

重离子辐照育种对西蓝花幼苗生长及生理特性的影响

王曼^{1,2} 刘霄² 杜艳^{2,3} 康桂森^{2,3} 丁佳宁^{2,3} 隆静^{2,3}

王圆梦² 杨明俊¹ 周利斌^{2,3}

¹(兰州理工大学 兰州 730000)

²(中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

³(中国科学院大学 北京 101408)

摘要 西蓝花(*Brassica oleracea var. italica*)是我国重要的蔬菜作物之一,其种子主要源于进口,亟需开发属于我国的创新型品种。为探究高能重离子束对西蓝花的当代生物学效应,本研究采用碳离子束辐照西蓝花种子,检测其幼苗期的生长指标、抗氧化酶活性、光合指标和叶绿素荧光等参数。结果表明:100~500 Gy的辐照对种子的萌发没有显著影响,600 Gy显著抑制其萌发。100~600 Gy辐照后根长、芽长、苗高、叶面积总体上随剂量增加而降低。碳离子束辐照西蓝花的半致死剂量(Median lethal dose, LD50)为415.89 Gy,使根长减半的剂量为495.12 Gy。辐照后幼苗的超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)和过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性均高于对照,过氧化氢酶(Catalase, CAT)的活性低于对照,400 Gy辐照后丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量显著升高。随吸收剂量的增加光合色素(叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素)呈现先升高再降低的趋势,最高值出现在300 Gy处。净光合作用、蒸腾速率和气孔导度均与吸收剂量负相关,辐照后非光合淬灭系数显著升高。结果表明,重离子束辐照抑制了西蓝花植株的生长,影响了抗氧化酶活性和光合作用。本研究为西蓝花的重离子束辐照诱变育种提供了基础数据。

关键词 西蓝花, 重离子束, 辐照, 诱变育种, 生理响应

中图分类号 Q691.5, S326

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2023-0079

引用该文:

王曼, 刘霄, 杜艳, 等. 重离子辐照育种对西蓝花幼苗生长及生理特性的影响[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2024, 42(1): 010402. DOI: 10.11889/j.1000-3436.2023-0079.

WANG Man, LIU Xiao, DU Yan, *et al.* Effects of heavy ion mutation induction breeding on growth and physiological characteristics of *broccoli*[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2024, 42(1): 010402. DOI: 10.11889/j.1000-3436.2023-0079.



基金资助: 广东省重点领域研发计划项目(2022B0202060006)、国家重点研发计划(2022YFD1200705)、核能开发科研项目“核辐射作物品种改良与害虫防控”与国家自然科学基金(11975285, 12135016)资助

第一作者: 王曼, 女, 1999年4月出生, 2021年于中原科技学院获得学士学位, 目前为兰州理工大学硕士研究生

通信作者: 杨明俊, 博士, 副教授, E-mail: yangmj@lut.cn; 周利斌, 博士, 研究员, E-mail: libinzhou@impcas.ac.cn

收稿日期: 初稿 2023-09-15; 修回 2023-11-17

Supported by the Key Research and Development Project of Guangdong Province (2022B0202060006), the National Key Research and Development Program (2022YFD1200705), the Crop Varietal Improvement and Insect Pests Control by Nuclear Radiation, and the National Natural Science Foundation of China (11975285, 12135016)

First author: WANG Man (female) was born in April 1999, received her bachelor's degree from Zhongyuan University of Science and Technology in 2021, and now she is a graduate student at Lanzhou University of Technology

Corresponding author: YANG Mingjun, doctoral degree, associate professor, E-mail: yangmj@lut.cn; ZHOU Libin, doctoral degree, professor, E-mail: libinzhou@impcas.ac.cn

Received 15 September 2023; accepted 17 November 2023

Effects of heavy ion mutation induction breeding on growth and physiological characteristics of *broccoli*

WANG Man^{1,2} LIU Xiao² DU Yan^{2,3} KANG Guisen^{2,3} DING Jianing^{2,3} LONG Jing^{2,3}

WANG Yuanmeng² YANG Mingjun¹ ZHOU Libin^{2,3}

¹(Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730000, China)

²(Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

³(University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China)

ABSTRACT *Brassica oleracea* is one of the important vegetable crops in China. Its seeds are primarily imported. Hence, developing innovative varieties belonging to China is an urgent requirement. Since broccoli is a cross-pollinated crop systematic selection and cross-breeding are challenging, and the application of radiation mutagenesis breeding in broccoli has not been reported. In this study, the seeds of *Brassica oleracea* were irradiated using carbon ion beams to investigate the biological effects of these beams on broccoli. The growth indices, antioxidant enzyme activity, photosynthetic indices, and chlorophyll fluorescence were detected at the seedling stage. The results revealed that irradiation with 100–500 Gy exhibited no significant effect on the germination of *Brassica oleracea*, while the germination of seeds was significantly inhibited at 600 Gy. After irradiation with 100–600 Gy, the root length, shoot length, seedling height, and leaf area decreased with the increase in irradiation dose. The Median lethal dose (LD₅₀) of *Brassica oleracea* irradiated using a carbon ion beam was 415.89 Gy, and the dose that halved the root length was 495.12 Gy. After irradiation, the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) were higher than that of the control plants, while the activity of catalase (CAT) was lower than that of the control plants. The content of malondialdehyde (MDA) increased significantly at a dose of 400 Gy. The photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids) showed an increasing trend initially, and then a decreasing trend with an increasing irradiation dose, and the highest value was detected at a dose of 300 Gy. Net photosynthesis, transpiration rate, and stomatal conductance exhibited a negative correlation with irradiation dose, while the non-photosynthetic quenching coefficient exhibited a significant increase after irradiation. The findings indicated that heavy ion beam radiation inhibited the growth of broccoli plants and affected the activity of antioxidant enzymes and photosynthesis. The study provided basic data for the radiation mutation breeding of *Brassica oleracea*.

KEYWORDS *Brassica oleracea*, Heavy ion beam, Irradiation, Mutation induction breeding, Physiological response

CLC Q691.5, S326

西蓝花(*Brassica oleracea* var. *italica*), 又称青花菜, 为一到两年生草本植物, 是十字花科芸薹属甘蓝种的一个绿色花球变种, 富含维生素C、钾、叶酸、维生素A、镁、泛酸、铁和磷等, 具有抗氧化、抗炎、抗癌、抗微生物、调节代谢紊乱、保护神经和保护肾活力等多种功效^[1]。我国是世界上西蓝花生产第一大国, 全国栽培面积超过100万亩, 主要分布在浙江、云南、湖北、河北和甘肃等地, 西蓝花在蔬菜周年供应中占据着越来越重要的地位^[2]。我国西蓝花种子85%来自于国外, 从日本的进口量更是占到进口总量的73%, 且进口种子价格高, 需求不能保障, 因此, 西蓝花种子已经成为蔬菜“卡脖子”问题之一, 亟需对种质进行创新。

西蓝花属异花授粉作物, 自交不亲和, 系统选育较其他蔬菜困难。西蓝花系统选育和杂交育种耗时长、育种效率较低, 以常规杂交育种为例, 一般至少需要7~8代的选育, 才能形成稳定的纯合品系^[3]。相比之下, 辐射诱变育种可以提高植物的变异频率, 缩短育种周期, 且诱变处理样品类型不受限制, 得到了日益广泛的应用^[4]。重离子束辐照是一种高效的诱变技术, 与X射线、 γ 射线、电子束等射线辐照相比, 它具有传能线密度(Linear energy transfer, LET)高、相对生物学效应(Relative biological effectiveness, RBE)大、损伤后修复效应小等特点, 因此, 可以在存活率较高的情况下得到较高的突变率, 易于获得目标突变体^[5]。重离子束辐射诱变技术具有操作简单、突变率高、突变

谱广等特点，在粮食作物和观赏植物上已经培育出多个新品种^[6]。

重离子束辐照在小麦、玉米、水稻、向日葵、中药材等育种中应用日益广泛，积累了越来越多的研究成果^[7-9]，例如，已培育出春小麦“陇辐2号”、党参“渭党3号”、青蒿“科蒿1号”、水稻“东稻122”、向日葵“近葵1号”等一批农艺性状优良的新品种^[10-11]。杨瑰丽等^[12]研究发现，碳离子束辐照对水稻的影响在株高、剑叶长、穗长和子粒长宽比等性状上呈现出剂量依赖性。王雪^[13]用碳离子束诱变大豆“东生28”构建突变体库，并在后代群体中得到多种类型的可遗传变异，如高产变异、抗倒伏变异、品质性状变异和子粒大小变异等。

