

^{60}Co - γ 射线辐照诱导穿心莲 M_1 代群体变异及聚类分析^Δ

苏雨苗^{1*}, 刘潇晗¹, 杜勤^{1#}, 黎志鹏¹, 石志棉¹, 李娜², 黄瑞华²(1. 广州中医药大学中药学院, 广州 510006; 2. 广东药科大学中药学院, 广州 510006)

中图分类号 R931.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)24-3399-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.24.15

摘要 目的: 研究 ^{60}Co - γ 射线辐照诱导对穿心莲植物学性状和品质性状的影响, 筛选适宜的诱变辐照剂量。方法: 采用不同辐照剂量(0、10、20、50、100、200、300 Gy)的 ^{60}Co - γ 射线辐照穿心莲种子, 对辐照后诱变所得 M_1 代穿心莲的种子发芽率、根长、出苗率、幼苗株高、叶片面积、鲜重、干重、叶片下表皮气孔数等植物学性状指标, 以及穿心莲内酯含量、脱水穿心莲内酯含量、叶绿素含量、总超氧化物歧化酶(T-SOD酶)和铜锌超氧化物歧化酶(CuZn-SOD酶)等品质性状指标进行测定, 计算变异系数(CV); 对出苗率进行线性回归分析, 计算半致死剂量; 对植物学性状和品质性状各指标与辐照剂量进行相关性分析; 以组间联接法结合平方欧式距离对各辐照剂量组 M_1 代穿心莲进行聚类分析。结果: 不同辐照剂量对穿心莲植物学性状和品质性状的影响不同; 按CV平均值大小对 M_1 代穿心莲植物学性状指标排序为叶片面积>鲜重>干重>株高>根长>气孔数>出苗率>发芽率, 对不同辐照剂量排序为50 Gy>200 Gy>100 Gy>20 Gy>10 Gy>300 Gy>0 Gy; 按CV平均值大小对 M_1 代穿心莲品质性状指标排序为脱水穿心莲内酯含量>穿心莲内酯含量>叶绿素含量>CuZn-SOD酶活性>T-SOD酶活性, 对不同辐照剂量排序为100 Gy>50 Gy>200 Gy>20 Gy>10 Gy>300 Gy>0 Gy; 半致死剂量为195.10 Gy。根据植物学性状, 可将7个剂量组 M_1 代穿心莲分为4类; 根据品质性状, 可将7个剂量组 M_1 代穿心莲分为3类。结论: 穿心莲的适宜辐照诱变剂量范围为50~200 Gy。

关键词 穿心莲; ^{60}Co - γ 射线; 辐照诱变育种; 变异指数; 聚类分析

^{60}Co - γ Radiation-induced Population Variation and Cluster Analysis of M_1 Generation of *Andrographis paniculata*

SU Yumiao¹, LIU Xiaohan¹, DU Qin¹, LI Zhipeng¹, SHI Zhimian¹, LI Na², HUANG Ruihua² (1. College of TCM, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510006, China; 2. College of TCM, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of ^{60}Co - γ radiation on the botanical traits and property of *Andrographis paniculata*, and to screen suitable irradiation dose. METHODS: The seeds of *A. paniculata* were irradiated by ^{60}Co - γ rays with different irradiation doses (0, 10, 20, 50, 100, 200, 300 Gy). The botanical traits indexes of *A. paniculata* as seed germination rate, root length, seedling rate, seedling height, leaf area, fresh weight, dry weight, stomata number of lower epidermis of leaf, and its property indexes as the contents of andrographolide, dehydrated andrographolide and chlorophyll, activity of T-SOD enzyme and CuZn-SOD enzyme, were determined after radiation. The coefficient of variation (CV) was calculated. The linear regression analysis was performed for seedling rate, and medial lethal dose was calculated. The correlation analysis was performed between the parameters of botanical trait and quality property with irradiation dose. Cluster analysis was conducted for M_1 generation of *A. paniculata* in different irradiation dose groups by connection method combined with squared euclidean distance. RESULTS: Different irradiation doses showed different effects on botanical traits and property of *A. paniculata*. According to the average value of CV, the index of botanical traits was ranked as leaf area > fresh weight > dry weight > plant height > root length > stomata number > seedling rate > germination rate; among different irradiation dose groups, the coefficient of variation was ranked as 50 Gy>200 Gy>100 Gy>20 Gy>10 Gy>300 Gy>0 Gy. According to the average value of CV, the index of property was ranked as dehydrated andrographolide content>andrographolide content>chlorophyll content>CuZn-SOD enzyme activity>T-SOD enzyme activity; among different irradiation dose groups, the coefficient of variation was ranked as 100 Gy>50 Gy>200 Gy>20 Gy>10 Gy>300 Gy>0 Gy. The medial lethal dose was 195.10 Gy. According to the botanical traits, M_1 generation of *A. paniculata* of 7 dose groups could be divided into 4 types. According to the property, M_1 generation of *A. paniculata* of 7 dose groups could be divided into 3 types. CONCLUSIONS: The suitable irradiation dose interval for irradiating *A. paniculata* is 50-200 Gy.

