



东北春大豆⁶⁰Co-γ 辐射和 EMS 诱变的突变特点分析

薛永国¹, 刘鑫磊¹, 唐晓飞¹, 曹 旦¹, 胡少新², 王永斌³, 王广金¹, 栾晓燕¹

(1. 黑龙江省农业科学院 大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院 玉米研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 3. 黑龙江省农业科学院 生物技术研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要: 为对比不同品种、不同诱变方法和剂量的诱变效果, 以便给大豆诱变育种和突变体库构建提供有效途径, 对 4 个东北春大豆品种黑农 48、黑农 84、绥农 52 和绥农 42 进行⁶⁰Co-γ 辐射和甲基磺酸乙酯(EMS)的诱变处理, 调查分析其 M₁ 和 M₂ 代出苗率、成株率、不育性、蛋白、脂肪及其它农艺性状。研究发现各品种对不同诱变方法反应敏感度不同, 黑农 48 对辐射诱变敏感度高, 黑农 84、绥农 52 和绥农 42 对化学诱变敏感度高。辐射诱变和化学诱变 M₁ 代均会对各品种不同性状产生影响, 但这种影响多数由生理伤害造成。两种诱变方式对品种诱变影响各具特点, 辐射诱变具有明显的苗后致死性, 而且对不育性影响更明显; 化学诱变更温和, M₁ 代成株率更高。两种诱变 M₂ 代的出苗率、成株率、不育性、蛋白含量、脂肪含量及其它农艺性状趋于相同, 但辐射诱变在叶型、分枝、黄化株、育性等方面的突变率比化学诱变高, 这些变化特点的研究可为诱变育种或者构建突变体库提供基础依据。

关键词: 大豆; ⁶⁰Co-γ 辐射; 甲基磺酸乙酯; 分离世代; 突变

Analysis on Characteristics of Mutant Population by ⁶⁰Co-γ and EMS Mutagenesis in Northeastern Soybean Cultivars

XUE Yong-guo¹, LIU Xin-lei¹, TANG Xiao-fei¹, CAO Dan¹, HU Shao-xin², WANG Yong-bin³, WANG Guang-jin¹, LUAN Xiao-yan¹

(1. Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy Agricultural of Science, Harbin 150086, China; 2. Institute of Corn, Heilongjiang Academy Agricultural of Science, Harbin 150086, China; 3. Institute of Biotechnology, Heilongjiang Academy Agricultural of Science, Harbin 150086, China)

Abstract: Physical and chemical mutagenesis of soybean is an important way to obtain germplasm resources, and also an important means of soybean breeding. By comparing the mutagenic effects of different varieties, different mutagenic methods and doses, we can provide an effective way for soybean mutagenic breeding and mutant library construction. In this study, ⁶⁰Co-γ radiation and EMS mutagenesis were carried out on four spring soybean varieties Heinong 48, Heinong 84, Suinong 52 and Suinong 42 in northeast China. The emergence rate, adult rate, sterility, protein, fat and other agronomic traits of M₁ and M₂ generation were investigated and analyzed. The results showed that the sensitivity of each variety of different mutagenesis methods was different. Heinong 48 was highly sensitive to radiation mutagenesis. Heinong 84, Suinong 52 and Suinong 42 were highly sensitive to chemical mutagenesis. Radiation mutagenesis and chemical mutagenesis of M₁ generations can affect different traits of different varieties, but most of these effects were caused by physiological injury. The radiation mutagenesis had obvious post-seedling lethality, and the effect on sterility was more obvious. The chemical mutagenesis was mild, and the adult rate of M₁ generation was higher. The emergence rate, adult rate, sterility, protein, fat and other agronomic traits of the two mutant M₂ generations tend to be the same, but radiation mutagenesis were higher than chemical mutagenesis in leaf type, branching, yellowing plant and sterile line. The study of these characteristics can provide basis for mutagenesis breeding or mutant bank construction.

Keywords: Soybean; ⁶⁰Co-γ radiation; EMS; Separated generations; Mutation

辐射诱变和化学诱变是构建突变体库、获得用于育种或者分子生物学的突变体的方法, 也是获得大豆遗传材料资源的重要方法^[1]。关于各诱变方法的原理和特点的研究较为充分^[2-4], 辐射诱变是

收稿日期: 2019-04-10

基金项目: 黑龙江省科技厅重点研发项目 (GA18B101); 国家重点研发计划大豆等经济作物诱变育种技术创新与品种创制 (2016YFD0102105, 2016YFD0100201-10)。

第一作者简介: 薛永国 (1981-), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: xyg81@126.com。

通讯简介: 栾晓燕 (1964-), 女, 硕士, 研究员, 主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: luanxiaoyan1201@163.com。

在人工控制的条件下,利用快中子、质子或者射线等物理辐射诱变因素对种子进行辐照,诱发其染色体的数量、结构或基因变异,从而得到可稳定遗传的突变体,并在此基础上进一步培育新品种或者进行分子生物学研究^[5]。辐射诱变因电离而产生的自由基较易作用于嘧啶,从而引起缺失和损伤,造成基因突变及染色体倒置、缺失和易位等畸变^[6],突变率较高,可达 3% 以上。化学诱变是利用化学物质的烷化等化学特性对 DNA 的碱基的氢键造成影响,进而影响碱基排列顺序,从而产生突变^[7]。化学诱变多是点突变,但变异率比较低,约为 0.1%~0.5%^[8]。由于诱变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的局限,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,已成为中国大豆育种技术中十分有效的手段之一^[9]。

