

N⁺注入对大豆种子发芽率及幼苗生理特性的影响

张红^{1,2}, 郑世英¹, 刘贵忠^{2,3}, 苏荣存¹, 梁淑霞¹, 肖蓓蕾¹, 耿建芬¹

(1. 德州学院生态与园林建筑学院, 山东德州 253023; 2. 山东省功能大分子生物物理重点实验室, 山东德州 253023; 3. 德州学院物理与信息电子学院, 山东德州 253023)

摘要:为了揭示幼苗生理生化指标的变化规律与N⁺离子注入能量、剂量的内在关系,探索不同大豆品种适宜N⁺离子注入能量及剂量,以4个大豆品种齐黄34(Q34)、德豆99-16(D99-16)、冀豆12(J12)、荷豆12(H12)为材料,采用6个处理(15 keV, 2.4 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; 15 keV, 4.8 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; 15 keV, 7.2 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; 25 keV, 2.4 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; 25 keV, 4.8 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; 25 keV, 7.2 × 10¹³ N⁺ · m⁻²),研究了N⁺注入对大豆种子发芽率及幼苗的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)的活性、丙二醛和可溶性蛋白含量等生理指标的影响。结果表明:在一定的N⁺注入的能量剂量范围内,随注入能量和剂量的增加,种子的发芽率、SOD、POD、CAT的活性、可溶性蛋白含量都表现为先增后降的变化趋势,而丙二醛含量的变化趋势与之相反。促进幼苗生长的各品种适宜N⁺注入能量和剂量值分别为D99-16和J12: 15 keV, 4.8 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; H12: 15 keV, 7.2 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; Q34: 25 keV, 2.4 × 10¹³ N⁺ · m⁻²。诱变育种宜采用的能量、剂量值为J12、H12、D99-16: 25 keV, 2.4 × 10¹³ N⁺ · m⁻², Q34: 大于25 keV, 7.2 × 10¹³ N⁺ · m⁻²。

关键词:大豆; N⁺注入; 发芽率; 生理特性

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2015.04.0630

Effects of N⁺ Implantation on Germination Percentage of Seeds and Physiological Property of Seedlings in Soybean

ZHANG Hong^{1,2}, ZHENG Shi-ying¹, LIU Gui-zhong^{2,3}, SU Rong-cun¹, LIANG Shu-xia¹, Xiao Bei-lei¹, GENG Jian-fen¹

(1. College of Ecology and Garden Architecture, Dezhou University, Dezhou 253023, China; 2. Shandong Provincial Key Laboratory of Functional Macromolecular Biophysics, Dezhou University, Dezhou 253023, China; 3. College of Physics and Electronic Engineering, Dezhou University, Dezhou 253023, China)

Abstract: In order to reveal the intrinsic relationships between changing rule of the seedling physiological and biochemical indexes and N⁺ implantation energy and dose, exploring suitable N⁺ implantation energy and dose for different soybean varieties, effects of N⁺ implantation on percentage of seeds, activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT), and contents of malondialdehyde (MDA) and soluble protein physiological indexes were researched using four soybean cultivars, namely Qihuang 34 (Q34), Dedou 99-16 (D99-16), Jidou 12 (J12), and Hedou 12 (H12), as materials and 6 treatments (15 keV, 2.4 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; 15 keV, 4.8 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; 15 keV, 7.2 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; 25 keV, 2.4 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; 25 keV, 4.8 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; 25 keV, 7.2 × 10¹³ N⁺ · m⁻²). The results were as follows: In a certain range of energy and dosage, with the increase of the implantation energy and dose, the germination rate of seeds, the activities of SOD, POD and CAT, and soluble protein content all expressed a change trend of first increasing then dropping, and the tendency of the MDA content was on the contrary. Suitable values of energy and dose for N⁺ implantation, promoting the seedling growth of various varieties, were D99-16 and J12: 15 keV, 4.8 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; H12: 15 keV, 7.2 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; Q34: 25 keV, 2.4 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; respectively. Appropriate values for mutation breeding were J12, H12, and D99-16: 25 keV, 2.4 × 10¹³ N⁺ · m⁻²; Q34: bigger than 25 keV, 7.2 × 10¹³ N⁺ · m⁻². The research was significant for soybean mutation breeding by N⁺ implantation method.