Δ 基金项目: 国家中医药管理局全国中药资源普查项目; 广东省科技计划项目(No.2015A030302070、2016A030303052)

* 硕士研究生。研究方向: 药用植物学生物技术。E-mail: Suyumiao@icloud.com

通信作者: 教授, 硕士生导师, 博士。研究方向: 药用植物学生物技术。E-mail: duqin@gzucm.edu.cn

穿心莲来源于爵床科植物穿心莲属植物穿心莲 [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees], 以地上部分入药^[1], 是中医临床常用药材。我国99%以上的穿心莲商品药材来源于栽培种, 只有极少数来自于野生种, 由于长期的人工栽培管理, 导致该植物目前存在种质单一、药用成分质量下降且质量不稳定的问题^[2-4]。辐照诱变育种是利用 γ 射线、X射线或者其他物理诱变因素对植物进行辐照处理, 在短时间内得到基因变异的新品种, 以便于人们筛选出具有优良性状的新品种的一种新兴育种技术^[5-7]。辐照诱变育种技术主要是通过辐照处理, 将辐照能量传递到生物体内, 从而改变其细胞分子结构, 继而引起其染色体突变和基因突变^[6]。经过染色体突变与基因突变后, 有很大几率可得到基因变异的新品种。在辐照诱变育种的研究领域, 我国已有不少成功案例, 如目前已研制成功的稻瘟病抗性得到明显提高的水稻新品种航育1号、江苏省里下河地区农业科学研究所连续定向选育出的扬稻6号中粳新品种等^[7]。利用辐照诱变育种技术培育的突变品种无论是产量还是品质都具有较大领先优势^[7], 有利于药用植物的优势栽培和进一步开发利用。基于此, 本研究采用不同剂量的⁶⁰Co- γ 射线对穿心莲种子进行辐照处理, 初步研究了⁶⁰Co- γ 射线辐照对该植物学性状和品质性状的影响, 对诱导后所得穿心莲变种的植物学性状和品质性状进行了变异统计及聚类分析, 以明确⁶⁰Co- γ 射线辐照在穿心莲诱变育种技术中的应用价值。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT型高效液相色谱仪(日本岛津公司); 755B型紫外分光光度计(上海精密科学仪器有限公司); QF-PRX-160型智能人工气候箱(上海乔枫实业有限公司); YMJ-A型活体叶面积测量仪(杭州大吉光电仪器有限公司); JJ300型电子天平(广州湘仪机电设备有限公司); EclipseE100型生物显微镜(日本Nikon公司); OK-Y104型植物营养测定仪(郑州欧科奇仪器制造有限公司); GXX-9023MBE型电热鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂); TG6-W型微量高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); KQ5200E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

穿心莲内酯对照品(批号: 20180526, 纯度: $\geq 98\%$)、脱水穿心莲内酯对照品(批号: 20180616, 纯度: $\geq 98\%$)均购自中国食品药品检定研究院; 植物超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(南京建成生物工程研究所, 批号: 20180523); 次氯酸钠(广州化学试剂厂, 批号: 20170912); 甲醇(色谱纯, 天津市致远化学试剂有限公

司, 批号: 20180510); 乙醇(分析纯, 广州化学试剂厂, 批号: 20180606); 中性氧化铝(国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20180326, 规格: 200~300目); 水为蒸馏水。

1.3 植物种子

穿心莲种子购买于广东省湛江市遂溪县, 经广州中医药大学中药学院杜勤教授鉴定为爵床科穿心莲属植物穿心莲 [*A. (Burm.f.) Nees*] 的干燥种子。

2 方法

2.1 穿心莲种子的辐照处理

将穿心莲种子交由广州华大生物科技有限公司进行辐照诱变。以⁶⁰Co- γ 射线为辐照源, 于2018年6月对穿心莲种子进行辐照处理。据前期预试验, 设置辐照剂量分别为0(对照组)、10、20、50、100、200、300 Gy组, 每组50 g种子, 剂量率均为10 Gy/min, 辐照时间分别为0、1、2、5、10、20、30 min。所获初代诱变穿心莲品种命名为M₁代。

