

重离子束辐照大豆籽粒当代效应的初步研究

张秋英¹, 余丽霞², 李彦生¹, 杜艳², 李文建², 刘晓冰¹

(1. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所/黑土区农业生态重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150081; 2. 中国科学院 近代物理研究所/国家重离子加速器实验室, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 利用我国目前大面积推广的 11 个大豆品种, 选用 6 个辐照剂量初步研究了重离子束辐照处理大豆籽粒对其 M₁ 代植株出苗率、生育表现、存活率和单粒重的影响。结果表明: 重离子辐照处理后, 出苗迟缓、真叶发皱、幼苗黄化, 出苗期晚于未处理对照 4~5 d, 而且生长迟缓、苗弱苗小, 随着生育进程的推进, 植株多数死亡、存活率低。150 Gy 剂量处理可增加 M₁ 代单粒重, 但过高的辐照剂量存活率低, 不利于产生大群体而进行下一代有效的变异选择。建议应用重离子束处理大豆籽粒时, 以 100 Gy 以下辐照剂量为好。

关键词: 辐射育种; 重离子; 辐照剂量; 大豆; 出苗率; 存活率

中图分类号: S565.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-9841(2013)05-0587-04

Preliminary Investigation of Acceptable Heavy Ion Beam Irradiation Dosage Treated to Soybean (*Glycine max* L.) Seed

ZHANG Qiu-ying¹, YU Li-xia², LI Yan-sheng¹, DU Yan², LI Wen-jian², LIU Xiao-bing¹

(1. Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences/Key Laboratory of Mollisol Agroecology, Harbin 150081, China; 2. Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences/State Laboratory of Heavy Ion Accelerator, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Superior to conventional irradiation source, heavy ion beam is a new technique in plant mutation breeding, which has been applied in wheat, potato and vegetable. However, little information is available in soybean. Emergence rate, variation in growth and development performance, survival rate as well as single seed size in the first mutation progeny were examined by eleven released cultivars treated with six irradiation dosages. Delayed emergence, crippled cotyledon leaf, yellow and weak seedlings were observed. With the processes of development, more plants died off and thus fewer plants left at maturity. 150 Gy increased seed size while super-higher irradiation dosage was not effective in producing large population and thus mutation selection. 100 Gy was advised for extensive use of heavy ion irradiation in soybean mutation breeding.

Key words: Mutation breeding; Heavy ion; Irradiation dosage; Soybean (*Glycine max* L.); Emergence rate; Survival rate

利用 X 射线、 γ 射线、 β 射线、中子、激光、电子束、离子束等对植物体(种子、植株、器官)进行诱发突变已经得到广泛应用^[1-2]。射线辐射能够产生遗传变异(基因突变和染色体畸变),在较短时间内获得有利用价值的突变体,并从中直接或间接地选育出在生产上有利用价值的新品种。至 20 世纪末,已经有 56 个国家在 162 种植物上育成推广了 2 252 个品种,其中,我国辐射诱变育种在 40 多种植物上先后育成新品种 613 个,占世界辐射育种新品种总和的 27.2%,每年为国家增产粮食 33 亿~40 亿 kg,创经济效益 33 亿元^[3]。由于辐射育种具有突变频率高、变异谱广、育种周期短等特点,能够克服杂交育种只能利用已有的基因重组、不能创造新基因的缺点,对改进单一性状或少数性状效果好,尤其是对改进熟期、品质、抗病性等性状效果显著,已成为我国大豆育种技术中十分有效的手段之一^[4]。

我国的大豆辐射诱变育种始于 1958 年。黑龙

江省农业科学院的王彬如、翁秀英先后对辐射处理方法、处理剂量、后代变异规律与选择方法等进行了研究,利用 X 及 γ 射线处理满金仓和东农 4 号等大豆品种,相继育成黑农 4 号、黑农 5 号等多个大豆品种,这些品种熟期早、含油量高,曾在黑龙江省东部垦区农场大豆生产中发挥了重要作用,也证明了大豆辐射育种是可行的,其中黑农 6 号脂肪含量为 23.4%,是当时我国推广的含油量最高的大豆品种,而且比满金仓早熟 7~10 d^[5]。

