

# 碳离子束辐照大豆当代诱变效应及褐皮突变体的初步研究

余丽霞<sup>1,2</sup> 李文建<sup>1</sup> 杜艳<sup>1,2</sup> 刘瑞媛<sup>1</sup> 周利斌<sup>1</sup>  
骆善伟<sup>1,2</sup> 陈刚<sup>3</sup> 刘青芳<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> (中国科学院近代物理研究所 730000 兰州)

<sup>2</sup> (中国科学院大学 100049 北京)

<sup>3</sup> (宁夏农林科学院 750002 银川)

**摘要** 利用不同剂量碳离子束辐照大豆“合丰55”干种子,通过对表型、株高、分枝数及产量相关性状的考察以及DNA指纹图谱分析探索离子束辐照大豆的当代诱变效应。结果表明离子束诱变大豆M1代田间出现多种变异表型,辐照处理对M1代株高和分枝数有抑制作用,单株荚数、单株粒数、单株粒重及百粒重随着辐照剂量的增加呈现先降低后升高再降低的趋势,但这些变异与对照相比并未达到显著水平。大豆种子经辐照后M1代筛选到1株褐皮突变体,种皮颜色由黄色变为褐色,而且这种变异在M2代能够稳定遗传。运用随机扩增多态性(Random amplified polymorphic DNA, RAPD)技术对其DNA多态性进行研究,辐照后突变体DNA与对照相比扩增条带或增加或减少,相似性系数为0.9513。综合结果表明,碳离子束辐照对大豆当代产生了一定的诱变效应,不仅造成了农艺性状的变异,而且使DNA水平也发生了明显的变化。

**关键词** 碳离子束, 诱变效应, 大豆, 褐皮突变体

**中图分类号** TL99, Q691.5

诱变育种技术是指利用化学和物理手段打破生物体基因连锁,使其发生遗传性变异,通过促进重组使基因发生突变,然后根据育种目标对诱导材料进行目的性选择,改良遗传性状、培育新的品种、创造新的种质资源<sup>[1-4]</sup>。传统的物理诱变手段主要有 $\gamma$ -射线、X-射线、快中子和激光等,多年来在各种作物中得到了广泛的应用,并取得了一定的效果,但这些方法存在诱变方向难以确定,突变率低,期望突变频率难以掌控等缺点,限制了其在作物育种中的更好应用。重离子束的应用始于20世纪80年代,其作为一种新的诱变源在作物育种中崭露头角。随着加速器技术的不断进步,离子束得到了各国育种研究者的重视,并获得了长足发展。目前,利用离子束诱变技术在玉米、高粱、水稻、小麦、花卉、蔬菜和牧草等植物中培育出一批新的品系,取得了良好的效果<sup>[5-12]</sup>。大豆是一种重要的经济和油料作物,其辐射育种工作在我国最早由翁秀英等<sup>[13]</sup>开展,他们利用X射线和钴-60处理了东农4号和“满金仓”等大豆品种,相继育成黑农4号、黑农5号、

黑农6号、黑农7号和黑农8号等10多个新品种(系),随后诱变技术在培育新类型、创造新品种及改善大豆营养品质等方面均取得了良好成效,但这些诱变技术研究以X射线和 $\gamma$ 射线为主,利用重离子束诱变大豆的研究目前还开展的较少。因此,本研究主要利用不同剂量的碳离子束诱变大豆干种子,并对其M1代诱变效应进行研究。另外,从辐照材料中筛选到种皮由黄色变为褐色的突变体,我们对此突变体进行了基因图谱分析。本研究为今后大豆的离子束诱变育种提供了良好的理论基础,并为其进一步研究提供了相关科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

该研究供试材料为大豆品种“合丰55”干种子(种皮黄色),由中国科学院东北地理与农业生态研究所提供。

基金资助:中国科学院兰州分院与张掖市科技局院地合作项目(Y106490YYD,Y106490XZO)资助

第一作者:余丽霞,女,1979年12月出生,2005年于华中农业大学获作物遗传育种专业硕士学位,现为中国科学院大学辐射生物学在读博士研究生,并就职于中科院近代物理研究所,助理研究员,主要从事植物辐射育种及分子机理研究, E-mail: yulx@impcas.ac.cn