2.2 M₁代穿心莲植物学性状的测定

2.2.1 种子发芽率和根长 采用文献方法^[8]测定发芽率和根长。取“2.1”项下各辐照剂量组M₁代穿心莲种子150粒, 分为3个亚组, 每个亚组50粒种子。种子均以70%乙醇浸泡处理4 min、1%次氯酸钠溶液消毒1 min、水冲洗3次后, 整齐排列于垫有双层湿润纱布的培养皿中, 置于温度28℃、湿度60%、12 h光照/12 h黑暗交替的人工气候箱中培养。每日中午12点和下午5点补充培养皿中的水分, 使纱布保持湿润, 7 d后测定种子发芽率和根长。发芽率=(第7天发芽种子数/供测种子数)×100%。

2.2.2 种子出苗率 采用文献方法^[8]测定出苗率。取“2.1”项下各辐照剂量组的M₁代穿心莲种子150粒, 分为3个亚组, 每个亚组50粒种子。种子均以水浸泡24 h后, 播种于50穴育苗盆中, 每穴播种1粒种子。将育苗盆移栽于大棚, 每日中午12点和下午5点补充盆中水分, 使培养土保持湿润。每日记录穿心莲种子发芽数, 30 d后计算出苗率。出苗率=(第30天出苗种子数/供测种子数)×100%。

2.2.3 幼苗株高 观察“2.2.2”项下穿心莲幼苗的生长情况, 各辐照剂量组随机选取20株M₁代穿心莲幼苗移栽于大棚内, 移栽2个月后用直尺从植株基部至顶端测量幼苗株高。每株测3次, 取平均值。

2.2.4 叶片面积 采用文献方法^[9]测定叶片面积。M₁代穿心莲幼苗移栽2个月, 各辐照剂量组随机选取50片叶子, 采用活体叶面积测量仪测定叶片面积。每片叶子测3次, 取平均值。

2.2.5 植株鲜重、干重 于始花期在各辐照剂量组随机选取50株M₁代穿心莲植株采收, 以水洗净, 用吸水纸吸

干水分后,测定穿心莲单株的鲜重;阴干 30 d 后,测定干重。每株测 3 次,取平均值。

2.2.6 叶片下表皮气孔数 随机选取“2.2.3”项下移栽 2 个月后各辐照剂量组 M_1 代穿心莲幼苗,选取 20 片叶子,撕取叶片下表皮,滴加 1~2 滴水,制成叶片下表皮的临时水装片,于 40 倍显微镜下观察。每片叶子选取 3 个视野,统计气孔数,取平均值。

2.3 M_1 代穿心莲品质性状的测定

2.3.1 穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯含量 (1)供试品溶液的制备。参考 2015 年版《中国药典》(一部)穿心莲项下的方法^[1],在始花期采集各辐照剂量组 M_1 代穿心莲植株地上部分,阴干 48 h,于 60 °C 烘箱烘干 10 h,粉碎,过四号筛。取粉末约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 40% 甲醇 25 mL,称定质量;浸泡 1 h 后,超声处理(功率:250 W,频率:33 kHz)30 min,放冷,再次称定质量,以 40% 甲醇补足减失的质量;摇匀后,滤过,精密量取续滤液 10 mL,上样于中性氧化铝柱(装填量:5 g,内径:1.5 cm),以甲醇 15 mL 洗脱;收集洗脱液,置于 50 mL 量瓶中,以甲醇定容,摇匀,经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过,即得。(2)混合对照品溶液的制备。取穿心莲内酯对照品、脱水穿心莲内酯对照品各适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含穿心莲内酯 0.114 1 mg、脱水穿心莲内酯 0.119 0 mg 的混合溶液,经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过,即得。(3)穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯含量测定。参考 2015 版《中国药典》(一部)穿心莲项目^[1]下的高效液相色谱法测定。色谱条件:色谱柱为 Hydrosphere- C_{18} (250 mm \times 4.6 mm,5 μ m);流动相为甲醇-水(52:48, V/V);柱温为 25 °C;检测波长为 225 nm(穿心莲内酯)、254 nm(脱水穿心莲内酯);流速为 0.8 mL/min;进样量为 5 μ L。

