

CNIC-01384
CSNAS-0130

中国核科技报告

CHINA NUCLEAR SCIENCE
AND TECHNOLOGY REPORT

离子注入在甜菊育种中的应用

APPLICATION OF ION IMPLANTATION IN
STEVIA BREEDING

(In Chinese)



中国核情报中心
原子能出版社

China Nuclear Information Centre
Atomic Energy Press

图书在版编目(CIP)数据

中国核科技报告 CNIC-01384, CSNAS-0130: 离子注入
在甜菊育种中的应用/王彩莲等著. —北京: 原子能出版社,
1999. 8

ISBN 7-5022-2044-5

I. 中… II. 王… III. 核技术-中国-研究报告 IV. TL-2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 45849 号

原子能出版社, 1999

原子能出版社出版发行

责任编辑: 郭向阳

社址: 北京市海淀区阜成路 43 号 邮政编码: 100037

中国核科技报告编辑部排版

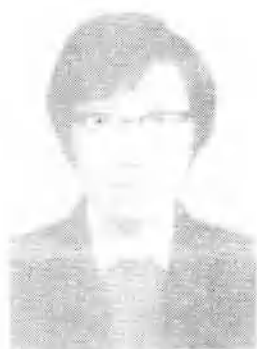
核科学技术情报研究所印刷

开本 787×1092mm 1/16 印张 1/2 字数 13 千字

1999 年 8 月北京第一版 1999 年 8 月北京第一次印刷

印数: 1—200

定价: 5.00 元



王彩莲：浙江省农科院原子能利用研究所副研究员。1964年毕业于浙江农业大学农业物理系农业生物物理专业。

Wang Cailian: Associate Professor of Institute for Application of Atomic Energy, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences. Graduated from Department of Agricultural Physics of Zhejiang University in 1964, majoring in agricultural biophysics.

CNIC-01384
CSNAS-0130

离子注入在甜菊育种中的应用*

王彩莲 陈秋方 金 卫

(浙江省农业科学院原子能利用研究所, 杭州, 310021)

陆 挺

(北京师范大学低能核物理研究所, 北京, 100875)

舒世珍

(中国农业科学院作物品种资源研究所, 北京, 100081)

摘 要

用 60~100 keV 氮离子和 75 keV 碳离子的不同剂量注入 4 个甜菊品种的干种子, 研究其对产量和糖甙含量的影响。结果表明, 不同能量和剂量的氮离子注入济宁种后, 使甜菊的糖甙产量和成分发生变化, 以 75 keV, 5×10^{14} N⁺/cm² 的氮离子注入最佳, 其总甙和优质糖甙 (R-A) 分别比对照提高 4.74% 和 14.08%。碳离子对甜菊糖甙成分的影响大于氮离子。离子注入杂种一代丰₁ × 日原和日原 × 丰₂ 的效应大于纯品种济宁和丰₂。获得糖甙成分和产量明显改善的有 7 个突变系。初步证实离子注入在甜菊育种中具有较好的应用价值。

* 国家自然科学基金资助项目。

Application of Ion Implantation in *Stevia* Breeding*

(In Chinese)

WANG Cailian CHEN Qiufang JIN Wei

(Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, 310021)

LU Ting

(Beijing Normal University, Beijing, 100875)

SHU Shizhen

(Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, 100081)

ABSTRACT

Dry seed of *stevia* were implanted with 60~100 keV nitrogen ion and 75 keV carbon ion of various doses, and the effects of the composition and yield of *stevioside* were studied. The results showed that ion beam could induce variation in total *stevioside* yield and the composition of the plant. The best treatment was 75 keV nitrogen ion with $5 \times 10^{14} \text{ N}^+/\text{cm}^2$, the *stevioside* yield and Rebaudioside A (R-A) content were increased by 4.74% and 14.08% respectively. The effects induced by implantation of carbon ion were higher than those induced by implantation of nitrogen ion. Effects of $\text{Feng}_1 \times \text{Ri Yuan}$ and $\text{Ri Yuan} \times \text{Feng}_2$ are higher than those of Ji Ning and Feng_2 . Seven mutation lines were selected from the mutation progenies. The *stevioside* composition of these lines were previously improved. The results suggest a potential application of ion implantation in *stevia* breeding.

