

文章编号: 1007-4627(2001)02-0125-04

离子束次级辐射对春麦的诱变效应^{*}

李兴林, 卫增泉, 李文建, 颌红梅, 周光明, 王菊芳, 郝冀芳,
温小琼, 党秉荣, 李 强, 袁世斌, 冯 岩

(中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000)

摘 要: 利用中能重离子束辐照生物靶材料时产生的中子、 γ 射线和次级碎片等次级辐射对春麦种子进行辐照, 然后通过田间试验和实验室的分析测定, 得到了 M1 代植株的变化. (1) 在生物学性状中, 穗粒数、小穗数、千粒重、穗粒重、小穗密度和有效分蘖数变异率较大; (2) 除 SOD 活性外, POD 活性、CAT 活性、MDA 含量和蛋白质含量的变异率也较大; (3) 休眠种子和萌发种子辐照 M1 代在生物学性状的变化上存在很大的差异; (4) 两个春麦材料的辐射敏感性差异明显. 由此表明, 兰州重离子加速器辐照终端在进行生物学实验时产生的次级辐射是可能利用的诱变源.

关键词: 次级辐射; 春麦; 生物学性状; 抗氧化酶活性

中图分类号: Q691 **文献标识码:** A

1 引言

辐射育种起始于 20 世纪中叶, 采用的主要诱变源是 γ 射线、X 射线、中子和放射性同位素, 它是核农业的主要组成部分, 曾为当时农作物育种产生了很好的效益, 但由于这种手段受到这类射线本身性质的限制, 因此曾在较长一段时期内该技术停滞不前. 到 80 年代中期在国内开始了重离子束育种试验, 由于它本身的特点: (1) 传能线密度大; (2) 能损空间分辨好; (3) 离子参数多样; (4) 既有能量转移, 又可做到质量沉积, 因此具有突变率高、突变谱广、突变体较易稳定, 成为辐射育种技术中的后起之秀.

兰州重离子加速器国家实验室的重离子研究装置(HIRFL)^[1]除用于核物理研究外, 也开展核化学、材料科学和生命科学等方面的应用基础研究, 其中包括了重离子束对植物的诱变育种工作.

在 HIRFL 辐照试验时会产生多种次级辐射, 如党秉荣等在 HIRFL-T2 终端研究了¹²C 和¹⁶O 两种重离子辐照有机材料, 产生了大于 6 MeV 能量的不同角分布的中子^[2, 3], 这些中子的穿透力很强. 辐照终端同时也存在着 γ 射线和一些核碎片^[4], 这

是其它诱变源没有的特点. 如果能适当地利用它们便可以成为一种附加的、方便的诱变源. 虽然, 有时剂量率很小, 但是通过调节辐照时间, 可以达到诱变的目的. 罗景桂^[5]的研究表明, 多种诱变因子的共同作用具有明显的诱变优势. 因此, 发挥辐照终端试验区诱变源的作用, 具有重要的现实意义和育种价值. 作者选择了普通小麦为材料, 利用重离子辐照生物材料产生的次级辐射, 对其多种诱变效应进行了初步研究.

2 材料和方法

2.1 材料

选用稳定春麦品系 86336 和 14615 作为试材(下称样品 I), 辐照处理类型是休眠种子和萌动 48 小时的萌发种子.

2.2 方法

2.2.1 辐照处理

本实验在中科院近代物理所的 HIRFL-T2 终端区完成. 我们的实验材料 I 放置在实验终端正前方辐照样品 I 后 50 cm 水平台面上, 当时间歇地进

收稿日期: 2000-11-07; 修改日期: 2001-02-20

* 基金项目: 中国科学院重点基金资助项目(KJ952-S1-424); 国家自然科学基金资助项目(19905013)

作者简介: 李兴林(1964-), 男(汉族), 安徽和县人. 讲师, 硕士, 从事植物遗传和育种的教学和科研工作.

行着 75 MeV/u ¹²C 离子辐照生物材料(普通小麦、百合、动物细胞等)实验. 辐照实验的束流强度在 0.01—1 nA 之间, 束流经磁扫描后通过 24 μm 厚的真空隔离 Ni 窗引出到大气环境中, 束斑为 Φ4 cm, 均匀度约为 55%. 因此产生次级辐射(中子、γ 射线和放射性碎片)的初级靶包括 Ni 窗、空气、生物样品(作物与花卉的种子、动物细胞等)及样品盘(有机玻璃或聚四氟乙稀). 由于放射性碎片的射程短, 发射角分布很小, 通常作用不到样品 I 上, 本实验所说的次级辐射只能包括中子与 γ 射线. 实验安排了 6 天, 总辐照时间约为 150 个小时.

2.2.2 田间试验

全部材料 I 种植于中科院兰州分院皋兰生态试验站. 稀植, 水肥管理一致. 成熟后, 随机取 20 个单株风干考种(不足 20 株, 全部考种); 考种项目为: 株高, 穗长, 小穗数, 不孕小穗数, 穗粒数, 千粒重和有效分蘖数; 计算可得小穗密度和穗粒重.