2.3.2 叶片叶绿素含量 随机选取“2.2.3”项下移栽 2 个

月后的各辐照剂量组 M_1 代穿心莲幼苗的第 3 对真叶,用植物营养测定仪测定其叶绿素含量。每片叶片分别测上、中、下 3 个部分,取平均值。

2.3.3 叶片 SOD 酶含量 取各辐照剂量组 M_1 代穿心莲叶片,参考植物 SOD 试剂盒说明书方法进行提取。以水为空白调零,采用紫外分光光度计于波长 550 nm 处测定总超氧化物歧化酶(T-SOD 酶)和铜锌超氧化物歧化酶(CuZn-SOD 酶)的活性。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件对实验数据进行统计分析。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计算变异系数(CV, $CV = s/\bar{x} \times 100\%$);对 M_1 代穿心莲种子的出苗率进行线性回归分析,计算半致死剂量;对 M_1 代穿心莲的发芽率、出苗率、根长、株高、叶片面积、鲜重、干重、气孔数、穿心莲内酯含量、脱水穿心莲内酯含量、叶绿素含量、T-SOD 酶活性、CuZn-SOD 酶活性等指标与辐照剂量进行相关性分析;以组间联接法结合平方欧式距离对各辐照剂量组 M_1 代穿心莲进行聚类分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 辐照诱变对穿心莲植物学性状的影响

3.1.1 M_1 代穿心莲植物学性状指标的变化 结果显示,不同辐照剂量对穿心莲植物学性状的影响不同,其中出苗率、根长、气孔数等指标随着辐照剂量的增大而呈现下降趋势;发芽率、株高、叶片面积、鲜重、干重等指标随着辐照剂量的增大而呈现先上升后下降的趋势。其中,100 Gy 剂量组 M_1 代穿心莲的株高、叶片面积、鲜重、干重等指标均最高,分别较对照组增加 24.37%、138.58%、43.61%、19.42% ($P < 0.05$);300 Gy 剂量组 M_1 代穿心莲的各个指标均最低,分别为对照组的 48.97%、65.85%、46.64%、31.59%、35.88% ($P < 0.05$),结果详见表 1。

表 1 M_1 代穿心莲植物学性状指标测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 1 Determination results of botanical trait index of M_1 generation of *A. paniculata* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

辐照剂量, Gy	发芽率, %	出苗率, %	根长, cm	株高, cm	叶片面积, cm ²	鲜重, g	干重, g	气孔数, 个
0(对照组)	46.12 \pm 2.09	55.33 \pm 3.15	3.12 \pm 0.58	31.47 \pm 4.60	4.51 \pm 0.68	8.92 \pm 1.54	3.45 \pm 0.98	52.40 \pm 5.47
10	50.35 \pm 2.05*	55.12 \pm 3.16	2.09 \pm 0.36*	30.13 \pm 7.08	4.12 \pm 1.05	7.92 \pm 2.68	2.65 \pm 0.83*	61.80 \pm 9.26*
20	53.08 \pm 2.64*	48.35 \pm 3.99*	3.14 \pm 0.63	27.98 \pm 8.87*	4.50 \pm 1.38	11.02 \pm 3.24*	3.82 \pm 1.03*	37.80 \pm 3.49*
50	43.16 \pm 3.82*	46.00 \pm 5.45*	2.27 \pm 0.52*	27.33 \pm 10.49*	6.45 \pm 2.56*	11.15 \pm 3.98*	3.89 \pm 1.18*	33.40 \pm 3.43*
100	52.26 \pm 5.52*	49.33 \pm 5.43*	2.32 \pm 0.54*	39.14 \pm 9.52*	10.76 \pm 4.01*	12.81 \pm 3.64*	4.12 \pm 1.32*	26.80 \pm 1.30*
200	50.33 \pm 3.12*	18.00 \pm 2.71*	1.95 \pm 0.55*	29.96 \pm 7.29	6.37 \pm 2.42*	8.35 \pm 2.74	2.60 \pm 0.88*	21.60 \pm 1.82*
300	38.06 \pm 2.86*	16.54 \pm 1.12*	1.13 \pm 0.18*	15.41 \pm 5.17*	2.97 \pm 0.69*	4.16 \pm 1.28*	1.09 \pm 0.28*	18.80 \pm 1.92*

注:与对照组比较, * $P < 0.05$

Note: vs. control group, * $P < 0.05$

3.1.2 M_1 代穿心莲植物学性状与辐照剂量的相关性 相关性分析结果显示, M_1 代穿心莲的发芽率、株高、叶片面积、鲜重、干重等指标与辐照剂量无显著相关性 ($P > 0.05$), 出苗率、根长、气孔数均与辐照剂量呈显著负相关性 ($r < 0, P < 0.05$), 详见表 2。对出苗率进行回归分析,

得线性回归方程 $y = 54.784 - 0.139x$ (y 表示出苗率, x 表示辐照剂量), 求得半致死剂量为 195.10 Gy。

3.2 辐照诱变对穿心莲品质性状的影響

3.2.1 M_1 代穿心莲品质性状指标的变化 结果显示, 不同辐照剂量对穿心莲品质性状的影响不同, 其中穿心莲

表2 M₁代穿心莲植物学性状与辐照剂量的相关性分析结果

Tab 2 Correlation analysis results between botanical traits index and irradiation dose of M₁ generation of *A. paniculata*

