

高能混合粒子场和 ^{60}Co - γ 射线不同剂量处理后 紫花苜蓿 M_1 , M_2 两代表型数据分析

尚 晨, 张月学, 刘杰淋, 张海玲, 李佶恺, 刘慧莹, 张 强
(黑龙江省农业科学院, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为了验证高能混合粒子场作为诱变源应用在紫花苜蓿品种改良上的效果和价值, 将 1 000 粒龙牧 803 紫花苜蓿干种子平均分为两份, 一份由 5 个剂量(109、145、195、284 和 560 Gy)的高能混合粒子场辐照处理, 另一份用和高能粒子场相同 5 个剂量的 ^{60}Co - γ 射线辐照处理。对 M_1 和 M_2 株高、产量和品质等表型性状进行统计分析。结果表明: 高能粒子处理紫花苜蓿所诱发的突变频率要略高于 γ 射线, 其中高能粒子 284 Gy 的效果最好。

关键词:紫花苜蓿; 高能混合粒子场; ^{60}Co - γ 射线; 诱变效应

中图分类号: S541.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2012)06-0123-03

航天育种技术以其致死率低, 有益变异率高等优点, 已经成为了快速培育农作物优良品种的重要途径之一。不过一直以来, 投资大, 要求高, 实验机会有限这三大问题始终在制约航天育种技术的广泛应用。开发地面模拟技术, 不但可以起到降低门槛, 使航天育种技术更好地服务于农业生产的作用, 而且可以研究空间环境因素和植物体的相互作用效应, 促进航天育种事业的持续发展。中国农业科学院航天育种中心利用正负电子对撞机, 在地面模拟次级太空粒子, 人工制造宇宙线辐射环境, 建立了高能辐射粒子场技术, 并于 2004 年开始利用该技术处理冬小麦种子, 并已在部分品种中得到了比 γ 射线处理更高的相对生物学和细胞学效应。目前高能混合粒子场作为新兴诱变源, 已经开始应用于其它作物的品种改良上。为进一步探讨高能混合粒子场处理所产生的生物学效应, 黑龙江省农业科学院草业研究所优选了一批龙牧 803 紫花苜蓿干种子, 其中一部分使用高能混合粒子场处理, 一部分使用 ^{60}Co - γ 射线处理, 余下部分作为对照。通过对 M_1 、 M_2 两代表型数据进行分析, 来探讨不同诱变源及不同诱变剂量对龙牧 803 紫花苜蓿的损伤效应和诱变效应,

为紫花苜蓿的航天育种技术、辐射诱变育种技术, 丰富紫花苜蓿种质资源提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验环境

试验地设在黑龙江省农业科学院内。位于松嫩平原东端, $N45^{\circ}45'$ 、 $E126^{\circ}41'$, 平均海拔 151 m, 年均日照时数 2 900 h, 年平均气温 3.6°C , 极端最高气温 37.7°C , 极端最低气温 -38.1°C , 年平均降水量 462.9 mm。春季降水偏少、干旱, 雨量主要集中在 7、8、9 三个月, 属温带大陆性气候。土壤为黑土, 土层深厚、通气良好, 有机质含量 $2.52\% \sim 2.88\%$, $\text{pH}6.80 \sim 6.87$ 。

1.2 材料

试验材料为在我国东北地区广泛应用的高产优质紫花苜蓿品种龙牧 803 的干种子, 由黑龙江省农业科学院于 2004 年收获, 种子纯度高, 经手工精选后留取部分作为对照, 余下分为 2 份备用。

1.3 方法

将一份种子委托中国农业科学院航天育种研究中心模拟高空(中层大气层)宇宙线辐射, 利用由北京正负电子对撞机(简称 BEPC)直线加速器引出 1.5 GeV 的 E2 束流打碳靶, 产生包括派介子(π^{\pm} 、 π^0)、缪子(μ^{\pm})、电子(e^{\pm})、伽马(γ)和质子(p)多种次级粒子束的混合粒子辐射场(以下简称 CR), 以 109、145、195、284 和 560 Gy 5 个不同剂量处理。另一份委托黑龙江省农业科学院玉米研究所辐照中心, 使用 ^{60}Co - γ 射线同样以 109、145、195、284 和 560 Gy 5 个剂量处理, 吸收剂量率为 $0.25 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$, 源活度 40 000 Ci。

1.3.1 M_1 室内发芽试验 将各处理和对照的种

收稿日期: 2012-03-27

基金项目: 黑龙江省农业科技创新工程资助项目(2010-10); 农业部寒带作物基因资源与种质创制黑龙江科学观测实验站资助项目(2202020)