* The Subject supported by National Natural Science Fundation of China.

引言

低能离子与生物物质相互作用既有能量沉积、动量传递,又有粒子注入,电荷交换过程,显示出一些不同于传统的电磁辐射所诱发的生物效应。

甜菊为高甜度、低热值的新兴糖料作物。中国引种成功以来,在全国广泛种植,已成为世界主要甜菊糖生产国。但近几年品种退化,甜菊糖品质下降,影响市场开发和出口创汇。因此改良现有品种已成为当务之急,是促进甜菊生产发展的关键。

甜菊的叶中含糖甙。糖甙由 8 种成分组成,其中甜菊甙 (Stevioside, 简称 St) 约占总甙 60% 以上,甜度为蔗糖 150~300 倍,但后味欠佳。莱包迪甙 A (Rebaudioside A, 简称 R-A) 约占总甙 10%~30%,甜度为蔗糖的 450 倍,味似蔗糖。莱包迪甙 C (Rebaudioside C, 简称 R-C) 约占总甙 1%~2%,该成分有调节味质作用。舒世珍等发现离子注入可引起甜菊当代产量和品质的明显改进^[1]。为了改良甜菊品质,近年来,我们用氮、碳离子的不同能量、剂量组合注入 4 个甜菊品种的干种子,对其诱发优质突变的效果进行了探索研究,取得了良好的结果。

1 材料与方法

1.1 供试材料

甜菊栽培品种济宁、无性系丰₂、杂交一代丰₁×日原和日原×丰₂的干种子。

1.2 离子注入

离子注入能量为 60, 75 和 100 keV, 剂量设 0, 10^{14} , 5×10^{14} 和 10^{15} ions/cm², 注入离子种类为氮和碳离子。

1.3 干叶产量和糖甙成分分析

将培育好的幼苗移栽到大田,每小区为 6.6 m²,种植 100 株,三次重复。现蕾时按小区收取叶片进行测产,并分区取样,按液相色谱法测定糖甙成分。并选取品尝口味较好的单株进行繁殖,现蕾时收取叶片,按上述方法测定糖甙成分。

1.4 植株性状考查

现蕾时每株系随机取 5 株,考查株高、节数、分枝、叶数、叶宽、叶长和叶重等植物学性状。

2 结果与分析

2.1 不同能量、剂量离子注入对产量和质量的影响

2.1.1 离子注入对干叶成分的影响

离子注入使甜菊的干叶成分发生变化,甜菊糖的异味成分 St 甙下降,优质糖甙莱包迪 A 比例提高,因而使 A/S 值升高(见表 1)。不同能量和剂量的氮、碳离子处理结果表明,所有处理的 St 甙均比对照降低,除氮离子束处理的 60 keV 的 5×10^{14} N⁺/cm², 75 keV 的 10^{15} N⁺/cm² 和 75 keV 碳离子束处理的 10^{15} C⁺/cm² 外,其余处理的 A/S 值均较对照有不同程度的提高,以 75 keV, 5×10^{14} C⁺/cm² 处理最佳,其 R-A, A/S 分别比对

照提高 7.45% 和 17.31%，而 St 甙比对照下降 8.38%。

表 1 离子注入对甜菊干叶成分的影响

离子种类	能量 keV	剂量 ions/cm ²	总甙 %	St 甙 %	R-C 甙 %	R-A 甙 %	A/S
CK	0	0	12.27	6.68	1.40	3.49	0.52
		10 ¹⁴	9.64	5.38	0.87	3.21	0.60
		5 × 10 ¹⁴	8.17	4.86	0.67	2.47	0.51
		10 ¹⁵	7.52	4.27	0.55	2.55	0.60
N ⁺	75	10 ¹⁴	9.02	5.05	0.54	3.07	0.61
		5 × 10 ¹⁴	11.12	5.96	1.16	3.45	0.56
		10 ¹⁵	9.97	5.68	1.03	2.70	0.48
	100	10 ¹⁴	7.48	4.15	0.65	2.51	0.60
		5 × 10 ¹⁴	8.49	4.68	0.86	2.48	0.53
		10 ¹⁵	7.98	4.57	0.68	2.53	0.55
C ⁺	75	10 ¹⁴	10.61	6.06	0.93	3.42	0.56
		5 × 10 ¹⁴	11.60	6.12	1.05	3.75	0.61
		10 ¹⁵	10.05	6.37	0.70	2.70	0.42

