

碳离子辐照对甜高粱种子萌发及幼苗酶活的影响

冯亮英^{1,2}, 董喜存^{1*}, 李文建¹, 马晓琪¹, 马爽¹, 余丽霞¹, 李岩², 刘清芳¹, 何金玉¹, 曲颖¹, 蒲训²

(1. 中国科学院近代物理研究所, 甘肃兰州 730000; 2. 兰州大学, 甘肃兰州 730000)

摘要 [目的] 研究辐射能量为 100 MeV/u 时不同剂量的碳离子辐照对 2 个甜高粱品种的种子萌发及几种酶活性的影响, 为甜高粱品种的选育提供理论依据。[方法] 甜高粱种子萌发后, 统计发芽势和成苗率, 并测定幼苗叶片中几种酶的活性。[结果] 随着剂量的增加, 发芽势先升后降, 而成苗率逐渐下降, 呈“类肩形”; GSH-Px、CAT、SOD 及 LDH 酶活性的总体趋势是随着剂量的增加先升后降, 不同酶略有不同。[结论] 低剂量辐射促进了种子萌发, 使酶的活性维持在较高的水平; 高剂量时酶活下降, 会抑制甜高粱的生长。

关键词 重离子; 甜高粱; 发芽势; 成苗率; 酶的活性

中图分类号 S514 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)33-16286-03

Effect of $^{12}\text{C}^{+6}$ Ions Beam Irradiation to *Sorghum bicolor* L. on Seed Germination and Enzymes Activity in Seedlings

FENG Liang-ying et al (Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou, Gansu 730000)

Abstract [Objective] The aim was to study the effect of $^{12}\text{C}^{+6}$ ions beam irradiation to two varieties of *Sorghum bicolor* L. on seed germination and some enzymes activity in seedlings with different doses, and provided a theoretical foundation for breeding *Sorghum bicolor*. [Method] After germination, germination potential, germination fraction and enzyme activity were detected respectively. [Result] The results showed that with the dose increased, the germination potential of *Sorghum bicolor* increased first and then decreases, while their germination fraction presented “shoulder like shape”; the activity of LDH, SOD, CAT and GSH-Px increased first and then decreases with doses, they presented slight differences among different enzymes. [Conclusion] Low dose radiation could accelerate germination of sweet sorghum seeds and enzyme activity could remain at a relatively high level. Enzyme activity decreased with high doses and the growth of *Sorghum bicolor* was inhibited.

Key words Heavy ions; Sweet sorghum; Germination potential; Germination fraction; Enzyme activity

1986 年, 中国科学院等离子体物理研究所余增亮等首次发现了 N^+ 注入水稻种子诱发变异的生物效应^[1], 开创了一个新的研究领域——低能离子生物学, 从此揭开了离子束生物工程的研究序幕。经过 20 多年的探索, 离子束生物工程已从基础理论研究阶段进入到理论与实际应用相结合的阶段, 并成功地应用于植物诱变育种^[2]。目前, 我国利用离子束诱变育种技术在棉花、番茄、小麦、玉米、大豆、烟草、茶树、甘薯和谷子等农作物品种改良方面取得了不同程度的进展^[3]。美国、日本、英国、澳大利亚和泰国等国也相继开展了这方面的研究^[4]。

甜高粱 (*Sorghum bicolor* L.) 属 C_4 植物, 它具有很高的光合效率, 是世界上生物量最高的作物, 故有“高能作物”之称^[5]。因为 C_4 植物在最大日照时仍达不到光饱和, 并且在高温条件下的光合强度为 C_3 植物的 2 倍, 所以甜高粱被认为是生产乙醇最有希望的原料^[6]。大力开发生物乙醇需要尽快选育出适宜在不同地区、不同栽培条件下的高糖、高产、适应广、抗逆性强的品种^[7]。然而目前, 我国甜高粱育种环节薄弱, 间歇性太大, 有断档现象, 而且自育的甜高粱品种糖锤度略低。要改变这种现状, 就要加大育种方法和手段的研究力度, 使育种有较大的突破^[8]。董喜存等^[9]研究了不同剂量的碳离子束辐射对甜高粱的当代效应, 结果出现了株高、单秆重、糖锤度高、早熟、茎粗等突变类型, 有望筛选出抗性好, 含糖量高的品系。为此, 笔者以兰州重离子加速器提供的碳离子束为诱变源, 研究了不同剂量的碳离子辐照对 2 个甜高粱品种种子萌发及几种酶活性的影响, 旨在为进一步选育甜高粱品种提供理论依据。

