

离子注入甜菜杂交种当代生物效应

曾宪贤¹ 张石峰¹ 李 茜¹ 王 军¹ 王燕飞² 刘 军²

1(新疆大学 乌鲁木齐 830008)

2(新疆农科院经济作物研究所 乌鲁木齐 830000)

摘要 以甜菜杂交种为处理材料,用 N^+ 作为诱变源,以 35keV 的能量,分别以 40 次、60 次脉冲,注入剂量分别为 $4 \times 10^{16} N^+ / cm^2$ 和 $6 \times 10^{16} N^+ / cm^2$ 进行激发诱变。结果显示,甜菜杂交种的产量、含糖率均有明显的提高。

关键词 甜菜,离子注入,诱变源

中图分类号 O53,S5035.2,S566.3,Q319.33

离子束在生物技术上的应用是育种方法学的重要创新。离子束诱变技术、离子束 DNA 大分子转移技术、离子束辅助农杆菌遗传转化技术、离子束介导超远缘分子杂交技术和离子束细胞加工技术等已成为定向遗传改良的新方法、新途径^[1]。远缘杂交是创造新物种、新资源和转移异源遗传物质的有效途径,远缘杂种后代,由于基因的分配和重组,从第 2 代开始分离。例如海岛棉和陆地棉杂交,经世代分离和选择,虽然十几代后能获得稳定遗传的棉株,但很难获得既具有海岛棉品质又具有陆地棉产量的新种。如果离子注入正交或反交 F_1 代种子,随着世代的增加,变异系数越来越小,即性状分离程度不断减小,趋于稳定,这说明离子注入可明显加速海陆杂种的遗传稳定^[2,3]。但对当代甜菜杂交种用离子束诱变技术进行处理能否产生明显的增产、增糖效应,目前国内外尚无报道。本文根据我们的试验结果,进行了探讨和研究。

1 材料和方法

选用甜菜杂交种观察材料 3 个,干种子经精选,分破壳和未破壳两组,用 N^+ 离子束 35keV 的能量进行处理。脉冲次数分别为 40 次、60 次。剂量分别为 $4 \times 10^{16} N^+ / cm^2$ 、 $6 \times 10^{16} N^+ / cm^2$ 。处理材料改良新甜 6 号、新甜(单)8 号为 8 种处理方式,17E 材料为 7 种处理方式,共 26 个材料(含对照),编号为 99 改 6-1 至 6-9,新甜(单)8-10 至 8-18、每穴播 2—3 粒种球。

2 结果和分析

甜菜杂交种经 N^+ 照射处理后有明显当代增产、增糖效应(见表 1 和表 2)。表 1 中,ck 表示正常环境下的对样品。改良新甜 6 号材料中,改 6-5 和改 6-6 两个处理的亩产量和产糖量比对照增加,改 6-5 的亩产量比对照增加 34.5%,产糖量比对照增加 64.9%,增产较突出,改 6-6 的亩产量和产糖量比对照增加了 2.30%和 17.47%。含糖率 8 个处理均比对照提高,其中改 6-5 的含糖率比对照提高 3.20 度,改 6-9 的含糖率比对照提高 2.65 度,其余处理比对照提高 0.37—2.30 度。

国家自然科学基金(19865001)资助
第一作者:曾宪贤,男,1942 年出生,1964 年毕业于北京大学,核物理专业,教授
收稿日期 2000-12-12,修回日期 2001-03-06

以上 8 个处理(含对照)对产量和产糖量进行方差分析,处理间的产量和产糖量均达到显著性差异,重复间无显著差异。

表 1 离子束对甜菜杂交种当代处理小区试验结果(每个处理样本数均为 10 个)

