

· 热带作物 ·

DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20250048



主持人: 张洪亮, 徐 冉

Open Access



利用新型电子加速器辐照诱变水稻的研究初报

王祥鏢^{1,2#}, 夏志辉¹, 翟虎渠³, 李 卫³, 任 杰³, 王 蓉⁴, 曹 兵^{1*}

(1. 海南大学 三亚南繁研究院, 海南 三亚 572025 中国; 2. 海南大学 热带农林学院, 海南 儋州 571737 中国; 3. 三亚鸣遥种质创新科技有限公司, 海南 三亚 572000 中国; 4. 泰州市农业农村局 耕地质量保护站, 江苏 泰州 225300 中国)

摘 要: 本研究首次利用三亚新型电子加速器装置, 以 20 Gy 为梯度设置 80~200 Gy 7 个辐射剂量组, 对水稻 (*Oryza sativa*) 萌动种子进行诱变, 对 M_1 代水稻种子发芽势、发芽率、存活率、株高、结实率和千粒重等 6 个农艺性状进行统计分析, 并对 M_2 代进行表型突变筛选和分析。结果表明, 不同剂量下 M_1 代供试水稻材料除千粒重无明显变化和株高逐渐恢复至对照水平, 其余农艺指标均随剂量的增加呈现下降趋势, 且差异显著; 在 M_2 代中获得了抗病、早熟、晚熟、株高、分蘖数、芒长及种壳颜色突变的水稻植株, 且突变率依次为: 种壳颜色 (0.234 9%) > 株高 (0.214 8%) > 晚熟 (0.134 2%) > 早熟 (0.107 4%) > 芒长 (0.080 5%) > 分蘖数 (0.053 7%) > 抗病 (0.040 3%); 确定水稻萌动种最佳辐射的剂量区间为 140~160 Gy。

关键词: 新型电子加速器; 辐照诱变; 水稻

中图分类号: S335.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-7054(2025)06-0795-05

王祥鏢, 夏志辉, 翟虎渠, 等. 利用新型电子加速器辐照诱变水稻的研究初报 [J]. 热带生物学报, 2025, 16(6): 795-799. doi: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20250048

水稻 (*Oryza sativa*) 是全球重要粮食作物之一。随着社会经济的发展和生活水平的提升, 培育高产优质、性状多样化的水稻, 已成为亟待解决的全球性议题。加速器辐射育种通过诱导植物 DNA 链断裂、碱基替换等分子事件^[1], 引发遗传物质变异, 具有突变率高、突变谱广、突变易稳定、育种周期短等优点^[2]。自中国开展辐射诱变育种技术的研发以来, 通过该技术体系已成功创制逾两千份具备优良性状的新型突变种质^[3], 对提高作物诱变育种的效率及相应关键基因功能的研究具有重要的意义^[4]。

在中国, 加速器技术以重离子加速器为主, 而专门用于农业诱变育种的电子加速器则相对稀缺^[5]。电子加速器作为现代物理诱变装置, 其核心原理基于真空环境中电子在磁场约束与电场加速的协同作用下, 形成能量范围为 2~10 MeV 的高

能粒子束^[6], 但是经常因辐照剂量失准, 导致材料死亡率异常升高或突变频率不足等问题。2023 年 8 月, 三亚电子加速器诱变育种实验室与中核集团原子能院共同建设了国内首台专用于农业诱变育种研究的新型电子加速器装置, 采用直线电子加速, 实现 0~2 MeV 能量梯度精准调控, 可有效解决上述问题^[7]。已有研究表明, 萌动种子的辐射敏感性比干种子有显著的提高, 辐照萌动种子, 既降低辐照剂量, 又提高诱变频率, 是辐射育种中一种行之有效的技术^[8]。目前, 利用该装置对水稻进行种质创制的研究仍处于空白。本研究首次利用该装置对水稻萌动种进行辐射诱变, 对 M_1 、 M_2 代水稻主要表型进行统计分析, 以期筛选出早熟、抗病能力强等农艺性状优异的水稻种质材料, 并探寻最佳的辐射剂量区间, 旨在为后续利用电子加速器进行水稻育种提供科学的实验数据支撑。