实践证明，重离子束辐照是一种高效的诱变技术，可以拓宽植物突变频谱，缩短育种周期。将重离子束辐射诱变技术应用于西蓝花育种研究将促进种质创新和新品种开发。本研究初步探究了辐照后西蓝花的当代生物学效应，检测了辐照后幼苗的生长状态、分析了辐照对抗氧化酶系统、光合作用和叶绿素荧光参数的影响。以期为后续西蓝花的诱变育种提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 种子辐照处理

以“中青12”品种为实验材料，选取饱满一致的种子装入辐照专用皿中进行辐照处理。重离子束由兰州重离子研究装置(Heavy ion research facility in Lanzhou, HIRFL)提供，离子种类为碳离子(¹²C⁶⁺)，初始能量为80.55 MeV/u，剂量率为60 Gy/min。实验分为对照组CK(0 Gy)和不同剂量辐照处理组(200 Gy、300 Gy、400 Gy、500 Gy、600 Gy)，每个剂量辐照3皿作为重复。

1.2 植物培养

种子辐照后，使用萌发袋萌发种子，每个剂量萌发40粒种子，3组重复，萌发15 d后移栽于50孔穴盘，土壤基质为黑土：草炭土=1：1，植物培养间光周期为14 h光照、10 h黑暗，光强为5 500 Lux，温度为(21±2) °C。

1.3 生长指标测定

种子萌发后第7天统计发芽率(若芽长大于种

子长度，记为萌发)；拍照记录芽和根的生长状态，用Image J测量芽长和根长。移栽后第4周统计存活率(若第一对真叶完全展开，记为存活)。拍照记录叶片生长状态，使用Image J测量叶面积(最大叶片)、叶长和叶宽。用直尺测量植株顶端至植株基部的距离，记为苗高。

1.4 抗氧化酶活性及MDA含量测定

幼苗移栽后第4周，对新出叶的叶尖进行取样，5株以上的叶尖混合为1个样品(0.1 g)，每个剂量3组重复。酶液制备：样品中加入pH为7.8的磷酸缓冲液冰浴研磨，于10 000 r/min、4 °C离心20 min，上清液即为酶液。

超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性采用氮蓝四唑法测定^[14]；过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性用愈创木酚法测定^[15]；过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性采用过氧化氢分解量测定法^[16]；丙二醛(Malondialdehyde, MDA)采用硫代巴比妥酸法测定^[15]。

1.5 光合色素测定

幼苗移栽4周后，取5株以上最大叶片的叶尖混合取样0.1 g，每个剂量3次生物学重复。将叶片剪碎后加入10 mL 95%乙醇，浸提24 h后用酶标仪在663 nm、645 nm和470 nm波长下测定吸光值，叶绿素a(Chlorophyll a, Chl a)、叶绿素b(Chlorophyll b, Chl b)和类胡萝卜素(Carotenoid, Car)含量分别按公式(1)、(2)和(3)进行计算。

$$\text{叶绿素a含量(mg/g)} = \frac{C_{\text{Chl a}} \times V}{1\,000 \times m} \quad (1)$$

$$C_{\text{Chl a}}(\text{mg/L}) = 13.95A_{665} - 6.88A_{649}$$

$$\text{叶绿素b含量(mg/g)} = \frac{C_{\text{Chl b}} \times V}{1\,000 \times m} \quad (2)$$

$$C_{\text{Chl b}}(\text{mg/L}) = 24.96A_{649} - 7.32A_{665}$$

$$\text{类胡萝卜素含量(mg/g)} = \frac{C_{\text{Car}} \times V}{1\,000 \times m} \quad (3)$$

$$C_{\text{Car}}(\text{mg/g}) = \frac{1\,000A_{470} - 2.05C_{\text{Chl a}} - 114.8C_{\text{Chl b}}}{245}$$

式中： A_{665} 、 A_{649} 和 A_{470} 分别代表特定波长下叶绿素浸提液的吸光值； V 表示浸提液的体积，mL； m 表示西蓝花组织鲜重，g。

1.6 基础光合指标测定

幼苗移栽后第6周,在晴天上午9点至11点,测定光合指标。使用光合仪(Yaxin-1102G,雅欣理仪,中国)测定光合指标。先将光合仪预热20 min,设置叶片面积为3.25 cm²,补光1 000 Lux,每个处理随机选取6株长势一致的植株进行测定,获得每个植株最大叶片的净光合速率(Net photosynthesis rate, Pn),蒸腾速率(Transpiration rate, Tr),气孔导度(Stomatal conductance, Gs),胞间二氧化碳浓度(Intercellular CO₂ concentration, Ci)。

1.7 叶绿素荧光测定

幼苗移栽后第6周,在晴天上午9点至11点,下午14点至18点,选择叶片完好的最大叶片进行叶绿素荧光参数测定,每个剂量随机测定6株。植株暗适应20 min后,使用叶绿素荧光仪(DUAL-PAM-100, Walz, 德国)测定西蓝花的最大光化学效率(Maximum efficiency of PSII photochemistry, F_v/F_m)、实际光能转化效率(Actual quantum yield of PSII photochemistry, Y(II))、光化学淬灭系数(Photochemical quenching coefficient, qP)和非光化学淬灭系数(Non-photochemical quenching coefficient, NPQ)。

1.8 统计分析

使用Excel 2020软件数据处理,用Origin 2021软件制图,柱状图和箱线图用平均值(Mean)±标准

差(SD)表示,组间差异使用SPSS 19.0软件单因素方差(ANOVA)的Duncan法进行分析,不同小写字母表示处理间差异有统计学意义($p < 0.05$),使用Pearson分析各生理指标之间的相关性, $p < 0.05$ 标记为差异显著(*), $p < 0.01$ 标记为差异极显著(**)。

2 结果与讨论

2.1 碳离子束辐照对西蓝花生长的影响

2.1.1 西蓝花辐照后的萌发率、芽长和根长

由图1(a)可知,CK组的萌发率为78.33%,200 Gy碳离子束辐照后的种子萌发率略微升高,300~500 Gy辐照后萌发率降低(与CK没有显著性差异),600 Gy辐照组的萌发率显著降低,相比于对照降低了19.16%。由图1(b)可知,在0~600 Gy范围内,根长随着吸收剂量增加呈现降低趋势。CK组平均根长为8.19 cm,200 Gy、300 Gy和400 Gy辐照显著抑制了西蓝花根的生长,其根长分别为5.53 cm、5.46 cm和5.19 cm。500 Gy和600 Gy辐照对根生长的抑制作用更强(图1(c)),根长分别降低至CK的46.15%和45.05%。碳离子束使西蓝花根长减半的剂量是495.12 Gy。辐照也显著抑制了西蓝花萌发期的芽长,500 Gy的抑制作用最明显,使芽长降低至CK的76.17%。相同剂量下,碳离子束辐照对根生长的抑制作用强于芽生长,说明西蓝花根对辐照更敏感。

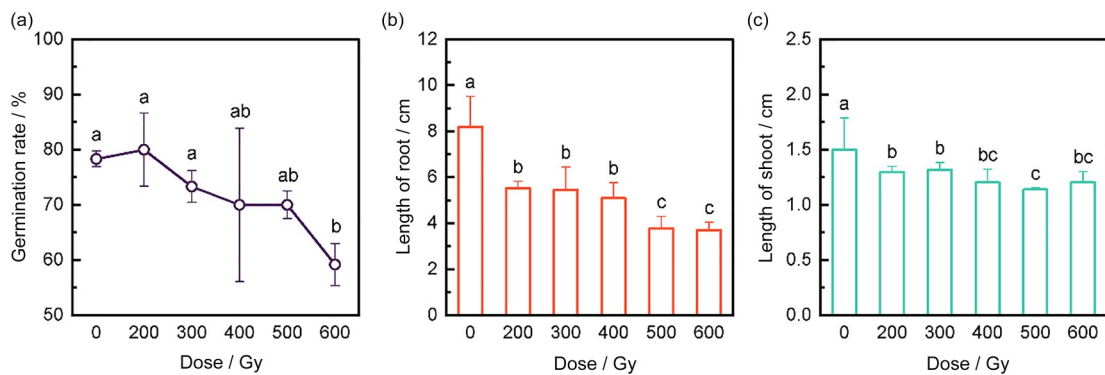


图1 碳离子束辐照西蓝花的萌发率(a)、根长(b)、芽长(c) (不同小写字母表示处理间差异有统计学意义($p < 0.05$))
Fig.1 Germination rate (a), length of shoot (b), length of root (c) of *Brassica oleracea* after carbon ion beam irradiation (different lowercase letters indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$))