Table 1 The current testing result on sugar beet cross seeds induced by ion implantation in a small area (The number of the sample is 10)		处理剂量	脉冲数/次	产量	与对照比	含糖率	与对照比	产糖量	与对照比
材料	处理编号	Implant dose	Pulse amount	Yield	Compare	Sugar rate	Compare	Sugar yield	Compare
Material	Test No.	$/N^{+} \cdot cm^{-2}$	/number	$/kg \cdot ha^{-1}$	ck/%	rate/%	ck/%	$/kg \cdot ha^{-1}$	ck/%
改良	改 6-1(ck)			69670.5	0.00	14.16	0.00	9865.5	0.00
新甜	改 6-2	4×10^{16}	60	42001.5	-39.70	14.95	+0.79	6279.0	-36.30
6 号	改 6-3	4×10^{16}	60	55003.5	-21.10	14.65	+0.49	8058.0	-18.30
杂交种	改 6-4	4×10^{16}	40	54301.5	-22.10	14.53	+0.37	7890.5	-20.00
Improve	改 6-5	4×10^{16}	40	93703.5	+34.50	17.36	+3.20	16267.5	+64.90
XinTian	改 6-6	6×10^{16}	40	71304.0	+2.30	16.26	+2.10	11593.5	+17.47
No.6 cross seeds	改 6-7	6×10^{16}	40	60700.5	-12.90	15.70	+1.54	9529.5	-3.40
	改 6-8	6×10^{16}	60	45301.5	-34.90	16.46	+2.30	7456.5	-24.40
	改 6-9	6×10^{16}	60	52002.5	-25.40	16.81	+2.65	8742.0	-11.40
新甜	新 8-10(ck)			62002.5	0.00	15.36	0.00	9549.0	0.00
(单粒种)	新 8-11	4×10^{16}	60	52002.5	-16.10	17.78	+2.42	9255.0	-3.08
8 号	新 8-12	4×10^{16}	60	29001.0	-53.20	15.91	+0.55	4611.0	-51.70
杂交种	新 8-13	4×10^{16}	40	86304.0	+39.19	14.53	-0.83	12514.5	+31.06
XinTian	新 8-14	6×10^{16}	40	84703.5	+36.60	16.67	+1.31	14145.0	+48.10
Monogerm	新 8-15	6×10^{16}	40	70003.5	+12.90	15.63	+0.27	10920.0	+14.40
No.8 cross seeds	新 8-16	4×10^{16}	40	72703.5	+17.26	16.53	+1.17	11995.5	+25.60
	新 8-17	6×10^{16}	60	88704.0	+43.06	16.25	+0.89	14458.5	+51.40
	新 8-18	6×10^{16}	60	94705.5	+52.74	16.95	+1.59	16005.0	+67.60
17E	17E-19(ck)			50002.5	0.00	16.81	0.00	8400.0	0.00
杂交种	17E-20	4×10^{16}	40	110004.0	+119.99	16.25	-0.56	17820.0	+112.10
17E	17E-21	4×10^{16}	40	88671.0	77.40	16.46	-0.35	14631.0	+74.20
Cross	17E-22	4×10^{16}	60	48303.0	-3.40	16.19	-0.62	7821.0	-6.89
seeds	17E-24	6×10^{16}	40	37002.0	-25.90	17.02	+0.21	6291.5	-25.10
	17E-25	6×10^{16}	40	67003.5	+34.00	15.98	-0.83	10653.0	+26.80
	17E-26	6×10^{16}	60	90304.5	+80.60	16.19	-0.62	14629.5	+74.00
	17E-27	4×10^{16}	60	89704.5	+79.40	16.67	-0.14	14980.5	+78.30

新甜(单)8 号材料中,8 个中有 6 个处理的亩产量和产糖量比对照增加,新甜(单)8-13 亩产量比对照增加 39.19%,产糖量增加 31.06% 新甜(单)8-14 亩产量比对照增加 36.61%,产糖量增加 48.1% 新甜(单)8-15 亩产量比对照增加 12.90%,产糖量增加 14.4% 新甜(单)8-16 亩产量比对照增加 17.26%,产糖量增加 25.6% ;新甜单 8-17 亩产量比对照增加 43.06%,产糖量增加 51.4% 新甜单 8-18 亩产量比对照增加 52.74%,产糖量增加 67.6% ;含糖率比对照提高的处理有 7 个,含糖率提高 0.27—2.42 度。

经方差分析,处理间的产量和产糖量呈显著性差异,重复间无显著差异。

17E 杂交种材料中,有 5 个处理亩产量和产糖量比对照增加,增产突出的是 17E-20、17E-21、17E-26、17E-27,亩产量比对照增加 119.9%、77.40%、80.60%、79.40%,产糖量比对照增加 112.1%、74.2%、74.0%、78.3% ;17E-25 亩产量和产糖量比对照增加,亩产量比对照增

加 34.00%,产糖量比对照增加 26.8% ,含糖率比对照提高的只有 17E – 24,比对照提高了 0.21 度。

表 2 离子束处理杂交种当代效应产量和产糖量方差分析 (69 个试验小区)
Table 2 The variance analysis of current yield and yield of sugar on cross seeds induced
by ion implantation (In 69 testing small area)