通讯作者:李文建,博士,研究员, E-mail: wjli@impcas.ac.cn

收稿日期:初稿 2013-10-31; 修回 2013-12-04

## 1.2 辐照处理

辐照试验在中国科学院近代物理研究所重离子加速器辐照终端进行,采用  $80\text{ MeV}\cdot\text{u}^{-1}\text{ }^{12}\text{C}^{6+}$  离子束辐照处理,共设置 5 个剂量点: 0、100、150、200 和 300 Gy。

## 1.3 田间调查及数据统计

### 1.3.1 田间种植及调查

2012 年 4 月 18 日将辐照后种子播种于皋兰试验基地,田间种植行距 20 cm,株距 40 cm,每剂量种植 45 粒左右种子,不设重复,田间正常管理,成熟后单株收取种子。苗期观察植株生长状况及叶片表型变异;收获期测量株高、分枝数;收获后室内考种,调查内容包括单株荚数、单株粒数、单株粒重、百粒重、空荚率和粒荚比。

### 1.3.2 数据统计

将田间调查及考种数据全部录入 Excel 表中,数据处理使用统计分析软件 SPSS17.0,两两均数间的比较采用 Duncan 法,显著性差异水平采用  $p<0.05$  表示。

## 1.4 基因组 DNA 的提取及随机扩增多态性分析

### 1.4.1 基因组 DNA 提取

重离子束诱变后产生褐色种皮突变材料,该种皮颜色突变性状在 M2 代保持不变。以 M2 代褐色皮突变体幼嫩叶片为材料,用 E.Z.N.A. HP Plant DNA Kit 提取基因组 DNA,所有步骤均严格按照试剂盒操作说明进行。在本研究中,为了避免 RNA 对实验的干扰,在提取过程中用  $10\ \mu\text{L}$  RNaseA 室温孵育 10–20 min 以去除基因组中的 RNA。提取出的 DNA 经 1.0% 琼脂糖凝胶检测发现完整性好,而且 DNA 无污染及降解,可作为下一步分析的模板。

### 1.4.2 RAPD 分析

PCR 反应采用  $25\ \mu\text{L}$  体系,包含 Taq DNA 聚合酶  $0.25\ \mu\text{L}$ ,  $2\times\text{Reaction Mix}$   $12.5\ \mu\text{L}$ , DNA 模板  $1\ \mu\text{L}$ , 引物  $1.5\ \mu\text{L}$ ,  $\text{ddH}_2\text{O}$   $9.75\ \mu\text{L}$ 。扩增所用随机引物均由上海生工合成,PCR 反应试剂为天根生化科技(北京)有限公司购买的 Golden easy PCR system。PCR 扩增使用设备为美国 Bio-RAD 公司 My Cycler TM Thermal Cycler。PCR 扩增程序如下:先  $94\ ^\circ\text{C}$  预变性 5 min;然后  $94\ ^\circ\text{C}$  变性 50 s,  $36\ ^\circ\text{C}$  退火 50 s,  $72\ ^\circ\text{C}$  延伸 1 min 30 s,共 45 个循环;最后  $72\ ^\circ\text{C}$  延伸 10 min,  $4\ ^\circ\text{C}$  保存。扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳进行分离。

### 1.4.3 实验数据统计与分析

本实验 PCR 扩增产生的条带数是根据电泳后琼脂糖凝胶相同位置上扩增条带的有无来统计,无扩增带则记为“0”,有扩增带则记为“1”,统计结果用公式 Jaccard 来进行相似性分析<sup>[5]</sup>,相似性系数公式为  $F=2N_{xy}/N_x+N_y$ ,其中  $N_{xy}$  为对照和突变体共同扩增的条带数,  $N_x$  和  $N_y$  则是对照和突变体样品分别扩增的条带数。

