



# 电子束辐照对小麦幼苗生长、生理特性及相关基因表达的影响

唐 燕<sup>1</sup>, 吴一凡<sup>1</sup>, 白俊青<sup>2</sup>, 管翊君<sup>1</sup>, 蔚江涛<sup>2</sup>, 周春菊<sup>1</sup>, 李 奎<sup>2</sup>, 吕金印<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西杨凌 712100; 2. 杨凌核盛辐照技术有限公司, 陕西杨凌 712100)

**摘 要** 为了探讨电子束辐照对‘普冰 151’小麦幼苗生理及相关基因表达的影响, 采用 150 Gy、250 Gy 和 350 Gy 加速器电子束辐照处理小麦干种子, 测定不同辐照剂量处理对小麦幼苗株高、根长等生长特性以及相关生理特性, 分析光合和抗氧化酶相关基因的表达差异。结果表明: 随着辐照剂量增加, 小麦幼苗的苗高、根长、生物量均降低, 与对照相比, 250、350 Gy 处理幼苗生长受到显著抑制 ( $P < 0.05$ ); 随着辐照剂量的升高, 抗氧化酶活性均呈先升后降变化趋势, 150、250 Gy 处理显著提高 SOD 和 CAT 活性 ( $P < 0.05$ ), 低中剂量的辐照有促进保护酶活性增加的作用; 不同辐照处理均显著降低了叶片叶绿素 a 含量和最大光能转换效率值 ( $F_v/F_m$ ); 随着辐照剂量的提高, 叶片超氧阴离子 ( $O_2^{\cdot-}$ )、MDA 含量和质膜透性增加, 说明辐照剂量增高引起活性氧代谢失调; 与对照组相比, 辐照处理下光合相关基因 *TaPEPC-5*、*TaPPDK-1*、*TaMDH-7*、*TaRuBisco-2*、*TaNADP-ME-1* 表达有所上调, 可能与调动光合能力有关。150、250 Gy 辐照处理明显提高了小麦叶片 SOD、CAT 活性以及 *TaSOD*、*TaPOD*、*TaCAT* 基因的表达水平, 说明中高剂量有提高抗氧化的作用。

**关键词** 高能电子束; 诱变育种; 光合基因; 抗氧化酶

小麦是中国主要的粮食作物之一, 品种改良是提高我国小麦产量的关键<sup>[1]</sup>。物理诱变育种是其中最便捷的方法<sup>[2]</sup>, 辐射诱变是培育新品种和创制新种质的有效途径之一<sup>[3-4]</sup>。辐射诱变育种通常是利用  $\gamma$  射线、激光、离子束等对植物体进行空间诱变, 从而产生遗传变异<sup>[5]</sup>。其中<sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线是辐照诱变育种中应用最广的一种方法, 可在较短时间内培育出新品种。

电子束辐照技术从上世纪 90 年代才广泛受到人们的关注, 该技术辐照成本低、效率高、易于控制、不产生放射性废物<sup>[6-8]</sup>, 已经成为理想的  $\gamma$  射线辐照的替代技术<sup>[9]</sup>, 目前发展迅猛, 有很广阔的发展前景<sup>[10]</sup>。该方法已成功应用于农产品贮藏与保鲜, 以提高食品质量和安全性<sup>[11-12]</sup>。电子束辐照还可以用于小麦种子进行预播前的种子消毒以优化播种<sup>[13]</sup>。

电子束辐照在植物育种中的研究报道较少, 对不同辐照剂量对小麦生长发育过程的影响和适宜剂量不太明确。本研究采用电子加速器所产生

的电子射线辐射处理小麦种子, 分析不同剂量辐照对水培小麦幼苗叶片生长特性、生理特性及相关基因表达的影响, 筛选合适的辐照剂量, 为阐明电子束辐照诱变机理及农作物物理诱变育种提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 辐照处理 试验选用小麦品种为‘普冰 151’, 由西北农林科技大学农学院张正茂教授提供。挑选籽粒饱满、大小均匀的小麦种子分为 4 组, 每组 600 g, 处理组使用 10 MeV 电子直线加速器 (DZ 型, 中广核辐照技术有限公司) 进行辐照处理, 辐照剂量分别为 0、150、250 和 350 Gy, 剂量率为  $1 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$ , 其中 0 Gy 为对照组 (未辐照)。