Keywords: Soybean; N⁺ implantation; Germination percentage of seeds; Physiological property

离子注入诱变育种具有剂量可控、损伤轻、突变率高、突变谱广、突变体可稳定遗传、诱变效应显著等优点^[1],已被广泛应用于水稻^[2]、棉花^[3]、烟草^[4]等农作物,康乃馨^[5]、玫瑰^[6]等花卉,番茄、黄瓜等蔬菜^[7-8],阿魏菇^[9]等微生物的新品种选育上。离子注入植物种子,通过能量沉积、质量沉积、动量传递、电荷交换^[10-11]等作用,对细胞造成严重的刻

蚀^[12-13],引起物理损伤、生物学效应、旁观者效应等一系列复杂效应^[14],不同的注入离子类型和作用植物品种都有可能产生不同的生物学诱变效应模式^[15],虽然与本文相关的研究已有报道^[16-17],但在选用的品种、注入的能量和剂量组合、取样的时期等方面都存在较大差异。本研究旨在通过研究不同剂量N⁺离子注入对不同大豆品种种子萌发率及

收稿日期: 2014-10-22

基金项目: 2013年德州学院生物物理实验室专项计划(311710)。

第一作者简介: 张红(1971-),女,博士,讲师,主要从事作物遗传育种研究。E-mail: zhw718_0@163.com。

幼苗生理生化指标的影响,揭示幼苗生理生化指标的变化规律与 N⁺离子注入能量、剂量的内在关系,探索不同大豆品种适宜 N⁺离子注入能量、剂量,为大豆的 N⁺注入诱变育种提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

以 4 个山东省主栽大豆品种为材料,分别为:齐黄 34(Q34)、德豆 99-16(D99-16)、冀豆 12(J12)、荷豆 12(H12),种子由山东省德州市农业科学院提供,发芽率均在 90% 以上。

1.2 方 法

1.2.1 离子注入 离子注入在德州学院山东省生物物理重点实验室进行,采用的仪器为中国科学院等离子体物理研究所南京三乐电真空设备制造有限公司生产的离子束生物工程学装置系统。根据本实验室长期积累的经验和相关文献报道^[16-18],设定了 2 个能量值(15 和 25 keV);3 个剂量值(2.4×10^{13} 、 4.8×10^{13} 和 $7.2 \times 10^{13} \text{ N}^+ \cdot \text{m}^{-2}$),以注入剂量为 0 作为对照,具体处理详见表 1,3 次重复,每个处理每次重复均选取充实饱满的种子 100 粒,胚朝上摆在种子盘上,35℃ 烘箱烘干 30 min,放到靶室抽真空,进行离子注入。靶室真空度为: $3 \times 10^{-3} \text{ Pa}$,脉冲注入 200 个相对数,间隔 10 s。

表 1 不同处理离子注入的能量和剂量

Table 1 Energy and dose of N⁺ implantation in different treatment

处理 Treatment	能量 Energy/keV	剂量 Dose/N ⁺ · m ⁻²
T0	0	0
T1	15	2.4×10^{13}
T2	15	4.8×10^{13}
T3	15	7.2×10^{13}
T4	25	2.4×10^{13}
T5	25	4.8×10^{13}
T6	25	7.2×10^{13}

1.2.2 种子发芽试验及幼苗的培养 取离子注入后的种子,3% 的双氧水消毒 5 min,清水反复冲洗 3~5 次,均匀摆放到铺有一层湿润滤纸的发芽盒里,放到培养室进行催芽,培养室温度为(25 ± 1)℃。每天用清水冲洗一次,并统计发芽情况,直到发芽结束。发芽的种子栽种到苗盘中,每个处理种 20 株,随机排列,3 次重复,苗长到 3 叶 1 心时,取叶片,测定各生理指标。

