

小油桐种子的 ^{60}Co - γ 射线辐射敏感性及其半致死剂量的研究

王兆玉^{1,3}, 林敬明⁴, 罗莉¹, 徐增富^{1,2} (1 中山大学有害生物控制与资源利用国家重点实验室, 基因工程教育部重点实验室, 广东 广州 510275; 2 中国科学院西双版纳热带植物园, 云南 昆明 650223; 3 广东药学院生命科学与生物制药学院, 广东 广州 510006; 4 南方医科大学珠江医院药剂科, 广东 广州 510282)

摘要:目的 研究 3 个不同产地小油桐种子对 ^{60}Co - γ 射线辐射的敏感性, 确定其辐射处理的半致死剂量。方法 以种子 50%发芽率为基准, 通过直线回归方程计算 3 个不同种源的小油桐种子 ^{60}Co - γ 射线辐射的半致死剂量。结果和结论 3 个不同种源的小油桐种子的辐射半致死剂量分别为 178 Gy(广东)、132 Gy(海南)、198 Gy(印度)。 ^{60}Co - γ 射线辐射可引起幼苗某些表型发生改变, 随着辐射剂量的增加, 小油桐叶片形状发生多种变异。研究结果可作为重要药用及能源植物小油桐辐射诱变育种的参考依据。

关键词:小油桐; 辐射育种; 半致死剂量

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 1673-4254(2009)03-0506-03

Sensitivity of *Jatropha curcas* seeds to ^{60}Co - γ radiation and their medial lethal doses in radiation breeding

WANG Zhao-yu^{1,3}, LIN Jing-ming⁴, LUO Li¹, XU Zeng-Fu^{1,2}

¹Key Laboratory of Gene Engineering of the Ministry of Education, State Key Laboratory of Biocontrol, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China; ²Laboratory of Molecular Breeding of Energy Plants, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China; ³School of Life Science and Biopharmacology, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; ⁴Department of Pharmaceutics, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, China

Abstract: **Objective** To study the sensitivity of *Jatropha curcas* seeds from three different locations to ^{60}Co - γ radiation and to determine the medial lethal doses (LD50) of ^{60}Co - γ radiation for these seeds. **Methods** Six different radiation doses (0, 100, 150, 200, 250 and 300 Gy) were used. Based on the germination rate 50%, LD50 doses of ^{60}Co - γ radiation for the seeds were calculated using linear regression equation. **Results** LD50 doses of ^{60}Co - γ radiation for these seeds were 178 Gy (seeds from Guangdong), 132 Gy (seeds from Hainan) and 198 Gy (seeds from India) respectively. Increasing radiation doses caused more significant changes in leaf shape of the M1 seedlings. **Conclusion** The results provides an important experimental basis for the radiation breeding of the important herbal and energy plant *J. curcas*.

Key words: *Jatropha curcas* L; radiation breeding; medial lethal dose

本研究用 ^{60}Co - γ 射线照射了 3 个不同地理种源的小油桐种子, 并初步观察辐射后种子发芽率的变化和苗期形态的改变, 以确定其辐射诱变的适宜剂量。研究结果可为小油桐的辐射育种工作提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

来自印度、广东和海南 3 个不同产地的小油桐成熟种子。

收稿日期: 2008-10-08

基金项目: 广东省自然科学基金博士启动项目(07300489); 中山大学重点后备项目基金(2007-33000-1131520); 广东东域林业发展有限公司企业委托研究项目(2007-33000-7101536)

作者简介: 王兆玉, 博士, E-mail: wangzhaoyu77@yahoo.com.cn

通讯作者: 徐增富, 男, 教授, 博士研究生导师, 电话: 020-84112516, E-mail: zengfu.xu@gmail.com

1.2 辐射处理

以湖南省原子能农业应用研究所的 ^{60}Co - γ 射线为辐射源, 采用快辐射的方法进行辐射处理。辐射剂量分别为 0(对照)、100、150、200、250、300 Gy。广东、海南、印度来源种子的样本数分别为 100、80、200 粒。辐射过的种子与未辐射的对照种子播于盛装营养土的花盆中, 于室温下保持湿润。

