

诱变育种技术在大豆育种中的应用

陈丽霞,杜吉到,费志宏,郑殿峰,宋微微,王玲玲

(黑龙江八一农垦大学,黑龙江 大庆 166000)

摘要:诱变育种作为一种有效的创造新种质的方法,已被广泛地应用于植物育种中,其诱变的方法也不断发展。目前诱变育种中常用的几种方法:电离辐射诱变、离子束注入诱变、激光诱变、微波诱变、磁诱变育种、化学诱变以及近年发展起来的航空诱变育种;对其诱变机理、在大豆育种中的应用、存在的问题以及今后的发展方向进行阐述。

关键词:大豆;诱变育种;诱变机理

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2008)05-0874-05

Induced Mutation Technique and the Application on Soybean Breeding

CHEN Li-xia, DU Ji-dao, FEI Zhi-hong, ZHENG Dian-feng, SONG Wei-wei, WANG Ling-ling

(Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing 166000, Heilongjiang, China)

Abstract: As an available method of creating new germplasm, mutation breeding has been used in plan breeding comprehensively, and the methods of mutation breeding also developed continually. This paper mainly introduced several methods which always be used in mutation breeding: radiation mutation, ion-implantation mutation, laser radiation mutation, microwave mutation, magnetic mutation, chemical mutation and space mutation developed recently; besides, their mutation mechanisms, the application on soybean breeding, the current problems and the development trend were also discussed.

Key words: Soybean; Induced mutation breeding; Mutation mechanism

诱变育种(induced mutation breeding)是指利用各种理化因素诱发变异,再通过选择而培育新品种的方法^[1],与常规育种方法相比,具有方法简便、育种周期短、效果好等特点,其在改良作物品种和创造新种质方面发挥了巨大作用,已成为世界上普遍应用的先进育种方法之一,尤其是与杂交育种技术的结合,育种效果更为显著。目前在育种上应用的诱变方法有物理诱变法、化学诱变法和空间诱变法等。

1 物理诱变法

物理诱变法是指利用一些物理因素处理农作物种子、花粉、器官、植株,引起植物染色体发生畸变,诱发出新的可遗传变异,从中筛选出有利变异性状的后代,育成新的品种。此方法具有诱变频率高、变异范围大、有利变异性状稳定快等优点。

1.1 电离辐射诱变

这是最早也是应用最广泛的一种诱变方法。主要是利用 α 射线、 γ 射线、 β 射线和中子等进行诱变处理。其中应用最多的是 α 射线和 γ 射线。这些射线能量高、穿透力强,可以使原子的内层电子激活释放,至使原子呈离子化而与其它原子或分子结合,造成共价键断裂,形成染色体结构变异。

试验证明,辐射诱变具有使突变体产生早熟、矮秆、抗病、株型和育性突变^[2-4]的特点,可结合育种目标加以利用。此外有关辐射诱变改善品种的品质性状的研究也越来越多。日本九州农业试验站利用 γ 射线照射大豆品种,后代选择得到了酯氧合酶完全缺失的突变体,由于酯氧合酶控制着大豆的豆腥味,因此该突变体豆腥味明显减少,由此而制成的大豆食品风味大大提高^[5];浙江大学的 Yuan Feng-jie 等^[6]利用 γ 射线处理大豆种子,后代选择育成有机磷含量大大减低的突变体。由于 PA(肌醇六磷酸)中的有机磷不被人体或非反刍类的动物所吸收,不

收稿日期:2008-03-31

基金项目:黑龙江省农垦总局“十一五”科技攻关资助项目(HNKXIV-09-14)。

作者简介:陈丽霞(1981-),女,硕士研究生,研究方向为大豆遗传育种。E-mail:chenlixia0817@126.com。

通讯作者:费志宏,副研究员。E-mail:fzh70@sohu.com。

但影响营养物质的吸收,还能通过排泄物造成对地下水的 P 污染。因此减少有机磷的含量可以提高大豆食品的营养价值。

1.2 离子束注入诱变

1986 年中国科学院等离子物理研究所率先开展了离子注入生物学效应并将此项技术应用于植物育种^[7]。目前已在诱变机理和育种应用上取得重要进展。离子注入诱变育种具有损伤轻,突变率高和突变谱广的特点,是人工诱变方法的一个新发展。