1.2.3 生理生化指标的测定 称取 0.5 g 叶片放入研钵中,加 5 mL pH7.8 的磷酸缓冲液,冰浴研磨,匀浆倒入离心管中,冷冻离心 20 min,取上清液测定

超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、可溶性蛋白含量、丙二醛(MDA)含量。超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用氮蓝四唑(NBT)比色法;过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法;过氧化氢酶(CAT)活性的测定采用双氧水法;可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法^[19]。丙二醛(MDA)含量的测定用硫代巴比妥酸(TBA)法^[20]。

1.3 数据 分析

数据的预处理和作图采用 Excel 2007,统计分析采用 SPSS 17.0 软件。

2 结果与 分析

2.1 N⁺注入对大豆种子发芽率的影响

由图 1 可知,T0 处理使各品种的发芽率较低,可能是抽真空使种皮开裂,对种子造成了机械损伤所致,4 个品种的发芽率都随着离子注入能量和剂量的变化呈先升高后降低的趋势。J12、D99-16 发芽率都以 T2 处理(能量为 15 keV,剂量为 $4.8 \times 10^{13} \text{ N}^+ \cdot \text{m}^{-2}$)的发芽率最高,而 H12 以 T3 处理的发芽率最高,Q34 在 T0、T1、T2 处理时,差异不显著($P \geq 0.05$),T3 处理发芽率开始升高,T4、T5 处理时达到最高,T6 处理又开始下降。由此可见:抽真空可使大豆种子的发芽率大幅度降低,适宜能量和剂量的 N⁺离子注入可以补偿由抽真空造成的机械损伤,促进大豆种子的萌发,不同品种对 N⁺离子注入能量和剂量的反应存在差异,J12、H12、D99-16 对离子注入反应比较敏感,注入能量为 15 keV 时对种子的萌发有利,而对于 Q34 来说,25 keV 的能量对于促进种子的萌发有利。

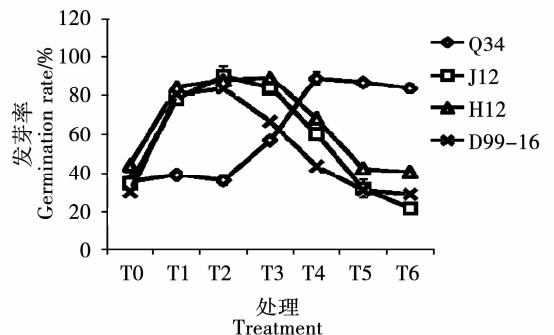


图 1 N⁺注入对大豆种子发芽率的影响

Fig. 1 Effect of N⁺ implantation on seeds germination rate of soybean

2.2 N⁺注入对大豆幼苗 SOD 酶活性的影响

4 个大豆品种的 SOD 酶活性都随着注入能量和剂量的升高而呈先升后降的趋势(图 2),说明低能量、剂量的 N⁺可以刺激 SOD 酶的表达,但随着注入能量和剂量的增加,产生的有毒物质增多,SOD 酶的活性开始受到抑制,Q34 和 J12 在 T1 处理时,

SOD 酶的活力达到最大,与对照相比,分别增加了 46.3% 和 22.4%,Q34 从 T4 处理、J12 从 T3 处理, SOD 酶活性开始低于对照;D99-16 以 T2 处理 SOD 酶活力最强,比对照增加了 62.9%,T5 处理开始低于对照;H12 在 T3 处理时 SOD 酶活力最强,比对照增加了 45.19%,只有 T6 处理的酶活力低于对照。说明 4 个大豆品种的 SOD 酶在对 N^+ 注入的反应敏感性上存在差异,Q34 和 J12 SOD 酶的反应敏感性强于 D99-16,D99-16 强于 H12。