2.1.2 辐照对存活率、苗高、叶片生长的影响

存活率是评价辐照对植物损伤水平的重要指标之一。由图2(a)可见,随着吸收剂量增加存活

率呈逐渐下降的趋势,200 Gy、300 Gy、400 Gy剂量显著影响了西蓝花的存活,存活率分别为56.00%、45.33%、40.00%。500 Gy和600 Gy辐照

后存活率急剧下降，分别比对照降低了71.88%和78.13%。半致死剂量(LD₅₀)是辐照后存活率降低至对照一半的剂量，可作为辐射诱变育种的重要参数。根据存活率的线性拟合方程计算出半致死剂量为415.89 Gy。本研究进一步测定了不同剂量的辐照对西蓝花苗高、叶面积、叶片长宽比的影响(由于500 Gy和600 Gy的存活率较低，存活幼苗少，后续实验不涉及这两个剂量)。由图2(b)，不

同剂量处理之间苗高存在显著性差异，其中200 Gy的苗高降低最少，与CK(5.70 cm)相比仅降低了0.50 cm，而300 Gy和400 Gy分别降低了1.90 cm和1.39 cm。300 Gy辐照显著抑制了叶面积，其他剂量辐照后叶面积减小但无显著性差异(图2(c))。由图2(d)，各剂量对叶片长宽比没有显著的影响($p>0.05$)。辐照显著降低了西蓝花存活率和苗高，而对叶面积和叶片长宽比的影响较小。

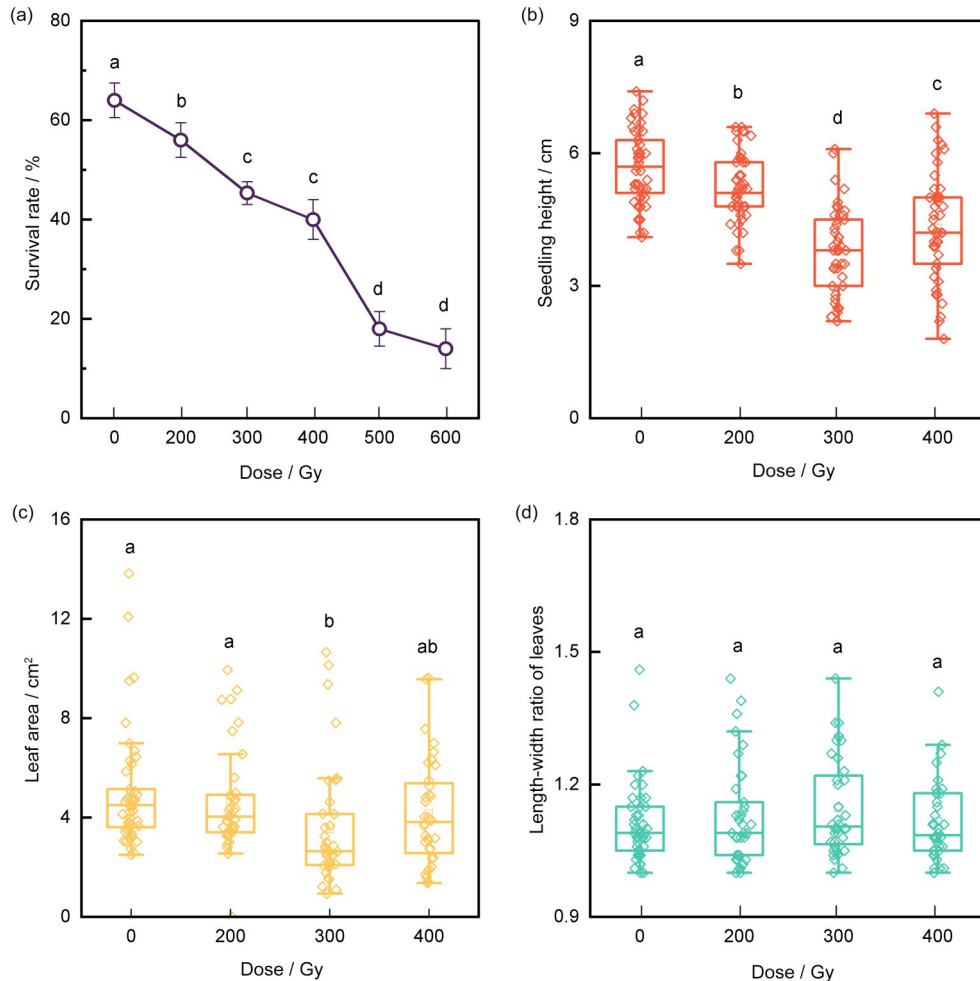


图2 碳离子束辐照后西蓝花的存活率(a)、苗高(b)、叶面积(c)和叶片长宽比(d) (不同小写字母表示处理间差异有统计学意义 ($p<0.05$))

Fig.2 Survival rate (a), seedling height (b), leaf area (c), length-width ratio leaves (d) of *Brassica oleracea* after carbon ion beam irradiation (different lowercase letters indicate statistically significant differences between groups ($p<0.05$))

2.2 辐照对抗氧化酶活性和MDA含量的影响

辐照造成水分子分解产生自由基，植物抗氧化酶通过氧化还原作用清除细胞内过剩的活性氧^[17]。由图3(a)可知，西蓝花SOD活性在辐照后升高，200 Gy辐照后SOD活性小幅升高，与对照无显著性差异，300 Gy和400 Gy辐照后SOD的活性显著升高。POD可以将植物体内的H₂O₂转换成

H₂O，与CK相比，200 Gy辐照后POD活性显著升高了81.29%，300 Gy辐照后POD活性高于对照但低于200 Gy组，400 Gy辐照后POD活性略低于CK(图3(b))。辐照后CAT活性与POD活性的变化趋势相反，辐照组的CAT活性均显著低于CK，200 Gy辐照后CAT活性最低，300 Gy和400 Gy辐照后CAT活性低于对照但高于200 Gy组(图3(c))。

自由基作用于脂质发生过氧化生成MDA, MDA含量可以间接反应辐照造成的氧化胁迫。200 Gy和300 Gy辐照后MDA含量与对照无显著性差异, 仅

400 Gy辐照处理后MDA含量显著升高, 是CK的2.04倍(图3(d))。这说明高剂量的碳离子束辐照对西蓝花造成了严重的氧化胁迫。

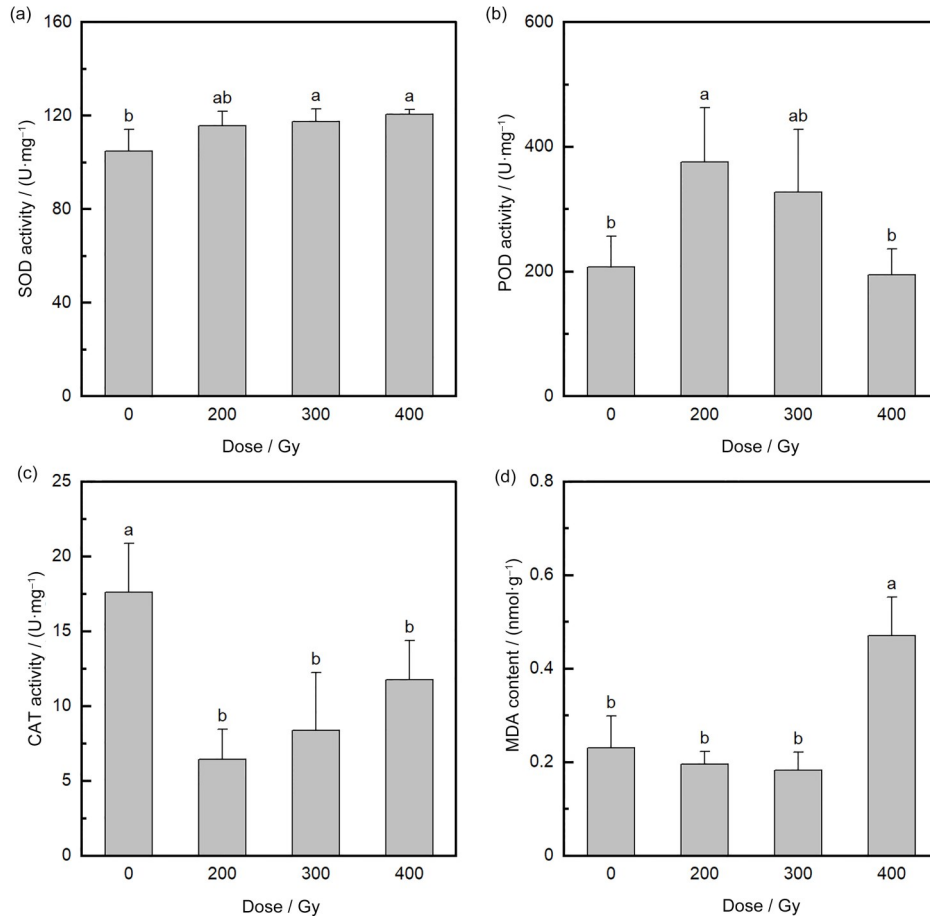


图3 碳离子束辐照后西蓝花的SOD(a)、POD(b)、CAT(c)活性和MDA含量(d) (不同小写字母表示处理间差异有统计学意义($p<0.05$))