离子注入植物,可引起能量传递、质量沉积、动量和电荷的交换。当能量沉积作用于遗传物质时,造成 DNA 分子的断裂与重接,进而引起染色体结构的易位、倒位、重复、缺失,最后引起基因突变^[8]。目前,离子束注入法已广泛应用于小麦、水稻、棉花、玉米等作物的诱变育种研究,但在大豆上的应用还较少。郭金华等^[9]采用能量为 25keV 不同剂量的 N^+ 注入丰豆 103 的种子,研究发现辐射引起的损伤可随生长时间的增加而有所恢复且经 N^+ 离子处理后的种子可通过诱导谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和抗坏血酸过氧化物酶(ASA-POD)等抗氧化酶活性的升高起到减轻伤害的作用。

离子束注入技术还在植物转基因及远缘杂交上得到应用。吴丽芳等^[10]利用离子注入法将两个大豆品种的全 DNA($400\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)分别导入两个小麦栽培品种皖 9210 和扬麦 5 号,并对其后代的变异作了分析。发现有两个单株的蛋白质含量分别达到 20.46% 和 25.35%,明显高于受体。说明通过离子束介导外源 DNA 转化技术,可以绕过复杂的组培过程而由成熟种子直接发育为植株,也可获得带有目的性状的转化后代,为远缘物种间遗传物质交流提供了一种简便有效的途径。

1.3 激光诱变育种

激光诱变育种开始于 60 年,美国、苏联、澳大利亚、加拿大等国家研究较早。我国激光诱变育种是从 1972 年开始的,由四川大学生物系首先进行激光油菜种子的诱变研究,之后相继育成了油菜、番茄、黄瓜、菜豆、蚕豆等激光诱变品种,至 1995 年,已育成 42 个农作物新品种。

激光诱变作为物理诱变的一种方式,其生物学效应直接来源于其产生的光、电、热、压力和磁效应的综合作用。上述效应累积,使细胞 DNA 分子吸收、聚积能量并进行能量再分配,使细胞 DNA 处于一种易于突变的状态,继而发生一系列的诸如断键、

聚合、交联等物理和化学变化,导致 DNA 分子结构的改变即 DNA 分子的损伤和突变,最终引起突变株生物学属性变化^[11]。

目前,激光诱变育种技术已被广泛应用在农作物育种、微生物育种、家禽、鱼类、畜牧育种等多个领域。在大豆育种方面,安徽农业大学采用 Ne 激光育成的大豆新品种安激 2 号,高产、适应性范围广、蛋白质和脂肪含量高,同时抗花叶病毒和孢囊线虫病,已推广种植面积达 6 万 hm^2 ,种植面积还在迅速扩大;采用有性杂交和激光红宝石辐照交替进行,选育出的蛋白质、脂肪含量高的菜用大青豆新品种 AG0 菜用大青豆(简称 AG0),具早熟、适应性广、抗逆性强、耐迟播、产量高和效益好等特性。为有性杂交与诱变处理相结合的育种方法提供了一定的依据^[12]。张建东等^[13]发现 CO_2 激光不同功率密度和不同照射时间都对发芽率、淀粉酶活性、可溶性蛋白质、可溶性糖含量和氨基酸含量产生影响。这些参数为进一步研究 CO_2 激光辐照大豆的生物学效果提供了一定参考。

1.4 微波诱变育种

微波辐射属于一种低能电磁辐射,对生物体具有热效应和非热效应。其热效应是指它能使生物体局部温度上升,从而引起生理生化反应;非热效应指在微波作用下,生物体会产生非温度关联的各种生理生化反应。在这两种效应的综合作用下,生物体会产生一系列突变效应^[14-15]。因而,微波也被用于多个领域的诱变育种,如农作物育种、禽兽育种和工业微生物育种,并取得了一定成果。但在大豆育种方面的研究还较少。张月季等^[16]利用微波处理大豆种子,发现微波对种传真菌有一定的杀灭作用,可以促进种子萌发和植株的生长,提高其后期抗病能力。