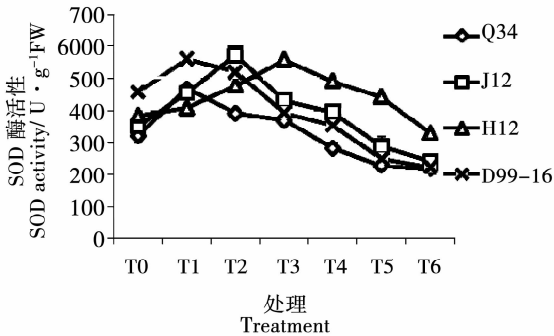


图 2 N^+ 注入对大豆幼苗 SOD 酶活性的影响
Fig. 2 Effect of N^+ implantation on SOD activity of soybean seedlings

2.3 N^+ 注入对大豆幼苗 CAT 酶活性的影响

过氧化氢酶(CAT)能消除活性氧,使细胞免受伤害。经过离子注入处理的 4 个大豆品种 CAT 酶的活性都大于对照,并随着注入能量和剂量的增加而呈先升后降的趋势,Q34 和 J12 在 T1 处理,D99-16 在 T3 处理,H12 在 T4 处理,CAT 的活力达到峰值(图 3)。Q34、D99-16、H12、J12 在峰值时,CAT 的活力分别比对照增加了 134.8%、113.8%、213.9%、97.12%。说明在本实验采用的 N^+ 注入能量和剂量范围内,4 个大豆品种的 CAT 活性虽然也呈现先升后降的趋势,但整体表现为促进作用,由此可见,4 个大豆品种的 CAT 酶对 N^+ 离子注入的敏感性小于 SOD 酶。

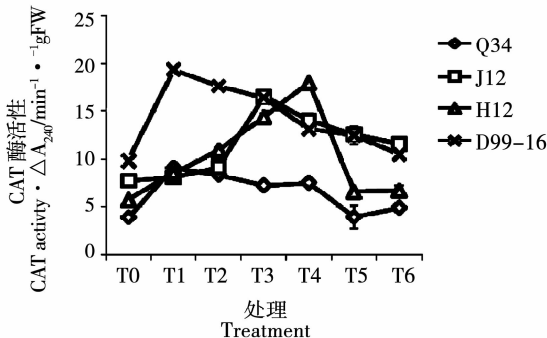


图 3 N^+ 注入对大豆幼苗 CAT 酶活性的影响
Fig. 3 Effect of N^+ implantation on CAT activity of soybean seedlings

2.4 N^+ 注入对大豆幼苗 POD 酶活性的影响

由图 4 可知,POD 酶的活性都随着注入能量和

剂量的升高而呈先升后降的趋势,Q34 和 H12 的所有处理 POD 酶的活性都高于对照,也就是说,本实验所采用的能量、剂量对 Q34 和 H12 两个大豆品种的 POD 酶活性具有促进作用,D99-16 和 J12 在注入能量增加到 25 keV 时,POD 酶的活性开始低于对照,POD 酶活性表现为抑制作用,Q34 和 H12 在 T4、T3 处理时 POD 酶的活性最强,D99-16 和 J12 在 T2 处理时 POD 酶活力最强。

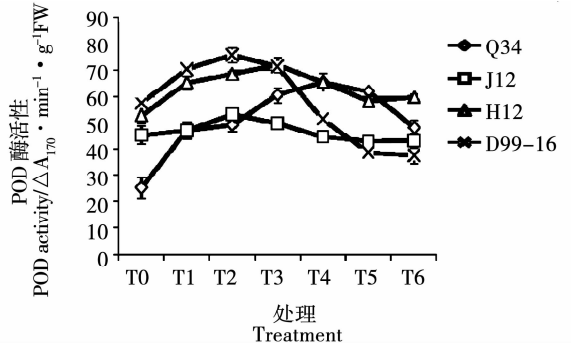


图 4 N^+ 注入对大豆幼苗 POD 酶活性的影响
Fig. 4 Effect of N^+ implantation on POD activity of soybean seedlings