Fig.3 SOD activity (a), POD activity (b), CAT activity (c), MDA content (d) of *Brassica oleracea* after carbon ion beam irradiation (different lowercase letters indicate statistically significant differences between groups ($p<0.05$))

2.3 辐照对光合色素含量的影响

叶绿素含量是影响光合作用的重要因素, 在一定范围内, 光合速率随叶绿素含量的增加而增大^[18]。由图4(a)可知, Chl a含量随吸收剂量增加呈现先升高再降低的趋势, 与CK相比, 200 Gy和300 Gy辐照使Chl a的含量分别增加了34.20%和40.21%, 而400 Gy降低了23.48%。辐照后Chl b含量的变化趋势与Chl a相似(图4(b)), 与CK相比, 200 Gy和300 Gy辐照后Chl b含量显著升高, 分别增加了30.84%和29.84%, 400 Gy组则降低了19.34%。辐照组Chl a/b的比值增大(图4(c)), 即Chl a的变化幅度大于Chl b。由图4(d)可知, 辐照后类Car含量的变化趋势与Chl a完全相同, 300 Gy辐照组的类胡萝卜素含量达到峰值为

0.09 mg/g。这些结果表明, 200 Gy和300 Gy的辐照可以促进光合色素的合成, 而400 Gy抑制了光合色素的合成。

2.4 辐照对光合作用的影响

经碳离子束辐照后, 西蓝花的Pn与CK ($3.11 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)相比有不同程度降低, 200 Gy、300 Gy和400 Gy处理组分别降低了25.40%、54.77%和63.67%, 300 Gy和400 Gy的Pn仅为 $1.40 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 和 $1.13 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 显著低于CK(图5(a))。不同剂量辐照后Tr和Gs均低于CK且具有显著性差异, 400 Gy蒸腾速率最低($0.48 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$), 较CK($0.862 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)低44.87%; 300 Gy气孔导度最低($15.41 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$), 较CK($24.25 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)

s)低36.45%(图5(b)、(c))。Ci辐照后有所增加,其中,400 Gy显著高于CK,这些结果表明,辐照降

低了气孔导度,使胞间的CO₂无法排除,从而导致胞间CO₂浓度升高(图5(d))。

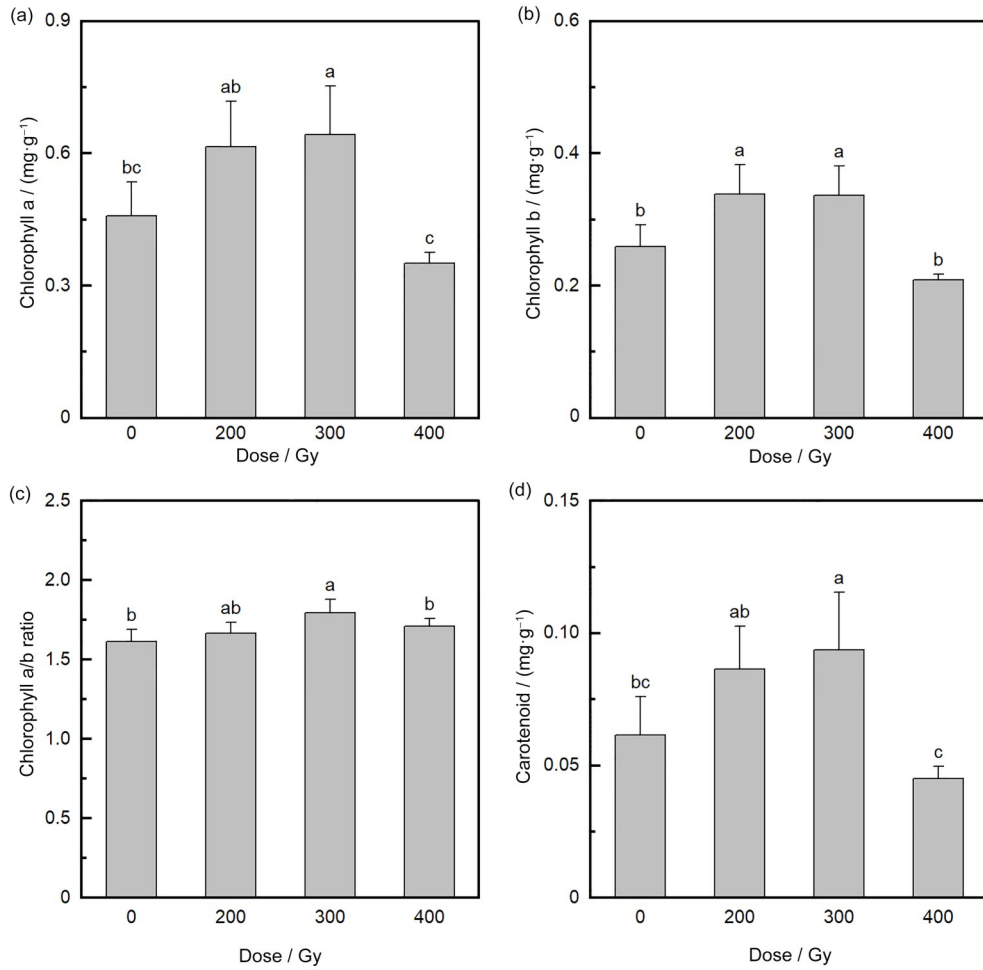
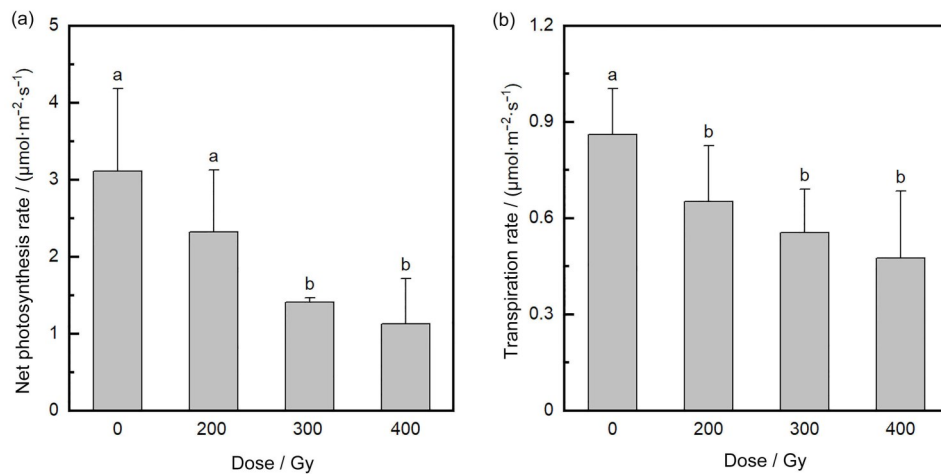


图4 碳离子束辐照后西蓝花的叶绿素a含量(a)、叶绿素b含量(b)、叶绿素a/b比值(c)和类胡萝卜素含量(d)
(不同小写字母表示处理间差异有统计学意义($p < 0.05$))

Fig.4 Chlorophyll a (a), Chlorophyll b (b), Chlorophyll a/b ratio (c), Carotenoid (d) of *Brassica oleracea* after carbon ion beam irradiation (different lowercase letters indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$))



