚轴的生长。根据图7可得，薰衣草701

和 702 经电子束辐照后, 其胚轴长度随剂量的增大而减小。最高剂量为 2000 Gy 的电子束辐照薰衣草 701 和 702 后, 其胚轴几乎没有生长, 说明高剂量抑制胚轴的生长, 这也是后期薰衣草经电子束 2000 Gy 辐照后不能存活的原因之一。

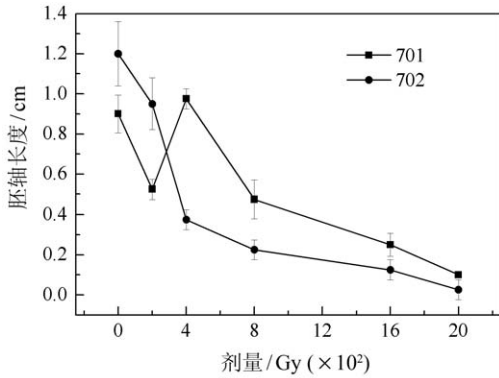


图 7 电子束辐照薰衣草 701 及 702 干种子后胚轴的生长效应

3.4 电子束及 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束对薰衣草幼苗鲜重的影响

植物幼苗鲜重同样是植物诱变效应的一种重要反映。图 8 的数据显示, 不同剂量的 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子对薰衣草幼苗鲜重的影响不同。薰衣草 701 经 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照后, 除 300 Gy 外, 其余剂量的辐照幼苗鲜重均极显著大于对照, 说明薰衣草干种子经离子辐照后, 刺激了薰衣草的生长, 尤其是 240 Gy (如图 9 所示), 其子叶较对照子叶圆且大, 因此其幼苗鲜重极显著地增加。而薰衣草 702 由于其辐照敏感性, 经 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照后, 其幼苗鲜重变化呈“肩胛”型(图 8), 除 40 Gy 辐照后幼苗鲜重极显著大于对照外, 其余与对照相比, 随着辐照剂量的增加幼苗鲜重呈递减趋势。

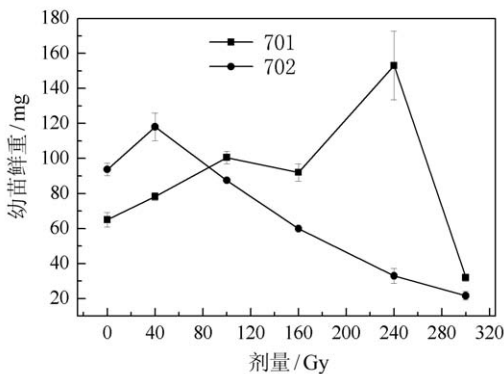


图 8 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照薰衣草 701 及 702 干种子后幼苗鲜重的变化

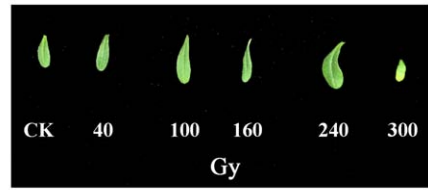


图 9 (在线彩图) $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照对薰衣草 701 幼苗叶片的影响

由图 10 可知, 薰衣草 701 与 702 经不同剂量电子束辐照后, 除了 400 Gy 下的 701 出现类似重离子辐照特点的增重, 其余幼苗鲜重则呈现随剂量的增加而降低的规律。这说明薰衣草种子经高剂量的电子束辐照后, 导致了根、叶细胞的辐射损伤, 使植物受到不可逆损伤, 造成细胞死亡直至植物死亡。