2.2.3 抗氧化酶活性等测定

(1) 酶液制备 称取 0.5 g 幼苗叶, 加入液氮研磨至粉末, 然后再加入 5 倍的提取缓冲液 PBS

(50 mmol/L, pH 7.8, 巯基乙醇 10 mmol/L, 不溶性 PVP 0.1%) 于冰浴中研磨; 匀浆倒入 10 ml 离心管中, 相对离心力为 10 000 g, 4 C 下离心 10 min, 取清液 4 C 保存待用.

(2) 丙二醛含量(MDA)测定 参照 Heath 等^[6]的方法进行.

(3) 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定 按照 Del Longo 等^[7]的方法进行.

(4) 过氧化物酶活性(POD)测定 按照 Kar 等^[8]的方法进行.

(5) 过氧化氢酶活性(CAT)测定 按照 Aebi^[9]方法.

(6) 蛋白质含量(PR)测定 按照 Bradford^[10]方法.

3 结果与分析

3.1 生物学性状的变化

次级辐射引起了休眠和萌发种子 M1 代植株生物学性状的较大变异.

表 1 次级辐射诱发休眠和萌发种子生物学性状的变化

性状变化类型	种子类型	对照样品 86336	辐照材料	变异率(%)	对照样品 4615	辐照材料	变异率(%)
株高(cm)	休眠种子		74.0±3.9	15.6		72.3±3.1	5.5
	萌发种子		67.2±4.5	10.3		68.9±5.7	1.9
	平均值	64.0±3.2	70.6	10.3	68.5±2.2	71.1	3.8
穗长(cm)	休眠种子		6.7±1.7	1.5		6.4±1.1	-17.9
	萌发种子		6.8±1.3	3.0		7.0±1.8	-10.3
	平均值	6.6±1.3	6.75	2.3	7.8±1.1	6.7	-14.1
小穗数	休眠种子		12.0±1.2	-15.5		15.0±2.6	10.3
	萌发种子		17.4±1.8	22.5		12.3±2.0	-9.6
	平均值	14.2±3.1	14.7	3.5	13.6±2.7	13.7	-0.7
小穗密度	休眠种子		1.79±0.35	0.0		2.34±0.7	18.8
	萌发种子		2.50±0.27	39.7		1.71±0.33	-13.2
	平均值	1.79±0.33	2.15	20.1	1.97±0.26	2.03	3.0
穗粒数	休眠种子		38.1±3.7	49.4		36.3±2.5	10.0
	萌发种子		32.7±1.8	28.2		29.0±1.8	-12.1
	平均值	25.5±4.7	35.4	38.8	33.0±6.2	32.7	-0.9
千粒重(g)	休眠种子		35.4±2.6	-6.6		28.7±3.4	-20.7
	萌发种子		31.7±4.3	-16.4		35.8±2.3	-1.1
	平均值	37.9±1.3	33.6	-11.3	36.2±2.7	32.3	-10.8
穗粒重(g)	休眠种子		1.35±0.18	39.2		1.04±0.21	-2.8
	萌发种子		1.01±0.11	4.1		1.04±0.26	-2.8
	平均值	0.97±0.30	1.18	21.6	1.07±0.27	1.04	-2.8
有效分蘖数	休眠种子		3.3±0.4	3.1		4.3±0.3	16.2
	萌发种子		2.1±0.2	-34.4		3.5±0.2	-5.4
	平均值	3.2±0.4	2.7	-15.6	3.7±0.3	3.9	5.4

众所周知, 变异率(%)为(辐照样品平均值-对照样品平均值)/对照样品平均值·100。在表 1 中给出了次级辐射诱发休眠和萌发种子生物学性状的变化情况。同时表 1 中的数据说明, 同对照样品相互比较, 辐照休眠种子变异率比较大(绝对值>20%)的性状有穗粒数(86336, 49.4%), 千粒重(14615, -20.7%)和穗粒重(86336, 39.2%)。辐照萌发种子变异率较大的性状有穗粒数(86336, 28.2%), 小穗数(86336, 22.5%), 有效分蘖数(86336, -34.4%)和小穗密度(86336, 39.7%)。两种材料的变异率大小或方向, 有的性状差别很明显, 如小穗数、小穗密度和穗粒重等; 有的性状差别不明显, 如株高、穗长等。其中, 86336 比 14615 更具辐射敏感性。

3.2 抗氧化酶活性、MDA 含量和蛋白质含量(PR)的变化

次级辐射对休眠种子辐照后, 其 M1 代的 SOD、POD 和 CAT 活性及 MDA 含量、蛋白质(PR)含量变化见表 2。由表 2 可知, 在各个测定指标的变异率中, POD 活性(86336, 43.03%; 14615, 32.89%)、CAT 活性(86336, -63.49%; 14615, -12.54%)、MDA 含量(86336, -61.07%)和 PR 含量(86336, -17.22%), 同对照样品相比有较大的改变, 其中, 除辐照后代的 POD 活性提高外, 其它指标均有所下降; SOD 活性比对照样品略有下降, 幅度很小。同时也能看到, 86336 比 14615 在多数指标上对次级辐射更为敏感。