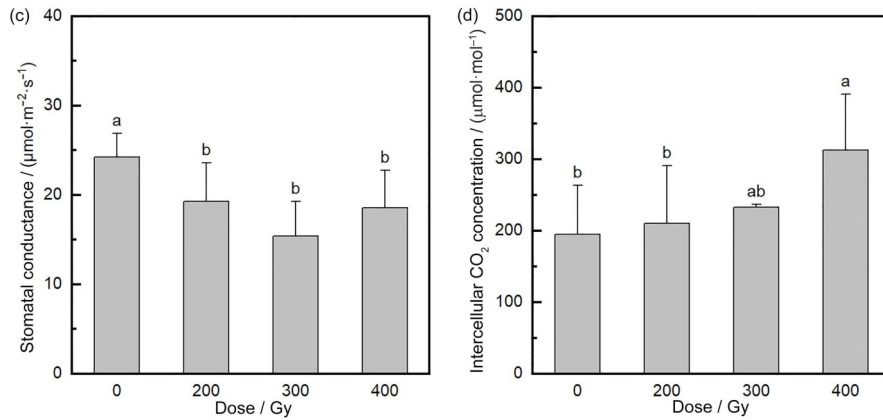


图5 碳离子束辐照后西蓝花的净光合速率(a)、蒸腾速率(b)、气孔导度(c)和胞间CO₂浓度(d) (不同小写字母表示处理间差异有统计学意义($p<0.05$))

Fig.5 Net photosynthesis rate (a), transpiration rate (b), stomatal conductance (c), intercellular CO₂ concentration (d) of *Brassica oleracea* after carbon ion beam irradiation (different lowercase letters indicate statistically significant differences between groups ($p<0.05$))

2.5 辐照对叶绿素荧光参数的影响

光合作用是植物生长发育的生理基础^[19], 为了进一步探究辐照对植物光合作用的影响, 本研究测定了西蓝花的叶绿素荧光参数。植物的最大光化学效率 F_v/F_m 代表植物的光合潜能, 是光系统

II(photosystem II, PSII)的最大光合量子产量的理论值。 $Y(II)$ 是植物叶片的实际光能转化效率, 可以反映PSII中心的光化学活性强弱。不同剂量碳离子束辐照西蓝花种子后, 幼苗的 F_v/F_m 和 $Y(II)$ 值稍有增大, 但与对照相比无显著性差异(图6 (a)、(b))。

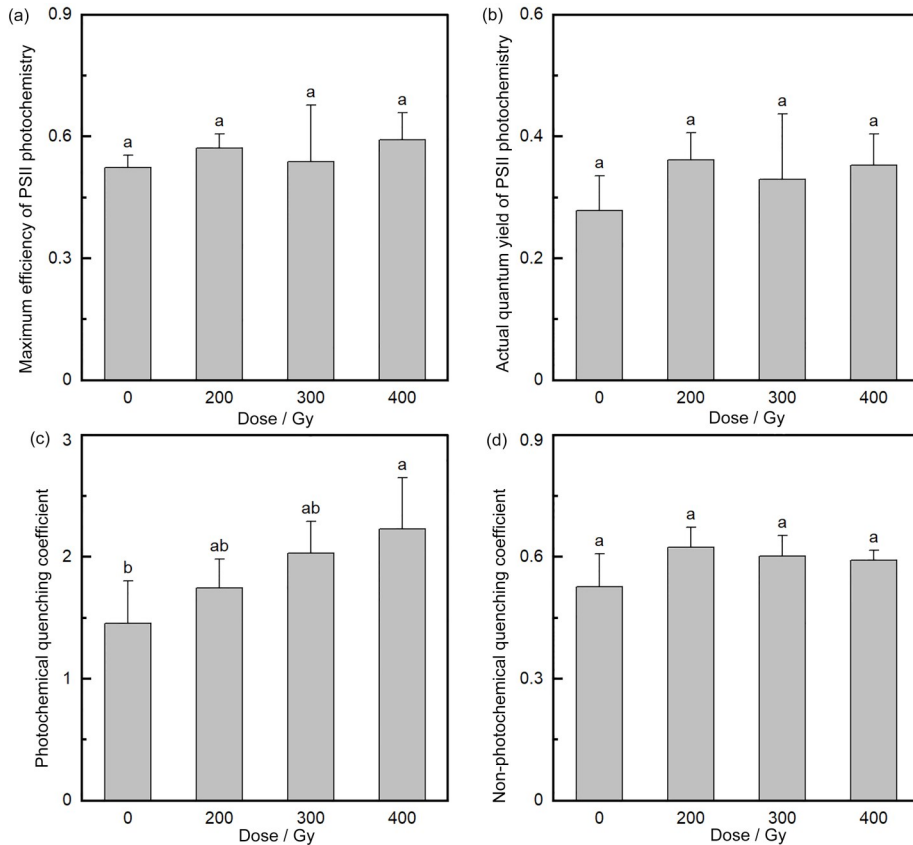


图6 碳离子束辐照后西蓝花的最大光化学效率(a)、实际光能转化效率(b)、光化学淬灭系数(c)和非光化学淬灭系数(d) (不同小写字母表示处理间差异有统计学意义($p<0.05$))

Fig.6 The maximum efficiency of PSII photochemistry (a), a ctual quantum yield of PSII photochemistry (b), photochemical quenching coefficient (c), non-photochemical quenching coefficient (d) of *Brassica oleracea* after carbon ion beam irradiation (different lowercase letters indicate statistically significant differences between groups ($p<0.05$))

非光化学淬灭系数NPQ反映了植物将过剩的光能耗散为热能的能力。辐照影响了非光化学淬灭系数，NPQ值随剂量升高(图6(c))，400 Gy与对照有显著性差异，说明较高的吸收剂量使热耗散增加，降低了光能利用率。qP是光化学淬灭系数，反映PSII天线色素分子捕获的光能用于光化学电子传递的份额，在一定程度上能够反映植物光合活性的高低。由图6(d)可知，辐照后qP值有所增加，与对照无显著差异。以上结果表明，400 Gy以内的碳离子束辐照对西蓝花的叶绿素荧光参数影响较小。

2.6 辐照后各指标相关性分析

对上述生理生化指标进行Pearson相关性分析，结果显示，SOD和CAT与其他指标之间的相关性较强，其中SOD与Pn和Gs呈现极显著的负相关关系($r=-0.71^{**}$, $r=-0.72^{**}$)，与 F_v/F_m 、Y(II)和qP呈显著的相关($r=0.62^*$, $r=0.69^*$, $r=0.65^*$)，CAT则与Chla、Chlb、Car、Y(II)和qP均呈现显著负相关($r=-0.59^*$, $r=-0.71^*$, $r=-0.59^*$, $r=0.62^*$, $r=-0.839^{**}$)。Chla和Car的相关性最高达到了0.99，SR与SH和NPQ极显著相关($r=0.71^{**}$, $r=-0.75^{**}$)，Chlb和POD极显著相关($r=0.78^{**}$)。

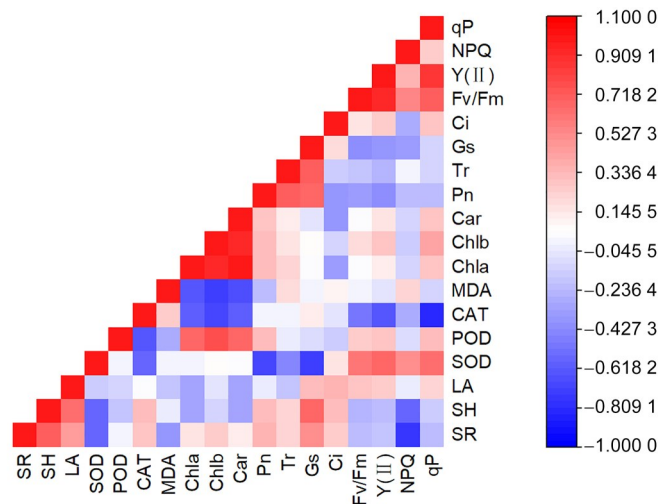


图7 碳离子束辐照后西蓝花生理指标Pearson相关性分析(SR: survival rate, SH: seeding height, LA: leaf area)
Fig.7 Pearson correlation analysis of physiological indexes of *Brassica oleracea* after carbon ion beam irradiation (SR: survival rate, SH: seeding height, LA: leaf area)

3 讨论

碳离子束辐照技术具有LET高、RBE大、损伤后修复效应小等生物学特点，可以在存活率较高的情况下得到较高的突变率^[5]。本文探究了碳离子束辐照对西蓝花造成的当代生物学效应，总体上辐照后发芽率降低、根长变短、苗高降低、存活率降低、叶面积减小，这些形态指标的变化反映了辐照对植物体产生的表型损伤，与后代突变体发生概率的大小相关^[20]。本研究表明，低剂量辐照对西蓝花萌发影响较小，除600 Gy外均无显著抑制作用(图1(a))；各剂量的辐照显著影响植株存活率(图2(a))，推测是因为辐照后胚芽和胚根依靠细胞伸长作用正常萌发，但辐射损伤影响了植物正常的生长代谢，抑制了细胞分裂，导致植物在后期生长停滞甚至死亡^[20]。陆锡宏等^[21]