1.5 磁诱变育种

有关磁场生物效应的研究证明,磁场可以引起遗传物质的变化,产生遗传上的磁致变异效应。这一研究为磁诱变育种方法的探索提供了依据。20 世纪 70 年代初,黑河农业科学研究所大豆育种研究室曾探索用磁诱变育种的方法,1999 年又对黑河 23 品种进行了磁诱变。结果显示,利用 0.12~0.16T 高强恒定磁场处理大豆花器官方法简便,对大豆具有诱导性状变异的作用,许多由磁诱变的性状变异能够传给后代,并稳定早,可缩短育种年限。通过对变异后代进行田间筛选,获得早熟、丰产、花色等突变类型,为大豆育种提供了较丰富的遗传变异基础

材料^[17]。

2 化学诱变育种

化学诱变育种是利用化学诱变剂诱发作物突变,通过多世代对突变体进行选择 and 鉴定,直接或间接地培育成生产上能利用的农作物品种^[18],具有成本低、使用方便、诱变作用专一性强等特点,是一种迅速发展的育种途径。它开始于 20 世纪初。1943 年 Ochler 用脲烷处理月见草以后,化学药剂的诱变作用得到了肯定。

2.1 化学诱变剂种类

化学诱变剂大致包括碱基类似物、碱基修饰剂和嵌入染料 3 大类。而在农作物育种中应用较广泛的是甲基磺酸乙酯(EMS)、叠氮化钠(NaN_3)、平阳霉素(PYM) 3 种。

2.2 化学诱变在大豆育种上的研究与应用

世界大豆化学诱变育种始于 1957 年,此后各国先后开展了此领域的研究。我国于 1958 年开始大豆诱变研究,至今已育成一大批高产、优质、抗病性强的大豆新品种。李占军等^[19]诱变育成大豆新品种“化诱 5 号”;于秀普等^[20]应用 EMS 附加平阳霉素(PYM)后处理大豆种子,经过累代选择培育的冀豆 8 号,已在生产上大面积推广应用。

20 世纪 70 年代中期,人们对育成大豆的要求不再仅仅是产量的提高,而是逐渐转向其他品质方面的研究。Hamond 和 Fehr^[21]研究指出, χ 射线与化学诱变剂对降低亚麻酸含量有较好的效果。Wilcox^[22]采用 EMS 处理获得了亚麻酸含量 3%~4% 的稳定突变体。利用化学诱变剂 EMS、NMU 或者 ENU,Sebastian 等^[23]分离出对磺脲类除草剂抗性增加的大豆新品种。

2.3 新型化学诱变技术

为提高诱变效率,增加有效突变率,除传统的、单一的诱变方法外,一些新的、复合型的化学诱变方法也开始应用于育种。

2.3.1 石蜡油—EMS 技术 此技术目前仅在玉米、水稻育种有所应用。大豆育种方面还未见报道。薛守旺等^[24]于 1996 年进行了石蜡油-EMS 诱变玉米成熟花粉的研究,结果得到中 01 浅黄粒突变体、母株发芽突变体、多黄 22 显性核不育突变体和近等基因系 Sul Sul 型甜玉米。

2.3.2 苯甲酰胺与 NaN_3 、EMS 的复合处理 林朴夫等^[25]以苯甲酰胺与 EMS 对大麦复合处理,结果

表明与二者单因子处理相比,抑制苗高的效应明显。诱发的染色体畸变率较高,对发芽率也有明显的影响,并随着苯甲酰胺浓度增加而明显增强。

3 空间诱变育种

空间诱变育种是利用太空环境所具有的高真空、微重力和多种高能粒子辐射等综合物理因素,直接对作物的生存、生长、发育、衰老甚至癌变产生影响,引起植物细胞染色体畸变频率增加及同工酶变异和基因突变,获得地面常规方法无法得到甚至是罕见突变种质材料和资源,选育突破性的新品种的方法。

与常规方法相比,它具有有益突变多、变异幅度大、稳定快的特点,是培育高产、优质、早熟、抗病农作物新品种、新种质资源的新途径;能明显加快育种进程、缩短育种周期,提高育种效益。