利用辐射诱变和化学诱变构建大豆突变体库应用已久^[1, 8, 10-12],中国大豆辐射育种从 1957 年开始,1967 年第一个辐射品种黑农 4 号培育成功,目前几乎每年都有通过辐射诱变育成的大豆新品种^[13],通过辐射育成的大豆品种占全部品种的 5.9%^[14]。中国大豆化学诱变从 1958 年开始,创制出了具有高产、优质、早熟、矮秆、抗病等农艺性状的新材料和新品种^[15]。研究表明辐射诱变⁶⁰Co- γ 处理对大豆 M₁ 有延迟生育期的作用,并因不同剂量和不同材料而表现不同,剂量过小,突变效果不明显,剂量过大,则出苗率下降^[16]。

但是,辐射诱变和化学诱变引起的表型变化有何异同,对不同基因型品种的诱变效果有何差异、针对同一基因型品种的诱变效果各自特点的研究鲜有报道,通过对比不同品种、不同诱变方法和剂量的诱变效果,以及引起的表型变异的特点,可以把握两种诱变方法的表型变异特点,为大豆突变体库构建和获得特殊遗传材料资源提供基础。本研究应用⁶⁰Co- γ 和甲基磺酸乙酯(EMS)分别处理东北春大豆品种黑农 84、黑农 48、绥农 52 和绥农 42,对它们的 M₁、M₂ 代进行分析,研究不同诱变方法、不同处理剂量对不同品种诱变效果的差异。

1 材料与方法

1.1 材料

供试品种为黑龙江省农科院培育的黑农 48、黑农 84、绥农 42、绥农 52。

1.2 方法

取 1 kg 供试种子分别进行⁶⁰Co- γ 射线照射和 EMS 处理。⁶⁰Co- γ 照射在黑龙江省农业科学院玉米研究所辐照技术室完成,设置 120 Gy 和 140 Gy 不同剂量处理,2 个处理时长分别为 120、140 min,剂量率均为 1 Gy·min⁻¹,处理后室温避光放置 2 d 以上。EMS(SIGMA,化学纯),配置成浓度为 0.6%、0.8% (质量体积比,用 0.1 mol·L⁻¹、pH7.0 磷酸盐缓冲液配制) 2 个处理液,浸泡种子 12 h,流水冲 10 min,室温避光放置晾干。

2017 年在黑龙江省农科院民主园区试验田种植 M₁ 代,各品种 4 个诱变处理的种子均按照 5 m 行长、株距 5 cm 种植 40 行,每隔 10 垄设各品种未诱变的种子作为对照,收获考种。2017 年在黑龙江省农科院民主园区试验田种植 M₂ 代,各处理播种的 M₂ 代个体分别为 4 000 株,仍按照 5 m 行长、40 行、株距 5 cm 种植,每隔 10 垄设各品种未诱变的种子作为对照种植。

调查分析不同处理 M₁ 和 M₂ 世代的苗期出苗率、花期和成熟期成株率和畸形苗进行调查比较。对不同处理下 M₁ 世代植株蛋白质和脂肪含量、生育性、株高、分枝数、一粒荚、二粒荚、三粒荚、四粒荚、单株粒重、百粒重、瘪荚数农艺性状进行调查分析。对不同处理下 M₂ 世代植株表型性状变异类型、蛋白质和脂肪含量进行调查分析,蛋白质和脂肪含量测定采用近红外光谱扫描仪(FOSS Infratec TM 1241)。

1.3 数据分析

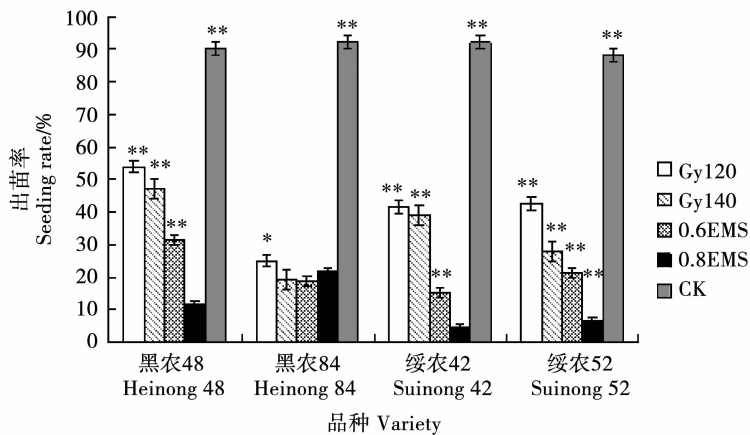
采用 Excel 2000 和 SPSS 18.0 进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 不同诱变条件下出苗和生长情况对比

2.1.1 出苗率比较 M₁ 代各品种在不同处理下的出苗率差异明显,辐射诱变出苗率明显高于化学诱变,同时 120 Gy 处理的出苗率明显高于 140 Gy 处理。0.6% EMS 处理出苗率明显高于 0.8% EMS 处理。0.6% EMS、0.8% EMS、120 Gy、140 Gy 4 个处理的平均出苗率分别是 21.60%、12.80%、42.40%、32.30%,对照的平均出苗率是 92.18% (图 1)。

不同品种对不同处理的反应敏感度存在显著差异,辐射诱变处理时,黑农 48 和绥农 42 出苗率明显高于其它品种,同时,除黑农 84 对各处理的反应差异不明显、出苗都比较低外,其它 3 个品种の出苗率敏感度对不同处理存在明显差异(图 1)。



* 和 ** 分别表示同一品种不同处理间在 0.05 和 0.01 水平存在显著或者极显著性差异。下同。

* and ** respectively mean significant at $P < 0.05$ or extremely significant at $P < 0.01$ difference between the same variety under different treatment. The same below.