一直以来,辐射诱变育种以 γ 射线为主,其中,1966~1983 年, γ 射线辐照育成品种占辐照诱变育种的 58.3%;然而,随着热中子、快中子、激光束等的应用,⁶⁰Co- γ 射线的使用比例逐渐下降。20 世纪 80 年代中期,中国科学院的余增亮先生探索性地将低能离子注入技术应用于植物的遗传改良,为离子注入植物诱变育种技术的兴起揭开了序幕^[6]。重离子束作为一种新的辐射源,具有传能线密度大、

收稿日期:2013-01-17

基金项目:哈尔滨市科技创新人才专项资金(2012RFXXN016);吉林省与中国科学院先导科技创新专项资金(2011CJT0019)。

第一作者简介:张秋英(1962-),女,研究员,主要从事大豆栽培、生理育种工作。E-mail:zhangqy@neigaehrb.ac.cn。

相对生物效应高、损伤后修复效应小、突变谱广、育种周期短的特点,而且可以利用它与生物体作用部位的局域性、可控性和可选择性来研究定点(位)诱变,进行定向育种。重离子束具有常规辐射源所没有的优势,是诱变育种途径的新技术^[7]。

2003年,中国科学院近代物理研究所与甘肃省张掖农业科学研究所合作,利用重离子束辐照技术培育出具有高产、稳产、适应性广、品质优良等特点的春小麦新品种陇辐2号,并在甘肃、青海和宁夏等地大面积推广^[8]。同时,该研究所也先后培育出高产优质的当归、黄芪突变系、甜高粱和大丽花等新品种^[9-10]。然而,目前重离子辐照诱变大豆的研究甚少。为此,利用中科院近代物理研究所提供的碳离子束对大豆干种子进行了辐照处理,旨在摸索离子束诱变大豆的最佳辐照剂量,研究离子束诱变大豆的辐射效应,为进一步利用离子束诱变培育大豆新品种奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 试验设计

于2012年4月在中国科学院近代物理研究所对大豆种子进行重离子辐照处理。辐照剂量参考已有的豆类作物半致死剂量。对合丰50和东生7号2个大豆品种进行6个剂量处理,分别为0(CK),100,150,200,300和400 Gy,同时对合丰35、合丰25、绥农26、绥农31、绥农22、中黄35、中黄30、中科毛豆1号和东生1号9个大豆品种进行200 Gy辐照剂量处理,不同品种处理种子数和百粒重见表1。

表1 不同大豆品种百粒重和辐照处理子粒数

Table 1 100-seed weight and treated seed number of different soybean cultivars

品 种 Cultivars	辐照粒数 Seeds number of irradiation	百粒重 100-seed weight/g
合丰50 Hefeng 50	90	19.9
东生7号 Dongsheng 7	114	16.7
合丰35 Hefeng 35	99	18.6
合丰25 Hefeng 25	98	17.1
绥农26 Suinong 26	102	20.3
绥农31 Suinong 31	106	21.3
中科毛豆1号 CAS 1	75	32.0
中黄35 Zhonghuang 35	103	17.1
东生1号 Dongsheng 1	103	19.8
中黄30 Zhonghuang 30	91	20.1
绥农22 Suinong 22	105	18.8

处理后的种子于2012年5月7日在中国科学院东北地理与农业生态研究所(哈尔滨)院内试验场播种,每个处理8 m行长,人工单粒点播,每处理

同垄前留出3 m行长种植未处理的种子为对照。试验地土壤为黑土,肥力中等,前茬为大豆。

1.2 测定项目与方法

生育期间记载出苗期,调查出苗率、存活率、记录长势长相,成熟时植株单株收获、计算单株单粒粒重。

出苗期为50%子叶出土展开的日期;出苗率为出苗株数占种植总粒数的百分数;存活率为出苗后不同时期成活生长的植株占苗期出苗植株的百分数;单株单粒重为成熟单株完整籽粒的总重量除以总粒数。

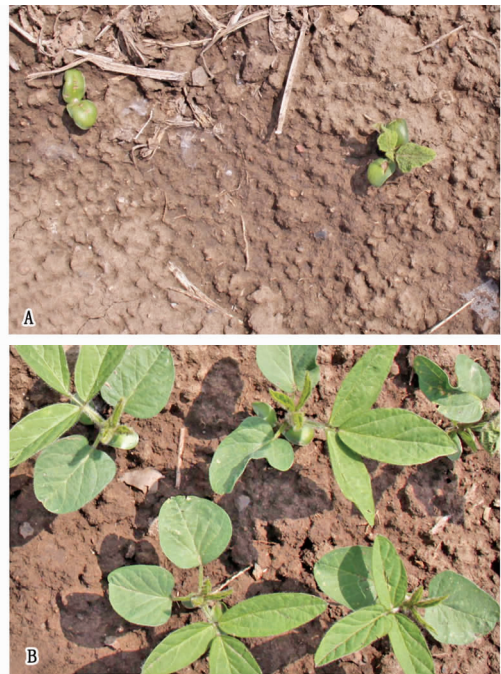
1.3 数据分析

采用Excel 2010和SPSS 13.0软件对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 M₁代大豆生育表现