第一作者简介: 尚晨(1982-), 男, 黑龙江省哈尔滨市人, 博士, 助理研究员, 从事紫花苜蓿辐射诱变育种研究。E-mail: cifer_shang@hotmail.com。

通讯作者: 张月学(1953-), 女, 黑龙江省哈尔滨市人, 硕士, 研究员, 硕士研究生导师, 从事牧草资源育种研究。

子于室内 21℃ 恒温水培,每处理随机选取 50 粒进行发芽试验。将种子整齐放置于培养皿中的滤纸上,用井水浸润种子并培养,2 次重复。发芽数的统计均采用国际种子检验协会(ISTA)的规定,采用不再继续萌发时的整周日数计算。7 d 后统计发芽率,测量苗高与根长。发芽率/%=发芽种子数/种子总数×100。变化幅度/%=|处理观察值-对照观察值|/对照观察值×100。

1.3.2 M₁田间种植与品质分析 每处理随机取 150 粒种子,水培萌动后春化处理,于 2005 年 5 月移栽大田,株距 40 cm,每处理种 2 行。按单株编号顺序记载。田间按常规方式管理,并定期进行农艺性状观察记录。试验所用株高和产量(单株鲜重)数据为 2006 年 9 月 27 日采集,属刈割后茬现蕾初期。将收割的鲜草放入纱网袋自然阴干,使用 Foss® Cyclotec™ 1093 旋风磨磨碎,细度为 1 mm 以下。之后用湿化学法测定草粉的粗纤维、粗蛋白和粗脂肪数据。

1.3.3 M₂田间种植与变异频率分析 将 M₁种

子点播构建 M₂群体,于 2007 年 4 月播种,株距 40 cm。田间按常规方式管理,并定期进行农艺性状观察记录。测量株高、产量(单株鲜重)、粗纤维、粗蛋白和粗脂肪数据。超出对照平均值±2 倍标准差记为突变体,统计并计算突变频率。突变频率/%=突变株数/群体大小×100。

1.3.4 统计分析方法 利用 Microsoft Excel 对试验数据进行常规统计、变异系数和方差的分析;利用 SAS9.2 软件分析差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同处理方式和不同剂量对紫花苜蓿苗期的损伤特点

龙牧 803 紫花苜蓿种子经辐照处理后,种子发芽率相比对照均出现较明显降低,与对照差异显著。证明辐射处理对苜蓿种子的发芽率有较大抑制影响。处理组种子的苗高和根长与对照相比虽有一定差异,但变化幅度均不大,辐照处理对苜蓿种子的损伤效应在苗期表现不显著。

表 1 高能混合粒子场和⁶⁰Co-γ射线处理对紫花苜蓿 M₁发芽率及幼苗损伤的影响

Table 1 The damage effects and germination rate of M₁ generation of Longmu 803 alfalfa irradiated by the mixed high-energy particle field and ⁶⁰Co γ-rays

处理 Treatment	剂量/Gy Dose	发芽率/% Germination rate	苗高 Seedling height		根长 Root length	
			平均值/cm	变化幅度/%	平均值/cm	变化幅度/%
			Mean	Mutation percentage	Mean	Mutation percentage
对照 CK	—	100 a	2.770 a	—	2.360 a	—
高能粒子 CR	109	72 d	2.638 a	4.76	2.388 a	1.19
	145	70 e	2.788 a	0.64	2.368 a	0.34
	195	88 b	2.650 a	4.33	2.290 a	2.97
	284	81 c	2.633 a	4.94	2.356 a	0.17
	560	70 e	2.663 a	3.86	2.338 a	0.93
γ射线	109	63 g	2.629 a	5.09	2.443 a	3.52
γ-rays	145	71 de	2.613 a	5.66	2.400 a	1.69
	195	56 h	2.633 a	4.94	2.333 a	1.14
	284	55 h	2.786 a	0.57	2.286 a	3.14
	560	68 f	2.763 a	0.25	2.225 a	5.72

注:不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下同。
Note:The different lowercase letters mean significant difference at 0.05 lever. The same below.