中国于 1987 年开始空间诱变育种试验。到目前为止,我国利用航天诱变技术已培育水稻、小麦、玉米、大豆、青椒、蕃茄、黄瓜等许多农作物、蔬菜和一些花卉新品种(系)及优良菌种。在大豆方面,通过航天诱变育种培育的高产、抗病大豆新品系航天 1 号,产量比对照增产 11% 以上,东北农业大学大豆研究所已从卫星搭载处理的大豆中筛选出多分枝优良变异体,有望获得高产新品种(系)^[26]。

4 存在的问题与展望

4.1 存在问题

与常规育种方法相比,诱变育种具有后代性状稳定快,育种周期短等优点,但也存在一些不足。主要表现在以下几个方面:

4.1.1 突变频率和突变方向的不确定性 突变率过低,有利突变太少仍是影响诱变育种发展的瓶颈。要解决这一问题,就必须开发新的诱变源,寻求最先进的诱变技术,提高突变率,扩大突变谱,以加大选择机会。

4.2.2 突变后代的筛选问题 突变体的选择与鉴定在植物诱变育种中占有举足轻重的位置,进行突变体的早期分离、选择是获得有益变异的重要途径。目前常用的选择方法有以下几种:一、形态学和细胞学方法。形态学方法主要是根据诱变植株与对照植株在苗期性状差异来分离突变体,如形态特征、出苗率、熟期、抗性变异对突变体进行早期鉴定。细胞学方法就是观察突变植株的染色体,包括观察染色

体的数量和结构变化。目前这两种方法常常与其它鉴定方法相结合来选择突变体;二、生理生化方法通过检测诱变植株体内的蛋白质含量、同功酶及过氧化物酶活性来选择突变体;三、现代分子生物学方法。随着现代生物技术的发展及 RAPD、RFLP 和 AELP 等技术在植物育种中的应用,现代分子生物学方法越来越多的应用于突变体的选择。人们将会从分子水平对突变体进行早期鉴定。

4.2 展望

诱变育种作为丰富种质资源,选育新品种的重要手段之一,已被广泛应用于植物的育种。据报道,目前世界上已经有 50 多个国家在 154 种植物上利用诱变方法育成了 1737 个品种。其在创制具有高产、矮秆、早熟等农艺性状的新品种和新材料方面已经取得了一大批丰硕的成果,但尚无法实现真正意义上的调控诱变育种,现有技术方法仍然存在着相当大的随机性。为此,必须加强机理研究,尤其需要加强与分子生物技术等其他新技术的结合,不断提高诱变效率,最终实现调控诱变育种。此外,包括航天育种技术在内的新诱变因素的研究、开发与利用,必将进一步拓宽辐射诱变育种的研究领域,带来新的生长点和创新点。