图 1 各品种在不同诱变处理下 M₁ 代的出苗率

Fig. 1 Feeding rate and plant rate of various cultivars under different treatments at M₁ generation

M₂ 代 4 个品种的出苗率分别为 91.22%、92.42%、92.20%、90.46%，对照为 91.8%，品种间及与对照间均无显著差异。

2.1.2 成株率比较 各品种在不同处理下，M₁ 代的成株率差异明显，辐射诱变相对化学诱变有较高的出苗率，但在生长发育过程中有大量苗相继死亡。辐射诱变下，140 Gy 处理各品种的成株率较

低，黑农 48 的成株率高于其它品种 10% 以上，差异显著。120 Gy 处理各品种的成株率较高，黑农 48 成株率最高，为 15.26%，绥农 52 和绥农 42 有的成株率略高，分别为 5.64% 和 5.12%，但黑农 84 成株率仅为 0.46%。黑农 84 和绥农 52 出苗率为 40% 左右，但成株率极低，尤其是黑农 84，在 120 和 140 Gy 处理下成株率均小于 1%，接近于 0(图 2)。

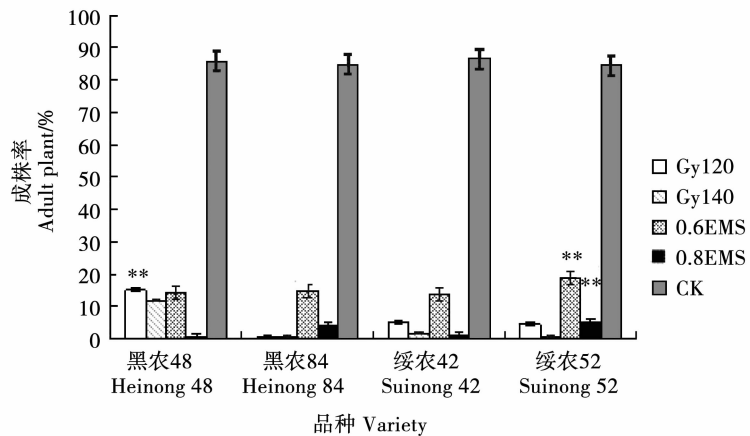


图 2 各品种在不同诱变处理下 M₁ 代的成株率

Fig. 2 Expression of various cultivars treated under different EMS and radiation doses at M₁ generation

各品种 0.6% EMS 处理的成株率明显高于 0.8% EMS 处理，0.6% EMS 处理的各品种成株率相对一致，而 0.8% EMS 处理的各品种成株率较低且变化幅度大。在 0.6% EMS 时，黑农 48、黑农 84、绥农 42、绥农 52 的成株率分别为 14.48%、15.13%、

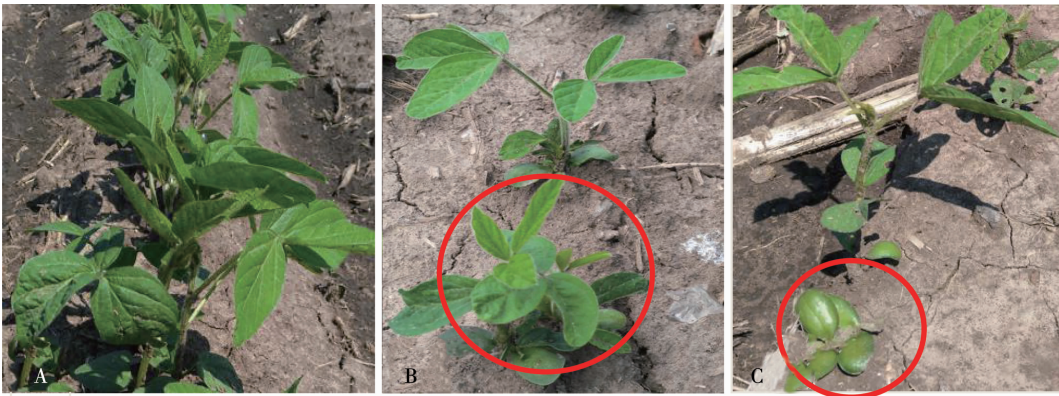
14.12%、18.65%，绥农 52 的成株率高于其它 3 个品种。在 0.8% EMS 处理下，黑农 48、黑农 84、绥农 42、绥农 52 的成株率分别为 0.21%、0.07%、0.82%、5.46%，各品种的成株率差异明显，且各品种间变化幅度较大。绥农 52 在 EMS 两种浓度下成

株率均表现出一定优势。

综上所述,在 M₁ 代时,不同处理对大豆品种造成的影响明显存在差异,且高剂量对大豆品种影响要高于低剂量,尤其是苗后生存率。比较 4 个品种の出苗率和成株率,化学诱变 0.6% EMS 明显优于其它方法,整体效果排序为 0.6% EMS > 120 Gy > 140 Gy > 0.8% EMS。对于具体品种而言,绥农 52 最适用于 0.6% EMS 化学诱变,黑农 48 最适用于 120 Gy 辐射诱变,黑农 84、黑农 48、绥农 42 适用于

0.6% EMS 化学诱变,黑农 84 明显不适用于上述两种剂量的辐射诱变。

2.1.3 畸形苗比较 对于不同品种,化学诱变的伤害多是不出苗或者矮小、小叶等畸形苗,而辐射诱变的出苗率很高,但超过一半是没有生长点的幼苗,发育过程中逐渐成为畸形苗或者死亡。以黑农 48 为例的化学诱变和辐射诱变 M₁ 代畸形苗如图 3 所示。



A:CK 正常植株; B:EMS 诱变矮小畸形苗;C:辐射诱变无生长点畸形苗。
A:CK; B:EMS mutation; C: ⁶⁰Co-γ mutation.