基金项目 2008 年度所长基金项目 (0806230SZO); 中国科学院西部之光人才培养计划项目 (0906040XB0); 中国科学院科技支撑项目 (0806300YD0)。

作者简介 冯亮英 (1983-), 男, 江苏徐州人, 硕士研究生, 研究方向: 植物学。* 通讯作者。

收稿日期 2009-07-21

1 材料与方法

1.1 材料 2 个甜高粱品种雷伊和 BJ0601 的种子由中国科学院近代物理研究所提供。利用兰州重离子加速器提供的中能碳离子束对甜高粱种子进行辐射处理, 能量为 100 MeV/u, 辐射剂量为 40、80、120、160 和 200 Gy。

1.2 方法

1.2.1 实验设置。 将辐射后的甜高粱种子用水浸泡 1 d, 70% 酒精消毒 30 s 后蒸馏水冲洗, 再用 0.1% 的 HgCl_2 消毒 15 min, 放入已灭菌的培养皿中, 下面平铺 1 层滤纸, 上面平铺 2 层脱脂纱布, 每盘 50 粒, 室温下发芽, 光照为 16 h/8 h, 每天早晚各换清水 1 次。第 4 天统计发芽势, 以胚芽和种子等长作为标准, 以发芽数与供试种子数之比的百分数表示发芽势; 第 10 天统计成苗率, 取苗期叶片进行酶活含量的测定。

1.2.2 测定方法。 CAT (过氧化氢酶)、SOD (超氧化物歧化酶)、GSH-Px (谷胱甘肽过氧化物酶) 和 LDH (乳酸脱氢酶) 的活性测定采用南京建成生物公司试剂盒, 方法与过程参见说明书, 并略有改动: 取苗期叶片 0.3 g, 用 0.05 mol/L 的 PBS 缓冲液 (内含 2 mmol/L 的 EDTA-Na_2 , 0.5% 的 PVP) 5 ml 研磨, 4 000 r/min 离心 25 min, 上清置 4 °C 冰箱中待测。

1.2.3 数据处理。 数据统计分析软件为 SPSS 13.0, 绘图软件为 Origin 7.5。

2 结果与分析

2.1 不同剂量碳离子辐射对甜高粱发芽势和成苗率的影响

由图 1 可知, 不同剂量辐射对甜高粱幼苗发芽势的影响表现为先增大后减小的趋势, 即 40 Gy > 80 Gy > CK > 120 Gy > 160 Gy > 200 Gy。这表明, 低剂量辐射促进甜高粱的发芽, 而高剂量辐射抑制发芽。

由图 2 可知, 随着辐射剂量的增加, 甜高粱成苗率呈下降趋势, 其中 40 和 80 Gy 的成苗率和对照相差不大 ($P > 0.05$), 而 40 Gy > 80 Gy > CK > 120 Gy > 160 Gy > 200 Gy, 呈

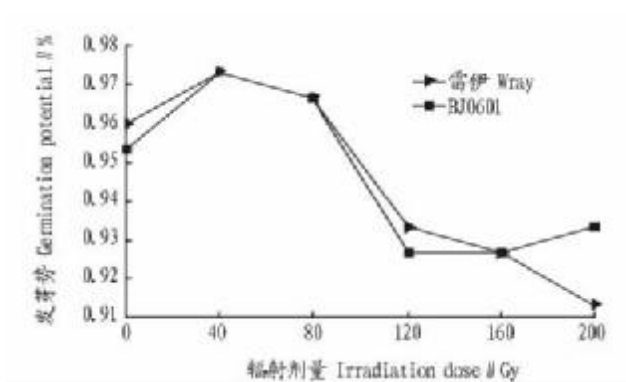


图1 碳离子辐照剂量对甜高粱种子发芽势的影响

Fig.1 Effect of ¹²C⁺⁶ irradiation doses on germination potential of *Sorghum bicolor* seeds

现“类肩形”趋势。试验中发现,刚开始,120、160、200 Gy 辐照后的甜高粱种子正常萌发,但7 d 后,其幼根和幼苗出现斑点,且幼根停止生长,之后腐烂。说明大剂量辐射对甜高粱造成了很大伤害。