## 2 不同剂量碳离子束对大豆 M1 代株高和分枝数的诱变效应

### 2.1 离子束辐照植株田间表型变化

离子束辐照常对植株造成相应的遗传变异及生理损伤,从而使植株在田间表现出一定的表型变化。如图 1 所示,碳离子束辐照大豆干种子后田间表型变异明显,主要表现为高剂量辐照后植株发芽力减弱、出苗迟缓、植株弱小;低剂量辐照后植株变高、叶片变宽变大、叶色浓绿。各剂量辐照后植株真叶均有皱缩、缺刻、白化、黄化及畸形出现,部分叶片出现红褐色斑点。离子束辐照对部分植株生育期也有所影响,使其花期提前 2–3 天或晚熟。另外,辐照引起个别植株出现不育现象,收获期整株叶片浓绿,但无果荚生成。

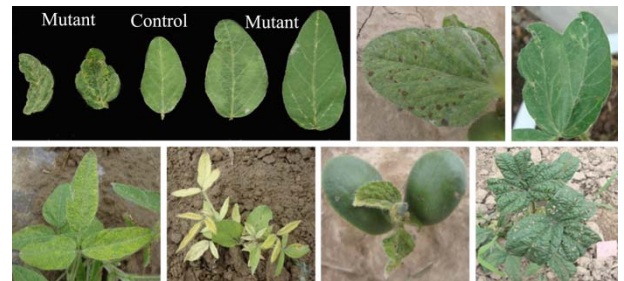


图 1 碳离子束诱变 M1 表型变异  
Fig.1 Phenotypic variations induced by carbon ions on M1 generation

### 2.2 不同剂量碳离子束对大豆 M1 代株高和分枝数的诱变效应

株高与分枝数是大豆重要的田间农艺性状,因此我们对收获期“合丰 55”株高和分枝数进行了统计分析。如图 2 所示,碳离子束辐照对大豆株高变化影响不大,除 200 Gy 外,其余剂量辐照后株高与对照相比略微下降,但降低幅度并未达到显著水平;大剂量辐照后株高下降相对较多。另外,碳离子束辐照对大豆分枝具有一定抑制作用,对照分枝数大

多在 4–5 支，而经离子束处理后植株分枝数参差不齐，各剂量辐照后出现 5 分枝的仅有少数几株，大多植株分枝数保持在 2–4 支，有个别植株出现不分

枝现象。总之，经离子束辐照后大豆分枝数呈整体下降的趋势。与对照相比，300 Gy 辐照对植株分枝抑制作用达到显著水平。

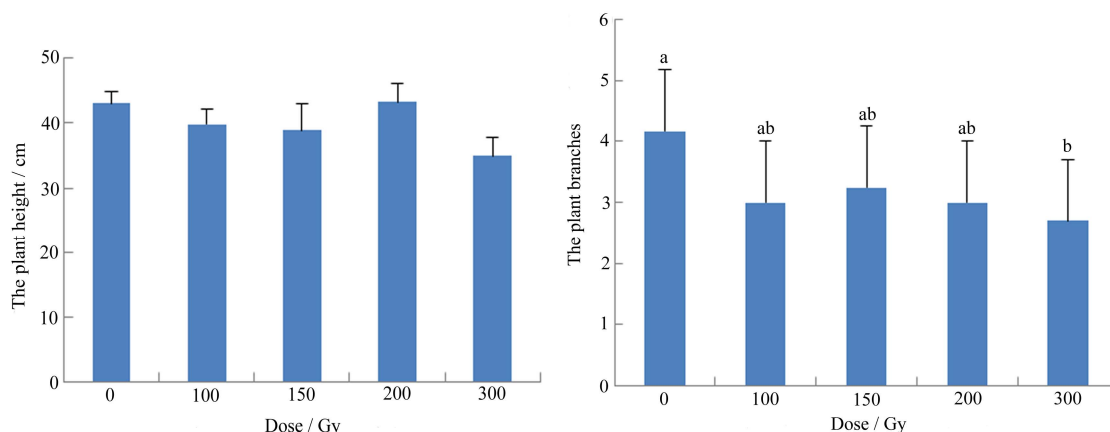


图 2 碳离子束对大豆株高和分枝数的诱变效应, a 和 b 表示在  $p < 0.05$  水平上有显著差异  
**Fig.2** Effects on plant height and branch of soybean induced by carbon ions  
 Letters a,b represent the significant difference ( $p < 0.05$ )