自变量	项目	因变量							
		发芽率	出苗率	根长	株高	叶片面积	鲜重	干重	气孔数
辐照剂量	相关系数(r)	-0.528	-0.943	-0.841	-0.586	-0.092	-0.621	-0.676	-0.815
	P	0.223	0.001	0.018	0.167	0.845	0.137	0.095	0.025

内酯含量、脱水穿心莲内酯含量、T-SOD酶活性、CuZn-SOD酶活性随着辐照剂量的增大而呈现先升高后降低的趋势。其中,50 Gy剂量组M₁代穿心莲地上部分的穿心莲内酯含量和脱水穿心莲内酯含量最高,分别较对照组增加了100.27%、114.06%($P < 0.05$);100 Gy剂量组M₁代穿心莲的叶绿素含量、T-SOD酶活性和CuZn-SOD酶活性最高,分别较对照组增加了5.31%、1.65%、6.75%($P < 0.05$),结果详见表3。

表3 M₁代穿心莲品质性状指标测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 3 Determination results of property index of M₁ generation of *A. paniculata* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

辐照剂量, Gy	穿心莲内酯含量, mg/g	脱水穿心莲内酯含量, mg/g	叶绿素含量, spad	T-SOD酶活性, U/g	CuZn-SOD酶活性, U/g
0(对照组)	0.74±0.12	0.06±0.01	18.64±0.56	5 871.45±65.88	3 612.68±39.45
10	0.62±0.08	0.05±0.01	16.77±0.97*	5 856.36±115.60	3 608.45±82.73
20	1.01±0.11*	0.09±0.02*	17.55±1.50*	5 882.46±78.74	3 610.28±72.36
50	1.47±0.25*	0.14±0.03*	17.87±2.34*	5 926.28±152.66*	3 816.22±112.33*
100	1.12±0.26*	0.11±0.03*	19.63±1.57*	5 968.25±126.70*	3 856.52±124.88*
200	0.88±0.15*	0.07±0.01	18.44±2.44	5 641.87±48.66*	3 463.78±100.73*
300	0.92±0.13*	0.06±0.01	17.59±1.23*	5 526.56±100.26*	3 357.53±96.26*

注:与对照组比较, * $P < 0.05$

Note: vs. control group, * $P < 0.05$

3.2.2 M₁代穿心莲品质性状与辐照剂量的相关性 相关性分析结果显示, M₁代穿心莲的穿心莲内酯含量、脱水穿心莲内酯含量、叶绿素含量、CuZn-SOD酶活性等指标与辐照剂量无显著相关性($P > 0.05$), T-SOD酶活性与辐照剂量呈显著负相关性($r < 0, P < 0.05$), 结果详见表4。

表4 M₁代穿心莲品质性状与辐照剂量的相关性分析结果

Tab 4 Correlation analysis results between property index and irradiation dose of M₁ generation of *A. paniculata*

自变量	项目	因变量				
		穿心莲内酯含量	脱水穿心莲内酯含量	叶绿素含量	T-SOD酶活性	CuZn-SOD酶活性
辐照剂量	相关系数(r)	0.035	-0.478	0.084	-0.864	-0.629
	P	0.940	0.278	0.858	0.012	0.130

3.3 M₁代穿心莲的变异情况

3.3.1 植物学性状的变异情况 各辐照剂量组M₁代穿

心莲的发芽率、出苗率、根长、株高、叶片面积、鲜重、干重、气孔数的CV值分别为4.07%~10.56%、5.69%~15.06%、10.43%~28.21%、14.62%~38.38%、15.08%~39.69%、17.26%~35.70%、16.81%~35.70%、4.85%~14.98%。按CV平均值大小对各植物学性状指标排序为:叶片面积>鲜重>干重>株高>根长>气孔数>出苗率>发芽率,这表明辐照诱变对穿心莲的叶片面积、鲜重、干重等性状变异的影响较大,对气孔数、发芽率等性状变异的影响较小。按CV平均值大小对辐照剂量排序为:50 Gy>200 Gy>100 Gy>20 Gy>10 Gy>300 Gy>0 Gy,这表明50、100、200 Gy剂量对穿心莲植物学性状变异的影响较大,10、20 Gy剂量影响较小,结果详见表5。

表5 不同辐照剂量对穿心莲植物学性状变异的影响
Tab 5 Effects of different irradiation dose on botanical traits variation of *A. paniculata*