图 3 黑农 48 EMS 诱变和辐射诱变 M₁ 代畸形苗对比

Fig. 3 Abnormal seedlings of M₁ induced by EMS and radiation for HeiNong 48

2.2 不同处理下 M1 代突变类型对比

2.2.1 蛋白和脂肪含量变化情况和方差分析 由图 4 可知各品种在 4 种不同处理条件下蛋白质、脂肪含量均有明显变化,各品种不同处理下的蛋白质、脂肪含量的极大值、极小值、全距均有明显差异,且显著大于对照。不同处理对不同品种的蛋白质和脂肪含量造成的影响存在明显差异,4 个品种不同处理下的脂肪和蛋白质含量的平均值较对照变化较小,但各品种的不同处理较对照有较大的变异范围,出现更多极端大值或小值个体(图 4)。黑农 48、黑农 84、绥农 52 均是蛋白含量大于 42% 的高蛋白品种、绥农 42 为一般品种,蛋白质、脂肪含量为 40.68% 和 20.00%。试验中黑农 48、黑农 84、绥农 42、绥农 52 对照的蛋白含量均值分别为 44.52%、43.60%、42.53%、42.86%,脂肪含量均值分别为 18.96%、19.20%、19.83%、20.14%。黑农 48 在 0.6% EMS、0.8% EMS、120 Gy、140 Gy 4 种处理下蛋白含量均值分别为 44.12%、44.98%、44.35%、45.01%。黑农 84 在 4 种处理下蛋白含量均值分别为 43.12%、43.20%、43.85%、43.18%。绥农 42 在

4 种处理下蛋白含量均值分别为 41.42%、41.98%、42.15%、42.41%。绥农 52 在 4 种处理下蛋白含量均值分别为 42.54%、42.25%、42.93%、43.01%。在 4 个品种不同处理中均出现极值大于对照品种极值的个体,例如黑农 48 对照中蛋白含量极大值为 46.65%,极小值为 42.44%,而在 140 Gy 处理中蛋白含量大于 46.65% 的有 8 株,最大值为 48.66%,小于 42.44% 有 5 株,最小值为 39.97%,不同处理间脂肪和蛋白均表现出较对照更大的变异范围,均出现比对照更大或更小的极值个体。其余 3 个品种也表现类似趋势。

2.2.2 生育性情况的比较 辐射或者化学诱变对 M₁ 代影响的重要方面之一是育性,也是物理伤害的一个重要表现。育性在 M₁ 代一般表现出不同比例的可育、半不育、不育分离。无论是辐射诱变还是化学诱变,均有很大比例的半不育和不育植株,而且随着诱变强度的增加,其比例也明显增加。在辐射诱变中的表现更为明显,不育和半不育的比例达到 50% 以上。如表 1 所示,黑农 48 在 120 Gy 处理中,可育、半不育、不育株分别为 43.3%、28% 和

28.7%。在 140 Gy 处理中,可育、半不育和不育株分别为 26.3%、35.6%、38.1%。黑农 48 在 0.6% EMS 处理中,可育、半不育、不育株分别为 66.6%、21.4% 和 13%。黑农 48 在 0.8% EMS 处理中,可育、半不育、不育株比例为 41.9%, 31.2% 和