2.1.2 离子注入对干叶产量和质量的影响

不同能量、剂量的离子束处理甜菊种子后，对其干叶产量、总糖甙产量和各种成分糖甙产量均有不同程度的影响（见表 2），以 75 keV，5 × 10¹⁴ C⁺/cm² 的氮离子处理最佳，每公顷干叶产量、总甙、St 甙和 R-A 甙分别比对照提高 15.30%，4.74%，3.08% 和 14.08%，而 R-C 甙比对照降低 4.52%。由此可见，选择适当的离子种类、适宜的注入方法，可以提高干叶产量、改良品质，尤其是 R-A 甙产量的提高，对品质育种十分有利。

表 2 离子注入对甜菊干叶产量和质量的影响

离子种类	能量 keV	剂量 ions/cm ²	干叶产量 kg/hm ²	总甙产量 kg/hm ²	St 甙产量 kg/hm ²	R-A 甙产量 kg/hm ²	R-C 甙产量 kg/hm ²
CK	0	0	1658.4	191.90	110.70	57.90	23.25
		10 ¹⁴	1884.8	178.35	101.40	60.56	16.40
		5 × 10 ¹⁴	1745.0	139.61	84.75	43.05	11.70
		10 ¹⁵	1849.2	136.31	79.05	47.21	10.20
N ⁺	75	10 ¹⁴	1484.7	128.70	75.00	45.56	8.00
		5 × 10 ¹⁴	1913.7	201.00	114.11	66.05	22.20
		10 ¹⁵	1574.0	148.20	89.40	42.50	16.16
	100	10 ¹⁴	1425.8	104.21	59.10	35.75	9.26
		5 × 10 ¹⁴	1542.9	123.75	72.15	38.25	13.20
		10 ¹⁵	1863.8	144.95	85.20	47.21	12.71
C ⁺	75	10 ¹⁴	1739.9	181.20	105.45	59.51	16.20
		5 × 10 ¹⁴	1725.5	188.40	105.60	64.76	18.11
		10 ¹⁵	1752.9	171.30	111.60	47.25	12.30

2.1.3 离子注入能量对干叶和糖甙产量的影响

不同能量的氮和碳离子注入对于干叶和糖甙产量的影响列于表 3。由表 3 可见, 各种能量离子束注入对干叶产量的作用大小依次为: $60 \text{ keV N}^+ > 75 \text{ keV C}^+ > 75 \text{ keV N}^+ > 100 \text{ keV N}^+$, 对各种糖甙产量的作用均为: $75 \text{ keV C}^+ > 75 \text{ keV N}^+ > 60 \text{ keV N}^+ > 100 \text{ keV N}^+$ 。

表 3 离子注入能量对干叶和糖甙产量的影响

离子种类	能量 keV	干叶产量 kg/hm ²	总甙产量 kg/hm ²	St 甙产量 kg/hm ²	R-A 甙产量 kg/hm ²	R-C 甙产量 kg/hm ²
N ⁺	0	1658.4	191.90	110.70	57.90	23.25
	60	1826.3	151.42	88.40	50.27	12.77
	75	1657.5	159.30	92.84	51.37	15.45
	100	1610.8	124.30	72.15	40.40	11.72
C ⁺	75	1739.4	180.30	107.55	57.17	15.54

2.1.4 离子注入剂量对干叶和糖甙产量的影响

不同剂量离子束注入对于干叶和糖甙产量的影响列于表 4。从表 4 可看出, 不同剂量离子注入对干叶产量和糖甙产量有较大的影响。对于干叶产量的作用依次为: $10^{15} \text{ ions/cm}^2 > 5 \times 10^{14} \text{ ions/cm}^2 > 10^{14} \text{ ions/cm}^2$, 对糖甙产量的作用多为: $5 \times 10^{14} \text{ ions/cm}^2 > 10^{15} \text{ ions/cm}^2 > 10^{14} \text{ ions/cm}^2$ 。