1.1.2 水培小麦幼苗 将处理后的种子洗净后置于垫有滤纸的培养皿中, 放置在培养箱内发芽, 前 3 d 设置黑暗环境, 待种子发芽约 1 cm 时, 将其

收稿日期: 2023-07-31 修回日期: 2023-12-27

基金项目: 国家自然科学基金 (31971835)。

第一作者: 唐 燕, 女, 博士, 讲师, 主要从事植物抗旱分子机制研究。E-mail: tangyanyan418@163.com

通信作者: 李 奎, 男, 博士, 高级工程师, 主要从事辐照加工和核技术应用研究。E-mail: likui@ssn-hs.com

移至光照培养箱(光照强度:80  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 温度:22  $^{\circ}\text{C}$ , 光照周期:16 h 光照/8 h 黑暗),用 1/2 Hoagland 营养液培养,每 2 d 更换 1 次培养液。

## 1.2 试验方法

1.2.1 幼苗生长特性的测定 水培第 14 天测量小麦株高、根长、鲜质量及地上、地下生物量。每个指标随机选取 10 株幼苗用于统计分析。

1.2.2 生理指标的测定 叶绿素含量测定采用 96%乙醇研磨比色法;丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸比色法;超氧阴离子( $\text{O}_2^-$ )测定采用比色法;过氧化物酶(POD)含量测定采用愈创木酚氧化法;超氧化物歧化酶(SOD)含量测定采用 NBT 光化还原法;过氧化氢酶(CAT)含量测定采用紫外吸收法;质膜透性测定采用电导法。以上测定方法均参照高俊凤<sup>[13]</sup>主编的《植物生理学实验指导》,每个处理设 3 个生物学重复。

叶绿素荧光测定:将小麦放到黑暗条件下处理至少 30 min,后用弱光(小于 0.1  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )照射,使用基础型调制叶绿素荧光仪(Junior-PAM,德国)测定单个小麦叶片的初始荧光( $F_0$ ),然后照射饱和脉冲光(10 000  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )0.8 s,测定暗适应最大荧光( $F_m$ )。每个处理测定 3 个叶片,每个叶片重复测 3 次,取平均值。

1.2.3 光合相关基因及抗氧化酶相关基因表达分析 取 14 d 龄的小麦叶片,加入液氮研磨成粉,按照 TRIzol 试剂盒说明提取总 RNA,测量 OD 值以确定总 RNA 浓度,-80  $^{\circ}\text{C}$  保存,备用。之后以 RNA 为模板,按照反转录试剂盒说明进行反转录得到 cDNA,参照 PrimeScript<sup>TM</sup> RT reagent Kit 试剂盒(TaKaRa,Dalian,China)说明书进行反转录,反转录后于-20  $^{\circ}\text{C}$  保存,备用。

利用 Primer 3Plus 设计光合作用相关基因(*TaPEPC-5*、*TaPPDK-1*、*TaMDH-7*、*TaNADP-ME-1*、*TaRuBisco-2*、*TaPsb27*)和抗氧化酶相关基因(*TaSOD*、*TaPOD*、*TaCAT*)引物(表 1),以 *TaActin* 为内参基因进行实时荧光定量 PCR。反应体系及反应条件参照 SYBR<sup>®</sup> Premix Ex TaqTMII 试剂盒(TaKaRa,Dalian,China)说明书,采用实时定量 PCR 仪(CFX96,BioRad,Hercules,California,USA)进行荧光实时定量 PCR 测定。

每个样品做 3 个生物学重复和 3 个技术性重复。Green I 与 DNA 双链结合后可以发出荧光,通过检测 PCR 反应结果中的荧光信号强度,使用 Microsoft Office Excel 2013 进行分析,利用  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  法分析目的基因的表达情况。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物名称 Primer	正向引物(5'→3') Forward sequence	反向引物(5'→3') Reverse sequence
TaActin	TTGCTGACCGTATGAGCAAG	ACCCTCCAATCCAGACACTG
TaPOD	TTGTGGTGCCGGTGGTAGTGG	CGAAGCAGTCGTGGAAGTGGAG
TaSOD (Fe)	GGTTGGGTTTGGCTTGTC	TCGCCTGTCATCCTTGTAAT
TaCAT	GTGCTGAACCGCAACATCG	AGCAGCTTGTCGTCCGAGT
TaRuBisco-2	GATACCGCGAGCAGATCTT	CGCGACAATGGCCTACTTCT
TaPEPC-5	CAGGGTGAAGTTATCGAGCAG	ACTTGGCTTTCTCTTGGATGG
TaNADP-ME-1	CTCTACATCAGCCTCAAGGAC	CGTTGAGCAATGTCTCGTTG
TaMDH-7	CGATTGCTGCTGAGATTC	CAGCGTTCTGTATCCTCT
TaPPDK-1	CAGGCTTGGTATTTTCGTATC	CTGCTCTGCTATCTCATCT
TaPsb27	TGCGTCAAACAGGCAGGATA	TCAAGGATGCCCCAACAAAT