26.9%,其它几个品种对各处理虽敏感度差异明显,但均表现出相同的趋势,无论哪种处理,均有很大比例的半不育和不育株系,且随着诱变强度的增加,其比例也明显增加。

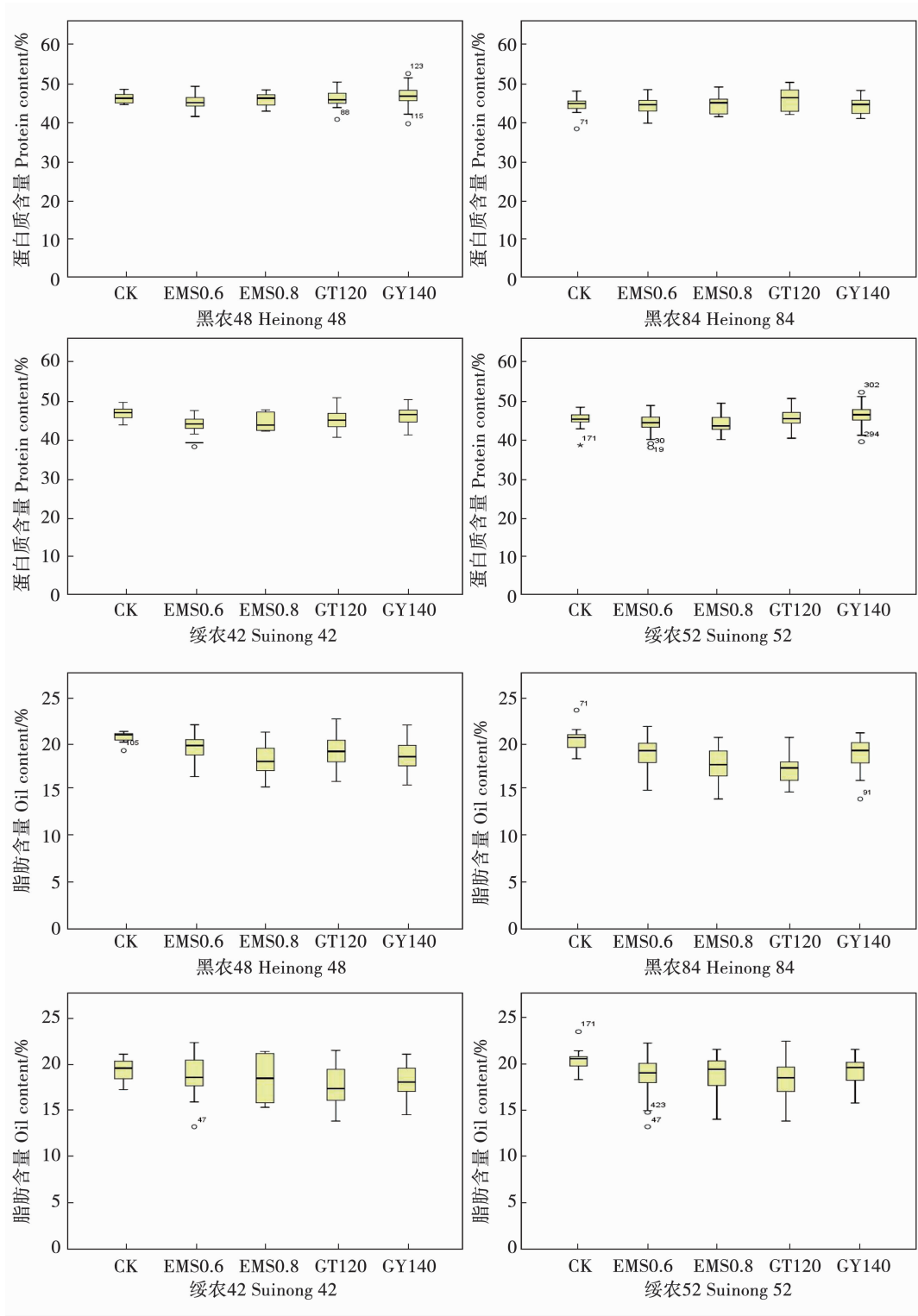


图 4 各品种诱变群体蛋白质和脂肪含量分布箱线图

Fig. 4 The protein and fat distribution box plot of the varieties

表 1 不同品种的不同诱变处理下育性差异分析

Table 1 Analysis on the difference of varieties fertility under different mutation treatments (%)

处理 Treatment	黑农 48 Heinong 48			黑农 84 Heinong 84			绥农 42 Suinong 42			绥农 52 Suinong 52		
	可育 Fertile	半不育 Semi-sterile	不育 Sterile	可育 Fertile	半不育 Semi-sterile	不育 Sterile	可育 Fertile	半不育 Semi-sterile	不育 Sterile	可育 Fertile	半不育 Semi-sterile	不育 Sterile
120 Gy	43.3 b	28.0 bc	28.7 b	25.4 c	30.8 b	43.8 a	38.6 c	33.6 a	27.8 b	48.6 bc	28.6 b	22.8 b
140 Gy	26.3 d	35.6 a	38.1 a	18.2 d	42.6 a	39.2 ab	22.6 d	34.3 a	43.1 a	28.1 c	36.2 a	35.7 a
0.6% EMS	66.6 a	21.4 d	13.0 d	61.7 a	25.1 c	13.2 d	58.4 a	30.1 ab	11.5 c	54.2 a	22.4 c	23.4 b
0.8% EMS	41.9 bc	31.2 b	26.9 bc	50.3 b	22.8 c	26.9 c	48.2 b	26.8 c	25.0 b	50.3 b	31.6 b	18.1 c

不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同。
Different lowercase mean significant difference at $P<0.05$ between treatments. The same below.

2.2.3 其它农艺性状比较 如表 2 所示,黑农 48、黑农 84、绥农 42、绥农 52 的株高普遍降低,除绥农 52 在 0.6% EMS 处理下株高差异不显著外,其余均达到极显著差异($P<0.01$)。两种辐射诱变剂量处理均使各品种的百粒重明显变大。各品种在不同处理下的一粒荚、二粒荚比例均表现为增多,三粒荚、四粒荚比例变少,单株粒重平均值明显降低,瘪

荚数差异不明显。

两种辐射诱变剂量处理均使各品种出现更多的极值情况,比如黑农 84、黑农 48、绥农 42 百粒均出现重超过 28 g 的单株,绥农 52 百粒重超过 31 g 的单株。同时也出现多分枝的单株,例如黑农 48 中出现五分枝单株。

表 2 不同品种的不同诱变处理下单株农艺性状差异分析

Table 2 Analysis on the difference of agronomic characters under different mutagenesis of different varieties per plant