2.2 不同处理方式和不同剂量对紫花苜蓿 M₁农艺性状的影响
龙牧 803 紫花苜蓿经过高能粒子场与 γ 射线

处理后,极少部分植株对比对照出现了较大程度的变化,导致处理组间平均值出现了一定的差异,但经 t 检验后,组间差异均未达到显著水平。

表 2 高能混合粒子场和⁶⁰Co-γ射线处理紫花苜蓿 M₁主要农艺性状表现
Table 2 Main agronomic traits of M₁ generation of Longmu 803 alfafla treated by the mixed high-energy particle field and ⁶⁰Co γ-rays

处理 Treatment	剂量/Gy Dose	株高/cm Plant height	产量/g Plant weight	粗蛋白/% Crude protein	粗纤维/% Crude fiber	粗脂肪/% Crude fat
对照 CK	0	53.50 a	197.50 a	21.13 a	14.76 a	2.33 a
高能粒子 CR	109	51.54 a	245.77 a	18.91 a	15.28 a	2.53 a
	145	45.44 a	188.89 a	18.81 a	16.11 a	2.59 a
	195	50.06 a	215.00 a	19.14 a	15.15 a	2.76 a
	284	53.27 a	241.37 a	19.38 a	13.29 a	3.19 a
	560	52.30 a	206.50 a	20.09 a	14.25 a	3.59 a
γ射线 γ-rays	109	56.80 a	259.00 a	19.83 a	14.62 a	2.78 a
	145	47.57 a	171.48 a	20.31 a	13.34 a	2.88 a
	195	46.33 a	172.29 a	19.96 a	13.84 a	3.01 a
	284	46.53 a	162.11 a	20.62 a	11.37 a	2.85 a
	560	42.42 a	142.42 a	20.73 a	12.89 a	2.49 a

2.3 高能混合粒子场和 γ 射线处理紫花苜蓿 M₂ 性状突变

紫花苜蓿经 2 种处理方法各 5 个剂量的处理后,其 M₂均出现了多种表型突变。由表 3 可以看

出,突变频率与处理剂量的高低并没有显著的相关性。总体上高能混合粒子场所诱发的突变频率要高于 γ-射线,其中高能粒子 284 Gy 所造成的有益变异和总突变频率都高于其它剂量。

表 3 高能混合粒子场和⁶⁰Co-γ射线处理紫花苜蓿 M₂部分突变频率比较
Table 3 Mutation frequencies of visible phenotypes in M₂ generation of Longmu 803 alfafla treated by the mixed high-energy particle field and ⁶⁰Co γ-rays

处理 Treatment	剂量/Gy Dose	株高/% Plant height		产量/% Plant weight		粗蛋白/% Crude protein		粗纤维/% Crude fiber		粗脂肪/% Crude fat		共计/% Total frequency
		矮 Dwarf	高 Tall	低 Low	高 High	低 Low	高 High	低 Low	高 High	低 Low	高 High	
高能粒子 CR	109	6.25	6.06	7.69	2.78	0.18	0.14	0.22	0.19	—	—	23.51
	145	7.14	6.89	3.45	3.22	0.22	0.17	0.12	0.20	0.03	—	21.44
	195	1.31	5.26	7.32	2.57	0.03	0.13	0.17	0.07	0.02	—	16.88
	284	3.78	11.76	3.59	10.52	0.08	0.76	0.25	0.05	—	0.06	30.85
	560	9.53	5.88	8.13	4.45	0.26	0.19	0.21	0.17	—	0.08	28.90
γ射线 γ-rays	109	2.78	5.41	8.82	2.94	0.07	0.17	0.14	0.12	—	0.02	20.47
	145	7.89	2.63	7.89	2.56	0.19	0.06	0.04	0.21	0.02	0.01	21.50
	195	4.54	4.54	8.69	2.17	0.11	0.06	0.08	0.04	—	0.02	20.25
	284	5.26	5.71	2.78	5.71	0.16	0.13	0.18	0.13	0.03	—	17.31
	560	7.41	3.57	6.89	3.57	0.18	0.08	0.10	0.16	0.06	—	22.02

3 结论与讨论

试验证明,经过各种物理或化学诱变剂处理后,被处理的种子会表现不同程度的损伤效应,其幼苗甚至整个生育期的生长都受到影响。在试验中,2 种诱变源的各个剂量在苜蓿种子萌芽期都表现出了明显的损伤抑制效应,不过种子自然成熟后,其主要农艺性状除极个别植株外,相比对照基本没有显著变化。例如 γ 射线 109 Gy 处理后,因为低剂量刺激效应,出现 1 株株高高达88 cm(对照平均株高 53.5 cm),产量高达 735 g(对照平均产量 197.5 g)的植株以及 1 株株高 76 cm,产量 385 g 的植株,而 γ 射线 560 Gy 由于高剂量抑制效应出现 1 株株高 25 cm,产量 100 g 的植株以及 1 株株高 31 cm,产量仅有 45 g 的植株。导致 γ 射线 109 Gy 和 γ 射线 560 Gy 两个处理组的平均