## 1.3 统计分析

数据首先使用 Microsoft Office Excel 2013 进行分析,用 SPSS 20.0 对数据进行单因素方差分析(ANOVA),采用 \*  $P < 0.05$ 、\* \*  $P < 0.01$ 、\* \* \*  $P < 0.001$  和 \* \* \* \*  $P < 0.0001$  的  $t$  检验方法进行显著性水平分析,采用 Graphpad prism 7.0 绘图。

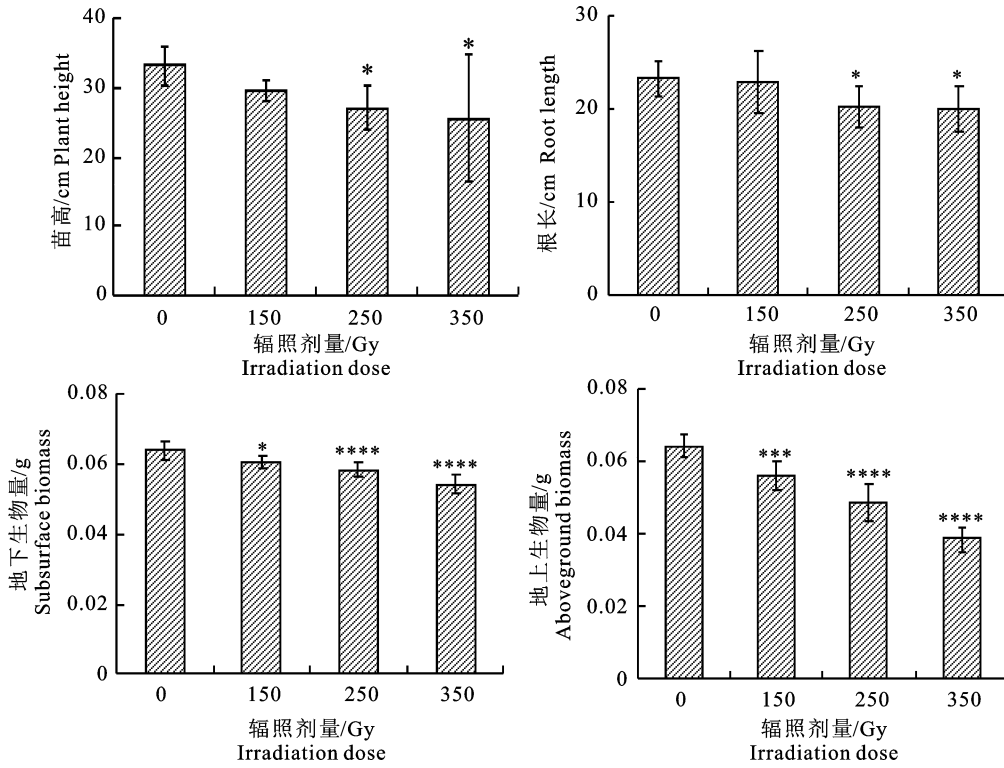
## 2 结果与分析

### 2.1 不同剂量辐照处理对小麦幼苗生长发育特性的影响

随着辐照剂量增加,幼苗株高和根长都呈下降趋势(图 1)。与对照组相比,150、250、350 Gy 处理下苗高分别降低 10.570%、18.400% 和

23.003%；根长分别降低 1.209%、12.808% 和 13.089%。与对照组相比,250 Gy 和 350 Gy 处理对苗高、根长、地下和地上生物量的抑制作用都

达到显著水平( $P < 0.05$ ),而且剂量越高对小麦幼苗地上生物量的影响越大,说明辐照主要是通过抑制地上生物量而对小麦生长产生了抑制作用。



星号表示差异有显著性意义(\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  和 \*\*\*\*  $P < 0.0001$ ),没有星号表示差异不显著,下同 Asterisks indicate significant differences (\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  and \*\*\*\*  $P < 0.0001$ ). No asterisk indicates non-significant difference. No asterisk means a non-significant difference. The same below

图 1 不同辐照剂量处理对小麦幼苗生长发育的影响

Fig. 1 Effects of different doses of irradiation on wheat seedling growth and development

### 2.2 不同剂量辐照处理对小麦幼苗叶绿素和 $O_2^-$ 含量的影响

随着辐照剂量增大,与对照组相比,150、250、350 Gy 3 组处理的叶片中叶绿素 a 含量都显著降低( $P < 0.05$ ),分别降低 9.65%、14.79%、18.40%(图 2)。随着辐照剂量增加,幼苗叶片中  $O_2^-$  含量显著上升( $P < 0.05$ ),辐照剂量越高组织内活性氧物质增加越多。