辐照剂量, Gy	CV, %								
	发芽率	出苗率	根长	株高	叶片面积	鲜重	干重	气孔数	平均值
0(对照组)	4.53	5.69	10.43	14.62	15.08	17.26	16.81	12.35	12.10
10	4.07	5.73	17.22	23.50	25.49	33.84	31.32	14.98	19.52
20	4.97	8.25	20.06	31.70	30.67	29.40	26.96	9.23	20.16
50	8.85	11.85	22.91	38.38	39.69	35.70	35.70	10.27	25.42
100	10.56	11.01	23.28	24.32	37.27	28.42	32.04	4.85	21.47
200	6.20	15.06	28.21	24.33	37.99	32.81	33.85	4.85	22.91
300	7.51	6.77	15.93	33.55	23.23	30.77	25.69	10.21	19.21
平均值	6.67	9.19	19.72	27.20	29.92	29.74	28.91	9.53	

3.3.2 品质性状的变异情况 各辐照剂量组M₁代穿心莲的穿心莲内酯含量、脱水穿心莲内酯含量、叶绿素含量、T-SOD酶活性、CuZn-SOD酶活性的CV值分别为13.13%~23.21%、14.29%~27.27%、3.00%~13.23%、0.86%~2.58%、1.09%~3.24%。按CV平均值大小对各品质性状指标排序为:脱水穿心莲内酯含量>穿心莲内酯含量>叶绿素含量>CuZn-SOD酶活性>T-SOD酶活性,这表明辐照诱变对穿心莲的脱水穿心莲内酯含量和穿心莲内酯含量变异的影响较大,对叶绿素含量变异的影响中等,对CuZn-SOD酶活性、T-SOD酶活性变异的影响较小。按CV平均值大小对不同辐照剂量排序为:100 Gy>50 Gy>200 Gy>20 Gy>10 Gy>300 Gy>0 Gy,这表明50、100、200 Gy剂量对穿心莲品质性状变异的影响较大,10、20、300 Gy剂量影响较小,结果详见表6。

3.4 M₁代穿心莲的聚类分析结果

3.4.1 植物学性状的聚类 按植物学性状进行聚类分析的结果显示,当遗传距离为2.0时,可将7个辐照剂量组的M₁代穿心莲分为4类。其中,第1类为0、10 Gy辐照剂量组,第2类为20 Gy辐照剂量组,第3类为50、100 Gy辐照剂量组,第4类为200、300 Gy辐照剂量组;相邻辐照剂量组间的植物学性状相似度较高,不相邻辐照剂

量组间的性状相似度较低,结果详见图1。

表6 不同辐照剂量对穿心莲品质性状变异的影响

Tab 6 Effects of different irradiation dose on property variation of *A. paniculata*

辐照剂量, Gy	CV, %					平均值
	穿心莲内 酯含量	脱水穿心莲 内酯含量	叶绿素 含量	T-SOD 活性	CuZn-SOD 活性	
0(对照组)	16.22	16.67	3.00	1.12	1.09	7.62
10	12.90	20.00	5.78	1.97	2.29	8.59
20	10.89	22.22	8.55	1.34	2.00	9.00
50	17.01	21.43	13.14	2.58	2.94	11.42
100	23.21	27.27	7.80	2.12	3.24	12.73
200	17.05	14.29	13.23	0.86	2.91	9.67
300	13.13	16.67	6.99	1.81	2.87	8.29
平均值	15.77	19.79	8.36	1.69	2.48	

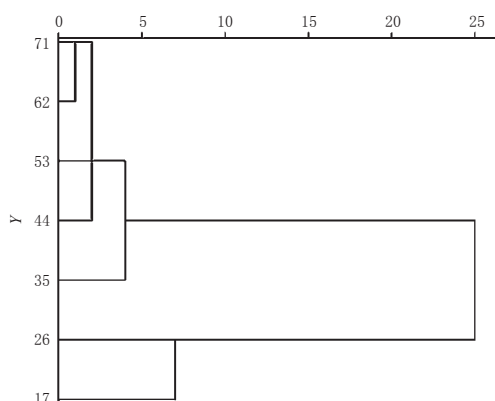


图1 M₁代穿心莲植物学性状聚类分析图

Fig 1 Cluster analysis diagram of the botanical traits of M₁ generation of *A. paniculata*

3.4.2 品质性状的聚类 按品质性状进行聚类分析的结果显示,当遗传距离为2.0时,可将7个辐照剂量组的M₁代穿心莲分为3类:第1类为0、10 Gy辐照剂量组,第2类为20、50 Gy辐照剂量组,第3类为100、200、300 Gy辐照剂量组;相邻辐照剂量组间的品质性状相似度较高,不相邻辐照剂量组间的性状相似度较低,结果详见图2。

