

春小麦空间诱变后代的变异研究

郭怡璠¹, 张宏纪¹, 刘文林¹, 孙 岩¹, 刘东军¹, 耿宏伟², 杨淑萍¹

(1. 黑龙江省农业科学院 作物育种研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院 脱毒苗木研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要: 为了进一步探索和研究春小麦空间诱变后代的变异, 对经返地卫星搭载纯系小麦龙麦 26 和克丰 10 号航天诱变种子种植后选育出的 7 份品系的农艺性状进行了调查, 同时对其 DNA 多态性进行了分析。结果表明: 变异品系较原品种在农艺性状上均有所变异, 但差异不显著。变异品系与亲本之间存在着不同程度的微卫星多态性, 在有效扩增的 27 对引物中出现 3 种突变类型: 扩增片段增多、扩增片段减少和扩增片段长度有差异, 出现的单一突变类型居多。

关键词: 小麦; 空间诱变; 性状变异; 微卫星标记

中图分类号: S512.0⁺2

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2014)10-0001-04

航天诱变育种是随着航天发展涌现的创造新种质资源和新品种的一项新技术, 其主要利用太空中特殊的环境, 如宇宙粒子辐射、微重力、弱地磁、高真空以及低温等综合因素诱导种子基因发生突变, 使植物产生可以遗传的独特性状。返回地面后通过进一步的选育来创造农业育种材料、培育新品种的农业生物技术育种新方法。自 1987 年我国首次利用返回式卫星搭载农作物种子开展航天诱变育种以来, 已利用航天工程育种技术先后在水稻、小麦和玉米等 15 种作物上培育出进入省级以上区域试验的新品系 200 多个, 通过国家或省级品种审定的农作物新品种 110 个^[1]。该文以决选出的小麦航天诱变材料为研究对象, 对其农艺性状进行连续 2 a 的调查, 同时利用微卫星技术对其突变体基因组进行多态性分析, 探究空间环境诱导对小麦突变体在 DNA 水平上的变异, 为进一步解析航天诱变的分子机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试小麦材料由黑龙江省农业科学院作物育种研究所小麦生物技术与辐射育种研究室提供。采用龙麦 26 和克丰 10 号的种子作为诱变材料, 2003 年 11 月搭载我国第 18 颗返地卫星进行空间旅行。卫星飞行 18 d, 近地点高度 200 km, 远

地点高度 350 km, 舱内平均辐射剂量为 0.102 mGy·d⁻¹。返回地面后温室加代后田间种植(随机排列)。以龙麦 26 为诱变材料后代进行田间选育, 2006 年在第 4 代(SP₄)中决选出 1 份优异品系 06k641, 2007 年在第 5 代(SP₅)中决选出 1 份优异品系 07k469, 2008 年在第 6 代(SP₆)中决选出 1 份优异品系 08k499, 2009 年在第 7 代(SP₇)中决选出 1 份优异品系 09k215; 以克丰 10 号为诱变材料后代进行田间选育, 2008 年在第 6 代(SP₆)中决选出 1 份优异品系 08k539, 2009 年在第 7 代(SP₇)中决选出 2 份优异品系 09k415 和 09k425。以未经空间诱变处理的地面材料龙麦 26 和克丰 10 号为对照。

1.2 方法

1.2.1 农艺性状测定 决选出的材料于 2009 年和 2010 年连续 2 a 种植于黑龙江省农业科学院实验田, 随机区组排列种植, 3 次重复, 小区面积 6 m², 种植密度 650 万株·hm⁻², 常规管理, 成熟后采样考种, 时收计产。

1.2.2 统计方法 利用 Excel 进行基础数据的输入, 采用 DPS3.0 分析软件进行相关分析, 采用多重比较最小显著差数法(LSD 法)进行显著性分析, 图表数据均为 2 a 内 3 次重复的平均值。

1.2.3 SSR 多态性分析 按照 CTAB 方法提取基因组 DNA。对照品种基因组 DNA 为 3 个单株 DNA 的等量混合物。变异株系 DNA 为株系内 3 个单株 DNA 的等量混合物。PCR 扩增仪为美国 ABI 公司生产的 9700PCR 仪。PCR 扩增在 25 μL 反应体系中进行, 10×PCR Buffer 2.5 μL, 10 mmol·L⁻¹ dNTP 2.0 μL, Taq DNA 聚合