### 2.3 不同剂量辐照处理对小麦幼苗 MDA 含量、质膜透性的影响

随着辐照剂量增加,MDA 含量也呈上升变化,但 MDA 含量只有 350 Gy 辐照处理组较对照组有显著的增加( $P < 0.05$ ),说明辐照剂量增加导致叶片的活性氧物质的增加,进而引起膜脂过氧化,使 MDA 含量升高。

随着辐照剂量增加,叶片质膜透性逐渐增大。与对照组相比,250、350 Gy 处理的质膜透性都到

达到显著增加水平( $P < 0.05$ ),150 Gy 处理组电导率升高 21.703%,但未达到显著水平。结果表明辐照剂量升高会导致质膜透性增加,在 350 Gy 剂量范围内,辐照剂量越高,细胞质膜破坏越严重(图 3)。

### 2.4 不同剂量辐照处理对小麦幼苗保护酶活性及基因表达的影响

图 4 表明,随着辐照剂量升高,小麦叶片中 SOD、POD、CAT 活性均呈先升高后降低的趋势,对应酶基因表达也呈现先升高后降的变化趋势。150、250 Gy 辐照处理明显提高了小麦叶片 SOD、CAT 活性以及 *TaSOD*、*TaPOD*、*TaCAT* 基因的表达水平,而高辐照剂量无促进作用,表明在 150、250 Gy 辐照处理下小麦抗逆境胁迫能力有所增强,低辐照剂量促进 SOD、POD、CAT 合成,有利于提高活性氧的清除能力。低辐照剂量下,3 种抗氧化酶基因的相对表达水平升高,促进作物

产生抗氧化酶,以便抵抗活性氧,提高作物抗胁迫能力;高辐照剂量下,相对表达水平下降,小麦抗

胁迫能力下降。

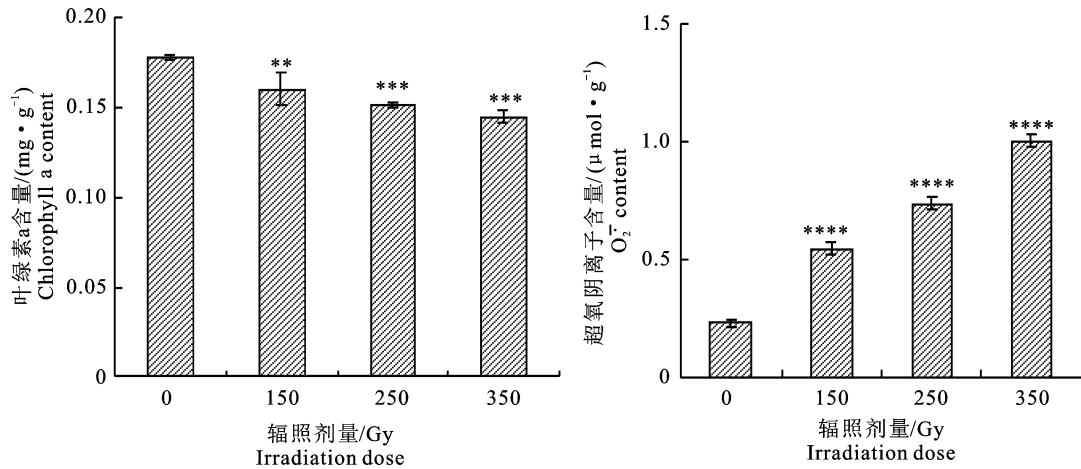


图 2 不同辐照剂量对小麦幼苗叶片中叶绿素 a 含量及  $O_2^{\cdot -}$  含量的影响

Fig. 2 Effect of different irradiation doses on chlorophyll a and  $O_2^{\cdot -}$  content in leaves of wheat seedlings

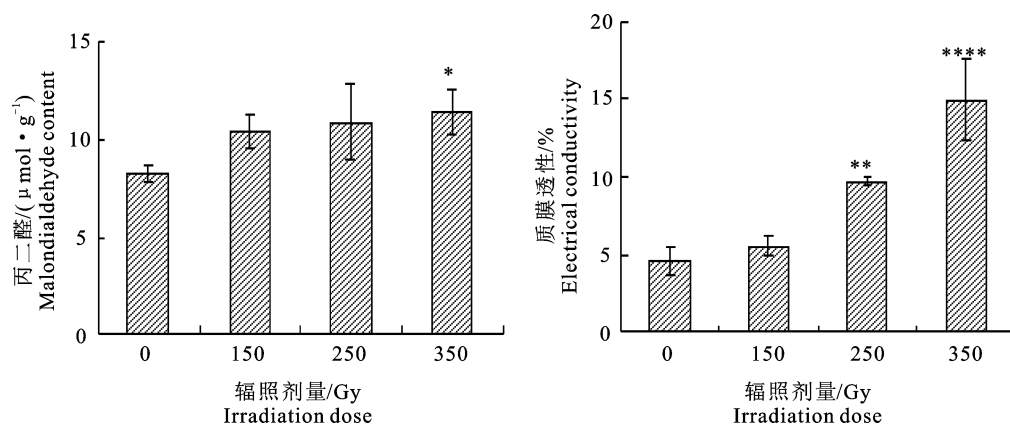


图 3 不同辐照剂量对小麦幼苗丙二醛、质膜透性的影响

Fig. 3 Effect of different irradiation doses on MDA and plasma membrane permeability of wheat seedlings