### 2.3 不同剂量碳离子束诱变对大豆 M1 代产量性状的影响

收获后对不同剂量辐照的大豆产量相关性状进行室内考种，从表 1 可以看出，辐照后“合丰 55”主要产量性状指标随着辐照剂量的增加均呈现出先降低后升高再降低的趋势：100 Gy 辐照后大豆单株荚数、单株粒数、单株粒重和百粒重都有不同程度的降低；200 Gy 辐照后上述各指标则与对照相比有一定的增高；大剂量 300 Gy 辐照后各产量指标又有所降低，整体表现出离子束辐照后特有的“类马鞍形”曲线。辐照对于空荚率和粒荚比基本无影响。由表 1 可知，200 Gy 辐照对大豆产量提高具有一定的优势，辐照后单株荚数和单株粒数与对照相比平

均提高了 4.28% 和 3.72%，而单株粒重和百粒重则平均提高了 10.96% 和 4.91%。

另外，经研究发现，在 0 Gy 至 300 Gy 辐照材料中，各剂量间几个农艺性状均有较大的变异范围，例如，诱变后单株荚数变异范围为 0–107，最小值出现在 100 Gy，最大值出现在 150 Gy；单株粒数变异范围为 11–212，最小值出现在 150 Gy，最大值出现在 200 Gy；单株粒重变异范围为 3.57–46.35，最小值出现在 300 Gy，最大值出现在 200 Gy；百粒重变异范围为 8.00–25.67，最小值出现在 100 Gy，最大值出现在 300 Gy（数据未列出）。由此可见，离子束辐照对于产量提高的适宜辐照剂量为 200 Gy 左右。

表 1 不同剂量离子束辐照对大豆产量性状的影响  
**Table 1** Effects of different dose carbon ions irradiation on yield factors of soybean

剂量 Dose / Gy	单株荚数 Pods per plant	单株粒数 Seeds per plant	单株粒重 Seed weight per plant / g	百粒重 Hundred-seed weight / g	空荚率 Rate of empty pod / %	粒荚比 Ratio of seed and pod
0	66.17±5.41	125.33±11.73	25.27±2.21	20.15±0.32	7.63±0.04	1.91±0.07
100	58.27±7.67	107.91±16.07	22.29±3.47	19.64±1.27	7.18±0.07	1.79±0.06
150	64.25±11.02	123.63±22.92	26.13±5.17	21.51±0.43	6.14±0.07	1.87±0.13
200	69.00±11.09	130.00±28.30	28.04±6.00	21.14±0.30	7.11±0.03	1.82±0.17
300	48.70±9.29	92.60±19.11	19.57±3.89	20.38±0.20	6.70±0.07	1.89±0.13

### 2.4 碳离子束辐照诱变褐皮突变株及其 RAPD 分析

收获考种时发现 1 株种皮颜色变化的突变株 (见图 3), 该突变株是由碳离子束 100 Gy 辐照得到。该植株所有种子种皮颜色均由对照的黄色变为褐色, 而且种皮变薄, 种子容易开裂。该植株种子 M2 种成株行, 收获后发现种皮颜色继续保持为褐色, 稳定遗传。植物基因的变化往往能引起其生理指标以及农艺性状的改变。



图 3 碳离子束辐照筛选的褐皮突变体  
Fig.3 Mutant of brown seed vessel induced by carbon ions

为了进一步确定是否 DNA 水平上的变化引起了该褐皮突变株种皮颜色变化, 本研究利用随机扩增多态性技术对辐照前材料和突变株 M2 代 DNA 进行了多态性分析, 选用的 70 条引物有 6 条无扩增产物, 其余 64 条引物对原材料和突变株均有扩增条带出现。如表 2 所示, 64 条引物共有 576 条扩增条带出现, 其中对照扩增出条带 286 条, 平均每条引物扩增 4.47 条; 突变体扩增得到条带 290 条, 平均每条引物扩增条带 4.53 条。与对照相比, 突变体扩增新增条带 11 条, 减少条带有 7 条, 条带的多态率为 6.2%。扩增产物用 Jaccard 公式进行统计分析后得到相似性系数 0.9513。图 4 是其中 16 条引物的扩增图。由图可见, 不同引物对黄皮对照和褐皮突变体的扩增差异类型不同, 图中 S8、X12 和 M3 引物扩增后对照和突变体出现的为条带增多的差异, 而 S317、Y5 和 Y4 扩增后表现为条带缺失的差异。