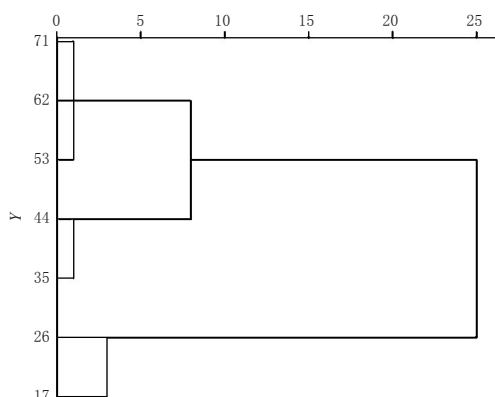


图2 M₁代穿心莲品质性状聚类分析图

Fig 2 Cluster analysis diagram of the property of M₁ generation of *A. paniculata*

4 讨论

在自然条件下,植物本身偶然发生变异的频率很低,单个植株发生变异的频率为 10^{-6} [10]。而辐照诱变的优势在于育种周期短,并且通常改变的是主基因的部分,一般只要经过2~4代育种,性状就能基本稳定,稳定性较高。但辐照诱变育种的局限性在于难以掌控诱导突变的方向,多个理想性状难以集中到同一个突变体上[11]。因此,研究者可通过筛选适宜的辐照剂量,扩大诱变的群体,增加可选择的机会来克服辐照诱变育种的局限性。

于虹漫等[12]认为,不同品种植物对辐照的敏感性不同,因而辐照育种成败的关键点在于选择适宜的辐照剂量,既要产生较多的变异,又能将植株损伤控制在一定范围内。本研究结果表明,在高辐照剂量的条件下,M₁代穿心莲出苗率低,但CV值大;在低辐照剂量的条件下,M₁代穿心莲出苗率高,但CV值小。这与屠礼刚等[8]、李树发等[13]的研究结果一致。本研究通过对⁶⁰Co-γ射线辐照诱导获得的M₁代穿心莲群体的植物学性状和品质性状进行变异分析后发现,10、20、300 Gy剂量组M₁代穿心莲群体变异幅度较小,50 Gy~200 Gy剂量组的变异幅度较大;当辐照剂量达到300 Gy时,穿心莲的各项植物学性状指标均出现大幅下降的趋势,说明随着辐照剂量的增大,⁶⁰Co-γ射线对植株的抑制加强,甚至造成高度损伤,使植物分生组织普遍受到严重破坏,生长缓慢, CV值下降,这与吴世长等[14]的研究结果一致。由于植物种子在半致死剂量处理的条件下,辐照的诱变率较高,同时具有一定的成活率,因此诱变育种中辐照剂量的选择通常采用半致死剂量作为评判指标[15]。对出苗率的回归分析结果显示,辐照半致死剂量为195.10 Gy。此外,本研究分别通过植物学性状和品质性状指标与辐照剂量进行相关性分析发现,M₁代穿心莲的发芽率、株高、叶片面积、鲜重、干重、穿心莲内酯含量、脱水穿心莲内酯含量、叶绿素含量、CuZn-SOD酶活性等指标与辐照剂量无显著相关性,而出苗率、根长、气孔数、T-SOD酶活性与辐照剂量呈显著负相关性。

聚类分析是诱变育种、遗传育种和种质资源分析研究的主要方法之一,可将相关种质资源按照不同特征组成不同类群,从而进行鉴别和研究,对挖掘和使用优良资源及特异性状具有重要意义,目前已在多种中药植物育种研究中得以应用[15]。本研究通过对⁶⁰Co-γ射线辐照诱导获得的M₁代穿心莲群体的植物学性状和品质性状进行聚类分析可知,相邻辐照剂量组间的植物学性状、品质性状相似度较高,不相邻辐照剂量组间的上述性状相似度较低,这与崔嘉欣等[16]对小麦辐照诱变育种研究的结果一致。

遥感技术在江西省石城县白莲种植面积调查中的应用^Δ

曾慧婷*,何小群,陈超,蔡妙婷,袁源见,陈星星,虞金宝,王小青*(江西省中医药研究院,南昌 330046)

中图分类号 F323.8;[R288.2] 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)24-3404-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.24.16