## 2.5 不同剂量辐照处理对小麦幼苗叶绿素荧光特性的影响

叶绿素荧光参数最大光能转换效率值  $F_v/F_m$  反映了植物的潜在最大光合能力。由表 2 表明,辐照剂量增加,  $F_0$  和  $F_v/F_m$  都呈下降的变化趋势,150 Gy 处理下  $F_m$  升高,250 Gy 和 350 Gy 处理下均显著降低,说明辐照剂量越高,对叶片光合能力的影响越大,植物受到的伤害程度越高。

## 2.6 不同剂量辐照处理对小麦光合相关基因表达的影响

在 250、350 Gy 辐照剂量下  $TaPEPC-5$ 、 $TaPPDK-1$  均明显上调,与对照组相比,两个基因在 250 Gy 处理下分别上调 86.187%、

108.300%, 在 350 Gy 处理下分别上调 140.284%、130.884%。 $TaMDH-7$  在 150、250 Gy 辐照剂量下无明显变化,在 350 Gy 下明显上调。 $TaNADP-ME-1$ 、 $TaRuBisco-2$  的表达量随辐照剂量升高均呈先上升后降低趋势,  $TaNADP-ME-1$  在 250 Gy 处理下表达量达到最大。 $TaRuBisco-2$  在 150 Gy 处理下表达量达到最大。与对照组相比,3 个处理组的  $TaNADP-ME-1$  分别上调 53.180%、152.484%、103.970%,在 150、250 Gy 处理下,  $TaRuBisco-2$  分别上调 95.939%、51.347%,而在 350 Gy 处理下,  $TaRuBisco-2$  下调 15.735%。与对照组相比,250 Gy 处理下的  $TaPsb27$  下调 33.130%,而 150 Gy 和 350 Gy 处理组无明显变化(图 5)。