表 2 64 条随机引物的 RAPD 分析  
Table 2 RAPD analysis of control and brown seed soybean by 64 random primers

名称 Names	扩增条带 Amplified bands	多态性条带 Polymorphic bands		多态率 / % Polymorphism rate	相似性系数 Genetic similarity coefficient
		增加条带 Increasing bands	减少条带 Flawing bands		
对照 Control	286	—	—	—	—
突变体 Mutant	290	11	7	6.20	—
总计 Total	576	18		3.125	0.9513

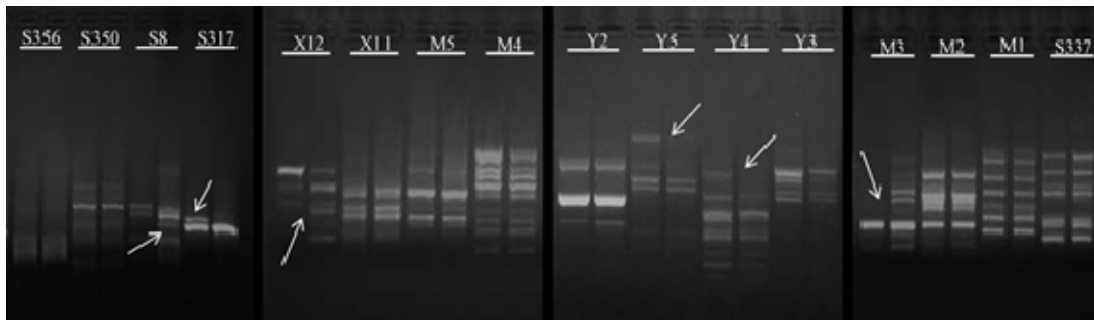


图 5 对照和突变体 RAPD 扩增条带: S356、S350、S8、S317、X12、X11、M5、M4、Y2、Y5、Y4、Y3、M3、M2、M1 和 S337 为随机引物, 每条引物左边泳道是对照, 右边是突变体; 图中白色箭头所指的为出现的差异性条带  
Fig.5 Amplified bands of RAPD: S356, S350, S8, S317, X12, X11, M5, M4, Y2, Y5, Y4, Y3, M3, M2, M1 and S337 are random primers, each lane in the left is the control and the right is the mutant. The white arrows indicate the polymorphic bands

### 3 讨论

随着航天事业的大力发展, 近 50 年来, 我国的航天诱变育种研究也显现出良好的成效。曾有研究者报道了大豆航天育种, 其研究结果表明利用航

天搭载和离子束注入可以得到相近的突变类型和诱变频率<sup>[14]</sup>。众所周知, 空间环境复杂, 因此航天诱变结果具有很大的不稳定性和不可预见性, 想要探明航天诱变的机理困难重重。另外, 空间诱变花费昂贵, 具有一定的时间性和局限性, 因此限制了

其在诱变育种中的应用。近年来离子束凭借其高效，方便，高 LET、RBE 和高突变率等优势在育种中得到了长足发展。本研究以大豆“合丰 55”为材料，研究了离子束诱变大豆的突变谱及对相关产量性状及 DNA 指纹图谱的影响，为进一步探索离子束诱变大豆的相关机理提供了理论依据和参考。