从试验还可看出, 氮离子注入有利于促进干叶产量提高, 碳离子注入促进糖甙含量提高。

表 4 离子注入剂量对干叶和糖甙产量的影响

剂量 ions/cm ²	干叶产量 kg/hm ²	总甙产量 kg/hm ²	St 甙产量 kg/hm ²	R-A 甙产量 kg/hm ²	R-C 甙产量 kg/hm ²
0	1658.4	191.90	110.70	57.90	23.25
10^{14}	1633.80	148.12	85.24	50.35	12.47
5×10^{14}	1731.78	163.19	94.15	53.03	16.30
10^{15}	1759.98	150.19	91.31	46.04	12.84

2.2 氮、碳离子注入不同品种对糖甙成分和干叶产量的影响

2.2.1 离子注入不同品种对干叶成分的影响

以 75 keV , $10^{14} \text{ ions/cm}^2$ 的氮和碳离子注入 4 个供试品种对干叶成分的影响列于表 5。由表可见, 离子注入杂种一代丰₁ × 日原和日原 × 丰₂ 对糖甙成分的改变优于济宁和丰₂。以碳离子处理丰₁ × 日原的效果较为明显, 其 R-A 甙和 A/S 均较对照提高, 而 St 甙较对照降低, 碳离子处理日原 × 丰₂ 的总甙和 R-A 甙均高于对照。

2.2.2 离子注入不同品种对干叶产量和质量的影响

以能量为 75 keV 、剂量为 $10^{14} \text{ ions/cm}^2$ 的氮和碳离子注入 4 个供试品种, 测定的干叶和糖甙产量结果列于表 6。由表中可见, 离子注入后, 除品种丰₂ 外, 其余 3 个品种的干叶产量均较对照有不同程度的提高, 且碳离子的作用大于氮离子。除日原 × 丰₂

外, 其它 3 个品种的总甙产量均低于对照, 且碳离子处理的总甙产量接近于对照。离子注入对 St 甙产量的影响与总甙产量变化规律相同, 表明离子注入降低 St 甙的含量, 从而影响总甙的含量。离子注入能提高 R-A 甙产量, 除品种丰₂ 外, 其它 3 个品种均是碳离子注入最高, 说明碳离子注入可以使优质糖甙 R-A 含量提高。就 R-C 甙来说, 4 个品种除济宁外, 其它 3 个品种均是离子注入组大于对照, 且碳离子作用大于氮离子。

表 5 离子注入不同品种对于叶成分的影响

品 种	离子种类	总甙/%	St 甙/%	R-C 甙/%	R-A 甙/%	A/S
济 宁	CK	12.27	6.68	1.40	3.49	0.52
	N ⁺	9.02	5.05	0.54	3.07	0.61
	C ⁺	10.61	6.06	0.93	3.42	0.56
丰 ₂	CK	11.95	5.50	1.05	5.11	0.93
	N ⁺	10.84	5.16	1.06	4.48	0.87
	C ⁺	10.22	4.52	0.97	4.66	1.03
丰 ₁ ×日原	CK	11.28	5.48	1.07	4.61	0.84
	N ⁺	10.84	5.16	1.06	4.48	0.87
	C ⁺	10.22	4.52	0.97	4.66	1.03
日原×丰 ₂	CK	10.05	4.57	0.93	4.47	0.98
	N ⁺	9.58	4.55	0.89	4.11	0.90
	C ⁺	11.63	5.17	1.08	4.66	0.90

表 6 氮、碳离子注入对于叶产量和质量的影响

品 种	离子种类	干叶产量	总甙产量	St 甙产量	R-A 甙产量	R-C 甙产量
		kg/hm ²	kg/hm ²	kg/hm ²	kg/hm ²	kg/hm ²
济 宁	CK	1667.3	192.90	111.45	58.20	23.40
	N ⁺	1684.2	145.95	85.05	51.75	9.15
	C ⁺	1826.6	190.20	110.70	62.55	17.10
丰 ₂	CK	1744.5	203.55	96.00	89.25	18.30
	N ⁺	929.0	101.25	51.75	40.35	9.30
	C ⁺	1645.1	203.25	95.55	88.95	18.75
丰 ₁ ×日原	CK	1566.2	174.75	85.80	72.30	16.80
	N ⁺	1610.7	172.80	83.10	72.15	17.10
	C ⁺	1598.9	162.30	72.30	74.55	15.60
日原×丰 ₂	CK	1465.2	146.10	67.05	65.55	13.65
	N ⁺	1474.2	135.00	64.33	58.20	12.60
	C ⁺	1788.7	207.15	93.15	83.85	19.50