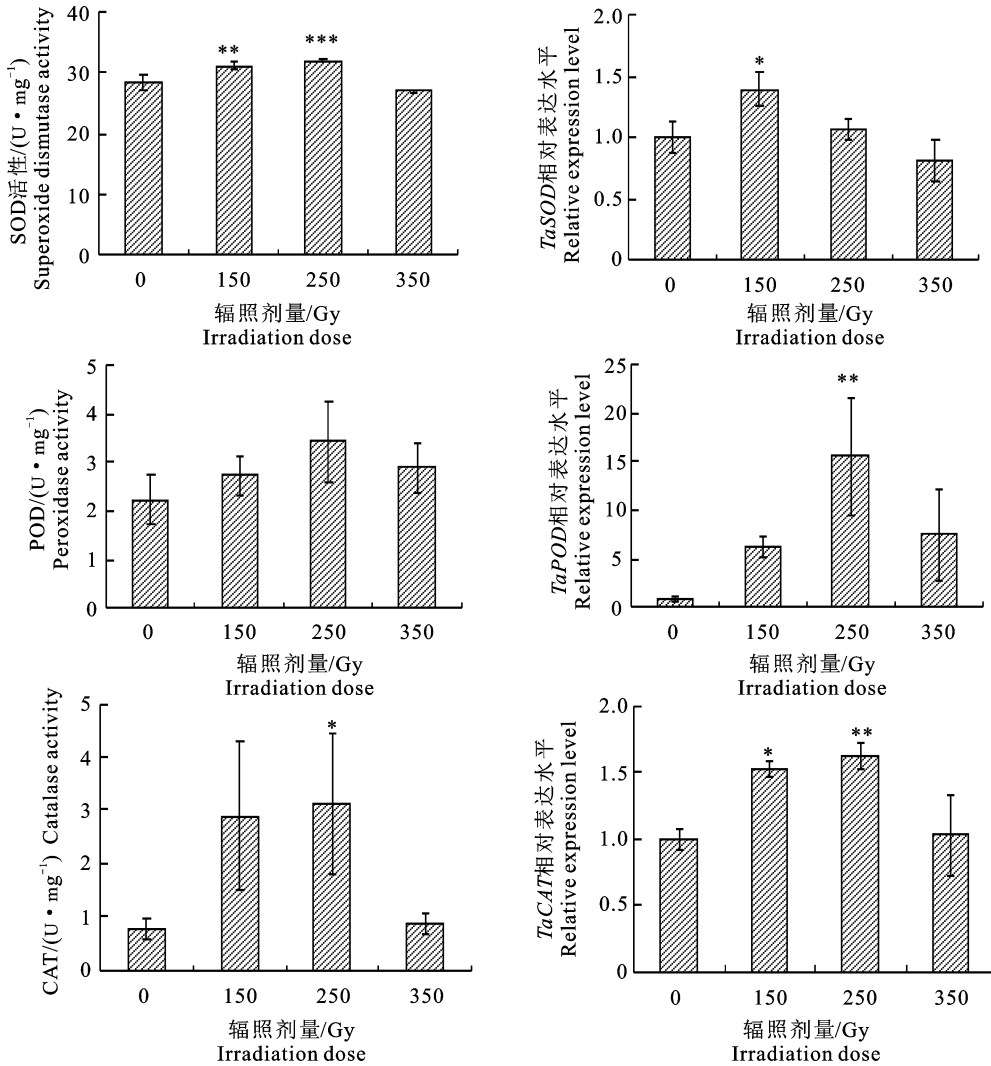


图 4 不同辐照剂量对小麦叶片中抗氧化酶活性及基因表达的影响

Fig. 4 Effect of different irradiation doses on enzyme activity and gene expression of wheat leaves

表 2 不同辐照剂量对小麦幼苗叶片中叶绿素荧光特性的影响

Table 2 Effect of different irradiation doses on fluorescence characteristics of chlorophyll in leaves of wheat seedlings

辐照剂量/Gy	Irradiation does	$F_0$	$F_m$	$F_v/F_m$
0		557±9.165 15 a	3 189±79.084 96 b	0.825±0.001 52 a
150		541±2.645 75 b	3 962±23.784 68 a	0.817±0.000 57 b
250		537±3.785 93 c	2 734±23.560 85 c	0.804±0.002 08 c
350		513±7.371 11 d	2 424±95.352 34 d	0.788±0.006 42 d

注:数据为“平均数±标准差”(  $\bar{x} \pm s$  )。同列不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

Note: All statistical data are “mean ± standard deviation” ( $\bar{x} \pm s$ ), different letters within the same columns indicate significant differences ( $P < 0.05$ )

### 3 讨论

本研究中随着辐照剂量的升高,小麦幼苗的苗高、根长、鲜质量、生物量均下降,剂量越高生长受到抑制就越明显,与王泽港等<sup>[14]</sup>在  $\gamma$  辐照处理小麦种子和陈金跃等<sup>[15]</sup>在  $\gamma$  辐照处理玉米种子

的结果相似。李春牛等<sup>[16]</sup>采用<sup>60</sup>Co- $\gamma$  处理茉莉花果实,结果表明高剂量辐照可使茉莉花叶片中抗氧化酶活性下降;崔玲艳等<sup>[17]</sup>采用 UV-B 对马铃薯进行辐照,结果表明适当增加辐射剂量提高了植株抗氧化酶活性。本研究发现 150、250 Gy 处理下抗氧化酶活性提高,而在 350 Gy 下抗氧化