2.5 N^+ 注入对大豆幼苗 MDA 含量的影响

丙二醛(MDA)含量的高低反映了植物细胞膜脂过氧化强度和膜系统受伤害的程度,常被用来作为逆境生理的重要研究指标。由图 5 可知,4 个大豆品种丙二醛的含量都随着注入能量和剂量的增加而呈先降后升的趋势,Q34 和 H12 在 T4、T3 处理,D99-16 和 J12 在 T2 处理,丙二醛的含量最低,这表明低能量和剂量的 N^+ 注入可以通过刺激膜保护酶的表达,来阻止膜脂过氧化作用,减少细胞的损伤,降低细胞内 MDA 的水平。可是随着 N^+ 注入能量和剂量的增加,损伤加重,各种保护酶类的合成受阻,酶活性受到抑制,因此,作为膜脂过氧化产

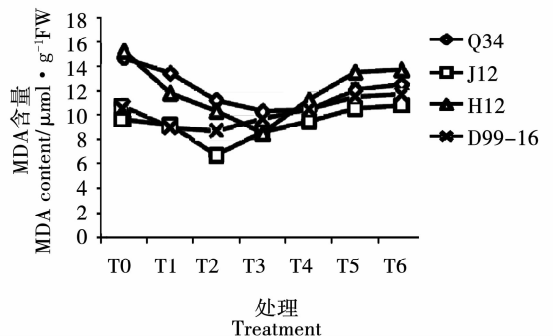


图 5 N^+ 注入对大豆幼苗 MDA 含量的影响
Fig. 5 Effect of N^+ implantation on MDA content of soybean seedlings

物的 MDA 含量迅速上升。

2.6 N^+ 注入对大豆幼苗可溶性蛋白含量的影响

可溶性蛋白含量常常用来作为衡量植物受逆境胁迫的重要生理指标。图 6 结果表明:4 个大豆

品种可溶性蛋白的含量都随着注入能量和剂量的增加而呈先升后降的趋势, Q34、D99-16 离子注入后的可溶性蛋白含量均高于对照, J12、H12 在注入能量提高后, 可溶性蛋白含量迅速下降, 低于对照。说明低能量、剂量的 N⁺ 注入对大豆幼苗可溶性蛋白的合成有促进作用, 能量、剂量过高, 可溶性蛋白的合成受阻, 生理损伤加重。

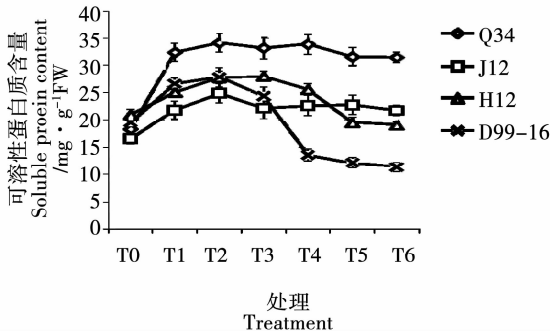


图 6 N⁺注入对大豆幼苗可溶性蛋白含量的影响

Fig. 6 Effect of N⁺ implantation on soluble protein content of soybean seedlings

3 讨论

由图 1 可以看出, T0 处理使 4 个大豆品种的发芽率都降到了 30% ~ 40%, 然后随着注入能量和剂量的增加, 都表现出先升后降的变化趋势。可能原因是大豆种子的损伤来自抽真空导致的种皮开裂和离子注入造成的生理损伤两个方面, 低能量和剂量的 N⁺ 离子注入可以提高种子活力, 补偿由这两个方面造成的生理损伤, 促进大豆种子的萌发, 但随着注入能量、剂量的增加, 生理损伤加重, 补偿效应降低, 种子发芽率随之降低。也就是说低能量、剂量 N⁺ 注入可以增加种子的活力, 提高发芽率, 但能量、剂量过高会使种子的发芽受到抑制, 此结果和郭金华等^[16]的研究结果一致。不同的是对照处理的发芽率存在较大差异, 可能是两个试验采用的材料不同和对照有没有抽真空引起的。