1.3 相对出苗率与辐射半致死量剂量的确定

连续 3 d 没有种子继续发芽时统计发芽率, 计算各辐射剂量下的相对发芽率。计算方法为:

$$\text{发芽率}(\%) = \frac{\text{发芽的种子数}}{\text{播种的种子数}} \times 100$$

$$\text{相对发芽率}(\%) = \frac{\text{实测发芽率}}{\text{对照组发芽率}} \times 100$$

对各种源的相对出苗率与辐射剂量的相关性进行分析, 并参照周小梅等^[1]的直线回归方程方法计算

出各种源种子的辐射半致死剂量,即:将辐射剂量 x 作为自变量,不同剂量下的相对出苗率 y 作为因变量,利用直线回归方程 $y=a+bx$ 和下列公式来计算各种源小油桐种子的半致死剂量。

$$b = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{N}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{N}}$$

$$a = \frac{\sum y - b \cdot \sum x}{N}$$

$$x = \frac{LD_{50} - a}{b}$$

式中, b 为回归系数; a 为常数; x 为半致死剂量。

1.4 辐射当代出苗率与辐射剂量相关性的确定

各种源小油桐种子当代出苗率与辐射剂量相关系数(r)的计算公式如下:

$$r = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{N}}{\sqrt{\left[\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{N} \right] \left[\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{N} \right]}}$$

式中 x 为辐射剂量, y 为不同剂量下的相对出苗率。

2 结果与分析

2.1 辐射剂量对小油桐相对发芽率的影响

利用 1.4 相关系数公式计算出的各种源小油桐的相关系数,供试 3 个种源的小油桐种子相对发芽率与所接受辐射剂量整体上呈负相关,发芽率随辐射剂量的增加而下降。当辐射剂量为 100 Gy 时,各种源的小油桐种子相对发芽率下降了 12.2%~40.3%,其中下降幅度最大的是海南种源,下降幅度最小的是广东种源。当辐射剂量为 150 Gy 时,各种源的小油桐种子相对发芽率下降了 39.8%~59.7%,其中下降幅度最大的是海南种源,下降幅度最小的是广东种源。当辐射剂量为 250 Gy 时,各种源的小油桐种子相对发芽率都急剧下降,说明 250 Gy 可能是辐射剂量影响相对发芽率的临界值。值得注意的是,当辐射剂量为 200 Gy 时,虽然各种源的小油桐种子相对发芽率下降了 30.6%~43.5%,但是与辐射剂量为 150 Gy 时的发芽率相比,3 个种源的发芽率反而都有不同程度的上升。低剂量 γ 射线辐射使处理后的种子发芽率升高的现象曾经在日日春^[2]、毛竹^[3]等种子的辐射诱变研究中报道过,这可能与辐射引起种子内部生物自由基

或有关酶的活性变化有关,从而提高了种子的新陈代谢水平,促进了种子的萌发^[4]。但在本研究中观察到的这种随辐射剂量增加发芽率先下降、然后又上升的现象还未见报道,其原因还有待进一步深入研究。

2.2 不同产地小油桐辐射半致死剂量的确定

通过回归方程计算 3 个不同种源的小油桐种子 γ 射线辐射的半致死剂量分别为 132 Gy (海南)、178 Gy (广东) 和 198 Gy (印度)。当剂量为 200 Gy 时,所有种源的小油桐相对发芽率均低于 50%; 当剂量为 300 Gy 时,各种源的相对发芽率均低于 15%。这些数据为选择适宜的辐射剂量开展这些种源的小油桐辐射育种工作提供了依据。