收稿日期: 2025-03-17

修回日期: 2025-04-12

基金项目: 海南省重大科技计划项目 (ZDKJ2021002); 海南省崖州湾种子实验室成果转化项目 (B23YQ0008)

*第一作者: 王祥鏢 (2000—), 男, 海南大学热带农林学院 2022 级硕士研究生。E-mail: 1289543470@qq.com

*通信作者: 曹兵 (1967—), 男, 研究员。研究方向: 种质资源创新与辐射诱变育种。E-mail: caobing@hainanu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料 供试水稻品种为‘海丰 21’。

1.2 材料处理与种植 每组设置 3 次重复。每次选取 500 粒饱满水稻种子放置于培养皿中,并加入适量清水进行萌动处理,48 h 后交由三亚电子加速器诱变育种实验室,以 20 Gy 为梯度设置 80、100、120、140、160、180、200 Gy 辐射剂量组,利用直线电子加速器(电子束能量 2 MeV,平均功率 1 kW,最小分辨剂量 5 Gy)进行辐射。需注意应保持种子平铺于培养皿内,避免因交叠导致辐照不均匀,对实验造成误差。辐照结束后立刻种植于 96 穴盘的育苗盘进行育苗,15 d 后将存活率一半及以下的处理组(受辐照影响较明显)移栽至大田。成熟后,按照单株分类收取 M₁ 代及对照组的种子。晒干脱粒后,实验组每株随机选取 50 粒饱满健康的种子,分别种于田间,即为 M₂ 代,另随机选取 500 粒未处理的水稻种播于田间作为对照。

1.3 农艺性状调查统计 第 5 天统计 M₁ 代发芽数并计算发芽势^[9];统计第 10 天发芽种子总数,计算发芽率和相对发芽率^[10-11];幼苗培养至第 15 天(三叶期),统计正常生长的幼苗数(叶片展开、根系无褐化),幼苗萎蔫、茎基部腐烂或完全停止生长,判定为死亡,计算存活率;第 15 天(三叶期),测量幼苗基部到最高叶尖的高度,第 60 天(抽穗期)测量主茎高度。成熟期排除病虫害或机械损伤导致的空粒,统计每株有效穗的实粒数与总粒数(包括空秕粒),计算结实率。成熟籽粒晒干后,随机

选取 1 000 粒饱满籽粒,称重并换算成千粒重(质量)。M₂ 代自播种后每隔 3 天去田间观察水稻的生长情况,以对照组水稻的生长状况为参考,对比并筛选 M₂ 代突变体,着重观察水稻分蘖、株高及抽穗期等农艺性状。

1.4 数据收集与处理 使用 Microsoft Excel 软件(Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA)进行数据收集与处理。为了比较不同剂量组间水稻指标是否具有显著性差异,使用 GraphPad Prism 软件进行了方差分析单因素方差分析(one-way ANOVA),同时应用了邓肯多重范围检验(Duncan's multiple range test),*P* 值小于 0.05 被认为具有统计学显著性,最后使用抑制因子模型拟合曲线进行可视化绘图。

2 结果与分析

2.1 M₁ 代主要农艺性状统计分析 对 M₁ 水稻材料的主要农艺性状进行了调查统计。低剂量区间(80~120 Gy)存活率从 77.58% 降至 61.34%,每增加 20 Gy 剂量,存活率平均下降约 8.12%。中剂量区间(120~160 Gy)存活率从 61.34% 逐步降至 44.71%,每增加 20 Gy 剂量,存活率下降幅度扩大至约 8.315%;其中,140 Gy 组存活率 56.29%,160 Gy 组 44.71%,降幅达 11.58%,高于相邻剂量组(如 120~140 Gy,5.05%)的降幅。高剂量区间(160~180 Gy)存活率从 44.71% 骤降至 21.37%,剂量达到 200 Gy 时,存活率归零(表 1)。发芽势、相对发芽率与存活率类似,与辐射剂量间的关系

表 1 不同辐照剂量对 M₁ 水稻幼苗期的影响

Tab. 1 Effects of different irradiation doses on the rice plants at the seedling stage