诱变育种一般多以半致死剂量, 即诱变处理后植株存活一半的离子注入剂量, 作为诱变敏感性指标^[21], 本研究表明 J12、H12、D99-16 三个大豆品种在 T4 (25 keV, $2.4 \times 10^{13} \text{ N}^+ \cdot \text{m}^{-2}$) 处理时, 发芽率都在 40% ~ 60%, 因此该处理应为这 3 个大豆品种 N⁺ 离子注入诱变育种的适宜能量剂量组合, 而 Q34 耐受能力较强, T6 ($25 \text{ keV}, 2.4 \times 10^{13} \text{ N}^+ \cdot \text{m}^{-2}$) 处理时发芽率还保持在 80% 以上, 诱变处理时可以再适当提高 N⁺ 离子注入的能量和剂量, 以提高后代突变率。

本研究中 4 个大豆品种三种酶的活性均表现先升后降的变化趋势, 可能是离子注入能量较低时,

生理损伤较轻, 活性氧自由基产生的相对较少, 为了维持体内自由基代谢的平衡, 保护酶系统会被刺激活跃表达, 使酶活力增强, 但这种活力增强是有限的, 达到一定的峰值以后, 随着注入剂量的增加, 生理损伤越来越严重, 产生的活性氧自由基越来越多, 内源酶系统在清除自由基的过程中自身受到很大的破坏, 酶活性下降。本研究结果和陆佳^[20]在仿栗^[22]、黄丽群^[23]在光皮桦、李林玉^[24]在二倍体水稻上的研究结果一致, 证实了大豆自身具有一定的协调修复能力。

D99-16 和 H12 分别在 T2 和 T3 处理时, SOD 和 POD 活性、可溶性蛋白含量最高, MDA 含量最低, 而 CAT 的活性分别在 T3、T4 处理时最高; J12 和 Q34 分别在 T2 和 T4 处理时, POD 活性、可溶性蛋白含量最高, MDA 含量最低, CAT 的活性和 SOD 酶活性都是在 T1 处理时最高。这表明大豆品种由于遗传背景不同, 在离子注入损伤生理调控机制方面可能存在一定的差异。在清除由 N⁺ 注入产生的氧自由基方面, 对于 Q34 和 J12 来说, POD 的作用可能大于 SOD 和 CAT。而对于 D99-16、H12 来说, 可能 SOD 和 POD 作用比 CAT 更大一些

黄丽群^[28]认为在进行离子束诱变育种时, 尽量选剂量高、对生物体损伤小的条件注入以便得到较多的突变材料。然而这种观点值得商榷, 生物体损伤小时, 遗传物质 DNA 的损伤应该也小, 突变率应相对较低, 要想获得较高的突变率, 应该在保证一定成活率的基础上造成尽量大的损伤, 如果用生理指标作为评价诱变效果标准, 离子注入诱变育种的最适剂量应该高于能促进植物生长的最适剂量。

郭金华等^[16-17]采用大豆品种丰豆 103 进行了 N⁺ 注入, 对子叶伸展 24 和 96 h 的幼苗的 SOD、POD、CAT 活性、MDA、可溶性蛋白含量等生理指标进行了测定, 认为适宜剂量的 N⁺ 注入可以促进 SOD、CAT、POD 等酶的表达, 使酶活性提高, MDA 含量降低、可溶性蛋白含量增加, 剂量过高会抑制酶的活性, MDA 含量增加, 可溶性蛋白含量减少。本研究采用 3 叶 1 心较大的幼苗也得出了同样的结论, 这说明 N⁺ 注入导致的损伤效应在大豆种子的生长发育过程中可能长期存在。