2.3 辐射剂量对小油桐植株生长的影响

^{60}Co - γ 射线辐射处理小油桐种子可导致当代新萌发幼苗的表型发生改变(图 1)。与对照植株相比,辐射处理后的许多植株真叶叶缘出现 1~5 个缺刻,辐射剂量越大,缺刻越明显,有些个体叶片还出现皱缩。而且随着辐射剂量的增加,小油桐叶片的长度与宽度总体呈减小趋势。

3 讨论

小油桐 (*Jatropha curcas* L.) 为大戟科 (*Euphorbiaceae*) 多年生落叶灌木或小乔木,其种子含油率高达 38%~41%^[5]。小油桐全株还可入药在民间广为应用^[6]。

利用辐射诱发植物的基因突变或染色体结构变异、倍性变异,可使突变频率提高上千倍,从而使人们定向地创造和筛选变异成为可能^[3]。对于辐射育种而言,适宜辐射剂量的确定十分重要,即:应选择适当的辐射剂量,使 M1 代有足够的植株成活率的同时,保证 M2 代产生较多的突变类型、有较高的突变频率和足够的可供选择的群体。在诱变育种的实践中,一般只观察 M1 代的生理损伤程度,据此对种子的诱变剂量是否合适作出评估,并用来预测突变发生频率的大小^[4]。一般采用辐射后种子发芽率为 50% 时的剂量,即半致死剂量,作为适宜的辐射剂量^[5]。但目前半致死剂量的测定还没有一个统一的标准,可采用的指标包括种子发芽率、植株成活率、生长抑制程度和植株不育程度等。

本研究中,辐射后能够萌发的种子大部分能存活并继续生长,发芽率受辐射影响显著,所以选用种子发芽率为 50% 时的辐射剂量作为半致死剂量,即适宜的辐射剂量。此前杨清等^[7]也对小油桐辐射诱变育种做出了有益的尝试,研究了云南、四川、贵州、海南等不同地理种源的小油桐对 ^{60}Co - γ 射线照射的敏感性,但没有研究来自印度和广东的小油桐。在他们研

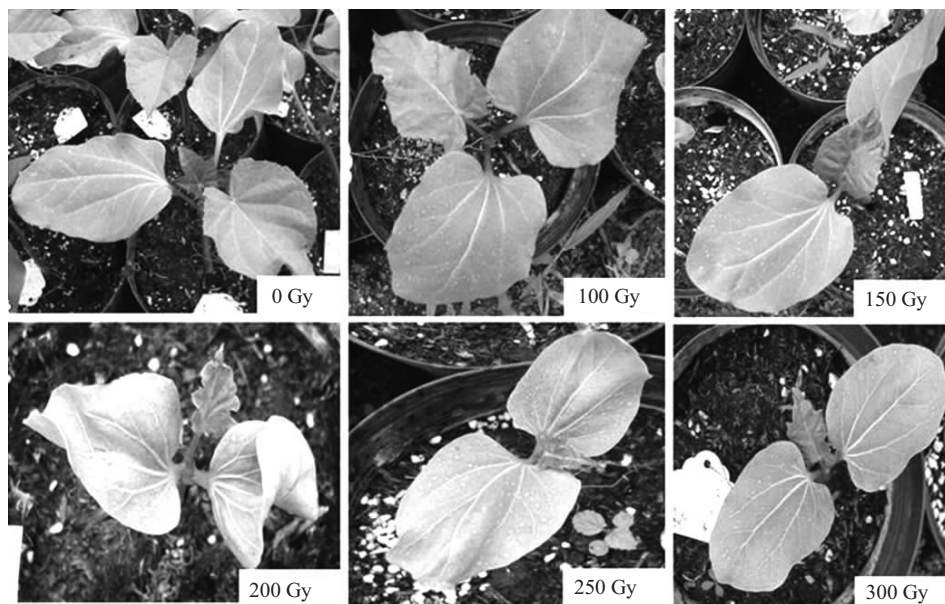


图 1 不同剂量 ^{60}Co - γ 射线辐射处理小油桐种子所萌发的幼苗

究的样本中,海南乐东小油桐的种子辐射半致死剂量为 127 Gy, 与本研究采集自海南的小油桐种子辐射半致死剂量(132 Gy)很相近,可能两个不同样本来源于同一个种源。

致谢: 湖南省原子能农业应用研究所的李文革先生在小油桐种子辐射处理工作中提供了大量帮助,在此深表感谢!