重离子辐照处理的籽粒发芽能力下降、出苗迟缓、真叶发皱、幼苗黄化,出苗期晚于未处理对照4~5 d,而且生长迟缓、苗弱苗小。部分植株开花期提前2~3 d,多数植株生育期延长。5月30日辐照与未辐照的大豆出苗典型表现如图1所示。



A. 辐射豆苗;B. 未辐射豆苗

A. Irradiated soybean seedlings; B. Non-irradiated seedlings

图1 辐照与未辐照大豆苗期表现

Fig. 1 Seedling performance of irradiated and non-irradiated seeds

2.2 M₁代大豆出苗率

随着辐射剂量的增加,大豆出苗率逐渐降低。合丰50的出苗率由100 Gy的58%降到400 Gy的

24.4%,相应剂量的出苗率东生7号则由68.1%降到22.8%(图2),而未进行辐照的种子出苗率达93%~95%。在相同剂量的情况下,总体上东生7号出苗率要高于合丰50。

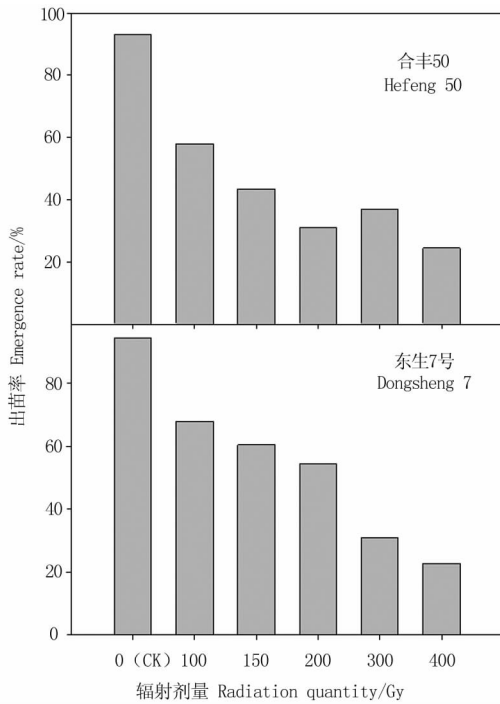


图2 不同辐照剂量对大豆出苗率的影响
Fig.2 Influence of different irradiation dosage on emergence rate in soybean

2.3 M₁代大豆存活率

不同大豆品种对重离子辐射敏感性不同。在200 Gy辐照情况下,随着生育进程的推进,植株存活率逐渐下降,处理品种正常收获成熟的存活率为4.4%~32.3%,其中,中黄35存活率最高,合丰50存活率最低(表2)。

表2 相同辐照剂量(200 Gy)对大豆不同时期存活率(%)的影响

Table 2 Influence of 200 Gy irradiation on survival rate of soybean at different stages

品种 Variety	一节期 V1	四节期 V4	六节期 V6	成熟期 R8
合丰50 Hefeng 50	31.1	14.4	7.8	4.4
东生7号 Dongsheng 7	54.5	19.3	17.5	13.2
合丰35 Hefeng 35	43.4	24.2	17.2	13.1
合丰25 Hefeng 25	55.1	31.6	18.4	8.2
绥农26 Suinong 26	53.9	31.4	27.5	25.5
绥农31 Suinong 31	61.3	26.4	20.8	16.0
中科毛豆1号 CAS 1	22.7	13.3	9.3	8.0
中黄35 Zhonghuang 35	51.6	34.4	32.3	32.3
东生1号 Dongsheng 1	58.6	42.7	36.9	31.1
中黄30 Zhonghuang 30	31.9	8.8	6.6	6.6
绥农22 Suinong 22	61.0	20.0	20.0	11.4