由上述结果可以看出, 用离子注入甜菊种子, 使优质糖甙 (R-A) 含量提高, 异味甙 (St) 含量降低, 改变两者比例, 以调节甜味成分。以 75 keV, 10¹⁴ C⁺/cm² 处理丰₁×日原最优, (R-A)/St 比值高达 1.03, 比目前正常品种 0.23~0.30 高得多。如果总甙再提高, 将会从本质上改变甜菊品质。

4 个供试品种中, 以 75 keV, 10¹⁴ C⁺/cm² 的碳离子注入日原×丰₂ 表现最佳, 其干

叶产量、总甙、St 甙、R-A 甙和 R-C 甙产量分别比对照高 22.08%、41.79%、38.93%、27.92%和 42.86%，是个很有希望的育种材料。

2.3 优良突变系的糖甙成分分析和植株性状考查

2.3.1 突变株系糖甙成分分析

从田间筛选出一些优异突变株，经甜味成分分析，选出 7 个优良突变株系（见表 7）。这些株系的总甙含量为 12.04%~18.12%，优质糖甙莱包迪 A 的含量在 4.71%与 7.82%之间变化，R-A 含量高的株系达到 7.82%，6.07%，6.25%和 5.76%，这对改良品质十分有利。尤以株系 6 最佳，其 R-A 甙较原品种提高 166%，而异味成分 St 甙下降 67%，是个品质较优的突变株系。

表 7 突变株系糖甙成分分析

株 系	总甙/%	St 甙/%	R-A 甙/%	R-C 甙/%	A/S
1	15.37	6.95	5.76	2.66	0.83
CK	12.27	6.68	3.49	1.40	0.52
与 CK 比 (±%)	+25	+4	+65	+9	+60
2	17.98	9.99	5.08	2.91	0.51
CK	11.95	5.50	5.11	1.05	0.93
与 CK 比 (±%)	+50	+82	-1	+177	-45
3	16.30	6.29	7.82	21.90	1.25
CK	11.95	5.50	5.11	1.05	0.93
与 CK 比 (±%)	+36	+14	+53	+10	+34
4	12.96	5.62	5.53	1.81	0.98
CK	9.58	4.55	4.41	0.89	0.90
与 CK 比 (±%)	+35	+24	+25	+103	+9
5	12.62	6.23	4.71	1.68	0.70
CK	11.63	5.17	4.66	1.08	0.90
与 CK 比 (±%)	+9	+21	+1	+56	-18
6	12.04	3.10	6.07	2.87	1.95
CK	11.63	5.17	4.66	1.08	0.90
与 CK 比 (±%)	+4	-67	+30	+166	+47
7	18.12	8.56	6.25	3.31	0.74
CK	10.05	4.57	4.47	0.93	0.98
与 CK 比 (±%)	+80	+87	+40	+256	-24

2.3.2 突变株系植株性状考查

对选出的优良突变株系进行繁殖，从植株性状考查结果表明，所有突变株系的株高均较对照略有下降，单株节数、分枝数、总叶数、叶面积、鲜叶重和干叶重等其它性状均较对照有不同程度的提高（见表 8）。在单株节数和分枝数方面，以株系 6 提高的比例最多，分别比对照提高 9%和 13%。总叶数、叶面积、鲜叶重和干叶重分别比对照增加 15%，25%，23%和 23%。