材料	统计量	差异来源	SS	df	MS	F	F _{0.05}
Material	Statistics kind	Difference source					
改良 新甜 6 号 杂交种	产量	处理间 Treatment	60.4266666	8	7.553333333	5.434052758	2.591093562
		重复间 Duplicate	5.54	2	2.77	1.992805755	3.633715551
		误差 Error	22.24	16	1.39		
		总计 Total	88.20666667	26			
Improve XinTian No.6 cross seeds	产糖量	处理间 Treatment	21240.64	8	2655.08	7.264	2.591
		重复间 Duplicate	1290.71	2	645.355	1.765	3.633
		误差 Error	5847.463	16	365.4664		
		总计 Total	28378.82	26			
新甜 (单粒种) 8 号杂交种	产量	处理间 Treatment	119.2466667	8	14.9058333	5.752680103	2.591093562
		重复间 Duplicate	9.375555556	2	4.68777778	1.809176672	3.633715551
		误差 Error	41.45457777	16	2.59111111		
		总计 Total	170.08	26			
XinTian Monogerm No.8 seeds	产糖量	处理间 Treatment	27961.82	8	3495.227	4.406	2.591
		重复间 Duplicate	2565.743	16	793.1277		
		总计 Total	43217.61	26			
17E 杂交种	产量	处理间 Treatment	129.8724	7	21.6454	3.619	0.0276
		重复间 Duplicate	13.3752	2	6.6876	0.118	0.3586
		误差 Error	71.7648	12	5.9804		
		总计 Total	215.0124	20			
Cross seeds	产糖量	处理间 Treatment	3.8579	7	0.6430	3.118	0.0443
		重复间 Duplicate	0.4357	2	0.2178	0.056	0.3780
		误差 Error	2.4748	12	0.2062		
		总计 Total	6.7684	20			

经方差分析,处理间产量和产糖量呈显著性差异,重复间无显著差异。上述杂交种中改良新甜 6 号、新甜(单)8 号为 8 种处理,17E 为 7 种处理,69 个小区试验结果表明,离子束处理当代杂交种具有明显的增产、增糖效应。以 $6 \times 10^{16} \text{ N}^+/\text{cm}^2$ 注入剂量、60 次脉冲及 $4 \times 10^{16} \text{ N}^+/\text{cm}^2$ 注入剂量、40 次脉冲效果最为明显。

3 讨论

3.1 增产、增糖效应

用 N^+ 离子束对甜菜杂交种进行诱变,对当代杂交种具有明显的增产、增糖效应,反映了这种新源的诱变功效。但对大田作物和用种量太大的作物,利用杂交种处理获得当代效应是不现实的,因为处理种子的成本太高,不能为生产所接受。然而,本试验的结果对一些珍贵的杂交种(如珍贵的花、草、药材等种子)或种子个体较小的种子,(如烟草、辣椒、蕃茄等种子),对这类杂交种进行批量处理,成本不高,则能为生产所接受。在这样一种有益的启示下,我们已作了这方面的尝试,并获得明显效果。另外,我们还可以改进离子注入机的靶室和靶盘,处理