参考文献

- [1] 张天真. 作物育种学总论[M]. 北京:中国农业出版社,2003:92. (Zhang T Z, Crops Breeding[M]. Beijing: Agriculture Press, 2003:92.)
- [2] 王彩莲. 诱发突变与大麦改良[J]. 核农学通报,1997,18(5):238-242. (Wang C L. Mutation and meliorating barley [J]. Acta Agriculturae Nucleatae Bulletin,1997,18 (5):238-242.)
- [3] 张铭铎. 抗稻瘟病突变体的诱发和筛选研究[J]. 核农学报,1990,4(2):75-79. (Zhang M X. Study on induction and selection of mutants for blast disease (*Piricula oryzae*) resistance[J]. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica,1990,4 (2):75-79.)
- [4] 杨学举. 小麦辐射育种研究进展[J]. 核农学通报,1997,18(5):243-246. (Yang X J. Advances in radiation induced mutation breeding of wheat[J]. Acta Agriculturae Nucleatae Bulletin,1997,18 (5):243-246.)
- [5] 陆兆新. 日本辐射诱变育种的最新进展[J]. 核农学报,1997,18(6):298-299. (Lu Z X. The new advances in radiation induced mutation breeding in Japan[J]. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica,1997,18(6):298-299.)
- [6] Yuan F J ,Zhao H J, Ren X L, et al. Theoretical and applied genetics generation and characterization of two novel low phytate mutations in soybean (*Glycine max* L. Merr.) [J]. Theoretical and Applied Genetics,2007,115(7):945-957.
- [7] 余增亮,何建军,邓建国. 离子注入水稻诱变育种机理初探[J]. 安徽农业科学,1989,39 (1):12-16. (Yu Z L, He J J, Deng J G. Preliminary studies on the mutagenic mechanism of the ion implantation on rice [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 1989,39 (1):12-16.)
- [8] 陈慧选,余增亮,陈慧平. 浅谈离子束在生物品种改良上的应用[J]. 山西农业科学,1989,26(1):83-84. (Chen H X, Yu Z L, Chen H P. Short talks on the application of ion beam in biological varieties improvement [J]. Journal of Shanxi Agriculture Science,1989,26(1):83-84.)
- [9] 郭金华,谢传晓,徐剑,等. N^+ 离子注入对大豆种子活力及其幼苗的抗氧化酶活性影响[J]. 激光生物学报,2003,12(5):368-372. (Guo J H, Xie C X, Xu J, et al. Effects of N^+ ion implantation on seed vigor of soybean and some antioxidase activity in soybean seedling [J]. Acta Laser Biology Sinica,2003,12 (5):368-372.)
- [10] 吴丽芳,余增亮. 离子注入法获得大豆—小麦分子远缘杂种及后代的变异分析[J]. 核农学报,2000,14(4):206-211. (Wu L F, Yu Z L. Distant molecular hybrid derived from soybean and wheat with ion implantation and variation analysis [J]. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica,2000,14(4):206-211.)
- [11] 向洋. 激光诱变及生物学作用机制研究[J]. 光电子激光,1994,5(2):87-90. (Xiang Y. Study on the mechanism of laser variation and biological effect [J]. Journal of Optoelectronics Laser,1994,5(2):87-90.)
- [12] 黄正来,武立权,韩立德. 花期追施氮肥对菜用大豆 AC10 生理指标及产量影响的研究[J]. 激光生物学报 2005,14 (3):193-197. (Huang Z L, Wu L Q, Han L D. Effect of dressing nitrogen on physiological index and yield vegetable of soybean variety AC _ (10) at anthesis [J]. Acta Laser Biology Sinica,2005,14 (3):193-197.)
- [13] 张建东,陈怡平,王勋陵. CO_2 激光处理对大豆种子萌发及生理的影响[J]. 西北植物学报,2004,24(2):221-225. (Zhang J D, Chen Y P, Wang X L. Effects of CO_2 laser treatment on seeds germination and physiology of soybean [J]. Acta Botanica Boreali - occidentalia Sinica,2004,24(2):221-225.)
- [14] Leach W M. Genetic growth and reproductive effects of microwave radiation [J]. Bulletin of the New York Academy of Medicine, 1980,56(2):249-257.
- [15] Kirsschvink Jr. Microwave absorption by magnetite; A possible mechanism for coupling nonthermal levels of radiation to biological systems [J]. Bioelectromagnetics,1996,17(3):187-194.
- [16] 张月季,翁才浩,游汝恒,等. 微波处理植物种传真菌的效应激对寄主植物的影响[J]. 浙江农业学报,1995,7(6):292-493. (Zhang Y J, Weng C H, You Y H, et al. Effect of microwave treatment on seed-borne fungi and its host plants [J]. Acta Agriculture Zhejiangensis,1995,7(6):292-493.)
- [17] 姜宇. 大豆磁诱变育种新方法的探索初报[J]. 辽宁农业科学,2005(5):48-49. (Jiang Y. Exploration of new breeding method of magnetic mutagen on soybean [J]. Liaoning Agriculture Science, 2005(5):48-49.)
- [18] 安学丽,蔡一林. 化学诱变及其在农作物育种上应用[J]. 核农学报,2003,17(3):239-242. (An X L, Cai Y L. Chemical muta-