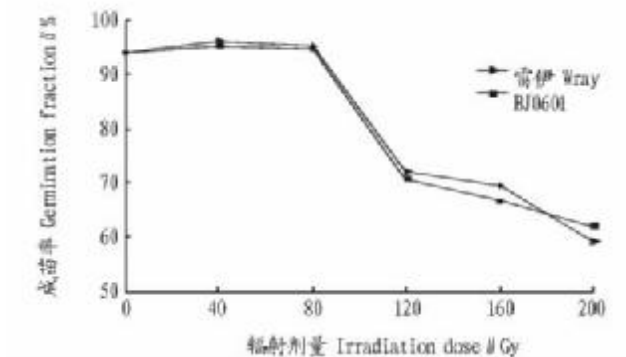


图2 碳离子辐照剂量对甜高粱幼苗成苗率的影响

Fig.2 Effect of ¹²C⁺⁶ irradiation doses on germination fraction of *Sorghum bicolor* seedlings

2.2 不同剂量碳离子辐射对甜高粱几种酶活性的影响 由图3可知,随着剂量增加,GSH-PX 活性都呈先升后降再上升的趋势,且都高于对照。雷伊在 160 和 200 Gy 处活性较大,而 BJ0601 在 40 Gy 处活性最大,这可能是由于雷伊的耐受能力较强。从图中还可以看出,雷伊 GSH-PX 最大活性是对照的 1.3 倍,BJ0601 是对照的 1.3 倍。

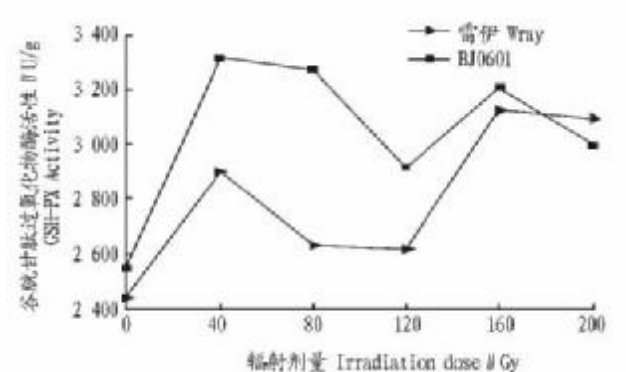


图3 碳离子辐照对甜高粱幼苗 GSH-Px 活性变化的影响

Fig.3 Effect of GSH-Px activity in seedlings of *Sorghum bicolor* irradiated by ¹²C⁺⁶ ions

由图4可知,辐照后 CAT 的活性变化趋势均为先升后降,但都高于对照。在 160 Gy 处,CAT 活性达最大,其中,雷

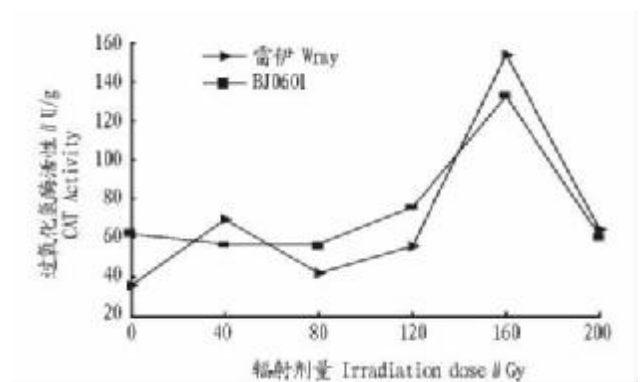


图4 碳离子辐照对甜高粱幼苗的 CAT 活性变化的影响

Fig.4 Effect of CAT activity in seedlings of *Sorghum bicolor* irradiated by ¹²C⁺⁶ ions

伊是对照的 4.4 倍,差异显著(P > 0.05),BJ0601 是对照的 2.1 倍。

由图5可知,SOD 活性变化趋势和 GSH-Px、CAT 略有不同,呈先增大后降低,保持稳定后再急剧降低的趋势。雷伊在 40 Gy 处活性最大,是对照的 1.3 倍;BJ0601 在 40 和 120 Gy 处活性最大,是对照的 1.2 倍。

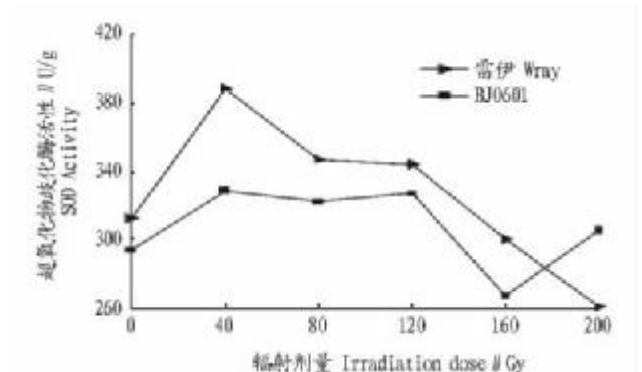


图5 碳离子辐照对甜高粱幼苗 SOD 活性变化的影响

Fig.5 Effect of SOD activity in seedlings of *Sorghum bicolor* irradiated by ¹²C⁺⁶ ions