摘要 目的:为实现地区特色中药材产业发展与可持续利用提供参考。方法:以江西省石城县为例,对该县白莲种植基地进行实地调查,选取县域内少数具有代表性的白莲种植基地为样点,利用GPS进行定位,记录样点位置信息。利用计算机自动提取遥感影像,并采用人工目视解译法得到白莲种植区域图像,再根据实地考察验证,得到白莲种植面积,并对调查结果进行分析。结果:通过对石城县白莲种植面积遥感解译,得到2018年其种植总面积为42 597 951.505平方米(63 864.995亩),约占耕地面积的33%,相比2013年统计的白莲种植面积(44 936亩)增长了42.12%。石城县白莲种植分布情况为县城以北,主要集中在小松镇和丰山镇,南部则以大曲乡和屏山镇种植较多。结论:遥感技术具有数据获取速度快、信息量大、准确度高且时效性强等优势,极大地避免了工作复杂性、节省了大量人力、物力。该技术可为获得区域中药材如白莲的种植面积及分布信息,动态监测、科学预警中药材市场状态,引导中药材种植向规模化、规范化、集约化发展提供技术支持,从而有效防范中药材产业市场风险。

关键词 精准扶贫;中药材种植面积;遥感技术;石城县

Application of Remote Sensing Technology in Investigating Planting Area of *Paeoniaceae suffruticosa* in Shicheng County of Jiangxi Province

ZENG Huiting, HE Xiaoqun, CHEN Chao, CAI Miaoting, YUAN Yuanjian, CHEN Xingxing, YU Jinbao, WANG Xiaoqing (Jiangxi Provincial Institute of TCM, Nanchang 330046, China)

综上所述,⁶⁰Co-γ射线辐照诱导穿心莲变异的适宜辐照剂量范围为50~200 Gy。后续可进一步根据⁶⁰Co-γ射线对穿心莲种质的辐射效应,从中筛选出优良突变单株,并深入研究辐照对穿心莲生长发育、开花、结实的影响及作用机制,为扩大穿心莲种质资源的多态性、培育高产优质的穿心莲新品种提供理论依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:268.
- [2] 邵艳华,王建刚,吴向维,等.穿心莲种质资源调查研究[J].中国现代中药,2013,15(2):112-117.
- [3] 陈元生,罗战勇,郭尚志,等.穿心莲种质资源的评价与利用初报[J].广东农业科学,2005,4(1):5-7.
- [4] 张晓,唐力英,吴宏伟,等.穿心莲现代研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(18):222-234.
- [5] 陈淑英,王玉英,李叶芳,等.洋桔梗 *Ceremony Orcmge* 品种辐射诱变育种[J].江苏农业科学,2018,46(10):

134-137.

- [6] 刘建光,王永强,赵贵元,等.重离子辐照诱变育种应用及其生物学效应研究进展[J].作物杂志,2016(3):12-16.
- [7] 赵林妹,刘录祥.农作物辐射诱变育种研究进展[J].激光生物学报,2017,26(6):481-489.
- [8] 屠礼刚,丁建平,马忠社,等.荷花辐照育种技术初步研究[J].现代园艺,2016(7):21-22.
- [9] 陈伟祥,黄佳佳.两种植物叶面积测定方法的比较研究[J].吉林农业,2010,5(10):50-51.
- [10] 马爽,李文建,周利斌,等.观赏植物诱变育种的研究现状和展望[J].核农学报,2007(4):378-382.
- [11] 杨兆民,张璐.辐射诱变技术在农业育种中的应用与探析[J].基因组学与应用生物学,2011,30(1):87-91.
- [12] 于虹漫,陈宗瑜.花卉的辐射敏感性[J].内蒙古农业科技,2004(1):34,36.
- [13] 李树发,张颢,邱显钦,等.切花月季⁶⁰Co γ辐照诱变育种初报[J].核农学报,2011,25(4):713-718,833.
- [14] 吴世长,戴红燕,胡开伦,等.⁶⁰Co-γ射线不同剂量辐射黑稻M₁代性状研究[J].西昌学院学报(自然科学版),2007,21(1):13-17.
- [15] 郭爱桂,刘建秀,郭海林,等.辐射技术在国产狗牙根中的初步应用[J].草业科学,2000,17(1):45-47.
- [16] 崔嘉欣,张从宇.⁶⁰Co-γ射线诱导重庆面包麦M₂代群体变异及聚类分析[J].安徽农学通报,2014,20(23):15-18.

Δ 基金项目:国家发改委卫星应用及产业化项目(No.2013-2140);现代农业产业技术体系建设专项项目(No.CARS-21);江西省卫生计生委中医药科研课题(No.2017B071);中药原料质量监测体系建设项目(No.财社[2014]76号)

* 研究实习生。研究方向:中药资源循环利用。E-mail: zenght1991@163.com

通信作者:副研究员。研究方向:中药资源调查。E-mail: xiaoqingwang@163.com

(收稿日期:2019-06-20 修回日期:2019-10-30)

(编辑:段思怡)