4 结论

在一定的 N⁺ 注入的能量剂量范围内, 随注入能量和剂量的增加, 大豆种子的发芽率、SOD、POD、CAT 的活性、可溶性蛋白含量都表现为先增后降的变化趋势, 而丙二醛含量的变化趋势与之相反。促进幼苗生长的各品种适宜 N⁺ 注入能量和剂量值分别为 D99-16 和 J12: $15 \text{ keV}, 4.8 \times 10^{13} \text{ N}^+ \cdot \text{m}^{-2}$;

H12:15 keV, $7.2 \times 10^{13} \text{N}^+ \cdot \text{m}^{-2}$; Q34:25 keV, $2.4 \times 10^{13} \text{N}^+ \cdot \text{m}^{-2}$ 。诱变育种宜采用的能量、剂量值为 J12、H12、D99-16:25 keV, $2.4 \times 10^{13} \text{N}^+ \cdot \text{m}^{-2}$, Q34: 大于 25 keV, $7.2 \times 10^{13} \text{N}^+ \cdot \text{m}^{-2}$ 。

参考文献

- [1] 余增亮. 离子束生物技术引论[M]. 合肥:安徽科学技术出版社, 1998:67-84.(Yu Z L. Introduction to ion beam biotechnology[M]. Hefei: Anhui Science and Technology Press, 1998:67-84.)
- [2] 余增亮, 何建军, 邓建国, 等. 离子注入水稻诱变育种机理初探[J]. 安徽农业科学, 1989, 39(1):12-16. (Yu Z L, He J P, Deng J G, et al. Preliminary studies on the mutagenic mechanism of the ion implantation on rice [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 1989, 39(1):12-16.)
- [3] 郑冬官, 方其英, 黄德祥, 等. 离子注入在棉花育种中的诱变功效[J]. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3):315-317. (Zeng D G, Fang Q Y, Huang D X, et al. Mutagenesis effect of ion implantation on cotton breeding[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 1994, 21(3):315-317.)
- [4] 刘凤兰, 段旺军, 王素琴, 等. 离子注入技术及其在烟草育种上的应用研究[J]. 种子, 2004, 23(12):58-60. (Liu F L, Duan W J, Wang S Q, et al. Ion implantation technology and its application in tobacco breeding research [J]. Seed, 2004, 23(12):58-60.)
- [5] Okamura M, Yasuno N, Ohtsuka M, et al. Wide variety of flower-color and-shape mutants regenerated from leaf cultures irradiated with ion beams[J]. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, 2003, 206:574-578.
- [6] Yamaguchi H, Nagatomi S, Morishita T, et al. Mutation induced with ion beam irradiation in rose [J]. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, 2003, 206:561-564.
- [7] Chen H L, Wan H G, Zhang J, et al. Mutation induction of *Pleurotus ferulae* by low-energy N^+ ion implantation and characters of the selected mutant [J]. Nuclear Science and Techniques (in Chinese), 2008, 19(1):13-16.
- [8] Krasaechai A, Yu L D, Sirisawad T, et al. Low-energy ion beam modification of horticultural plants for induction of mutation[J]. Surface and Coatings Technology, 2009, 203 (17-18): 2525-2530.
- [9] 郝爱平, 詹亚光, 尚洁. 诱变技术在植物育种中的研究新进展[J]. 生物技术通报, 2004(6):30-33. (Hao A P, Zhan Y G, Shang J. The new advance of induced mutation techniques on plant breeding [J]. Biotechnology Bulletin, 2004(6):30-33.)
- [10] Yu Z L. Introduction to ion beam biotechnology[M]//Yu L D translated Liangdeng. New York: Thira Phat Vilaithong and Ian Brown. Springer, ISBN-10:0-387-25531-1. 2006:55-86.
- [11] Feng H Y, Yu Z L, Chu P K. Ion implantation of organisms [J]. Materials Science and Engineering, 2006, 54(3-4):49-120.
- [12] Sangyuenyongpipat S, Yu L D, Vilaithong T, et al. Ion bombardment induced formation of micro-craters in plant cell envelopes [J]. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, 2006, 242(1-2):8-11.