收稿日期: 2014-06-04

基金项目: 国家“863”航天育种资助项目(2012AA101202-1)

第一作者简介: 郭怡璠(1981-), 女, 黑龙江省哈尔滨市人, 硕士, 助理研究员, 从事春小麦辐射诱变育种及生物技术研究。
E-mail: yifan-guo@163.com。

酶($5\text{ U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) $0.2\text{ }\mu\text{L}$,上游引物 $1.5\text{ }\mu\text{L}$,下游引物 $1.5\text{ }\mu\text{L}$,模板 DNA $5.0\text{ }\mu\text{L}$,灭菌双蒸水 $13.3\text{ }\mu\text{L}$ 。PCR 扩增程序:首先预扩增 94°C 变性 30 s , $60(55)^{\circ}\text{C}$ 复性 45 s , 72°C 延伸 45 s 进行一个循环,以后每次降低 1°C 退火温度进行 1 个循环,直到退火温度为 $55(50)^{\circ}\text{C}$ 为止,进入正式扩增程序 94°C 变性 30 s , $51\sim 59^{\circ}\text{C}$ 复性 45 s , 72°C 延伸 45 s 共 35 个循环, 72°C 延伸 5 min , 扩增产物于 4°C 保存。扩增产物采用非变性 PAGE 凝胶电泳技术分离,快速银染法显色。

2 结果与分析

2.1 诱变材料农艺性状分析

由表 1 可知,龙麦 26 变异株系的株高有显著

的变化,09k215、08k499、07k469 与亲本龙麦 26 株高差异显著,其中 09k215 株高最高,较龙麦 26 平均增高 12 cm ;4 份诱变品系在穗长与小穗数上与龙麦 26 差异均不显著,龙麦 26 变异株系 09k215 和 07k469 的千粒重均较对照品种有所增加,但差异不显著;4 个品系容重和产量都较对照品种有所增加,但差异不显著。09k215 增产最多,比对照增重 $879.08\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 。克丰 10 号变异株系 3 个品系的千粒重和容重均下降,但差异不显著;09k425 和 08k539 品系的产量比对照有所增加,但差异不显著。其中 09k425 增产最多,为 $177.3\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 。

表 1 空间诱变材料与对照材料的农艺性状分析

Table 1 Analysis on the agronomic traits of space mutation materia

品种 Varieties	株高/cm Plant height	穗长/cm Spike length	小穗数 Spikelet number	千粒重/g 1000-grain weight	容重/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Bulk density	产量/ $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ Yield
龙麦 26(CK) Longmai 26	$79.30\pm 0.99\text{ c}$	$8.85\pm 0.21\text{ a}$	$15.00\pm 0.28\text{ a}$	$32.25\pm 4.59\text{ a}$	$791.50\pm 24.74\text{ a}$	$4285.35\pm 724.13\text{ a}$
09k215	$91.40\pm 5.09\text{ a}$	$8.85\pm 3.04\text{ a}$	$16.60\pm 2.82\text{ a}$	$34.15\pm 2.05\text{ a}$	$811.00\pm 26.87\text{ a}$	$5164.43\pm 1711.95\text{ a}$
08k499	$87.95\pm 4.17\text{ ab}$	$8.35\pm 0.21\text{ a}$	$14.50\pm 0.42\text{ a}$	$32.00\pm 3.53\text{ a}$	$806.50\pm 17.67\text{ a}$	$4462.05\pm 1036.13\text{ a}$
07k469	$88.10\pm 1.55\text{ ab}$	$8.65\pm 0.07\text{ a}$	$14.80\pm 0.28\text{ a}$	$33.60\pm 0.14\text{ a}$	$802.50\pm 41.71\text{ a}$	$4482.38\pm 1588.73\text{ a}$
06k641	$83.10\pm 5.51\text{ bc}$	$8.75\pm 0.07\text{ a}$	$14.30\pm 0.99\text{ a}$	$30.95\pm 3.88\text{ a}$	$795.00\pm 16.97\text{ a}$	$4487.25\pm 780.45\text{ a}$
克丰 10 号(CK) Kefeng 10	$90.45\pm 0.35\text{ a}$	$7.85\pm 0.07\text{ a}$	$15.10\pm 0.14\text{ a}$	$30.90\pm 4.24\text{ a}$	$785.00\pm 4.24\text{ a}$	$4436.85\pm 773.1\text{ a}$
09k415	$84.65\pm 0.49\text{ abc}$	$8.10\pm 0.71\text{ a}$	$14.55\pm 0.07\text{ a}$	$29.85\pm 4.17\text{ a}$	$781.50\pm 3.53\text{ a}$	$4380.83\pm 1006.43\text{ a}$
09k425	$90.80\pm 0.28\text{ a}$	$8.40\pm 0.56\text{ a}$	$15.10\pm 0.70\text{ a}$	$30.75\pm 4.17\text{ a}$	$780.50\pm 3.53\text{ a}$	$4614.15\pm 1064.63\text{ a}$
08k539	$88.95\pm 2.61\text{ ab}$	$8.50\pm 0.57\text{ a}$	$15.85\pm 0.78\text{ a}$	$29.25\pm 4.45\text{ a}$	$780.50\pm 0.70\text{ a}$	$4527.08\pm 1026.60\text{ a}$