表 8 突变株系植株性状考查

株系	株高 cm	节数 个	分枝 个	总叶数 片/株	叶面积 cm ² /株	鲜叶重 g/株	干叶重 g/株
1	75.40	24.80	5.8	227	3413.09	35.40	8.50
CK	77.40	23.60	5.6	201	2744.11	33.40	8.02
与 CK 比 (±%)	-3	+5	+4	+13	+24	+6	+6
2	69.80	24.40	6.0	271	1717.38	34.80	7.65
CK	71.60	23.00	5.6	236	1373.29	28.20	6.22
与 CK 比 (±%)	-3	+6	+7	+15	+25	+23	+23
3	68.80	24.40	6.2	269	1693.38	33.40	7.45
CK	71.60	23.00	5.6	236	1373.29	28.20	6.22
与 CK 比 (±%)	-4	+6	+11	+14	+23	+18	+20
4	76.20	25.40	7.2	260	2036.66	27.60	6.08
CK	78.00	24.40	6.6	242	1764.66	25.60	5.60
与 CK 比 (±%)	-2	+4	+9	+7	+15	+8	+9
5	82.00	27.20	7.0	360	3025.79	38.40	8.42
CK	84.00	26.00	6.4	315	2457.89	36.40	7.98
与 CK 比 (±%)	-2	+5	+9	+14	+23	+5	+6
6	83.00	28.40	7.2	356	2989.50	39.20	8.60
CK	84.00	26.00	6.4	315	2457.89	36.40	7.98
与 CK 比 (±%)	-1	+9	+13	+13	+22	+8	+8
7	79.00	26.60	6.2	276	2289.51	28.40	7.04
CK	81.20	24.60	5.8	248	1893.54	25.60	6.42
与 CK 比 (±%)	-3	+8	+7	+11	+21	+11	+10

3 讨 论

离子注入甜菊后, 由于能量、质量和电荷共同作用于甜菊种子, 使之产生变异。陆挺等^[2, 3]报道, 低能离子在植物种子中的射程虽然小于 $1\ \mu\text{m}$, 但离子注入对植物种子结构的影响深度可达 $200\ \mu\text{m}$, 而且在植物种子的生物结构中充满了孔径为 $0.48\ \text{nm}$ 的孔洞, 这些孔洞的体积之和占生物体总体积的 15%, 甜菊的种子极小 (长约 $3\sim 4\ \text{mm}$, 宽 $0.5\sim 0.8\ \text{mm}$), 种皮薄, 便于离子穿透, 这为低能离子注入甜菊诱变效应提供了依据。我们的研究表明^[4, 5], 离子注入甜菊能诱发 M_1 根尖细胞染色体结构变异, 并能诱发较高频率的有益突变, 碳离子诱发的细胞染色体畸变率和 M_2 有益性状突变频率均高于氮离子, 离子注入杂种的诱变效应大于一般品种。本试验结果显示, 适宜能量和剂量的离子注入能使决定甜味的优质糖甙 R-A 成分提高, 异味甙 (St) 含量降低, 以改良甜菊品质。试验还发现, 碳离子对甜菊品质的改良大于氮离子, 离子注入杂种的效果优于一般品种。选出了 7 个优良突变系, 这表明离子注入在改良甜菊品质, 培育优质新品种是可行的。

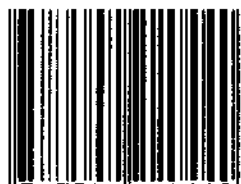
参 考 文 献

- 1 舒世珍等. 安徽农业大学学报, 1994, 21 (3): 299~302
- 2 陆挺等. 北京师范大学学报 (自然科学版), 1993, 29 (2): 204~206
- 3 LU Ting, et al. Materials Science Forum, 1995, 175~178: 447~448
- 4 慎攻等. 核农学报, 1997, 11 (3): 141~144
- 5 王彩莲等. 核农学报, 1998, 12 (6): 347~352

CHINA NUCLEAR SCIENCE & TECHNOLOGY REPORT

This report is subject to copyright. All rights are reserved. Submission of a report for publication implies the transfer of the exclusive publication right from the author(s) to the publisher. No part of this publication, except abstract, may be reproduced, stored in data banks or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior written permission of the publisher, China Nuclear Information Centre, and/or Atomic Energy Press. Violations fall under the prosecution act of the Copyright Law of China. The China Nuclear Information Centre and Atomic Energy Press do not accept any responsibility for loss or damage arising from the use of information contained in any of its reports or in any communication about its test or investigations.

ISBN 7-5022-2044-5



9 787502 220440 >