由图6可知,LDH 的活性随着剂量增大而降低,而后又上升,有一个低峰位置,其中雷伊在 120 Gy 处,BJ0601 在 80 Gy 处活性最低。BJ0601 的酶活变化趋势较雷伊明显,二者酶活都小于对照。

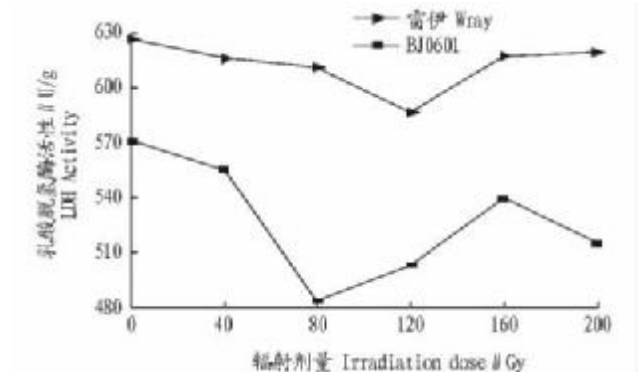


图6 碳离子辐照对甜高粱幼苗的 LDH 活性变化的影响

Fig.6 Effect of LDH activity in seedlings of *Sorghum bicolor* irradiated by ¹²C⁺⁶ ions

3 结论与讨论

发芽势是指种子发芽初期在规定时间内能正常发芽的

种子粒数占供检种子粒数的百分率,是判断田间出苗率的指标。在该试验中,重离子辐射甜高粱干种子对其发芽势的影响呈“类鞍马型”,这与董喜存等^[9]、王燕等^[10]、宋道军等^[11]用重离子研究甜高粱、拟南芥、微生物所得结果相似;成苗率呈现“类肩形”,与宋道军等^[12]研究微生物成活率曲线基本一致。现有的研究认为,辐射育种中选择低剂量的原因与重离子的作用机理有关。在一定的剂量范围内,随着剂量的增加发芽势增加,说明注入离子的电荷积累和质量沉积发挥了作用,堆积电荷形成一个弱电场,这种电场的刺激效应可以激活生物体内各种酶,尤其是修复酶,从而提高修复效率;注入细胞内的电荷影响了生命活动中的基因调控,诱导新修复机制的产生,提高存活率;质量沉积产生新的物质与生物体内的蛋白质和DNA竞争自由基,减轻了自由基对生物体的伤害。但是,具体原因有待进一步研究。

植物在进化过程中形成了一套行之有效的活性氧清除系统来防御活性氧的伤害及维持活性氧生成和清除的动态平衡,该系统主要包括酶促抗氧化系统和非酶促抗氧化系统,前者称抗氧化酶,主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、过氧化物酶(POD)、谷胱甘肽还原酶(GR)和谷胱甘肽转硫酶(GST)等;后者称抗氧化物质,主要包括抗坏血酸(AsA)和谷胱甘肽(GSH)等。抗氧化酶活性和抗氧化物质含量的高低可以反映植物体内活性氧清除能力或抗逆能力的强弱^[12]。SOD活性在该试验中先上升再下降,维持某个水平,然后又下降。表明低剂量使得酶活性增加,清除生物体内自由基,但是高剂量对生物造成了损伤,使生物大分子受到伤害,酶活降低,这与周利斌等^[13]研究辐射沙打旺种子的趋势基本吻合。同时,笔者注意到,在200 Gy处,雷伊和BJ0601的酶活趋势不一样,雷伊是下降,BJ0601上升,这可能是试验误差造成,也可能是辐射引起的某种机制在起作用,具体机理有待于进一步研究。对CAT活性而言,BJ0601在40和80 Gy处基本保持不变,120 Gy处急剧上升,活性达最大。雷伊则先上升后下降,再上升,再下降,这可能与雷伊和BJ0601对辐射的敏