用 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照菘蓝干种子，发现不同吸收剂量对发芽率基本没有影响，而成苗率随吸收剂量增加而降低，这与本研究的结果一致。我们的研究结果表明辐照对西蓝花根生长的抑制作用强于芽(图1(b))，而李春牛等^[22]用 ^{60}Co γ 辐照茉莉花种子，也发现了辐照对幼根的损伤比幼芽大，这说明辐照对种子的胚根影响更大。总体来看，西蓝花种子经较高剂量的碳离子束辐照后，根长、芽长和叶面积受到显著抑制(图1(b)、(c)，图2(c))。这是因为辐照会导致细胞中的DNA单链及双链断裂，蛋白质等生物大分子被破坏，对植物正常的细胞分裂和发育造成损害，导致植物生长受到了抑制^[23-24]。在植物辐射诱变育种研究中， LD_{50} 被认为是能够准确预测最有效的诱变剂量，理论上此剂量可以在存活植株较多的情况下诱导出可观的突变^[25]。但实际育种工作中，也有研究人员使用

30%~50%的致死剂量(LD₃₀₋₅₀)来构建用于作物改良的突变群体^[26], 这是因为不同物种对碳离子束的辐射敏感性不同。Ren等^[27]结合M₂代的Whole Genome Sequencing测定结果和田间突变统计, 得出75~100 Gy的碳离子束辐照可以使水稻产生更多的突变体, 而75~100 Gy的吸收剂量是67%~90% LD₅₀。本研究中通过线性回归方程计算西蓝花的半致死剂量为415.89 Gy, 在综合存活率及其他指标后, 推荐西蓝花的吸收剂量应在300~400 Gy。

已有研究表明, 重离子束辐照导致植物活性氧积累, 对植物造成毒害作用, 破坏细胞膜结构, 引起植物生理生化损伤(光合作用、呼吸、生物合成等)^[28]。抗氧化酶系统可以通过不同反应途径有效清除植物体内的活性氧, 减少自由基引起的氧化损伤, 保护植物体内的生物大分子, 维持生理活动的进行^[29]。另外辐照还能够直接破坏光合作用, 引起电子传递链的“过度还原”, 导致活性氧增加, 从而反馈激活抗氧化酶系统^[31]。SOD、POD和CAT是重要的抗氧化酶, 能够帮助植物抵御胁迫带来的伤害。本研究中, 随吸收剂量的增加SOD的活性显著上升(图3(a)), 说明碳离子辐照增强了SOD酶活性, 提高了抗氧化能力。POD的活性呈现先升高再降低的趋势(图3(b)), 黄海涛等^[31]用X射线慢性辐照东方百合不定芽的研究中也发现了POD的活性随剂量的升高呈现出先上升再降低的趋势, 可能是因为随着吸收剂量的增大, 到达一定的剂量临界点后, 碳离子束的能量可能会直接沉积在POD蛋白上, 造成蛋白失活, 使POD活性下降。所以低剂量辐照刺激抗氧化酶活性升高, 能够有效清除活性氧, 帮助植物抵御胁迫; 但高剂量辐照造成蛋白失活使植物自身的抗氧化酶活性降低, 无法清除过量的活性氧, 导致植物存活率降低、植株生长缓慢等现象^[28, 32]。西蓝花辐照后CAT的活性则随着剂量的增加先降低再升高(图3(c)), 均显著低于CK, 吴恩正等^[33]通过急性和慢性 γ 射线辐照拟南芥, 也得出CAT活性降低的结果。植物中除了抗氧化酶系统可以清除ROS外, 非抗氧化酶系统也可以帮助清除体内过多的ROS^[21], 辐照后在多种植物中检测到非酶抗氧化剂水平增加^[34], 这可能造成了CAT的功能冗余, 从而导致CAT活性降低, 相关性分析(图7)也可以看出, CAT与POD呈显著负相关($r=-0.64^*$), 即CAT在抗氧化酶系统中可能属于替补位置。MDA是自由基作用于脂质发生过氧化反应的终产

物, 具有细胞毒性, 可以评估膜的脂质过氧化速率^[35], 也能间接反映过氧化损伤程度。碳离子束辐照后MDA的含量在200 Gy和300 Gy时没有显著性变化, 而400 Gy时MDA的含量显著高于CK, 是CK的2.04倍(图3(d))。这说明高剂量辐照产生的自由基攻击细胞膜, 使膜脂发生过氧化, 将造成细胞质膜的通透性改变, 李以瑞等通过电子束转靶X射线辐照小苍兰也发现在高剂量处理后MDA的含量显著提高^[36]。

叶绿素在植物光合作用中具有吸收、传递光能和引起原初光化学反应的功能, 叶片中光合色素含量的多少可以反应植物光合能力的强弱。类胡萝卜素既能辅助电子传递, 又能吸收过多的光能保护叶绿素被光氧化^[37]。本研究表明, 西蓝花Chl a、Chl b和Car的含量随吸收剂量的增加均呈现先上升再下降的趋势(图4), 说明200 Gy和300 Gy辐照促进了光合色素的合成, 有利于植物的光合作用, 而更高剂量的辐照不但会对光合作用细胞器的结构和构型产生影响, 而且会抑制光合色素和相关酶的合成^[38]。有研究认为, Chl a较Chl b对活性氧的反应更为敏感^[39], 所以Chl a的变化幅度大于Chl b, 最终导致Chl a/Chl b比值增加(图4(c))。Chl a/Chl b比值与光合作用速率呈显著的负相关, 是影响光合作用速率的重要内因^[40], 本研究中辐照后Chl a/Chl b比值增大(图4(c)), 净光合速率降低(图5(a)), 与之相符。已有研究表明, 植物辐照处理后叶片气孔形态严重受损, 气孔显微结构边缘模糊^[41], 辐照也可导致植物关闭气孔并降低蒸腾速率以维持生长^[42]。这与本研究中辐照后西蓝花光合速率和气孔导度降低的结果相同(图5(a)、(c)), 即辐照后气孔受损, 影响了蒸腾速率, 导致植物体内二氧化碳浓度升高(图5(d)), 最终使得光合速率降低, 此外通过相关性分析表明SOD与Pn和Gs呈现极显著的负相关关系($r=-0.71^*$, $r=-0.72^*$), 说明碳离子束辐照对西蓝花造成了氧化损伤, 导致SOD酶活性增强, 进一步导致光合速率下降和气孔导度增加。李世军^[43]的研究表明, 芒果叶片在20~200 W的UV-B辐照后抗氧化活性大都呈现增加趋势, 但Pn处于不断下降趋势。范菁^[44]使用⁶⁰Co γ 对茭白进行辐照发现, 50 Gy和100 Gy剂量下茭白受到较大的氧化胁迫, 且Pn和Gs都有所降低。这些与本研究结果相似, 说明辐照后抗氧化酶与光合作用之间存在着相关性。植物的叶绿素荧光参数可以直观地反映

其最大的光合作用能力、抗胁迫能力及本身的生长状态^[45]。本研究表明,不同剂量的碳离子束辐照后,幼苗的 F_v/F_m 、Y(II)和qP与对照没有显著差异(图6),但从图7可以看出,Y(II)和qP与SOD和CAT有很强的相关性,即这两种抗氧化酶可以对叶绿素荧光造成一定影响,NPQ值仅在400 Gy显著高于对照(图6(c)),而NPQ与存活率和苗高存在极显著相关关系($r=0.71^{**}$, $r=-0.75^{**}$)。结果说明,虽然较高剂量的碳离子辐照对光能利用率没有显著影响,但是增加了光能耗散,光能耗散增加可能会导致可利用光能减少,西蓝花的有机物积累减少,这可能是其苗高降低的原因之一。

4 结论

本研究旨在探究不同剂量碳离子束辐照对西蓝花生长发育和生理生化的影响,结果表明,较高剂量的碳离子束辐照对西蓝花种子萌发、幼苗生长和光合作用均有抑制作用。200 Gy、300 Gy和400 Gy辐照后超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性均比对照高,而过氧化氢酶活性低于对照,丙二醛含量在400 Gy显著升高。随剂量的增加叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素呈现先增加后降低的趋势,非光合淬灭系数均显著升高。400 Gy的重离子束辐照对西蓝花M₁植株的正常生长和光合作用造成较大影响,推荐诱变育种的吸收剂量区间为300~400 Gy。本研究首次探讨了重离子束辐照在西蓝花诱变育种中的应用,研究结果缩小了辐照处理吸收剂量范围,可在此剂量范围内大样本量辐照西蓝花种子,增加西蓝花的突变数量,为未来进一步创制西蓝花突变体库奠定了基础。

作者贡献声明 王曼主要负责实验操作、实验数据分析和文章撰写;刘霄负责文章修改和绘图;杜艳负责数据整理和实验指导;康桂森、丁佳宁、隆静、王圆梦协助种植实验材料;杨明俊、周利斌负责实验方案设计和文章修改。所有作者均已阅读并同意该稿最终版的所有内容。

参考文献

- 1 Li H, Xia Y, Liu H Y, *et al.* Nutritional values, beneficial effects, and food applications of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck)[J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, **119**: 288-308. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.12.015.