品种 Variety	处理 Treatment	株高 Plant height /cm	分枝数 Branching number	一粒荚 One seed pod	二粒荚 Two seeds pod	三粒荚 Three seeds pod	四粒荚 Four seeds pod	单株粒重 Seed weight per plant/g	百粒重 100-seed weight/g	瘪荚数 Flat pod number
黑农 48 Heinong 48	120 Gy	68.78 d	1.22 a	21.39 a	18.41 a	12.24 b	2.83 c	22.19 ab	26.35 a	0.22 b
	140 Gy	74.55 c	0.73b	18.68 b	17.73 a	9.80 b	1.275 d	18.80 c	27.28 a	0.02 c
	0.6% EMS	80.35 b	0.65 b	9.37 c	16.87 a	20.78 a	5.17 b	26.54 a	23.72 b	0.24 b
	0.8% EMS	67.06 d	0.56 b	6.78 d	11.78 b	10.56 b	2.39 d	12.63 d	24.13 b	0.94 a
	CK	88.30 a	0.50 b	1.10 e	8.90 b	21.00 a	9.50 a	23.79 a	24.90 b	0.20 b
黑农 84 Heinong 84	120 Gy	68.33 c	1.67 a	44.33 a	19.00 a	8.67 d	11.67 a	34.47 a	23.00 a	0.33 a
	140 Gy	66.64 c	1.79 a	42.05 a	14.21ab	5.42 e	2.68 c	15.96d	23.35 a	0.23 a
	0.6% EMS	88.45 b	1.45 b	8.00 b	17.35 a	30.25 a	7.45 b	25.63 c	21.14 b	0.35a
	0.8% EMS	68.84 c	0.79 b	12.05 b	14.21 ab	15.42 c	2.68 c	15.96 d	23.27 a	0.43 a
	CK	94.30 a	0.10 b	3.00 c	11.20 c	26.30 b	13.10 a	29.72 b	23.23 a	0.30 a
绥农 42 Suinong 42	120 Gy	69.19b	0.25 b	11.00 b	6.25 c	2.06 c	0.19 b	6.25 c	28.05 a	0.20 a
	140 Gy	56.67 c	0.17 b	4.83 c	1.67 d	0.50 d	0.00 b	2.45 d	27.33 a	0.12 a
	0.6% EMS	69.83 b	0.17 b	12.00 b	7.33 c	0.83 d	0.00 b	6.13 c	26.77 a	0.10 a
	0.8% EMS	65.17 c	0.67 b	8.67 c	14.33 b	15.00 b	2.50 a	14.07 b	22.45 b	0.10 a
	CK	86.40 a	2.30 a	17.30 a	24.00 a	21.20 a	1.60 a	30.64 a	26.27 a	0.20 a
绥农 52 Suinong 52	120 Gy	77.69 b	0.60 b	11.28 a	14.93	13.80	3.02 c	19.41 b	26.11 a	0.25 d
	140 Gy	78.10 b	0.40 b	12.20 a	16.10 b	12.50 b	2.30 c	10.99 c	25.76 a	0.50 c
	0.6% EMS	83.37 a	1.50 a	9.82 c	18.53 a	25.63 a	7.00 a	26.95 a	23.54 b	1.37 a
	0.8% EMS	81.95 a	1.52 a	13.38 a	19.62 a	27.33 a	6.43 b	29.22 a	25.16 a	1.00 b
	CK	83.80 a	0.00 c	2.40 c	6.80 c	16.90 b	7.30 a	20.26 b	26.22 a	0.60 c

2.3 不同处理下 M₂ 代突变类型对比

2.3.1 辐射与化学诱变在表型性状类型出现明显不同 化学或者辐射诱变各品种均在 M₂ 代整体表形趋于正常。辐射诱变群体的植株外型变异表现更丰富和明显,主要表现为生长点抑制,多分枝、矮

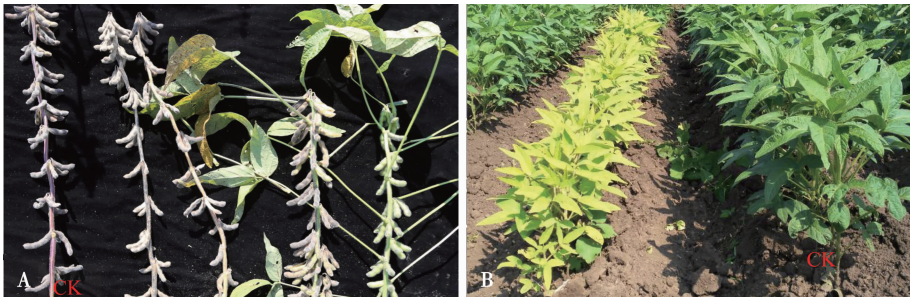
化、叶色、叶型、生育期、不育性等各类变异(图 5),而 EMS 诱变的突变主要表现在叶型、叶片颜色和育性方面(图 6)。不同品种的变异群体间依然存在明显差别,但同一种诱变方式下各品种间的变异特点没有明显差异。



A:生长点抑制;B:叶型和叶色;C:可育、半不育和不育;CK:野生型。
A: Bushy with short internode; B: Leaves morphology and colors; C: Fertile and semi-sterile and sterile; CK: Wild type.

图 5 黑农 48 辐射诱变后代的部分突变类型

Fig. 5 Partial mutation types of radiation-induced offspring for Heinong 48



A:成熟期推迟;B:叶色黄化;CK:野生型。
A: Late maturity; B: Yellow leaves; CK: Wild type.

图 6 黑农 48 EMS 诱变后代的部分突变类型

Fig. 6 Partial mutation types of EMS mutant progenies for Heinong 48

2.3.2 品质性状比较 黑农 84 不同处理的诱变群体 M₂ 代蛋白质含量平均值与对照均有明显变化,但其余品种两种不同处理的后代蛋白质含量变化不显著,同时各品种蛋白含量平均值的变化与处理方法不

相关(图 7)。但仍然存在个体极端值,黑农 48 对照中最高值为 44. 17%,最低 39. 13%,而辐射或 EMS 诱变中均含有高蛋白或低蛋白含量的极端个体,蛋白含量为 47. 16%和 35. 92%。

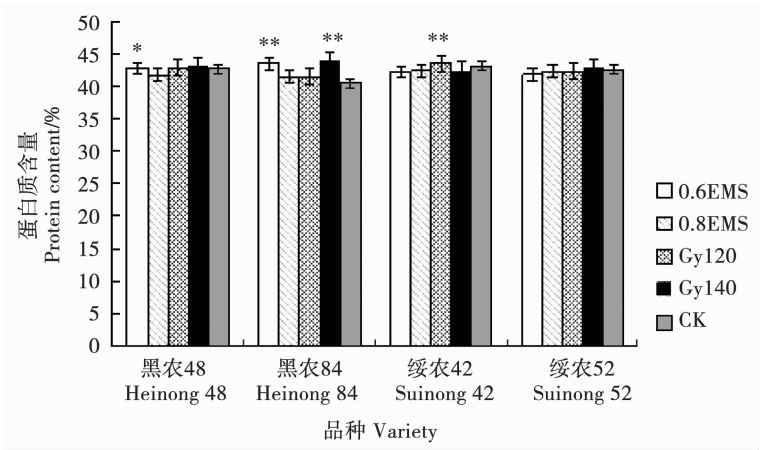


图 7 4 种诱变处理后代的蛋白变化比较

Fig. 7 Comparison of protein content changes in progenies of the 4 mutagenesis treatments