- gen and its application in plant breeding [J]. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 2003, 17(3): 239-242.)
- [19] 李占军, 魏玉昌, 杜连恩. 大豆新品种化诱 5 号的选育及栽培技术[J]. *河北农业科学*, 2005(2): 63-64. (Li Z J, Wei Y C, Du L E. Breeding and cultivation technology of new soybean cultivar Huayou 5 [J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2005(2): 63-64.)
- [20] 于秀普, 杜连恩, 魏玉昌. 大豆新品种冀豆 8 号的选育[J]. *中国油料*, 1994, 16(4): 58-59. (Yu X P, Du L E, Wei Y C. Breeding of new soybean cultivar Jidou 8 [J]. *Chinese Journal of Oil Crops*, 1994, 16(4): 58-59.)
- [21] Hammond E G, Fehr W R. Registration of A5 germplasm line of soybean (Reg. No. GP44) [J]. *Crop Science*, 1983, 23: 192.
- [22] Wilcox J R, Cavins J F, Nielsen N C. Genetic alteration of soybean oil composition by a chemical mutagen [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1984, 61: 97-100.
- [23] Sebastian S A, Fader G M, Ulrich J F, et al. Semidominant soybean mutation for resistance to sulfonyleurea herbicides [J]. *Crop Science*, 1989, 29: 1403-1408.
- [24] 薛守旺, 周洪生. 利用花粉化学诱变创造玉米自交系的研究 [J]. *作物杂志*, 1998, 6: 6-8. (Xue S W, Zhou H S. The study on inducing corn inbred line by chemical mutagenesis of pollen [J]. *Crops*, 1998, 6: 6-8.)
- [25] 林朴夫, 黄恩宏, 李国全, 等. 苯甲酰胺与 EMS 复合处理对大麦损伤效应的研究 [J]. *核农学通报*, 1994, 15(1): 25-28. (Lin P F, Huang A H, Li G Q, et al. Study on damage effect of Pingyang-mycin - EMS treatment in barley [J]. *Acta Agriculturae Nucleatae Bulletin*, 1994, 15(1): 25-28.)
- [26] 密士军, 郝再彬. 航天诱变育种研究的新进展 [J]. *黑龙江农业科学*, 2002(4): 31-33. (Mi S J, Hao Z B. The recent progress on breeding by spaceflight mutagenesis [J]. *Heilongjiang Agricultural Science*, 2002(4): 31-33.)

第五届国际大豆加工利用大会将在印度博帕尔召开

国际大豆加工利用大会 (The International Soybean Processing and Utilization Conference, ISPUC) 是大豆加工利用研究重要的国际交流平台, 在大豆研究上具有重要的地位和广泛的影响, 该大会已经举办了四届, 分别是:

ISPUC- I Gonzhuling & Beijing, China June 26- July 2, 1991

ISPUC- II Bangkok, Thailand January 8-13, 1996

ISPUC- III Tsukuba, Japan October 15-20, 2000

ISPUC- IV Foz do Iguassu, Brazil February 29- March 5, 2004

第五届国际大豆加工利用大会 (ISPUC- V 2008) 将于 12 月 10-14 日在印度博帕尔举行, 由印度农业工程中央研究所和大豆加工利用中心承办, 大会委员会成员为:

Dr Karl Weingartner, USA; Chairman

Dr G S Chouhan, India; Vice- Chairman

Dr Akinori Noguchi, Japan; Secretary

Dr. Vidyadhar Kawalkar, India; Member

Dr Li Lite, China; Member

Dr Somsak Srisombun, Thailand; Member

Dr Jean Dayde, France; Member

Dr Cornelius Muthuri, Kenya; Member

Dr Jose Marcos Mandarin, Brazil; Member

大会主要议题为:

1 Production for Processing and Utilization (Varietal variability of soybean for specific end uses)

2 Quality Control (Post harvest management of soybean for processing)

3 Nutrition and Physiological Functionality (Role of soybean as nutritional, therapeutic and functional food)

4 Traditional Foods (Technology for soy based traditional oriental foods)

5 Modern Processing for Value Added Diversified Soy Food Products (Processing soybean using chemical, physical, and biological methods)

6 Oil and Soy-meal (New processing technologies for soy-oil and soy-meal)

7 Innovative/ New Industrial Uses (Industrial uses of soybean and by-products)

8 Strategies for Dissemination of Technology (Policy to enhance soybean utilization and marketing strategy)

大会论文接收截止日期:

摘要接收: 2008. 8. 30 以前

采用通知时间: 2008. 09. 15

全文接收时间: 2008. 10. 15

详细信息参见: http://www.ciae.nic.in/ispuc_v_2008_first_circular.pdf