剂量/Gy	发芽势/%	发芽率/%	相对发芽率/%	存活率/%	幼苗株高/cm
Dose/Gy	Germination potential/%	Germination rate/%	Relative germination rate/%	Survival rate/%	Seedling height/cm
0	86.60±1.58 ^a	96.00±0.73 ^a	100.00±0 ^a	100±0 ^a	11.38±1.27 ^a
80	67.00±2.03 ^b	91.20±1.32 ^a	95.00±2.57 ^a	77.58±1.94 ^b	9.53±1.65 ^b
100	53.80±2.26 ^c	86.60±1.44 ^b	90.20±1.98 ^b	71.36±2.01 ^b	8.18±1.61 ^c
120	47.40±3.50 ^c	65.20±2.62 ^c	67.91±3.43 ^c	61.34±2.22 ^c	6.72±2.21 ^d
140	39.20±2.73 ^d	50.80±1.73 ^d	52.91±2.15 ^d	56.29±2.65 ^c	6.35±1.93 ^d
160	34.00±2.93 ^d	41.60±2.09 ^c	43.33±2.37 ^c	44.71±2.36 ^d	4.66±1.89 ^e
180	11.40±1.59 ^e	29.00±2.14 ^f	30.20±2.26 ^f	21.37±2.26 ^e	3.97±1.37 ^f
200	2.20±0.58 ^f	3.80±0.76 ^g	3.95±0.81 ^g	0±0 ^f	0±0 ^g

注:数据以均值±标准差表示,不同字母表示差异显著(*P*<0.05),下同。
Note: The data are expressed as mean ± standard deviation, and different letters indicate significant differences(*P*<0.05), similarly hereinafter.

呈现相近的下降趋势。幼苗株高在不同剂量下呈现负相关: $Y = -0.042\ 98X + 12.04$, 其中, $R^2 = 0.95$, X 为辐射剂量, Y 为幼苗株高, 与对照组相比均具有显著性差异。

从表 2 可知, 140 ~ 180 Gy 剂量下, 抽穗期株高在 72 ~ 76 cm 之间, 千粒重在 21 ~ 23 g 之间, 均无显著性差异, 而结实率则从 56.81% 降至 25.54%, 差异显著 ($P < 0.05$)。

表 2 140、160、180 Gy 处理组移栽大田后
M₁ 代水稻农艺性状统计

Tab. 2 Statistics of agronomic traits in M1 generation of rice of the 140, 160, and 180 Gy treatment groups after transplanted to field

剂量/Gy Dose	抽穗期株高/cm Plant height at tasseling stage	结实率/% Fruiting rate	千粒重/g Thousand kernel weight
0	74.86±1.51 ^a	100±0 ^a	22.70±1.16 ^a
140	73.95±1.57 ^a	56.81±2.47 ^b	22.68±1.38 ^a
160	75.21±2.56 ^a	36.93±2.55 ^c	22.39±1.21 ^a
180	72.64±2.66 ^a	25.54±2.39 ^d	21.58±1.31 ^a

2.2 M₂ 代表型突变筛选及统计 调查发现, M₂ 代水稻中产生了多种较易观察的突变性状, 包括株高变高, 分蘖数变少, 水稻壳呈现淡淡的紫红色, 芒的长度变长, 以及水稻抽穗早熟和晚熟。对照组株高均在 81 ~ 85 cm, 处理组出现了 35 株株高 140 ~ 150 cm 的水稻, 这些水稻变高主要表现在顶端第 1、2 节的变长, 且生长至成熟期易折断; 对照组水稻分蘖数为 8 ~ 16 个, 处理组发现了 8 株水稻分蘖数为 1 ~ 5 个(图 1); 对照组芒为短芒甚至无芒, 而处理组中发现 12 株水稻芒长度变为中等(1 ~ 2 cm)甚至更长(>2 cm); 对照组水稻种壳颜色在灌浆期呈现绿色, 成熟期为淡黄色, 处理组则出现 35 株水稻部分种壳颜色在灌浆期为紫红色, 成熟期逐渐变淡。

值得注意的是, 试验田因暴雨导致水淹, 水稻遭受白叶枯病菌侵染。对比后发现, 有 6 株水稻对白叶枯抗性特别高, 几乎不受影响, 15 d 后测量其病斑长度 <3 cm, 病斑极少, 仅边缘轻微黄化(图 1); 而对照组及处理组的其他水稻株, 病斑较明显, 叶片部分枯黄, 甚至有 2 个株系全叶枯死, 植株严重矮化或死亡。