注:表中数值为 2 次重复的平均值 \pm 标准差;同列不同字母表示材料间差异达 0.05 显著水平。

Note: The values show in the table is twice repeated mean \pm standard deviation; Different lowercases mean significant difference at 0.05 level.

2.2 诱变材料 SSR 标记突变分析

通过预备试验并参考前人利用 SSR 分析小麦品种多样性研究结果,选用 27 对 SSR 引物对 7 份诱变材料及 2 份对照材料进行基因组突变分析,共有 20 对 SSR 引物在基因组 DNA 中共扩增出 3 种突变类型(见表 2),即扩增片段增多、扩增片段减少和扩增片段长度差异。其中 17 对引物在龙麦 26 的诱变材料中出现位点上的差异,9 对引物在克丰 10 号的诱变材料中出现位点差异。7 份供试品系个体在 27 个 SSR 位点上的第 2 种突变类型(扩增片段减少)居多,其次为第 1 种突变类型(扩增片段增加)。个别品系同时出现多类型

突变,如 08k539 在 Xgwm190 位点,08k499 和 06k641 在 Xgwm285 位点,07k469 在 Xgwm294 位点,09k215 在 Xgwm533 位点上均出现了扩增片段增多和扩增片段减少 2 种突变类型;09k215 在 Xgwm294 位点,06k641 在 Xgwm294 位点上均出现了扩增片段增多和扩增片段长度差异 2 种突变类型;09k415 和 09k425 在 Xgwm533 位点,09k415、09k425 和 08k539 在 Cwem40 位点上出现了扩增片段减少和扩增片段长度差异 2 种突变类型。Xgwm67、Xgwm160、Xgwm372、Xwmc116、Xwmc420、Xwmc410 和 Xgdm72 在诱变材料与对照中未出现位点上的差异。