对合丰50和东生7号进行不同辐照剂量处理,发现辐照剂量越高,大豆存活率越低(表3)。100 Gy处理时,合丰50的存活率为18.2%,东生7号为25.0%;300和400 Gy处理收获成熟的存活率合丰50为2.2%~2.3%,东生7号也只有4.8%~5.3%,成活率显著降低。

表3 重离子辐射不同剂量对大豆不同时期存活率(%)的影响

Table 3 Influence of different heavy ion irradiation dosage on survival rate at different stages in soybean

品种 Variety	辐照剂量 Irradiation dosage/Gy	一节期 V1	四节期 V4	六节期 V6	成熟期 R8
合丰50	0	93.5	93.0	93.0	93.0
Hefeng 50	100	58.0	35.2	33.0	18.2
	150	43.5	23.5	14.1	8.2
	200	31.1	14.4	7.8	4.4
	300	36.8	11.5	6.9	2.3
	400	24.4	11.1	6.7	2.2
东生7号 Dongsheng 7	0	94.5	94.5	94.5	94.5
	100	68.1	34.5	30.2	25.0
	150	60.5	21.0	19.3	16.0
	200	54.5	19.3	17.5	13.2
	300	30.8	7.7	7.7	4.8
400	22.8	7.0	6.1	5.3	

2.4 M₁代大豆单粒重

不同辐照剂量处理对大豆单粒重有一定影响。150 Gy辐照剂量具有提高合丰50 M₁代单粒重的作

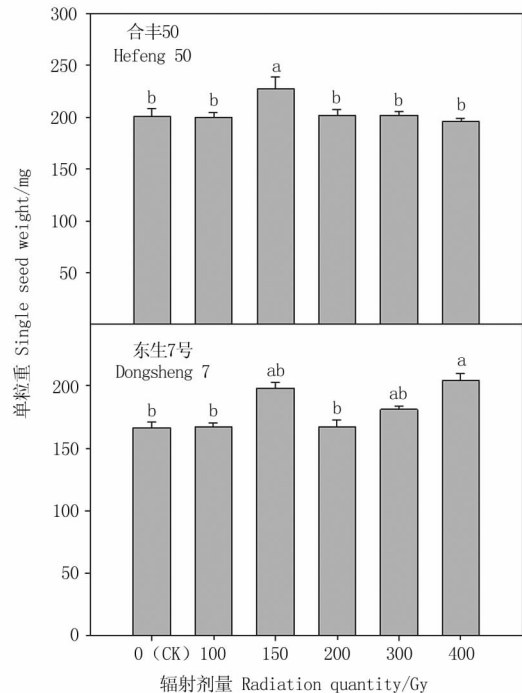


图3 不同辐照剂量对大豆M₁代单粒重的影响
Fig.3 Effect of different irradiation dosage on single seed weight in soybean

用,与其他剂量相比达显著差异($P < 0.05$),而其他辐照剂量处理之间无明显差异;150和400 Gy辐照剂量能提高东生7号的单粒重(图3)。总体上看,150 Gy剂量处理可增加 M_1 代单粒的粒重(图3)。

3 讨论

离子辐射育种是近年来发展起来的一种利用电离辐射诱发生物基因突变,从中选择需要的可遗传优良变异,培育优良品种的新技术^[12]。

王连铮等^[4]研究表明⁶⁰Co- γ 处理对大豆 M_1 有延迟生育期的作用,一般可延长7~20 d,并因不同剂量和不同材料而表现不同。在大豆上⁶⁰Co- γ 射线,一般常用剂量在50~200 Gy,合适的辐射剂量为辐照后的种子发芽率在50%左右^[11]。剂量过小,突变效果不明显,剂量过大,则出苗率下降^[3]。

本研究发现,重离子辐照对大豆 M_1 代同样产生极大的影响,表现为出苗率低、生长发育能力受阻,存活率下降,高辐照剂量作用效果显著。同时,所有品种在200 Gy剂量处理时,出苗率为22.7%~61.3%,其中,22.7%的出苗率是特用菜用大豆(属于大粒型,百粒重32 g以上),排除这个专用型大豆品种,普通大豆品种的出苗率为31.1%~61.3%,基本符合常规的辐射剂量保证出苗率50%的应用原则。然而,本研究发现200 Gy剂量处理的最终的存活率只有4.4%~32.3%,而且合丰50和东生7号100 Gy处理的成活率也只有18.2%和25.0%,不利于有效地进行下一代大群体的选择。因此,仅就有效性和创造更多的选择植株或变异的角度而言,建议应用100 Gy以下的重离子束辐照剂量为好,并且有必要进行50~100 Gy辐照剂量效应的探讨。当然,高辐照剂量处理的成活率尽管很低,可能变异幅度更大,创造出更多的变异植株,这有待于对现有存活的高剂量单株在高世代的进一步观察。