- [13] Vilaithong T, Yu L D, Alisi C, et al. A study of low-energy ion beam effects on outer plant cell structure for exogenous macromole-
- [14] cule transferring [J]. Surface and Coatings Technology, 2000, 128-129:133-138.
- [14] Yang G, May T, Yuan H, et al. Bystander/abscopal effects induced in intact arabidopsis seeds by low-energy heavy-ion radiation [J]. Radiation Research, 2008, 170(3):372-380.
- [15] 司婧, 张红, 武振华. 离子注入技术在植物育种中的应用与研究进展[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2012, 30(6):321-327. (Si J, Zhang H, Wu Z H. Applications and research progress of plant breeding with ion implantation technique [J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2012, 30(6):321-327.)
- [16] 郭金华, 谢传晓, 徐剑, 等. N^+ 离子注入对大豆种子活力及其幼苗的抗氧化酶活性影响[J]. 激光生物学报, 2003, 12(5):368-372. (Guo J H, Xie C X, Xu J, et al. Effects of N^+ ion implantation on seed vigor of soybean and some antioxidant activity in soybean seedling [J]. Aata Laser Biology Sinica, 2003, 12(5):368-372.)
- [17] 郭金华, 王浩波, 谢传晓, 等. 低能氮离子注入对大豆幼苗脂质过氧化的影响[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2003, 21(4):243-246. (Guo J H, Wang H B, Xie C X, et al. Effects of N^+ ion implantation on lipid peroxidation in soybean seedling [J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2003, 21(4):243-246.)
- [18] 蔡长龙, 梁海锋, 马睿, 等. 离子注入辣椒出苗特性的研究[J]. 种子, 2012, 31(8):49-51. (Cai C L, Liang H F, Ma R, et al. Research on germination characteristics of pepper after ion implantation [J]. Seed, 2012, 31(8):49-51.)
- [19] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000. (Li H S. The experiment principle and technique on plant physiology and biochemistry [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000:164-261.)
- [20] 张宪政. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社, 1994 (Zhang X L. Experiment technology on plant physiology [M]. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press, 1994.)
- [21] 程国旺, 黄军策, 余增亮. 氮离子注入油菜 M_1 代的生物学效应[J]. 核技术, 2004, 27(4):281-284. (Cheng G W, Huang J C, Yu Z L. Biological effects of nitrogen ion implantation on rape M_1 generation [J]. Nuclear Techniques, 2004, 27(4):281-284.)
- [22] 陆佳, 李志辉, 张斌, 等. 氮离子注入对仿栗种子当代生理生化性状的影响[J]. 核农学报, 2008, 22(5):617-620. (Lu J, Li Z H, Zhang B, et al. Effects on N^+ ion implantation on physiological and biochemical characters of *Sloanea hemsleyana* seeds [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2008, 22(5):617-620.)
- [23] 黄丽群, 郑丰河, 张斌, 等. 氮离子注入对光皮桦幼苗生理生化特性的影响[J]. 中南林业科技大学学报, 2011, 31(3):135-138. (Huang L Q, Zhen F H, Zhang B, et al. Effects of nitrogen ion implantation on physiological and biochemical characters of *Betula luminifera* seedlings [J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2011, 31(3):135-138.)
- [24] 李林玉, 张时萍, 黄群策. 低能 N^+ 离子束注入对不同染色体组倍性水稻幼苗期生理特性的影响[J]. 广西植物, 2013, 33(2):164-170. (Li L Y, Zhang S P, Huang Q C. Effects of low-energy N^+ ion beam irradiation on the main physiological characteristics of rice (*O. sativa*) with different chromosome sets in seedling period [J]. Guangxi Plant, 2013, 33(2):164-170.)