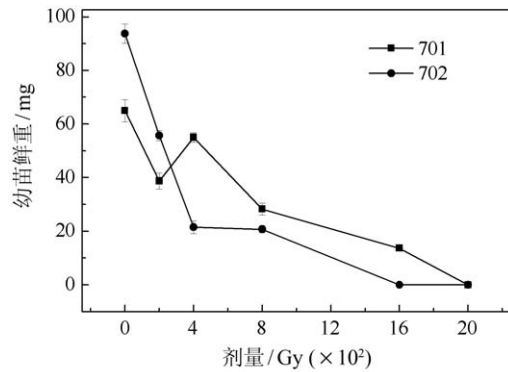


图 10 电子束辐照薰衣草 701 及 702 干种子后幼苗鲜重的变化

4 讨论

本研究首次利用 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束和电子束对薰衣草干种子进行了辐射诱变。结果发现, 薰衣草干种子经 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束和电子束辐照后, 其 M1 代幼苗期各项生长指标存在明显的差异性。种子的发芽率是出好苗的关键, 薰衣草 701 和 702 经不同剂量 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照后, 发芽率均在 25% 以上, 同时 2 个品种均在 100 Gy 处出现一个峰值, 说明此剂量刺激薰衣草的萌发, 高于此剂量或低于此剂量均不利于薰衣草的萌发; 然而, 电子束辐照与 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照相比有较大区别, 薰衣草 701 及 702 经不同剂量电子束辐照后, 200 Gy 的发芽率分别为 34% 和 57%, 最高剂量的发芽率分别为 4% 和 9%。这说明电子束辐照对薰衣草的损伤较大, 因此对后期的出苗影响也比重离子束的大。

胚轴与胚根是植物胚重要的组成部分, 分别发育成植物的茎与主根, 两者的发育直接影响植株后期的生长发育, 所以检测辐照后胚根及胚轴长度是筛选优良薰衣草突变株的重要指标。 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束对薰衣草胚轴以及胚根的损伤也较电子束辐照后的小, 薰衣草 701 与 702 经电子束辐照后, 其胚轴与胚根几乎不生长, 到后期均停止生长。综上所述, 重离子束更适宜于薰衣草辐射诱变育种, 其致死率相对较低, 可以得到更多的生长幼株, 以便于后期筛选出更多优良薰衣草突变株。

在幼苗鲜重方面, 经 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照后, 薰衣草 701 与 702 的幼苗鲜重随剂量的增大呈先增大后减小的趋势。和低剂量辐照相比, 最高剂量辐照后其幼苗鲜重分别下降为 32 mg 与 21.67 mg, 说明低剂量的重离子辐照刺激了薰衣草的生长。薰衣草经电子束辐照后, 其幼苗鲜重均随剂量的增加而降低, 且最高剂量对薰衣草幼苗所造成的损伤严重, 导致其不能继续生长, 故不能记录其幼苗鲜重, 这也进一步说明重离子较电子束更适宜于薰衣草的辐照诱变育种。从 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照整体效果来看, 薰衣草 701 与 702 变化趋势是大体类似的, 因此可以排除二者的品种差异性。但是考虑到电子束辐照效果不佳, 是否存在针对电子束射线的特异敏感性, 还需进一步的实验证明。

重离子束与电子束相比, 具有传能线密度 (LET) 高、在能量沉积过程中存在尖锐的 Bragg 峰、与介质原子核的碰撞截面大、相对生物学效应 (RBE) 大、氧增强比 (OER) 较小和 DNA 损伤的可修复性较小等特点^[6], 近年来已广泛应用于植物诱变育种工作中。故利用 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子进行薰衣草辐射诱变育种, 选育出适宜于我国西部地区种植, 且精油含量高的薰衣草新品种是可行的。薰衣草大多是扦插繁殖, 因此在下一步的试验中也可对薰衣草的扦插苗进行重离子辐照, 但适宜于薰衣草干种子以及扦插苗的最佳诱变剂量仍需进一步的验证。

参考文献:

- [1] PEI Jian. Flora of China(Vol. 62, No.2) [M]. Beijing: Science Publishing House, 1979. (in Chinese)
(裴鉴. 中国植物志(第65卷, 2分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1979.)
- [2] ZHANG Yanling, HAO Junrong, YAO Lei. Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science), 2007, **25**(6): 578. (in Chinese)
(张艳玲, 郝俊蓉, 姚雷. 上海交通大学学报(农业科学版), 2007, **25**(6): 578.)
- [3] SANG G, ANAB R. Biotechnology Advances, 2012, **27**(9): 9.
- [4] FAKH A. R, SALE P, HEYD R, *et al.* Journal of Chromatography A, 2005, **1098**: 14.
- [5] MONI R Z, AUGU M D, CARL C, *et al.* Industrial Crops and Products, 2010, **32**: 580.
- [6] HAJH V, GHAN A, SHAR B. Journal of Ethnopharmacology, 2003, **89**: 67.
- [7] REN Yanli, LA Ping, ZHANG Xiangfeng, *et al.* Journal of Anhui Agri Sci, 2011, **39**(22): 13292. (in Chinese)
(任艳利, 腊萍, 张相峰, 等. 安徽农业科学, 2011, **39**(22): 13292.)
- [8] QUAN Junping, JIA Xiaoying, DAI Lina, *et al.* Biotechnology Bulletin, 2012, **5**: 151. (in Chinese)
(权俊萍, 贾晓鹰, 戴丽娜, 等. 生物技术通报, 2012, **5**: 151.)
- [9] ATSU T, NAOY S, YOSH H J. Radiat Res 2010, **51**: 223.
- [10] WU Jie, HE Junrong, QU Huijuan, *et al.* Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, **28**(27): 57. (in Chinese)
(吴洁, 俊蓉, 屈会娟, 等. 中国农学通报, 2012, **28**(27): 57.)
- [11] WANG Xujun, WU Jiyou, CHENG Yong. Hunan Forestry Science and Technology, 2007, **34**(2): 13. (in Chinese)
(王旭军, 吴际友, 程勇. 湖南林业科技, 2007, **34**(2): 13.)
- [12] LUO Wanxia, LI Yisong, WU Baomei, *et al.* African Journal of Biotechnology, 2012, **66**(11): 12939.
- [13] JIN Fang, LI Yunshuang, YANG Xixia, *et al.* Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, **27**(24): 164. (in Chinese)
(靳芳, 李云爽, 杨喜霞, 等. 中国农学通报, 2011, **27**(24): 164.)
- [14] YOSH H, RYOU Y, SHIG N, *et al.* Mutation Research, 2012, **731**: 41.
- [15] SUGI M, SAIT H, ICHI H, *et al.* Plant Biotechnology, 2008, **25**: 101.
- [16] ARAS S, HASE Y, ABE J, *et al.* Plant Biotechnology, 2011, **28**: 323.
- [17] WEI Zengquan, XIE Hongmei, LIANG Jianping, *et al.* Nuclear Physics Review, 2003, **20**(1): 38. (in Chinese).
(卫增泉, 颜红梅, 梁剑平, 等. 原子核物理评论, 2003, **20**(1): 38.)
- [18] ZHAO Lianzhi, WANG Yong, ZHEN Dongsheng. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica, 2005, **19**(1): 80. (in Chinese)
(赵连芝, 王勇, 甄东生. 核农学报, 2005, **19**(1): 80.)

- [19] DONG Xicun, LI Wenjian. *Advances in Space Research*, 2012, **50**(1): 496. (周利斌, 李文建, 曲颖. *原子核物理评论*, 2012, **25**(6): 165.)
- [20] ZHOU Libin, LI Wenjian, QU Ying. *Nuclear Physics Review*, 2008, **25**(6): 165. (周利斌, 李文建, 曲颖. *原子核物理评论*, 2008, **25**(6): 165.)

Comparative Study of Contemporary Mutagenic Effect on *Lavender* Irradiated by $^{12}\text{C}^{6+}$ Ions and Electron Beams

LIU Ruiyuan¹, WANG Pu², LI Wenjian¹, LU Zhe², LI Xin¹, QU Ying¹, JIN Wenjie¹, DONG Xicun¹

(1. *Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;*

2. *Institute of Agricultural Sciences, The Fourth Division, Xinjiang Production and Construction Corps, Yining 835004, Xinjiang, China*)

Abstract: To determine the optimal mutagenic parameters to *Lavendula*, the biological effects on the development of dry seeds of two *Lavendula* varieties (701 and 702) were comparatively studied between 100 MeV $^{12}\text{C}^{6+}$ ion and 1.2MeV electron beam. The results showed that the germination percentage of 701 and 702 increased firstly and then decreased with the dose increased by using carbon ion irradiation. However, the germination percentage of 701 and 702 decreased with the increment of radiation dosage after being irradiated by electron beam. Furthermore, the results also showed that the germination percentage of *Lavendula* irradiated by electron beam was lower than that of carbon ion irradiation. In addition, the length of hypocotyl, embryonic root and fresh weight of seedlings of 701 and 702 irradiated by carbon ions were superior to those of electron beam irradiation. In brief, carbon ions are more suitable for the mutation breeding of *Lavendula* compared to electron beams, which would contribute to obtain more novel mutants in the future.

Key words: *Lavendula*; $^{12}\text{C}^{6+}$ ion; electron beam; mutagenic effect

Received date: 20 Feb. 2013; **Revised date:** 12 Apr. 2013

Foundation item: Science and Technology Support Program of Science and Technology Bureau of Xinjiang Production and Construction Corps(Y106470XZO); Western Action Project of Chinese Academy of Sciences (KZCX2-XB3-07-01)

Corresponding author: DONG Xicun, E-mail: dongxicun@impcas.ac.cn.

<http://www.npr.ac.cn>