致谢:中国科学院副院长詹文龙院士给予本研究大力支持,中国科学院近代物理研究所所长肖国青研究员、副所长袁平研究员对本研究的开展提供便利,黑龙江省农业科学院佳木斯分院郭泰研究员、绥化分院陈维元研究员和中国科学院东北地理与农业生态研究所李艳华副研究员提供种子,在此一并表示感谢。

参考文献

[1] 陈子元. 从辐射育种的发展来展望航天育种的前景[J]. 核农

学报,2002,16(5):261-263. (Chen Z Y. Prospect of plant breeding by space flight from the views on development of irradiation breeding in China[J]. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica,2002,16(5):261-263.)

- [2] 官春云. 植物育种理论与方法[M]. 上海:上海科学技术出版社,2004:82-83. (Guan C Y. The theory and methods of plant breeding[M]. Shanghai:Shanghai Science and Technology Press,2004:82-83.)
- [3] 孙玉,姜永平,刘军民. 我国大豆辐射诱变育种研究进展与展望[J]. 山东农业科学,2008(1):14-17. (Sun Y, Jiang Y P, Liu J M. Achievement and prospect of soybean irradiation breeding in China. [J]. Shandong Agricultural Sciences,2008(1):14-17.)
- [4] 王连铮,裴颜龙,赵荣娟,等. 大豆辐射育种的某些研究[J]. 中国油料作物学报,2001,23(2):1-5. (Wang L Z, Pei Y L, Zhao R J, et al. Some research on soybean mutation breeding[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences,2001,23(2):1-5.)
- [5] 杜维广. 我国大豆辐射育种研究领域的开拓者—王彬如先生[J]. 大豆科技,2012(5):3. (Du W G. The pioneer of soybean irradiation breeding research in China—Wang Binru [J]. Soybean Science and Technology,2012(5):3.)
- [6] 吴跃进,余增亮. 离子注入在生物改良的应用[J]. 核农学通报,1996,17(6):288-290. (Wu Y J, Yu Z L. The application of ion implantation in biology improvement[J]. Nuclear Agricultural Science Bulletin,1996,17(6):288-290.)
- [7] 曾宪贤,王燕飞,张石峰,等. 离子注入甜菜种子生物效应[J]. 科学通报,1999,44(4):382-384. (Zeng X X, Wang Y F, Zhang S F, et al. Study on biological effect of sugar beet seed induced by ion implantation[J]. Bulletin of Science and Technology,1999,44(4):382-384.)
- [8] 赵连芝,王勇,甄东生,等. 春小麦突变新品种“陇辐2号”[J]. 核农学报,2005,19(1):80. (Zhao L Z, Wang Y, Zhen D S, et al. New mutation wheat variety of Longfu No. 2 [J]. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica,2005,19(1):80.)
- [9] 董喜存,李文建. 碳离子束辐照对甜高粱节间参数的影响[J]. 辐射研究与辐射工艺学报,2008,26(5):314-316. (Dong X C, Li W J. The influences on node parameters of sweet sorghum irradiated with ¹²C⁺⁶ ions beams [J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing,2008,26(5):314-316.)
- [10] 余丽霞,李文建,董喜存,等. 碳离子辐射大丽花矮化突变体的RAPD分析[J]. 核技术,2008,31(11):830-833. (Yu L X, Li W J, Dong X C, et al. RAPD analysis on dwarf mutant of *Dahlia pinnata Cav* induced by 80 MeV/u¹²C⁶⁺ ions [J]. Nuclear Techniques,2008,31(11):830-833.)
- [11] 翁秀英,王彬如,吴承礼,等. 大豆辐射育种的某些研究[J]. 遗传学报,1974,1(2):157-169. (Weng X Y, Wang B R, Wu C L, et al. Research on soybean mutation breeding [J]. Acta Genetica Sinica,1974,1(2):157-169.)
- [12] 王悦. 重离子束注入大豆种子的诱变效应研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2008. (Wang Y. The mutagenic effects research of heavy ion beam implantation on soybean seed [D]. Changsha: Hunan Agricultural University,2008.)