对各品种 M₂ 代脂肪分析,发现依然是黑农 84 有显著变化,其它品种脂肪平均值普遍变低,但变化差异不显著,变化特点与蛋白变化类似,也无出现与处理方法相关的特异性变化(图 8)。但也存在

低值极端值,黑农 84 对照中脂肪最高值为 21.49%,最低为 19.34%。而辐射诱变中黑农 84 脂肪含量最高值为 22.8%,最低为 17.9%。

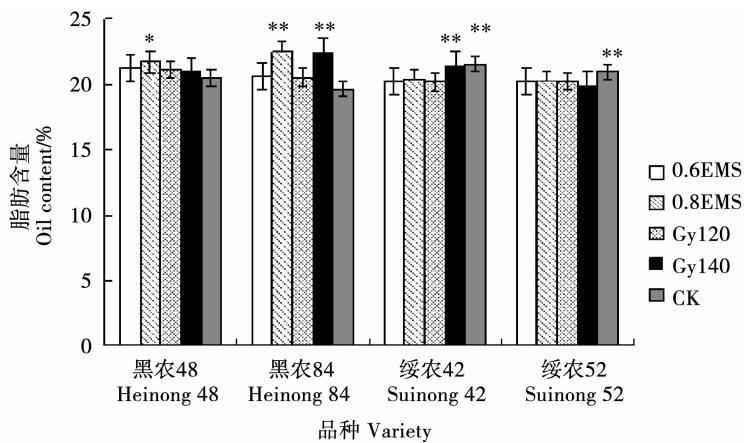


图 8 4 种诱变处理后代的脂肪含量变化比较

Fig. 8 Comparison of oil content changes in progenies of the 4 mutagenesis treatments

3 讨 论

辐射诱变和化学诱变,在 M₁ 代都会造成一定的物理伤害,因此其个体植株外形的变化,多是物理伤害引起,因而不能作为突变的依据。但其出苗率和生存率就是对这种物理伤害的一种反应,根据其最终成株情况以及收获的籽粒情况,可以将其作为构建大豆突变体库,选择处理方式的一种依据。两种方法各自有明显的特征,辐射诱变出苗率都很高,但造成的物理伤害是在苗后才表现,明显表现为不生长,逐渐死亡。而化学诱变则直接表现在发芽上,一般出苗的都可以生长成为完整植株。这两种方法,均对不同的品种,反应不一致。本研究中不同品种对不同浓度的 EMS 诱变反应不一致,0.8%EMS 对黑农 84 和绥农 42 品种致死率较高,出苗率低,要原因可能为即使偶然死亡的株数,也会对统计结果有较大影响。所以针对某种基因型大豆,要构建突变体库,可以采用 0.6%EMS 处理和 120 Gy 结合的方法,可得到更多的植株和籽粒,在后代里面有更多的变异类型。

辐射诱变和化学诱变,对大豆品种的影响,首先表现在对籽粒发芽出苗时间有影响,发芽出苗会滞后 2~3 d。同时在生长过程中,开花期成熟期也有不同程度的影响。尤其会出现很多畸形植株,同时因为籽粒减少,出现过营养化的症青现象。⁶⁰Co-γ 辐射诱变与 EMS 化学诱变,在 M₁ 代的均出现很大比例的半不育、不育植株,是其物理伤害的一个重要表现。化学诱变在 M₁ 代时出苗期内出现畸形苗或者不出苗,而辐射诱变的出苗率很高,但超过

一半是没有生长点的幼苗,发育过程中逐渐死亡,而且辐射诱变中不育和半不育的比例明显大于化学诱变,分析原因是因为其两种诱变机理的差异,辐射诱变多是大片短缺失或者颠换,辐射诱变对植株 DNA 组伤害较大,在出苗后期应对各种环境因素较差,会出现更多的畸形苗。而 EMS 化学诱变,多是碱基点突变,相对造成的伤害要小,尤其对其育性影响自然就小^[7-8]。辐射诱变和化学诱变,对 M₁ 代的脂肪蛋白影响明显。初步分析,有理化诱变造成的突变的原因,环境影响明显,而理化诱变造成的植株物理伤害,必然对植株整个生理发育,代谢过程造成影响,同时,脂肪、蛋白质又是发育过程中代谢产物的积累,这些必然影响到最终蛋白质和脂肪含量。同时品质性状一般在 M₄ 代之后才稳定,因而 M₁ 的品质性状的差异,是否由突变造成,需要进行进一步后代观察确定。

辐射诱变和化学诱变对大豆 M₁ 代的其它农艺性状影响也非常明显,也可归结为物理伤害造成植株影响,从而影响到性状。株高、分枝数、一粒荚、二粒荚、三粒荚、四粒荚、单株粒重、百粒重、瘪荚数。个别处理间百粒重和分枝数没有明显差别,是因为辐射或化学诱变对 M₁ 代造成物理伤害,造成许多植株畸形,矮小或者不育。但同时由于单株籽粒数减少,单籽粒营养过剩,因而百粒重会增大,出现更多大粒。分枝数量虽然不会因为植株矮小而受到影响,但会因为生长点的畸形,而出现多分枝情况。