参考文献:

- [1] 周小梅, 赵运林, 蒋建雄, 等. 几种冷季型草坪草辐射敏感性及其辐射育种半致死剂量的确定[J]. 湘潭师范学院学报: 自然科学版, 2005, 27(1): 75-8.

- [2] 罗以贵, 强继业, 强影影. ^{60}Co - γ 射线辐照对日日春种子发芽率及幼苗生长的影响[J]. 种子, 2007, 26(2): 72-4.
- [3] 蔡春菊, 高 健, 牟少华. ^{60}Co - γ 辐射对毛竹种子活力及早期幼苗生长的影响[J]. 核农学报, 2007, 21(5): 436-40.
- [4] 马惠平, 赵永亮, 杨光宇. 诱变技术在作物育种中的应用[J]. 遗传, 1998, 20(4): 48-50.
- [5] Fairless D. The little shrub that could - maybe[J]. Nature, 2007, 449: 652-5.
- [6] 孔令义, 闵知大, 史剑侠, 等. 麻疯树根的化学成分研究[J]. 植物学报, 1996, 38(2): 161-6.
- [7] 杨 清, 许丛恒, 彭代平, 等. 不同地理种源小桐子种子对 ^{60}Co - γ 射线照射的敏感性研究[J]. 核农学报, 2007, 21(4): 353-6.

(上接 505 页)

3.2 并发症的防治体会

腹腔内的粗糙面、创面、血肿、缝线等均有可能发生肠粘连^[6]。本组 125 例中无一例出现肠梗阻及肠穿孔,从理论上讲是有可能出现粘连的,但并不会导致肠梗阻。由于网片已被完全腹膜化,周边与肠管并无接触,这种粘连出现的机会较少。在术后 4 h 进行灌肠,刺激肠管蠕动,术后第 1 天常规下床活动。因此,我们认为腹腔镜下行疝环口周边腹膜缝扎一周联合聚丙烯补片腹腔内覆盖内环口及其薄弱区后再用脐正中襻覆盖补片治疗成人疝的方法是安全、可行的,且操作简单、省时,有其优越性。

参考文献:

- [1] 陈 杰, 那冬鸣, 申英末, 等. 局部神经阻滞麻醉在腹股沟无张力疝修补术中的应用[J]. 中华普通外科杂志, 2005, 2: 107-9.
- [2] 中华医学会外科分会疝和腹壁外科学组. 成人腹股沟疝、股疝和腰部手术切口疝手术治疗方案[J]. 中华外科杂志, 2004, 42(14): 834.
- [3] 李健文, 郑民华, 毛志海, 等. 腹腔镜腹股沟疝修补术的术式选择[J]. 中华普通外科杂志, 2005, 12: 777-9.
- [4] Ger R, Monroe K, Duvivier R, et al. Management of indirect inguinal hernia by laparoscopic closure of the neck of the sac[J]. Am J Surg, 1990, 159, 370-3.
- [5] 计 勇, 甄作均, 许卓明. 腹腔镜技术在成人嵌顿性斜疝中的应用价值[J]. 中华消化内镜杂志, 2007, 2: 115-7.
- [6] Dirksen CD, Beets G, Go PM, et al. Bassini repair compared with laparoscopic repair for primary inguinal hernia: a randomized controlled trial[J]. Eur J Surg, 1998, 164: 439-40.