基于剂量-突变率关联分析, 各辐照剂量对水稻诱变的影响排序为: 160 Gy(1.382 3%)>180 Gy

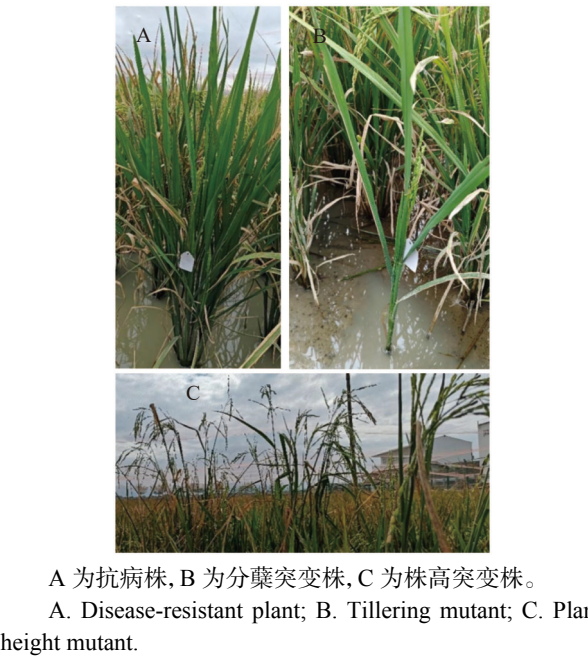


图 1 部分水稻突变株
Fig. 1 Rice Mutants

(1.285 7%)>140 Gy(0.585 1%)(表 3)。为获得更多的突变体, 以半致死剂量(LD₅₀)为基准^[12], 平衡突变率-存活率, 确定 140 ~ 160 Gy 为最佳辐射剂量区间。

表 3 不同剂量下 M₂ 代突变数及突变率

Tab. 3 Number of mutations and mutation rate in the M2 generation of rice under different irradiation doses

剂量/Gy Dose/Gy	种植数/株 Number of plants	突变数量/株 Number of mutations	突变率/% Mutation rate/%
0	500	0	0
140	9 400	55	0.585 1
160	3 400	47	1.382 3
180	2 100	27	0.777 8
总株数 Total number	14 900	129	0.865 8

由表 4 可知, 不同辐射剂量下各农艺性状的敏感程度不同, 例如在 140 Gy 实验组中, 突变数量最多的农艺性状为种壳颜色(17 株); 在 160 Gy 实验组中, 突变数量最多的农艺性状为株高(15 株); 在 180 Gy 实验组中, 突变数量最多的农艺性状为晚熟(8 株)。

同一农艺性状对不同辐射剂量的响应程度有所差异, 其排序情况如下: 分蘖数突变 160 Gy(0.088 2%)>180 Gy(0.047 6%)>140 Gy(0.042 6%); 株高突变 160 Gy(0.441 2%)>180 Gy(0.238 1%)>140 Gy(0.127 7%); 芒长突变 180 Gy(0.190 5%)>140 Gy(0.063 8%)>160 Gy(0.058 8%); 种壳颜色

突变 160 Gy(0.352 9%)>180 Gy(0.285 7%)>140 Gy (0.180 9%); 早熟突变 160 Gy(0.176 5%)>180 Gy (0.142 9%)>140 Gy(0.074 4%); 晚熟突变 180 Gy (0.381 0%)>160 Gy(0.205 9%)>140 Gy(0.053 2%); 抗病突变 160 Gy(0.058 8%)>140 Gy(0.042 5%)> 180 Gy(0)。基于总突变率分析, M₂ 代农艺性状对 辐射的敏感程度依次为种壳颜色(0.234 9%)>株高 (0.214 8%)>晚熟(0.134 2%)>早熟(0.107 4%)>芒 长(0.080 5%)>分蘖数(0.053 7%)>抗病(0.040 3%) (表 5)。

表 4 不同剂量下各农艺性状突变的数量

Tab. 4 Number of mutations in agronomic traits under different irradiation doses

剂量/ Gy Dose/ Gy	分蘖数/株 Number of tillers	株高/株 Plant height	芒长/株 Awn length	种壳颜色/株 Hull color	早熟/株 Early maturity	晚熟/株 Late maturity	抗病/株 Disease resistance
140	4	12	6	17	7	5	4
160	3	15	2	12	6	7	2
180	1	5	4	6	3	8	0
总突变数 Total number of mutations	8	35	12	35	16	20	6