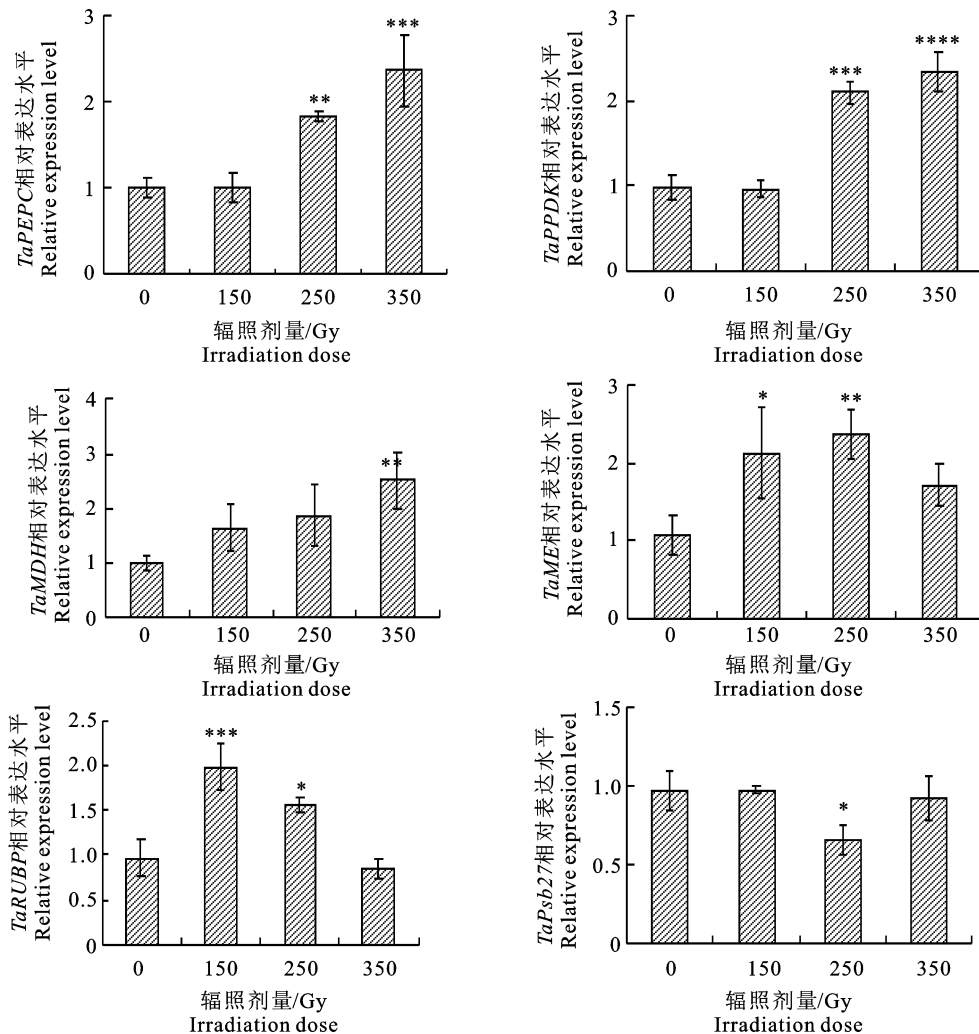


图 5 不同辐照剂量对小麦叶片光合相关基因表达的影响

Fig. 5 Effect of different irradiation doses on expression of photosynthetic-related genes in wheat leaves

酶活性有所下降,与崔玲艳的结果相似。梁俊青<sup>[18]</sup>报道辐照处理小麦的保护酶呈现先增后降的变化,也与本研究结果一致。电子束照射和<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 照射对植物的诱变效果因植物种类、照射剂量和照射方式等因素而异,需要根据实际应用和研究目的来确定具体的照射方法和照射剂量。无论采用何种照射方法,诱变育种都需要经过多轮筛选和淘汰,以获得符合要求的变异新品种。

叶绿素荧光特性被用于植物光合作用的研究, $F_v/F_m$ 值可以反映植物的光合能力,作为研究作物生理状况和受胁迫程度等的间接方法<sup>[19]</sup>。张娅等<sup>[20]</sup>用钠盐或钙盐单独处理小麦幼苗叶片, $F_v/F_m$ 值均显著下降,而钠盐和钙盐结合处理有缓解 $F_v/F_m$ 值下降的作用。本研究发现辐照剂量升高, $F_v/F_m$ 值明显下低,说明辐照剂量越高,植物所受胁迫越严重,与活性氧代谢失调引起的

膜损伤和光合系统受损相关。

辐照处理下小麦叶片中TaPEPC-5、TaPPDK-1、TaMDH-7、TaNADP-ME-1、TaRuBisco-2的表达水平均出现不同程度的上调,但是辐照处理引起小麦幼苗生长能力减弱, $O_2^-$ 含量增加、膜受损等变化,这些上调的光合相关基因可能与胁迫后光合能力补偿以及光合复合体保护机制有关。但是由于辐照处理会导致不可逆的损伤,最终引起小麦的生长能力减弱和光合能力下降。因此,在辐射诱变育种中,筛选适宜的辐照剂量对于增加诱变频率具有重要的理论与实践意义。在本试验选取的辐照剂量中,250 Gy可作为适宜的电子加速器源射线辐照小麦诱变育种的候选参考剂量。

#### 参考文献 Reference:

- [1] 何中虎,夏先春,陈新民,等.中国小麦育种进展与展望[J].作物学报,2011,37(2):202-215.

