

T/CSNAS

中国原子能农学会团体标准

T/CSNAS 06—2024

菘蓝、青蒿和桔梗碳离子束辐射诱变 技术规程

Technical specification for radiation-induced mutagenesis of *Isatis indigotica* Fort.,
Artemisia annua L., and *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. by carbon ion
beams

2024 - 08 - 01 发布

2024 - 09 - 01 实施

中国原子能农学会 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国原子能农学会提出并归口。

本文件起草单位：中国科学院近代物理研究所、中国农业科学院作物科学研究所、国家核安保技术中心、中国医学科学院药用植物研究所、甘肃中医药大学、定西市农业科学研究院、国药种业有限公司、略阳县锦绣农业发展有限公司、略阳县农业技术推广中心。

本文件主要起草人：周利斌、李雪虎、刘录祥、陈芳雷、魏建和、晋玲、王富胜、李进瞳、高临棋、柯建、刘霄、杜艳、金文杰、郭会君、韩叶良、郭欣慰、马晓辉、李丽、林晖才、张红、柏文科。

菘蓝、青蒿和桔梗碳离子束辐射诱变 技术规程

1 范围

本文件规定了菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)、青蒿(*Artemisia annua* L.)和桔梗(*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A.DC.) 碳离子束辐射诱变育种的辐射装置、辐射诱变材料、辐射处理、辐照后代种植及筛选和记录与档案等要求。

本文件适用于菘蓝、青蒿和桔梗的碳离子束辐射诱变处理、突变材料筛选和品种选育。其他重离子束的辐射诱变育种可参照采用。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 41360 中药材种子（种苗）菘蓝

LY/T 2068 桔梗种子生产技术规程

NY/T 1781 青蒿原种生产技术规程

DB13/T 1320.3 中药材种子质量 第3部分 桔梗

DB45/T 541 黄花蒿种子质量要求

DB45/T 637 青蒿中青蒿素含量的测定 高效液相色谱法

DB62/T 4192 菘蓝种子繁育技术规程

国家药监局 国家卫生健康委关于发布2020年版《中华人民共和国药典》的公告（2020年 第78号）
2020年版《中华人民共和国药典》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

重离子 heavy ions

原子序数 > 2 的各种原子的离子。

3.2

碳离子束 carbon ion beam

碳离子经加速器加速而成的束流。

3.3

重离子加速器 heavy ion accelerator

利用电磁场来加速重离子的装置。

3.4

高能重离子加速器 high energy heavy-ion accelerator

束流能量 ≥ 100 MeV 的重离子加速器。

3.5

辐射终端 radiation terminal

由束流照射、换样、剂量监测、被动降能、辐射防护监测、温度监控等控制和操作系统组成的可进行辐射实验的终端。

3.6

传能线密度 linear energy transfer; LET

带电粒子穿越物质过程中单位路径上释放的能量。

3.7

半致死剂量 median lethal dose

辐射处理后植株存活率降低一半的剂量。

3.8

定向诱导基因组局部突变技术 targeting induced local lesions in genomes; TILLING

基于反向遗传学策略，将诱变技术、PCR 技术和高通量突变检测技术相结合，可高通量、准确地鉴定出由化学诱变剂或物理诱变剂诱变产生的单碱基差异的方法。

4 辐射装置

辐射装置应为能量 ≥ 100 MeV 的中高能重离子加速器和辐射终端，应能提供碳离子束。

5 辐射诱变材料

辐射诱变材料应选择综合性状优良的主栽品种或品系。苕蓝种子质量应符合 GB/T 41360 中第 4 章的相关规定；青蒿种子质量应符合 DB45/T 541 的规定；桔梗种子质量应符合 DB13/T 1320.3 的规定。

6 辐射处理

6.1 辐射处理应分别挑选饱满、颜色和大小一致的苕蓝、青蒿和桔梗种子分别置于辐照皿中，按序摆放在于辐射终端的样品盘上，在控制系统上设置吸收剂量及剂量率，换样系统将样品盘置于束流窗口下方进行重离子束辐照。

6.2 辐射处理离子种类应为 $^{12}\text{C}^{6+}$ ，束流能量应为 960 MeV，传能线密度应为 $34 \text{ keV}/\mu\text{m}$ ，苕蓝、青蒿和桔梗的半致死剂量范围分别为 35-60 Gy、40-60 Gy 和 150-200 Gy。

7 辐照后代种植及筛选

7.1 M_1 代

7.1.1 辐射处理后的种子应尽快播种，或 4°C 保存 3 个月内播种。经辐射诱变的种子进行田间种植，苕蓝栽培应符合 DB62/T 4192 的规定，青蒿栽培应符合 NY/T 1781 的规定，桔梗栽培应符合 LY/T 2068 的规定。

7.1.2 种子收获有三种途径可选：单粒法，每一株收获一粒种子；单株收种法，每个植株上收获数粒种子，单株保存；混合收种法，将同一个剂量处理后所有植株上的种子混收在一起。

7.2 M_2 代7.2.1 M_2 代种植

将单粒法收获的 M_1 代的种子混合种植成 M_2 小区，或将单株法收获的 M_1 代的种子种植成株行，或将混收法收获的 M_1 代的种子充分混匀后随机取出一部分种植成 M_2 小区。

7.2.2 突变筛选

7.2.2.1 突变筛选可采用表型突变筛选，也可进一步选用基因突变筛选。

7.2.2.2 表型突变筛选应在种植后进行田间观察、突变表型鉴定、挂牌标记。应主要关注生育期、株高、株型和花色等，对变异植株收种和采收药用部位，分别测定生物量、浸出物和指标性成分等。

7.2.2.3 测定指标性成分含量：菘蓝根中的（*R, S*）-告依春和叶中的靛玉红含量、桔梗根中的桔梗皂苷 D 含量应按照《中华人民共和国药典》四部通则 0512 中的高效液相色谱法测定；青蒿叶中的青蒿素含量应按照 DB45/T 637 的方法测定。

7.2.2.4 基因突变筛选可选用 TILLING 法等检测目的基因的单碱基缺失或插入等点突变。

7.3 M_3 代及后代

7.3.1 将筛选得到的 M_2 单株的种子种植为 M_3 株系，从中选择优异单株，继续种植观察。

7.3.2 从 M_4 代开始，应对稳定单株进行特异性、一致性和稳定性鉴定，直到形成稳定品系。

7.4 新品系评价

应对优选稳定株系进一步繁殖，形成品系，按照国家（省级）新品种审定登记办法对相关性状进行评价。

8 记录与存档

在整个育种过程中，应对每一个诱变世代的关键环节及时、准确、详细记录，并建立档案，方便信息溯源。档案应包括但不限于以下内容：

- a) 辐射诱变材料来源及名称；
 - b) 辐射处理方案；
 - c) 辐照后代农艺性状，育种调查的指标，种植实验地、施肥量和田间管理与收获情况等。
-