感性不同有关。

谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)可以清除由活性氧和·OH诱发的脂质过氧化物,保护细胞膜结构和功能的完整性。试验中,GSH-Px活性呈“马鞍型”,这与发芽势的趋势相吻合。在80和120 Gy处,雷伊活性基本不变,与SOD在80和120 Gy处变化相一致;BJ0601活性下降,表明雷伊和BJ0601对辐射的敏感性不同。LDH在糖酵解中起主要作用,植物受到外界胁迫时进行无氧呼吸,产生大量乳酸,LDH能分解乳酸,减轻乳酸对植物体的伤害。该试验中,LDH先下降再上升,且活性均小于对照,与其他几种酶不同,这可能是对辐射比较敏感,受到的损害较大的缘故。

参考文献

- [1] YU Z L, DENG J G, HE J J, et al. Mutation breeding by ion implantation [J]. Nucl Instr Meth B, 1991, 59: 705-708.
- [2] 黄群策, 张锡亭, 向茂成. 离子束生物工程的现状与展望[J]. 湘潭师范学院学报:自然科学版, 2001, 23(3): 78-82.
- [3] 江泽慧, 彭镇华. 离子束应用于生物品种改良的研究进展[J]. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3): 295-298.
- [4] THE ROYAL SOCIETY, LONDON ORGANIZER, JAPAN SCIENCE FOUNDATION, LON VISE MEN'S Conference for the Human Frontier Science Program [R]. 1987: 398-402.
- [5] 黎大爵. 甜高粱可持续农业生态系统研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(8): 1021-1024.
- [6] DAVID C, GIULIANO G, ALDO N, et al. ECHI-T: Large bio-ethanol project from sweet sorghum in China and Italy [C]. Amsterdam, the Netherlands: Proceedings of the 12th European Conference on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection, 2002: 17-21.
- [7] 曹文伯. 应对甜高粱生产发展的新形势[J]. 中国种业, 2005(11): 17-18.
- [8] 闫鸿雁, 付立中, 胡国宏, 等. 国内外甜高粱研究现状及应用前景分析[J]. 吉林农业科学, 2006, 31(5): 63-65.
- [9] 董喜存, 李文建, 何金玉, 等. 碳离子束对甜高粱辐射诱变的当代效应[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2007, 25(6): 359-361.
- [10] 王燕, 王卫东, 秦广雍, 等. 氮离子注入对拟南芥的生理影响初步研究[J]. 华北农学报, 2004, 19(1): 82-85.
- [11] 宋道军, 余增亮. 三种辐射源对耐辐射微球菌作用机理的比较研究[J]. 生物物理学报, 1998, 14(1): 185-188.
- [12] 罗红兵, 赵葵, 周文新, 等. 重离子辐射诱导玉米雄性不育突变系的遗传研究[J]. 核农学报, 2008, 22(3): 296-299.
- [13] 周利斌, 李文建, 李强, 等. 重离子及电子辐照沙打旺干种子的辐射生物学效应[J]. 激光生物学报, 2003, 12(5): 350-354.

(上接第16267页)

预测,以期为该蛋白具体功能的探索提供一定的理论参考。

参考文献

- [1] 王海波. 南方紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)原生质体培养及再生体系的研究[D]. 重庆:西南大学, 2007.
- [2] 梁毅. 结构生物学[M]. 北京:科学出版社, 2005: 116-118.
- [3] FREEDMAN R B, HIRST T R, TUTTE M F. Protein disulphide isomerase: building bridges in protein folding [J]. Trends Biochem Sci, 1994, 19(8): 331-336.
- [4] FERRARI D M, SOLING H D. The protein disulphide isomerase family: unravelling a string of folds [J]. Biochem, 1999, 339(Pt1): 1-10.
- [5] CLISSOLD P M, BIEKNELL R. The thioredoxin-like fold: Hidden domains

in protein disulfide isomerases and other chaperone proteins [J]. Bio Essays, 2003, 25(6): 603-611.

- [6] 薛庆中. DNA和蛋白质序列数据分析工具[M]. 北京:科学出版社, 2009: 75-77.
- [7] 孙涌栋, 张传来, 罗未蓉, 等. 黄瓜CsEXP10基因的电子克隆及生物信息学分析[J]. 生物信息学, 2008, 6(3): 113-116.
- [8] REN W B, ZHAO L, WANG M, et al. Effect of space flight factors on plant biomass developed from alfalfa seeds carried by the satellite [J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(5): 78-80, 98.
- [9] LIU Z, YANG H. Value and its usage of alfalfa [J]. Inner Mongolia Agricultural Science and Technology, 2005(4): 42-44.