- 2 李占省,刘玉梅,方智远,等.我国青花菜产业发展现状、存在问题与应对策略[J].中国蔬菜,2019(4):1-5. DOI: 10.19928/j.cnki.1000-6346.2019.04.001.
LI Zhansheng, LIU Yumei, FANG Zhiyuan, *et al.* Present situation, existing problems and countermeasures of broccoli industry in China[J]. China Vegetables, 2019(4): 1-5. DOI: 10.19928/j.cnki.1000-6346.2019.04.001.
- 3 袁素霞,刘玉梅,方智远,等.结球甘蓝和青花菜小孢子胚植株再生[J].植物学报,2010, **45**(2): 226-232. DOI: 10.3969/j.issn.1674-3466.2010.02.012.
YUAN Suxia, LIU Yumei, FANG Zhiyuan, *et al.* Plant regeneration from microspore-derived embryos in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) and broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*)[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2010, **45**(2): 226-232. DOI: 10.3969/j.issn.1674-3466.2010.02.012.
- 4 张丰收,王青.植物辐射诱变育种的研究进展[J].河南师范大学学报(自然科学版),2020, **48**(6): 39-49. DOI: 10.16366/j.cnki.1000-2367.2020.06.006.
ZHANG Fengshou, WANG Qing. Research progresses in the plant breeding of radiation mutation[J]. Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition), 2020, **48**(6): 39-49. DOI: 10.16366/j.cnki.1000-2367.2020.06.006.
- 5 刘瑞媛,金文杰,曲颖,等.重离子束辐射诱变技术在植物育种中的应用[J].广西科学,2020, **27**(1): 20-26. DOI: 10.13656/j.cnki.gxkx.20200311.003.
LIU Ruiyuan, JIN Wenjie, QU Ying, *et al.* Application of heavy ion beam radiation mutation technology in plant breeding[J]. Guangxi Sciences, 2020, **27**(1): 20-26. DOI: 10.13656/j.cnki.gxkx.20200311.003.
- 6 任鹏荣,冯瑞祥,张颖聪,等.重离子辐射在热带果树育种中的应用前景[J].中国热带农业,2017(3):12-15.
REN Pengrong, FENG Ruixiang, ZHANG Yingcong, *et al.* Application prospect of heavy ion radiation in tropical fruit tree breeding[J]. China Tropical Agriculture, 2017(3): 12-15.
- 7 李景鹏,余丽霞,张鑫,等.水稻新品种东稻122选育及应用[J].北方水稻,2021, **51**(6): 44-47. DOI: 10.16170/j.cnki.1673-6737.2021.06.014.
LI Jingpeng, YU Lixia, ZHANG Xin, *et al.* Breeding and application of a new rice variety Dongdao-122[J]. North Rice, 2021, **51**(6): 44-47. DOI: 10.16170/j.cnki.1673-6737.2021.06.014.
- 8 李军华,蔡青,郭会君,等.高能碳离子束辐射对玉米当代的生物学效应[J].核农学报,2022, **36**(4): 681-688.

- DOI: 10.11869/j.issn.100-8551.2022.04.0681.
- LI Junhua, CAI Qing, GUO Huijun, *et al.* Biological effects of high energy carbon ion beam irradiation on contemporary maize[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2022, **36**(4): 681-688. DOI: 10.11869/j.issn.100-8551.2022.04.0681.
- 9 曲颖, 周利斌, 卯旭辉, 等. 油用型向日葵新品种近葵1号的选育[J]. *中国种业*, 2023(1): 101-103. DOI: 10.19462/j.cnki.1671-895x.2023.01.020.
- QU Ying, ZHOU Libin, MAO Xuhui, *et al.* Breeding of a new oil sunflower variety Jinkui No. 1[J]. *China Seed Industry*, 2023(1): 101-103. DOI: 10.19462/j.cnki.1671-895x.2023.01.020.
- 10 汪淑霞, 宋振华. 党参新品种渭党3号选育报告[J]. *甘肃农业科技*, 2015, (11): 11-13. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1463.2015.11.004.
- WANG Shuxia, SONG Zhenhua. Breeding report of A new codonopsis pilosula variety Weidang 3[J]. *Gansu Agricultural Science and Technology*, 2015, (11): 11-13. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1463.2015.11.004.
- 11 梁妍, 周翔, 郭建钊, 等. 青蒿新品种“科蒿1号”的选育研究[J]. *中国中药杂志*, 2019, **44**(24): 5363-5367. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20191009.107.
- LIANG Yan, ZHOU Xiang, Guo Jianzhao, *et al.* Breeding of new *Artemisia annua* variety “Kehao No. 1” [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2019, **44** (24): 5363-5367. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20191009.107.
- 12 杨瑰丽, 陈莹, 郭涛, 等. 碳离子束辐照水稻诱变效应及突变体的筛选[J]. *华南农业大学学报*, 2018, **39**(2): 29-33. DOI: 10.7671/j.issn.1001-411X.2018.02.005.
- YANG Guili, CHEN Ying, GUO Tao, *et al.* Mutagenic effects of carbon ion beam irradiation on rice and screening for induced mutants[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2018, **39**(2): 29-33. DOI: 10.7671/j.issn.1001-411X.2018.02.005.
- 13 王雪. 碳离子束辐照大豆的诱变效应[D]. 北京: 中国科学院大学, 2021.
- WANG Xue. Mutagenic effect of carbon ion beam irradiation on soybean[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2021.
- 14 Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutases[J]. *Plant Physiology*, 1977, **59**(2): 309-314. DOI: 10.1104/pp.59.2.309.
- 15 Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves[J]. *Plant Physiology*, 1992, **98**(4): 1222-1227. DOI: 10.1104/pp.98.4.1222.
- 16 Archer M C, Palmer J K. An experiment in enzyme characterization: banana polyphenoloxidase[J]. *Biochemical Education*, 1975, **3**(3): 50-52. DOI: 10.1016/0307-4412(75)90055-2.
- 17 谢晓红. 植物抗氧化酶系统研究进展[J]. *化工管理*, 2015, (32): 99-100.
- XIE Xiaohong. Research progress of antioxidant enzyme system in plants[J]. *Chemical Engineering Management*, 2015, (32): 99-100.
- 18 于虹漫, 陈宗瑜, 强继业. ^{60}Co γ 射线辐照对仙客来生长及叶片光合特性的影响[J]. *北方园艺*, 2003(5): 45-46. DOI: 10.3969/j.issn.1001-0009.2003.05.033.
- YU Hongman, CHEN Zongyu, QIANG Jiye. Effects of ^{60}Co γ -ray irradiation on growth and photosynthetic characteristics of *Cyclamen persicum* leaves[J]. *Northern Horticulture*, 2003(5): 45-46. DOI: 10.3969/j.issn.1001-0009.2003.05.033.
- 19 钱玥, 饶良懿. 盐碱胁迫对枸杞幼苗生长与叶绿素荧光特性的影响[J]. *森林与环境学报*, 2022, **42**(3): 271-278. DOI: 10.13324/j.cnki.jfcf.2022.03.006.
- QIAN Yue, RAO Liangyi. Effects of saline-alkali stress on the growth and chlorophyll fluorescence characteristics of *Lycium barbarum* seedlings[J]. *Journal of Forest and Environment*, 2022, **42**(3): 271-278. DOI: 10.13324/j.cnki.jfcf.2022.03.006.
- 20 徐冠仁. 植物诱变育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 111-117.
- XU Guanren. Plant mutagenesis breeding[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1996: 111-117.
- 21 陆锡宏, 石广亮, 李雪虎, 等. $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照菘蓝干种子当代效应[J]. *原子核物理评论*, 2013, **30**(4): 477-482. DOI: 10.11804/NuclPhysRev.30.04.477.
- LU Xihong, SHI Guangliang, LI Xuehu, *et al.* M1 biological effects of isatis indigotica fort irradiated by $^{12}\text{C}^{6+}$ Ions[J]. *Nuclear Physics Review*, 2013, **30**(4): 477-482. DOI: 10.11804/NuclPhysRev.30.04.477.
- 22 李春牛, 李先民, 黄展文, 等. ^{60}Co - γ 射线辐照对茉莉花种子萌发和幼苗生长及生理的影响[J]. *热带作物学报*, 2022, **43**(1): 119-127. DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2022.01.016.
- LI Chunniu, LI Xianmin, HUANG Zhanwen, *et al.* Effect of ^{60}Co - γ irradiation on seed germination and seedling growth and physiology in jasmine[J]. *Chinese Journal of*