表 2 次级辐射诱发休眠种子抗氧化酶活性等的变化

变化类型	对照样品			对照样品		
	86336	辐照材料	变异率(%)	14615	辐照材料	变异率(%)
SOD 活性	2 143.5	1 979.4	-7.66	2 123	2 061.5	-2.9
POD 活性	16.59	23.28	43.03	14.2	18.87	32.89
CAT 活性	0.127 1	0.046 4	-63.49	0.084 5	0.073 9	-12.54
MDA 含量	649.43	252.8	-61.07	289.77	296.6	2.36
PR 含量	71.6	59.27	-17.22	65.08	63.58	-2.3

4 讨论

中能重离子辐照生物靶, 由于核碰撞会发生核反应, 由此产生了中子、 γ 射线和次级碎片等产物, 这些产物是诱变育种的宝贵诱变源。通过合理的利用, 可以充分地发挥它们的作用。本项研究初步尝试了这些诱变源的作用效果, 尽管目前还没有做到多种次级辐射剂量的定量化, 但结果表明, 重离子辐照生物材料产生的各种次级辐射, 在足够的时间照射下, 可以使春麦两个稳定品系发生了多方面的显著变化, 其中, 有些变化是生理损伤造成, 有些

变化可能是遗传物质的突变造成(如质量性状)。遗传物质的变化为突变材料的获得创造了机会。

由于, 在不同性状的变化上, 不同材料表现不完全一致, 因而, 在辐照前应考虑诱变材料的育种目标, 可以研究采取多种辐照条件, 达到实验目的。在不影响各个辐照终端的重离子物理、生物及化学等实验前提下, 可以比较深入地研究在各种不同条件下产生的次级辐射成分及其强度, 以求类似于本实验的辐照剂量定量化, 这就有利于充分利用次级辐射, 提高育种实验效率。

参 考 文 献:

- [1] 唐靖宇. 对 HIRFL 几个主要参数的稳定性要求[J]. 原子核物理评论, 1998, 15(1): 31-34.
- [2] 党秉荣, 卫增泉, 王 经, 等. 75 MeV/u ^{13}C 离子束在辐射生物区产生的中子角分布[J]. 辐射防护, 1999, 19(2): 140-143.
- [3] 党秉荣, 卫增泉, 王 经, 等. 75 MeV/u ^{16}O 离子在辐射生物试验区产生的中子角分布[J]. 核技术, 1998, 21(9): 525-527.
- [4] 颜一鸣. 原子核物理学[M]. 北京: 原子能出版社, 初版, 1990.
- [5] 罗景桂. 放射生物学[M]. 北京: 中国农业出版社, 第一版, 1996, 144-171.
- [6] Heath R, Packer L L. Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts. I Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation.

- tion[J]. Arch Biochem Biophys, 1968, 12(5): 189-198.
- [7] Del Lougo O T, Gonzalez C.A, Postori G M, *et al.* Antioxidant Defenses under Hyperoxygenic and Hyperosmotic Conditions in Leaves of Two Lines of Maize with Differential Sensitivity to Drought[J]. Plant Cell Physiol, 1993, 34: 1 023-1 028.
- [8] Kar P K, Choudhuri M A. Possible Mechanisms of Light-induced Chlorophyll Degradation in Senescing Leaves of Hydrilla Verticillata[J]. Physiol Plant, 1987, 70: 729-734.
- [9] Aebi H. Catalase in Vitro[J]. Meth Enzymol, 1984, 105: 121-126.
- [10] Bradford M M. A Rapid and Sensitive Method for Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Dye Binding[J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254.

Mutation Effect of Spring Wheat by Secondary Radiation of Ion Beams*

LI Xing-lin, WEI Zeng-quan, LI Wen-jian, XIE Hong-mei, ZHOU Guang-ming
WANG Ju-fang, HAO Ji-fang, WEN Xiao-qiong, DANG Bing-rong,
LI Qiang, YUAN Shi-bin, FENG Yan

(*Institute of Modern Physics, the Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China*)

Abstract: Secondary radiation such as neutrons, high energy light particles, γ rays is produced when ion beams with medium energy irradiate biological materials. Spring wheat was placed in radiobiological experiment area (irradiation terminal L2) to expose to the secondary radiation. The variation of M1 generation of the wheat seeds was obtained through test in the fields and measurement in laboratory; (1) There were very high variation rates in grain number, number of small ear, 1 000 grain weight, ear grain weight, density of small ear and effective tillering number. (2) The variation rates of POD activity, CAT activity, MDA content and protein content were great, except for SOD activity. (3) There were significant differences of M1 generation biological traits between resting seeds and sprout seed. (4) Radiation sensitivity of two kinds of spring wheat presented obvious difference.

The results indicate that, the secondary radiation is a usable resource in radiobiological research on HIRFL when experiment are in progress.

Key words: secondary irradiation; spring wheat; biological trait; anti-oxidation enzyme activity

* Foundation item: 95 Key Project of the Chinese Academy of Sciences (KJ952-S1-424); NSFC(19905013)