株高和产量出现了一定的差异。但由于大部分植株株高和产量均接近,经显著性测验,两组数据之间的差异却不显著。因此不能仅仅依靠当代的生理损伤数据来判断苜蓿种子适宜的诱变方法和诱变剂量。结合 M₂数据可以初步判断高能混合粒子场对苜蓿的诱变作用要好于 γ 射线,不过还需要进一步结合 M₃数据,从遗传角度证明高能混合粒子场的诱变作用。目前试验结果初步可以证明,高能混合粒子场对紫花苜蓿干种子诱发变异的效果略好于 γ 射线,其中高能粒子 284 Gy 造成的有益变异和总突变频率均为最高值,是最佳剂量。

参考文献:

[1] 刘录祥,王晶,赵林妹,等.作物空间诱变效应及其地面模拟研究进展[J].核农学报,2004(18):247-251.

(下转第 136 页)

7 结论

根据《农业环境保护学》的课程特点,通过合理安排教学内容、课堂讨论和论文等多种教学方法,传统教学方式与多媒体教学有机结合,开展课外环保宣传活动,增强了学生的学习兴趣,提高了学习效果和教学水平。通过对《农业环境保护学》教学方法的改革,改变了学生以往学习的被动性,提高了学生学习的积极性和主动性。对于该课程教学方法的改革与探索仍在不断地思考中,如探

究式、合作式教学方法,小组学习法等,今后将继续在教学上进行创新改革,以适应新时代创新人才培养的需要。

参考文献:

- [1] 杨性坤. 环境保护课程教学改革探索[J]. 信阳师范学院学报:哲学社会科学版,2001,21(6):110-111.
- [2] 王强. 多媒体在《环境科学概论教学》中的应用[J]. 西南农业大学学报:社会科学版,2008(6):187-190.
- [3] 张永,曾清如,铁柏清,等.《农业环境保护》课程教学改革探讨[J]. 现代农业科技,2009(21):309-310.

Research on the Teaching Methods Reform of Agro-environmental Protection

YU Li-hong, WANG Meng-xue

(Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319)

Abstract: To adapt to requirement of innovative personnel training in new era, the reform of the teaching methods of the course of Agro-environmental Protection was researched preliminarily. The teaching reform was conducted by discussing on the contents of this course, teaching methods and teaching means. Questionnaires had been given to the students to collect their response to the reform. The practice proved that it improved the teaching efficiency and quality, increased students' interests in learning the course, and finally the teaching methods would be referential to the teaching of other courses in environment science.

Key words: Agro-environmental Protection; teaching methods; teaching reform

(上接第 125 页)

- [2] 刘录祥,赵林妹,郭会君,等. 高能混合粒子场辐照冬小麦生物效应研究[J]. 科学技术与工程,2005(21):1642-1645.
- [3] 刘录祥,韩微波,郭会君,等. 高能混合粒子场诱变小麦的细胞学效应研究[J]. 核农学报,2005(19):327-331.
- [4] 郭会君,刘录祥,韩微波,等. 高能混合粒子场辐照小麦的突变效应分析[J]. 中国农业科学,2008,41(3):654-660.

- [5] 韩微波,刘录祥,郭会君,等. 高能混合粒子场辐照小麦 M_1 变异的 SSR 分析[J]. 核农学报,2006,20(3):165-168.
- [6] 尚晨,张月学,李集临,等. γ 射线和高能混合粒子场辐照紫花苜蓿品质变异的比较分析[J]. 核农学报,2008,22(2):175-178.
- [7] 尚晨,张月学,唐凤兰,等. 高能混合粒子场和 γ 射线对紫花苜蓿的诱变效应[J]. 草地学报,2008,16(2):125-128.

Phenotype Data Analysis of Alfalfa M_1 , M_2 Treated by Mixed High Energy Particle Field and ^{60}Co γ -rays Irradiation

SHANG Chen, ZHANG Yue-xue, LIU Jie-lin, ZHANG Hai-ling, LI Ji-kai, LIU Hui-ying, ZHANG Qiang

(Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: In order to validate effect and value of mixed high energy particle field as mutagenesis source on alfalfa varieties improvement, Longmu 803 alfalfa dry seeds were used as material, 1000 seed divided into two equal parts, one was irradiated by mixed five doses high-energy particle field (CR), i. e., 109, 145, 195, 284 and 560 Gy; the other was irradiated with the same five dosages ^{60}Co γ -rays. The data of M_1 and M_2 were collected and analyzed. The results showed that mutation frequency by high-energy particle was higher than by ^{60}Co γ -rays, and the effect of CR 284 Gy was the best.

Key words: alfalfa; mixed high energy particle field; ^{60}Co γ -rays; mutagenic effects