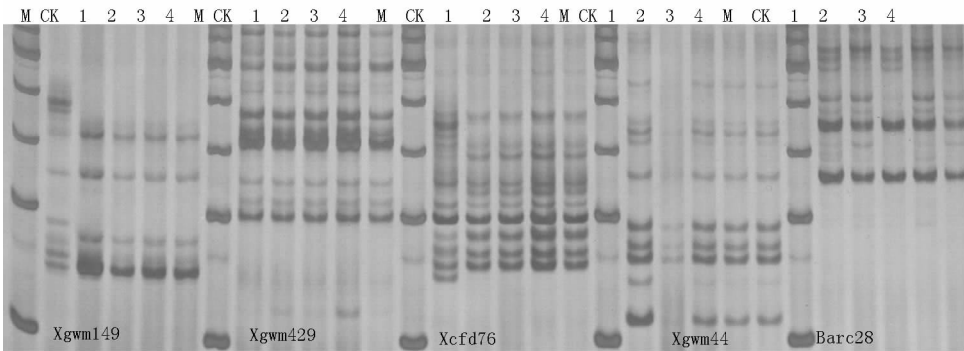


图1 空间搭载材料及其对照 SSR 引物扩增图谱

CK 为龙麦 26;1 为 09k215;2 为 08k499;3 为 07k469;4 为 06k641

Fig. 1 Space carrying material and its SSR primer polymorphic fingerprints

CK: Longmai 26;1: 09k215;2: 08k499;3: 07k469;4: 06k641

表 2 空间诱变材料基因组 SSR 标记突变分析

Table 2 SSR analysis of the space mutation material genome

品系 Varieties	处理 Treatments	Xgwm 44-7D	Xgwm 429-2B	Xgwm 120-2B	Xgwm 149-4B	Xgwm 155-3A	Xgwm 400-7B	Xgwm 190-5D	Xgwm 261-2D	Xgwm 285-3B	Xgwm 294
龙麦 26 Longmai 26	CK	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
09K215	CP	b	—	—	b	—	a	a	—	b	a, c
08K499	CP	b	—	b	b	—	a	—	—	a, b	c
07K469	CP	b	—	b	b	—	a	—	—	b	a, b
06K641	CP	b	b	—	b	—	a	a	b	a, b	a, c
克丰 10 号 Kefeng 10	CK	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
09k415	CP	a	—	b	a	a	a	b	—	—	—
09k425	CP	—	—	b	—	a	a	b	—	—	—
08k539	CP	—	—	b	—	a	a	a, b	—	—	—
品系 Varieties	处理 Treatments	Xgwm 437-7D	Xgwm 533-3D	Xgwm 304-5A	Xwmc 517-7B	Xwmc 522-2A	Xcfd 76-6D	Xcfd 29	Cwem 40	Barc 28	Barc 80
龙麦 26 Longmai 26	CK	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
09K215	CP	a	a, b	b	c	—	b	a	a	b	c
08K499	CP	b	b	b	c	—	b	—	a	b	c
07K469	CP	b	a	b	c	—	b	a	a	b	c
06K641	CP	b	a	b	c	—	b	a	a	b	c
克丰 10 号 Kefeng 10	CK	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
09k415	CP	—	b, c	—	—	—	—	a	b, c	a	—
09k425	CP	—	b, c	—	—	—	—	—	b, c	a	—
08k539	CP	—	c	—	—	b	—	a	b, c	a	—

注:不同位点后的小写字母表示其所在染色体组;a 为扩增片段增多;b 为扩增片段减少;c 为扩增片段长度差异;— 为无变化。
Note; Different lowercase after different sites means their chromosomes; a means amplified fragment increase; b means fragments amplified reduce; c means amplification fragment length difference; — no change.

3 结论与讨论

随着我国第 9 颗返回式科学试验卫星的成功发射,经过多年的地面种植筛选,我国在培育性状优良的新品种及创造新的种质资源等方面都取得了丰硕的成果。研究以空间诱变小麦种子后代为

研究对象,按育种目标最终筛选出 7 份品系,对其农艺性状进行调查,发现经空间诱变后的小麦后代株高存在明显的变化,品种不同突变表现各异,以龙麦 26 为亲本的诱变后代,株高变异呈显著性差异,以克丰 10 号为亲本的诱变后代,虽然在株

高、穗长、小穗数、千粒重、容重和产量上表现出差异,但均为不显著变异。前人研究结果表明,不同品种对空间环境敏感性不同,不同的小麦品种的诱变效果不同,与该研究结果一致^[12-13]。

对诱变材料基因组 SSR 标记分析结果表明,SSR 标记检测到的突变频率最高的位点出现在 B 组染色体上,A 组染色体上最少,D 组染色体上的介于二者之间。前人利用 SSR 分析小麦品种多样性时也得到了小麦 B 组染色体基因组上 SSR 标记具有更高的多态性,如郭小丽利用 108 对 SSR 引物对 36 个优质小麦品种和 12 个来自不同生态区的普通品种进行了遗传分析^[14]。研究利用 12 对 SSR 引物对实践八号搭载的 6 份小麦品系 240 个单株 SP₂ 单株进行标记分析时发现,在 A 组染色体上获得了较高的 SSR 标记位点突变频率^[4]。由此可见,空间条件导致的 DNA 水平的变化是随机发生的。多态性分析的结果经过重复试验,仍能重现,表明各突变系性状的变异是由于 DNA 的变化所引起的。这可以为进一步解析小麦航天诱变的分子机制提供参考。