表 5 不同剂量下各农艺性状的突变率

Tab. 5 Mutation Rate of Agronomic Traits under Different Irradiation Doses

剂量/ Gy Dose/ Gy	分蘖数/% Number of tillers	株高/% Plant height	芒长/% Awn length	种壳颜色/% Hull color	早熟/% Early maturity	晚熟/% Late maturity	抗病/% Disease resistance
140	0.042 6	0.127 7	0.063 8	0.180 9	0.074 4	0.053 2	0.042 5
160	0.088 2	0.441 2	0.058 8	0.352 9	0.176 5	0.205 9	0.058 8
180	0.047 6	0.238 1	0.190 5	0.285 7	0.142 9	0.381 0	0
总突变率/% Total mutation rate/%	0.053 7	0.214 8	0.080 5	0.234 9	0.107 4	0.134 2	0.040 3

3 讨 论

利用辐射诱变技术可快速创制新的基因资源,筛选出表型性状优异的辐射后代^[13]。水稻种子在受到辐射后,生长发育情况很快受到明显的影响,发芽势、发芽率、相对发芽率、存活率、幼苗株高及结实率随着剂量的增加而不断降低,且差异显著,说明辐射对这些农艺性状有抑制作用^[14]。而到了抽穗期,水稻株高已经恢复至对照水平。这表明 M₁ 代绝大多数幼苗株高生长被抑制的原因,仅是辐射导致的物理损伤,在水稻自身的修复机制下逐渐恢复至对照水平,不会遗传至下一代。而且 M₁ 代容易产生隐性突变,不易被发现,本次实验 M₂ 代水稻相关突变性状如分蘖数、芒长、种壳颜色等突变表型在 M₁ 代中并未发现,在 M₂ 代中分离显现。

140 Gy 组: 种壳颜色突变率最高(0.180 9%), 其次是株高(0.127 7%), 分蘖数突变率最低(0.042 6%), 说明 140 Gy 剂量对种壳颜色和株高具有较高诱变效率,分蘖性状对辐射响应较弱。160 Gy 组: 株高突变率最高(0.441 2%), 种壳颜色次之

(0.352 9%), 表明该剂量对株型和种壳颜色诱变能力较强,抗病突变率(0.058 8%)为 3 组最高,适合抗性筛选。180 Gy 组: 晚熟突变率最高(0.381 0%), 芒长突变率提升(0.190 5%), 株高突变率(0.238 1%)较高,但抗病突变率为 0,表明高剂量可能不利于抗性相关通路,且伴随高致死风险。因此,140 ~ 160 Gy 剂量区间平衡了突变效率与植株存活率,适用于规模化诱变育种。性状突变率排序从高到低依次为: 种壳颜色(0.234 9%)>株高(0.214 8%)>晚熟(0.134 2%)>早熟(0.107 4%)>芒长(0.080 5%)>分蘖数(0.053 7%)>抗病(0.040 3%)。种壳颜色突变率高可能与其由单基因调控有关,而抗病性可能受多基因互作影响,故突变率较低。

本试验对不同剂量辐照后的水稻主要农艺性状进行了统计分析,并筛选了具有抗病、早熟等优良性状的水稻突变体。结果表明,不同剂量下水稻发芽势、发芽率、存活率、幼苗株高、结实率均随剂量的增加而下降;半致死剂量在 140 ~ 160 Gy 之间,为最佳辐射诱变的剂量区间,能获得较多的突变体(55 株和 47 株),且 M₁ 代容易产生隐性

突变,建议在 M_2 代及之后选种。获得的抗病、早熟、分蘖、株高等突变体,将作为相应关键基因功能的研究原材料,为研究提供便利,也为后续利用新型电子加速器提高创制水稻种质资源效率提供科学实验数据支撑。

参考文献:

- [1] 刘录祥,郭会君,赵林妹,等.植物诱变突变技术育种研究现状与展望[J].核农学报,2009,23(6):1001-1007.
- [2] 翟虎渠,曹兵,顾爽,等.电子加速器诱变育种材料进展初报[J].中国农业科技导报,2024,26(12):210-216.
- [3] 王志东.我国辐射诱变育种的现状分析[J].同位素,2005,18(3):183-185.
- [4] 冀丽霞,郭宝德,白琪林,等.重离子辐射技术在芸豆品种选育中的利用[J].种子,2021,40(5):136-138.
- [5] MA L Q, KONG F Q, SUN K, et al. From classical radiation to modern radiation: past, present, and future of radiation mutation breeding[J]. Frontiers in Public Health, 2021, 9: 768071.
- [6] 李军华,蔡青,郭会君,等.高能碳离子束辐射对玉米当代的生物学效应[J].核农学报,2022,36(4):681-688.
- [7] 顾爽,曹兵,王鹿,等.利用热带生态的特殊性开展辐射诱变育种条件分析与展望[J].种子,2024,43(5):64-69.
- [8] 林兆松,黄振兴,唐文庆,等.水稻萌动种于辐射诱变研究[J].福建省农科院学报,1990,5(2):12-19.
- [9] 赵东兴,李春,李芹,等. H_2O_2 和种皮处理对马槟榔种子萌发和幼苗生长的影响[J].种子,2018,37(8):72-74.
- [10] 袁梦佳,杨太新,刘国库,等.柴胡种子质量与生理指标的相关性[J].江苏农业科学,2022,50(2):120-124.
- [11] 冯旭平,康红梅,赵铭森,等.EMS对工业大麻汾麻3号种子萌发的影响[J].山西农业科学,2020,48(12):1925-1929.
- [12] 梁建,张宝津,刘世哈,等.大花紫薇EMS诱变育种研究[J].华南农业大学学报,2025,46(2):203-211.
- [13] 李玮玮.高能重离子束辐射诱变的水稻垜白性状与其他主要农艺性状的关联分析[D].哈尔滨:中国科学院大学(中国科学院东北地理与农业生态研究所),2024. doi:10.27536/d.cnki.gccdy.2024.000055
- [14] 刘霄.桔梗对重离子束和X射线辐射响应机制的比较研究[D].兰州:中国科学院大学(中国科学院近代物理研究所),2023. doi:10.27560/d.cnki.gkjwc.2023.000021

Irradiation mutagenesis of rice using a new type of electron accelerator

WANG Xiangbiao^{1,2#}, XIA Zhihui¹, ZHAI Huqu³, LI Wei³, REN Jie³, WANG Rong⁴, CAO Bing^{1*}

(1. Sanya Institute of Breeding and Multiplication, Hainan University, Sanya, Hainan 57205; 2. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Danzhou, Hainan 571737; 3. Sanya Mingyao Germplasm Innovation Technology Co., Sanya, Hainan 57200, China; 4. Cultivated Land Quality Protection Station, Bureau of Agriculture and Rural Affairs of Taizhou City, Taizhou, Jiangsu 225300 China)

Abstract: A new type of electron accelerator device in Sanya was utilized for the first time to mutagenize rice germinating seeds with seven radiation groups at doses of 80-200 Gy in a gradient of 20 Gy. Statistical analyses were performed on six agronomic traits, namely, germination potential, germination rate, survival rate, plant height, fruiting rate, and 1,000-grain weight of rice seeds of the M_1 generation, and phenotypic mutations were screened and analyzed for the M_2 generation. The results showed that all the agronomic indexes of the rice materials of the M_1 generation irradiated at different doses tended to decrease significantly different with the increase of irradiation dose, except for the thousand grain weight, which did not change significantly, and the plant height, which was gradually restored to the level of the control group. The rice plants with mutation in disease resistance, early maturity, late maturity, plant height, tiller number, awn length, and hull color were selected from the M_2 generation, with the mutation rates in the order of hull color (0.2349%) > plant height (0.2148%) > late maturity (0.1348%) > plant height (0.1348%) > late maturity (0.1348%) > early maturity (0.1074%) > awn length (0.0805%) > number of tillers (0.0537%) > disease resistance (0.0403%). The optimal radiation doses for the rice sprouting seeds were determined to be 140-160 Gy.

Keywords: new type of electron accelerator; irradiation mutagenesis; *Oryza sativa*

(责任编辑:潘学峰)