离子束是近年来新兴的一种诱变源，其在新的种质资源创新和作物改良方面具有不可替代的优势。离子束诱变除了像 X 射线和  $\gamma$  射线等诱变技术一样能引起 DNA 大片段缺失和染色体结构的变化以外，还由于离子的质量沉积、能量传递、电荷交换三因子协同作用而产生丰富的突变类型<sup>[15-16]</sup>。本研究利用不同剂量的碳离子束对大豆进行诱变，在当代田间即表现出各种变异类型，包括出苗弱、叶片皱缩畸形、叶片变宽变大、叶色浓绿、白化黄化、早熟、晚熟、不育、种皮颜色变化等，这些结果既有正向的突变类型也有负向突变类型，因此在辐照后代的选择中可以保留正向符合育种要求的突变而淘汰差的突变类型，宽的突变谱更有利于在育种中培育出符合目标的新品种材料。本研究中不同剂量碳离子束诱变大豆株高、单株荚数、单株粒数、单株粒重等农艺指标都随着辐照剂量的增加呈现出先降低后增加再降低的“类马鞍形”曲线。前人研究证明，大剂量的辐照处理对植株具有明显的损伤效应，而较小剂量辐射则对植株具有一定的刺激效应和适应性反应<sup>[17-18]</sup>，因此我们推测碳离子束对大豆的辐照处理根据剂量的不同产生了低剂量刺激效应和高剂量损伤效应，从而导致辐照后株高等各项指标出现了“类马鞍形”曲线。郭建秋等<sup>[14]</sup>研究者用航天搭载和离子束注入对大豆主栽品种“绥农 14”进行了诱变处理，结果表明航天诱变处理对 M1 株高具有显著促进作用，而单株荚数和单株粒数显著比对照低，具有一定的抑制效应；经离子束处理后株高降低，各处理间差异不显著，单株荚数和单株粒数差异也不显著。该研究结果与本人研究结果有部分不同之处，推测与辐照方式、辐照离子及辐照剂量不同有很大关系。另外，品种间差异及其对辐照的敏感性也是造成结果与前人报道不一致很重要的原因。200 Gy 辐照后大豆产量指标表现良好，略优于对照，因此可以作为下一次大豆品种离子束诱变选育的辐照剂量参考。

离子束辐照主要引起生物体的原初损伤和遗传

物质的改变。原初损伤一般诱导形成一些生理指标变化以及植株形态的变异，产生畸变表型；遗传物质的改变则是离子束诱变引起植物基因组 DNA 发生单双链断裂，大片段缺失，重组等现象，最终导致基因突变。辐照引发的当代效应是原初损伤和遗传物质改变二者结合的共同效应<sup>[19]</sup>。20 世纪 90 年代，RAPD 技术作为一种方便、低耗、简单有效的分子标记得到了广泛应用，并成功的应用于离子束诱变 DNA 多态性的检测。它是以基因组总 DNA 为模板，采用人工合成的 10 bp 引物进行扩增，最后用琼脂糖凝胶电泳将不同的扩增条带分开。任祎等<sup>[20]</sup>应用 RAPD 标记技术对氮离子注入辐射谷子种子引起的后代个体基因组 DNA 变异进行了检测，145 份材料经 10 个具有多态性的引物扩增得到了 94 个多态性位点，从而表明氮离子注入谷子引起了体内基因组突变。丁亮等<sup>[21]</sup>应用 RAPD 技术检测经低能氮离子注入甜菊纯系种子引起的幼苗基因组 DNA 变异，15 种引物共扩增 103 条片段，其中 5 种引物扩增差异片段 12 条。结果表明 RAPD 技术是检测基因组 DNA 发生诱变的一种简便、有效的方法。本文应用 RAPD 技术检测离子束诱变大豆种皮颜色变异突变体 DNA 指纹图谱变化，64 条引物共扩增到条带 576 条，其中条带差异主要表现为新增条带和减少条带两种形式，由此说明离子束辐照确实引起了 DNA 变异从而使种皮颜色由黄色变为褐色，并且该变异稳定遗传在 M2 代继续表现。至于这些变化的条带中哪些条带与种皮颜色基因相连锁，哪些或哪个基因变异引起了种皮颜色变化，还需要将差异条带回收测序进行更深一步的研究。

综上所述，碳离子束对“合丰 55”大豆品种具有明显的当代效应，辐照处理不仅产生了一定的生理性损伤，也诱导了基因组 DNA 的变异。本研究中突变体与对照相比多个农艺指标都发生了相应变化，但这些差异并未达到显著水平，这有可能与所测指标品种单一，辐照的样本量有限有关，今后为了更好的研究离子束辐照对大豆的诱变效应，将增加品种数量并提高样本量，更系统的研究与完善离子束辐照大豆的诱变机理，为今后大豆的离子束诱变工作打下坚实的基础。