辐射和化学诱变,因为不同品种对不同辐射剂量和化学诱变剂的浓度反应不一致,在高剂量辐射

值 140 Gy 和高浓度诱变 0.8% EMS 处理下, 黑农 84 和绥农 42 品种致死率较高, 出苗率很低, 所以即使偶然死亡的株数, 也会对其从苗后到成株的生存率的结果存在较大影响, 从而造成各类性状调查也存在较大概率的偶然偏差。

辐射和化学诱变后代分析发现, 在 M_2 代之后, 两种诱变基本均可达到正常的生长, 辐射诱变具有的更丰富的表型突变类型, 同时, 在 M_1 代辐射表现敏感的品种, 其后代材料中更容易出现突变, 例如研究中的黑农 84。同时辐射或化学诱变的后代蛋白质含量和脂肪含量平均值均无出现明显差异, 但存在个体差异大的变化植株, 也间接体现了突变的随机性和无方向性^[5,9]。

4 结 论

M_1 代研究发现不同品种在不同辐射或化学诱变下, 其出苗率和成株率存在明显差别。对于构建突变体库或者突变材料获取方面, 黑农 48 更适合 140 Gy 辐射诱变, 黑农 84 和绥农 52 更适合 0.6% EMS 浓度的化学诱变。 M_2 世代, 各品种在各处理下的出苗率, 成苗率没有明显区别, 出现许多农艺性状可分辨可遗传的突变株, 辐射诱变与化学诱变表现出明显不同的突变表型类型。而同一处理方式下不同剂量处理的不同品种间的农艺性状突变类型没有区别。

参考文献

[1] 韩锁义, 杨玛丽, 陈远东, 等. 大豆“南农 94-16”突变体库的构建及部分性状分析[J]. 核农学报, 2008, 22(2): 131-135. (Han S Y, Yang M L, Chen Y D, et al. Construction of mutant library for soybean Nannong 94-16 and analysis of some characters[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2008, 22(2): 131-135.)

[2] Li Z, Jiang L, Ma Y, et al. Development and utilization of a new chemically-induced soybean library with a high mutation density [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2017, 59(1): 60-74.

[3] Park S J, BATTERY B R. Ethyl-methanesulphonate (EMS) induced nodulation mutants of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lacking effective nodules [J]. Plant and Soil, 1992, 139(2): 295-298.

[4] 谢圣男, 王宏光, 杨振, 等. 大豆绥农 14 突变体库构建及株高性状分析[J]. 核农学报, 2018, 27(3): 307-313. (Xie S N, Wang H G, Yang Z, et al. Construction of Suinong 14 mutant library and analysis of soybean height mutant[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018, 27(3): 307-313.)

[5] 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. (Yang Z

M, Zhang L. Radiation mutation breeding in agriculture technology application and analysis[J]. Genomics and Applied Biology, 2011, 30(1): 87-91.)

[6] Bolon Y T, Stec A O, Michno J M, et al. Genome resilience and prevalence of segmental duplications following fast neutron irradiation of soybean[J]. Genetics, 2014, 198(3): 967-981.

[7] 徐明, 路铁刚. 植物诱变技术的研究进展[J]. 生物技术进展, 2011, 1(2): 90-97. (Xu M, Lu T G. Research progress of plant mutagenesis technology[J]. Current Biotechnology, 2011, 1(2): 90-97.)

[8] 张力伟, 樊颖伦, 牛腾飞, 等. 大豆“冀黄 13”突变体筛选及突变体库的建立[J]. 大豆科学, 2013, 32(1): 33-37. (Zhang L W, Fan Y L, Niu T F, et al. Screening of mutants and construction of mutant population for soybean cultivar “Jihuang 13”[J]. Soybean Science, 2013, 32(1): 33-37.)

[9] 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.)

[10] 陈远东, 喻德跃. EMS 诱发大豆“南农 94-16”突变体库的扩建及部分突变体的 SSR 分析[J]. 大豆科学, 2009, 22(12): 574-582. (Chen Y D, Yu Y D. Construction of mutant pools for soybean “Nannong 94-16” induced by EMS and analysis of SSR marker on several mutants[J]. Soybean Science, 2009, 22(12): 574-582.)

[11] Bolon Y T, Haun W J, Xu W W, et al. Phenotypic and genomic analyses of a fast neutron mutant population resource in soybean [J]. Plant Physiology, 2011, 156(1): 240-253.

[12] 张小明, 薛永国. 大豆突变体库构建研究进展[J]. 大豆科学, 2016, 35(2): 345-350. (Zhang X M, Xue Y G. Research progress of soybean mutant library construction[J]. Soybean Science, 2016, 35(2): 345-350.)

[13] 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.)

[14] 薛永国, 魏峰, 唐晓飞, 等. 黑龙江省育成大豆品种性状演变的分析[J]. 大豆科学, 2015, 34(3): 361-366. (Xue Y G, Wei L, Tang X F, et al. Analysis and evolution on different traits of soybean varieties from Heilongjiang province[J]. Soybean Science 2015, 34(3): 361-366.)

[15] 降云峰, 刘永忠, 李万星, 等. 甲基磺酸乙酯诱变技术在大豆育种上的应用[J]. 园艺与种苗, 2012(6): 12-15. (Xiang Y F, Liu Y Z, Li W X, et al. Application of EMS inducing mutation technique on soybean breeding[J]. Horticulture and Seed, 2012(6): 12-15.)

[16] 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, 40(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, 40(1): 14-17.)