- Tropical Crops, 2022, **43**(1): 119-127. DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2022.01.016.
- 23 Arena C, De Micco V, Macaeva E, *et al.* Space radiation effects on plant and mammalian cells[J]. Acta Astronautica, 2014, **104**(1): 419-431. DOI: 10.1016/j.actaastro.2014.05.005.
- 24 Amirikhah R, Etemadi N, Sabzalian M R, *et al.* Physiological consequences of gamma ray irradiation in tall fescue with elimination potential of *Epichloë* fungal endophyte[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, **182**: 109412. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.109412.
- 25 Kim S H, Jo Y D, Ryu J, *et al.* Effects of the total dose and duration of γ -irradiation on the growth responses and induced SNPs of a *Cymbidium* hybrid[J]. International Journal of Radiation Biology, 2020, **96**(4): 545-551. DOI: 10.1080/09553002.2020.1704303.
- 26 Kodym A, Afza R, Forster B P, *et al.* Methodology for physical and chemical mutagenic treatments[M]. Plant mutation breeding and biotechnology. UK: CABI, 2012: 169-180. DOI: 10.1079/9781780640853.0169.
- 27 Ren W B, Wang H, Du Y, *et al.* Multi-generation study of heavy ion beam-induced mutations and agronomic trait variations to accelerate rice breeding[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, **14**: 1213807. DOI: 10.3389/fpls.2023.1213807.
- 28 刘智全, 谷卫彬, 李文建. 重离子束辐照对甜高粱幼苗存活率及抗氧化酶活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2012, **40**(25): 12454-12456, 12604. DOI: 10.13989/j.cnki.0517-6611.2012.25.115.
- LIU Zhiquan, GU Weibin, LI Wenjian. Effects of heavy-ion beam irradiation on survival rate and antioxidant enzymes of sweet sorghum seedlings[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, **40**(25): 12454-12456, 12604. DOI: 10.13989/j.cnki.0517-6611.2012.25.115.
- 29 杨雯一. 不同胁迫对各种植物体内抗氧化酶系统的影响综述[J]. 化工管理, 2021, (1): 92-93. DOI: 10.19900/j.cnki.ISSN1008-4800.2021.01.046.
- YANG Wenyi. Review on the effects of different stresses on antioxidant enzyme systems in various plants[J]. Chemical Engineering Management, 2021, (1): 92-93. DOI: 10.19900/j.cnki.ISSN1008-4800.2021.01.046.
- 30 Gudkov S V, Grinberg M A, Sukhov V, *et al.* Effect of ionizing radiation on physiological and molecular processes in plants[J]. Journal of Environmental Radioactivity, 2019, **202**: 8-24. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2019.02.001.
- 31 黄海涛, 王丹, 陈楠. X射线慢性辐照对东方百合不定芽脂质过氧化及酶活性的影响[J]. 西北农业学报, 2011, **20**(2): 178-181. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1389.2011.02.036.
- HUANG Haitao, WANG Dan, CHEN Nan. Effects of X-ray irradiation on lipid peroxidation and enzyme activities of adventitious bud of oriental lily[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2011, **20**(2): 178-181. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1389.2011.02.036.
- 32 冯亮英, 董喜存, 李文建, 等. 碳离子辐照对甜高粱种子萌发及幼苗酶活的影响[J]. 安徽农业科学, 2009, **37**(33): 16286-16288.
- FENG Liangying, DONG Xicun, LI Wenjian, *et al.* Effect of $^{12}\text{C}^{6+}$ ions beam irradiation on seed germination and enzymes activity in seedlings of sweet sorghum[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, **37**(33): 16286-16288.
- 33 Goh E J, Kim J B, Kim W J, *et al.* Physiological changes and anti-oxidative responses of *Arabidopsis* plants after acute and chronic γ -irradiation[J]. Radiation and Environmental Biophysics, 2014, **53**(4): 677-693. DOI: 10.1007/s00411-014-0562-5.
- 34 Kumari R, Singh S, Agrawal S B. Response of ultraviolet-B induced antioxidant defense system in a medicinal plant, *Acorus calamus*[J]. Journal of Environmental Biology, 2010, **31**(6): 907-911.
- 35 Ali Hosseini Tafreshi S, Aghaie P, Toghyani M A, *et al.* Improvement of ionizing gamma irradiation tolerance of *Chlorella vulgaris* by pretreatment with polyethylene glycol[J]. International Journal of Radiation Biology, 2020, **96**(7): 919-928. DOI: 10.1080/09553002.2020.1741717.
- 36 Li Y R, Liu L, Wang D, *et al.* Biological effects of electron beam to target turning X-ray (EBTTX) on two freesia (*Freesia hybrida*) cultivars[J]. PeerJ, 2021, **9**: e10742. DOI: 10.7717/peerj.10742.
- 37 常宗强, 祁淑云. 短期UVB辐照对抱茎风毛菊光合作用的影响[J]. 甘肃科学学报, 2016, **28**(4): 28-33. DOI: 10.16468/j.cnki.issn1004-0366.2016.04.007.
- CHANG Zongqiang, QI Shuyun. The influence of short-term UVB irradiation on saussurea chingiana photosynthesis[J]. Journal of Gansu Sciences, 2016, **28**(4): 28-33. DOI: 10.16468/j.cnki.issn1004-0366.2016.04.007.
- 38 蔡世娟, 秦垒, 曹天光, 等. $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐射对黄瓜光合色素含量及光合基因表达的影响[J]. 安徽农业科学, 2020, **48**

- (18): 59-62. DOI: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.18.017.
- CAI Shijuan, QIN Lei, CAO Tianguang, *et al.* Effects of $^{12}\text{C}^{6+}$ radiation on photosynthetic pigment content and photosynthetic gene expression in cucumber[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2020, **48**(18): 59-62. DOI: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.18.017.
- 39 张明生, 谈锋. 水分胁迫下甘薯叶绿素 a/b 比值的变化及其与抗旱性的关系[J]. 种子, 2001, **20**(4): 23-25. DOI: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2001.04.052.
- ZHANG Mingsheng, TAN Feng. Relationship between ratio of chlorophyll a and b under water stress and drought resistance of different sweet potato varieties[J]. Seed, 2001, **20**(4): 23-25. DOI: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2001.04.052.
- 40 周黄磊, 黄升谋. 库源关系对水稻叶绿素含量及叶绿素 a/b 值的影响[J]. 绿色科技, 2017(24): 147-149. DOI: 10.16663/j.cnki.lskj.2017.24.054.
- ZHOU Huanglei, HUANG Shengmou. Effects of sink source relationship on chlorophyll content and photosynthetic characteristics of rice[J]. Journal of Green Science and Technology, 2017(24): 147-149. DOI: 10.16663/j.cnki.lskj.2017.24.054.
- 41 Li Y R, Chen L, Zhan X D, *et al.* Biological effects of gamma-ray radiation on tulip (*Tulipa gesneriana* L.)[J]. PeerJ, 2022, **10**: e12792. DOI: 10.7717/peerj.12792.
- 42 Reynolds-Henne C E, Langenegger A, Mani J, *et al.* Interactions between temperature, drought and stomatal opening in legumes[J]. Environmental and Experimental Botany, 2010, **68**(1): 37-43. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2009.11.002.
- 43 李世军. 芒果叶片在UV-B辐射增强辐照下的损伤和保护反应[D]. 海口: 海南大学, 2018.
- LI Shijun. Damage and protective reaction of mango leaves under enhanced UV-B radiation[D]. Haikou: Hainan University, 2018.
- 44 范菁. ^{60}Co - γ 辐射对茭白生长和生理特性的影响[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- FAN Jing. Effects of ^{60}Co - γ radiation on growth and physiological characteristics of *Zizania latifolia*[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014.
- 45 Baker N R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, **59**: 89-113. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759.