**致谢** 感谢中国科学院东北地理与农业生态研究所刘晓冰老师提供试验所用大豆种子。

## 参考文献

- 1 Van Harten A M. Mutation breeding [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1998: 5-13.
- 2 Shirley B W, Hanley S, Goodman H M. Effects of ionizing radiation on a plant genome: Analysis of two arabidopsis transparent testa mutation [J]. *Plant Cell*, 1992, **4**(3): 333-347.
- 3 吴秀红. EMS 对不同大豆品种 M2 代农艺性状的影响 [J]. *农学学报* 2012, **2**(5): 29-31  
WU Xiuhong. Effects of the main agronomic characters of the different soybean varieties induced by EMS [J]. *Journal of Agriculture*, 2012, **2**(5): 29-31.
- 4 杜艳, 李文建, 余丽霞, 等. 碳离子束辐照百脉根的当代生物学效应 [J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2013, **31**(3): 030204(8)  
DU Yan, LI Wenjian, YU Lixia, *et al.* Biological effects of carbon ion irradiations on M1 generation of Lotus japonicas [J]. *Journal of Radiation Research and Radiation Process*, 2013, **31**(3): 030204(8).
- 5 颜红梅, 王浩瀚, 王菊芳, 等. 重离子束定点诱变育种初探 [J]. *原子核物理评论*, 2001, **18**(3): 174-176  
XIE Hongmei, WANG Haohan, WANG Jufang, *et al.* Preliminary research into site-chosen mutation with heavy ion beams for crop breeding [J]. *Nuclear Physics Review*, 2003, **18**(3): 174-176.
- 6 许学, 刘斌美, 宋美, 等. 氮离子束与  $\gamma$  射线辐照日本晴和“9311”水稻突变体库的筛选 [J]. *核农学报*, 2008, **22**(4): 389-393  
XU Xue, LIU Binmei, SONG Mei, *et al.* The screening of mutant library for rice variations nipponbare and “9311” by nitrogen ion beam and  $\gamma$ -rays irradiation [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2008, **22**(4): 389-393.
- 7 LI Yongliang, TANG Jihua, QIN Guangyong, *et al.* Maize pollen mutation by low energy ion beams [J]. *The Philippine Agricultural Scientist*, 2008, **91**(4): 395-400
- 8 DONG Xicun, LI Wenjian. Biological features of an early-maturity mutant of sweet sorghum induced by carbon ions irradiation and its genetic polymorphism [J]. *Advances in Space Research*, 2012, **50**(4): 496-501.
- 9 邬振祥, 李素梅, 余增亮, 等. 离子注入在番茄育种上的应用 [J]. *安徽农业大学学报*, 1994, **21**(3): 321-325.  
WU Zhenxiang, LI Sumei, YU Zengliang, *et al.* Use of ion implantation in tomato breeding [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 1994, **21**(3): 321-325.
- 10 Yamaguchia H, Nagatomia S, Morishita T, *et al.* Mutation induced with ion beam irradiation in rose [J]. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2003, **206**: 561-564.
- 11 Yamaguchi H, Shimizu A, Hase Y, *et al.* Mutation induction with ion beam irradiation of lateral buds of chrysanthemum and analysis of chimeric structure of induced mutants [J]. *Euphytica*, 2009, **165**(1): 97-103.
- 12 韩微波, 张月学, 唐凤兰, 等. 我国牧草诱变育种研究进展 [J]. *核农学报*, 2010, **24**(1): 62-66  
HAN Weibo, ZHANG Yuexue, TANG Fenglan, *et al.* Research advances in pasture mutant breeding in China [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2010, **24**(1): 62-66.
- 13 翁秀英, 王彬如, 吴和礼, 等. 大豆辐射育种的研究 [J]. *遗传学报*, 1974, **1**(2): 157-169  
WENG Xiuying, WANG Binru, WU Heli, *et al.* Soybean radiation breeding research [J]. *Acta Genetica Sinica*, 1974, **1**(2): 157-169.
- 14 郭建秋, 吴存祥, 冷建田, 等. 航天搭载和离子束注入对大豆诱变效应的初步研究 [J]. *核农学报*, 2009, **23**(3): 395-399  
GUO Jianqiu, WU Cunxiang, LENG Jiantian, *et al.* Preliminary study on mutagenic effects of space flight and ion beam implantation on soybean [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2009, **23**(3): 395-399.
- 15 Martin A. J. Parry, Pippa J. Madgwick, Carlos Bayon, *et al.* Mutation discovery for crop improvement [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, **60**(10): 2817-2825.
- 16 宋云, 张怀渝, 畅志坚. 离子束用于诱变育种的研究进展 [J]. *分子植物育种*, 2004, **2**(2): 301-305  
SONG Yun, ZHANG Huaiyu, CHANG Zhijian. Progress of mutation breeding with ion beam implantation [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2004, **2**(2): 301-305.
- 17 Liu S Z, CAI L, Sun S Q. Induction of a cytogenetic adaptive response by exposure of rabbits to very low dose-rate  $\gamma$ -radiation [J]. *International Journal of Radiation Biology*, 1992, **62**(2): 187-190.
- 18 Olivieri G, Bodycote J, Wolff S. Adaptive response of human lymphocytes to low concentrations of radioactive thymidine [J]. *Science*, 1984, **223**(4636): 594-597
- 19 周利斌, 李文建, 曲颖, 等. 离子束辐照结合组织培养