空间环境能诱发小麦农艺性状产生不同程度的突变效应,这种诱变效应的方向和大小因品种的不同会产生不同情况的差异。根据育种目标,从中选育出性状优良的小麦新品系,进而拓宽小麦种质资源。空间诱变小麦材料 DNA 分子水平上其变异是随机产生的,并且变异是可以稳定遗传,随着对小麦突变性状研究的深入,特别是对突变基因的精细定位,将更好地阐明空间诱变的分

子机制,同时为作物的空间诱变育种提供指导。

参考文献:

- [1] 温贤芳,张龙,戴维序,等.天地结合开展我国空间诱变育种研究[J].核农学报,2004,18(4):241-246.
- [2] 刘录祥,郭会君,赵林妹,等.我国作物航天育种 20 年的基本成就与展望[J].核农学报,2007,21(6):589-592.
- [3] 张宏纪,王广金,孙岩,等.春小麦航天诱变入选后代的变异研究[J].核农学报,2007,21(2):111-115.
- [4] 郭怡璠,张宏纪,孙岩,等.春小麦空间诱变 SP₂ 的 SSR 标记变异分析[J].黑龙江农业科学,2010(7):9-12.
- [5] 王广金,闫文义,孙岩,等.航天诱变选育高产优质小麦新品系龙辐 02-0958[J].核农学报,2005,19(5):347-350.
- [6] 孙岩,王广金,张宏纪,等.航天诱变与杂交相结合选育小麦新品种龙辐麦 19[J].作物杂志,2011(4):125-126.
- [7] 王广金,闫文义,孙岩,等.空间诱变选育小麦新品系的研究[J].黑龙江农业科学,2004(4):1-4.
- [8] 周峰,易继财,张群宇,等.水稻空间诱变后代的微卫星多态性分析[J].华南农业大学学报,2001,22(4):55-57.
- [9] 郭亚华,谢立波,孟凡娟,等.空间诱变后甜椒叶片光合、色素和超微结构的变化[J].核农学报,2011,25(2):237-241.
- [10] 左丽玲,冯晶,蔺瑞明,等.SSR 标记分析小麦品种 Flinor 和铭贤 169 的遗传差异[J].中国农学通报,2009,25(10):59-62.
- [11] 岳效飞,谢振文,王汉宁,等.空间诱变后的水稻 SSR 标记变异特征研究[J].湖北农业科学,2008,47(7):733-736.
- [12] 吴德志,刘永柱,郭涛,等.实践八号育种卫星搭载水稻的诱变效应研究[J].核农学报,2010,24(2):209-213.
- [13] 杜久元,周祥椿,白斌,等.5 个冬小麦品种(系)航天诱变后代穗形和芒的变异[J].甘肃农业科技,2008(3):5-9.
- [14] 郭小丽,刘冬成,罗铮,等.我国部分优质小麦品种遗传差异的 SSR 标记分析[J].麦类作物学报,2004,24(1):1-5.

Study on Spring Wheat Variation of Progeny by Space Induced Mutation

GUO Yi-fan¹, ZHANG Hong-ji¹, LIU Wen-lin¹, SUN Yan¹, LIU Dong-jun¹, GENG Hong-wei², YANG Shu-ping¹

(1. Crop Breeding Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Virus-free Seeding Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: In order to explore and study the mutation of spring wheat offspring further, the agronomic trait and DNA polymorphism of 7 lines after the planting of space mutation seed of pure line Longmai 26 and Kefeng 10 were investigated and analyzed. The results showed that the mutant plants had more variation in yield characters than the original varieties and mostly positive mutation. Mutant plants and native species existed between different levels of microsatellite polymorphism, there were 3 types of mutations amplified among 27 groups of SSR primers; fragments amplification increased, amplified fragment decreased and different length of amplified fragment, the single mutation types were in the majority.

Key words: wheat; space induction; character variance; microsatellite analysis