批量的杂交当代种子应用于生产实际和大规模推广,以获得当代明显的经济效益和社会效益。

3.2 N^+ 离子注入机理

离子注入作物改良和生物效应研究是物理学和生物学相结合的新兴交叉学科。近年来,离子束作为一种新的诱变源在诱变育种方面因其独特的诱变机理和生物效应而发展极为迅速^[4,5]。它与传统的诱变源如 X 射线、 γ 射线及化学诱变剂等相比,其作用机理是不同的。离子注入除有能量沉积外,还有动量传递、质量沉积及电荷交换等效应。将各种不同的离子注入生物种子,通过电、能、质三位一体的共同作用,不仅可影响植物细胞的生理生化功能,还可使细胞中的遗传物质发生改变。而动量、能量和质量 3 种作用都有其不同的生物效应。离子携带的能量,在注入生物体时,不断把能量沉积下来,注入离子使生物分子键的断裂不再遵从“从最弱的键开始断裂”的原则,而是与离子(包括反冲原子)动量传递方向有关。当离子能量较高时,在入射离子径迹上,也会产生大量的移位原子。这些移位原子在新的位置上与周围的原子重排,或复合,或填隙。氮是组成生命物质的重要元素, N^+ 离子注入生物过程中,动量交换产生溅射,离子束就象“手术刀”那样对细胞表面进行刻蚀,植物种子表面细胞受到刻蚀后,所有细胞壁都变薄了。根据溅射原理,离子束与细胞相互作用后,用显微分析仪对离子束刻蚀细胞进行原位观察,发现细胞核发生形变,数目明显减少,说明细胞核是一种更容易被损伤或刻蚀的靶材料。各种理化因素引起的损伤,都会导致基因数量和序列的变化,而只要这些损伤没有修复,经过 DNA 的复制就会引起分子水平的突变。另外,在离子注入过程中,由于电、能、质三位一体的作用经历着复杂的物理和化学变化,这些变化的中间体是各类自由基,各种类型的自由基具有一定的活性,只有被氧化了的自由基才能被保存下来。离子注入甜菜干种子可以在损伤轻的情况下,获得高的突变率和较宽的突变谱,为筛选有利的突变型提供了较为广阔的空间^[6]。而氮的植入可能与它周围的分子键合,形成各种形式的氮化物, N^+ 注入胸腺嘧啶的光电子能谱分析支持了这一论点^[7]。 N^+ 注入生物体同时产生质量沉积,如果注入的是活性离子,慢化后将以一定的几率与它周围的移位原子、本底原子键合,生成新的分子基团。另外, N^+ 注入还使生物体产生电荷交换,注入离子把它携带的电荷沉积在生物体表面的薄层内,改变生物表面电性。电荷的表面积累,导致跨膜物理场畸变,影响细胞内外的物质交换、信息传递。如果碱基获得额外电荷,引起双势阱形状变化,可以诱变基因的突变。离子注入诱变因子,质、能、电三位一体,它对生物体(包括遗传物质)的损伤主要是使生物分子原子移位、重组和化合,这与辐射的整体损伤和高能离子的穿透作用是不同的。

参 考 文 献

- 1 陈佳珥. 自然科学基金战略研究报告《核技术》. 北京: 科学出版社, 1991
CHEN Jiaer. Nuclear technology, Strategy research report by natural science fund, Beijing: Sci Press, 1991
- 2 郑冬官, 方其英, 黄德祥, 等. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3) 315—317
ZHENG Dongguan, FANG Qiyang, HUANG Dexiang, et al. J Anhui Agricult Univ, 1994, 21(3) 315—317
- 3 余增亮. 离子束生物技术引论. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1998. 234—238
YU Zengliang. On Ion Beam Applied to Bio-tech, Hefei: Anhui Sci Tech Press, 1998. 234—238
- 4 余增亮, 邱励俭, 霍裕平, 等. 安徽农学院学报, 1991, 18(4) 251—257
YU Zengliang, QIU Lijian, HUO Yuping, et al. J Anhui Agricult College, 1991, 18(4) 251—257
- 5 YU Zengliang, WU Yuejin, WU Lijun, et al. Nucl Instr Meth, 1991, B59/60 70570
- 6 曾宪贤, 王燕飞, 张石峰, 等. 科学通报, 1999, 44(4) 382—384
ZENG Xianxian, WANG Yanfei, ZHANG Shifeng, et al. Sci Bull, 1999, 44(4) 382—384

7 江泽惠, 彭缜华. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3) 295—298

JIANG Zehui, PENG Zheghua. J Anhui Agricult Univ, 1994, 21(3) 295—298

**Current biological effect on the crossbreeds of sugar beet
induced by ion implantation**

ZENG Xianxian¹ ZHANG Shifeng¹ LI Qian¹ WANG Jun¹ WANG Yanfei² LIOU Jun²

1 (Xinjiang University, Urumqi 830008)

2 (Institute of Economic Crop. Xinjiang Academy of Agricultural Science, Urumqi 830000)

Abstract

Stomulation mutagenesis on crossbreeds of sugar beet was carried out by using 35keV N⁺ implanta-
tion. The dosages were 4×10^{16} and 6×10^{16} N⁺/cm² respectively. The sugar content and output of the
crossbreeds beet were much improved after the implantation.

Key words Sugar beet, Ion implantation, Inducing sources

CLC O53, S5035.2, S566.3, Q319.33

敬告作者和读者

为了适应信息时代的需要,为缩短稿件发表周期,我刊决定最大化的接受网上来稿,凡作
者投稿能从网上发稿的请用 E-mail 信箱 :yzchen@sinr.ac.cn,并告知与作者联系的具体地址
和电话,我们将从网上发出收稿回执,并进行各项联系。

凡我刊邀请为某篇撰文审稿的审稿专家和读者,在寄回审稿意见时,请同时附上您的 E-mail
地址,以便及时与您联系。

以上措施还望作者和读者大力配合。

《核技术》编辑部