- 在植物诱变中的研究进展 [J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2007, **25**(004): 232-236
- ZHOU Libin, LI Wenjian, QU Ying, *et al.* Research progress in plant mutation by combining ion beam irradiations and tissue culture [J]. Journal of Radiation Research and Radiation Process, 2007, **25**(4): 232-236.
- 20 任祎, 牛西午, 王世研, 等. 氮离子束注入谷子种子后代基因组的 RAPD 分析 [J]. 核农学报, 2006, **20**(4): 259-262
- REN Yi, NIU Xiwu, WANG Shiyan, *et al.* Genome RAPD Analysis of millet mutants by N<sup>+</sup> ion implantation [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2006, **20**(4): 259-262.
- 21 丁亮, 陈睦传, 沈明山, 等. RAPD 分析氮离子注入甜菊种子后的幼苗基因组 DNA 变异 [J]. 生物物理学报, 1999, **15**(4): 798-503
- DING Liang, CHEN Muchuan, SHEN Mingshan, *et al.* RAPD analysis of seedling genomic and variation induced by N<sup>+</sup> ion implantation in stevia seeds [J]. Acta Biophysica Sinica, 1999, **15**(4): 798-503.

### **Preliminary study on current mutagenic effects and brown seed mutant of soybean induced by carbon ion irradiation**

YU Lixia<sup>1,2</sup> LI Wenjian<sup>1</sup> DU Yan<sup>1,2</sup> LIU Ruiyuan<sup>1</sup> ZHOU Libin<sup>1</sup>  
LUO Shanwei<sup>1,2</sup> CHEN Gang<sup>3</sup> LIU Qingfang<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>(Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

<sup>2</sup>(University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

<sup>3</sup>(Ningxia Academy of Agro-Forestry Sciences, Yinchuan 750002, China)

**ABSTRACT** Dry seeds of soybean “Hefeng 55” were irradiated by carbon ions at different doses. The characters including phenotype, plant height, branch number, yield trait and DNA fingerprint were investigated to explore the M1 mutagenic effects. The results showed that various phenotypes appeared after irradiation by carbon ions. The plant height and branch number of M1 generation were significantly inhibited by carbon ions. The pods, seeds and seed weight per plant as well as hundred-seed weight showed the same trend of decrease-increase-decrease along with the dose increment. However, these variations did not reach a significant level. Among these variations, a seed vessel mutant with the color turned from yellow to brown was selected from the M1 generation, and this trait could be inherited stably to M2 generation. RAPD technique was used to check the variations of genomic DNA fingerprint in control and brown seed vessel mutant. It was found that increasing bands or flanking bands were induced by carbon ion irradiation, and the genetic similarity coefficient was 0.9513. In conclusion, all the results show that carbon ion irradiation can induce the mutagenic effects on both the agronomic characters and genomic DNA of soybean.

**KEYWORDS** Carbon ions, mutagenic effects, Soybean, Brown seed vessel mutant

**CLC** TL99, Q691.5