- HE ZH H, XIA X CH, CH X M, *et al.* Progress of wheat breeding in China and the future perspective[J]. *Acta agro-nomica Sinica*, 2011, 37(2): 202-215.
- [2] 高国良, 王福玉, 陈贵菊, 等. 小麦常规育种技术改进的实践探索[J]. 种子, 2013, 32(11): 125-126.
- GAO G L, WANG F Y, CHEN G J, *et al.* Exploration and practice of improving of wheat breeding techniques [J]. *Seed*, 2013, 32(11): 125-126.
- [3] 谢俊, 张余, 许婷婷, 等. 辐照诱变技术在农作物新品种培育中的应用[J]. 安徽农学通报, 2019, 25(17): 18-21.
- XIE J, ZHANG C, XU T T, *et al.* Application of irradiation mutagenesis technology in the cultivation of new crop varieties [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2019, 25(17): 18-21.
- [4] 徐远芳, 李文革, 邓钢桥, 等.  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线和电子束辐照灭菌对葛根提取物抗氧化活性及指纹图谱的影响[J]. 核农学报, 2020, 34(8): 1713-1721.
- XU Y F, LI W G, DENG G Q, *et al.* Effect of  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  ray and electron beam irradiation sterilization on antioxidant activity and fingerprint of pueraria extract [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2020, 34(8): 1713-1721.
- [5] 王阳, 李邱华, 李松林, 等. 电子束辐照百合鳞茎后对生长发育的影响及RAPD分析[J]. 西北农业学报, 2013, 22(3): 140-147.
- WANG Y, LI Q H, LI S L, *et al.* Effects of electron beam irradiation on lily bulbs and RAPD analysis [J]. *Acta Agriculture Boreali-occidentalis Sinica*, 2013, 22(3): 140-147.
- [6] 邓文敏, 陈浩, 裴颖, 等. 高能电子加速器在食品辐照加工中的应用分析[J]. 核农学报, 2012, 26(6): 919-923.
- DENG W M, CHEN H, PEI Y, *et al.* Application analysis of high-energy electron accelerator in food irradiation processing [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2012, 26(6): 919-923.
- [7] ZHANG X, WANG L, CHEN Z, *et al.* Effect of high energy electron beam on proteolysis and antioxidant activity of rice proteins [J]. *Food & Function*, 2020, 11(1): 871-882.
- [8] 靳鲲鹏, 李丹, 李小霞, 等. 大豆诱变育种的研究进展[J]. 北方农业学报, 2020, 48(5): 30-33.
- JIN K P, LI D, LI X X, *et al.* Research progress of soybean mutation breeding [J]. *Journal of Northern Agriculture*, 2020, 48(5): 30-33.
- [9] 王梁燕, 洪奇华, 孙志明. 电子束辐照技术在生命科学中的应用[J]. 核农学报, 2018, 32(2): 283-290.
- WANG L Y, HONG Q H, SUN ZH M. Application of electron beam irradiation technology in life sciences [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2018, 32(2): 283-290.
- [10] 李斌, 杨秦, 肖洪, 等. 辐照对食品品质的影响及辐照食品的研究进展[J]. 粮食与油脂, 2019, 32(4): 4-6.
- LI B, YANG Q, XIAO H, *et al.* Effect of irradiation on food quality and research progress of irradiated food [J]. *Cereals & Oils*, 2019, 32(4): 4-6.
- [11] FERNANDES A, BARREIRA J C, ANTONIO A L, *et al.* How does electron beam irradiation dose affect the chemical and antioxidant profiles of wild dried amanita mushrooms? [J]. *Food Chemistry*, 2015, 182: 309-315.
- [12] 朱伟志, 袁舟, 毛立琪, 等. 辐照食品检测技术研究进展[J]. 食品安全导刊, 2022, 337(8): 183-185.
- ZHU W ZH, YUAN ZH, MAO L Q, *et al.* Research progress of irradiated food detection technology [J]. *China Food Safety Magazine*, 2022, 337(8): 183-185.
- [13] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- GAO J F. Experimental Guidance of Plant Physiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006.
- [14] 王泽港, 冯敏, 肖欢, 等.  $\gamma$ 辐照对小麦种子延迟发光的影响[J]. 激光生物学报, 2017, 26(3): 255-259.
- WANG Z G, F M, X H, *et al.* Effect of  $\gamma$ -irradiation on delayed luminescence of wheat seeds [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2017, 26(3): 255-259.
- [15] 陈金跃, 杜龙岗, 熊立东, 等.  $^{137}\text{Cs}$ - $\gamma$ 射线辐照对玉米自交系种子发芽和苗期生长的影响[J]. 浙江农业科学, 2022, 63(6): 1229-1232.
- CHEN J Y, DU L G, XIONG L D, *et al.* Effects of  $^{137}\text{Cs}$ - $\gamma$ ray irradiation on seed germination and seedling growth of maize inbred lines [J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2022, 63(6): 1229-1232.
- [16] 李春牛, 李先民, 黄展文, 等.  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线辐照对茉莉花种子萌发和幼苗生长及生理的影响[J]. 热带作物学报, 2022, 43(1): 119-127.
- LI CH N, LI X M, HUANG ZH W, *et al.* Effects of  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  ray irradiation on seed germination and seedling growth and physiology in Jasmine [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2022, 43(1): 119-127.
- [17] 崔玲艳, 王琼, 徐笑宇, 等. 马铃薯对UV-B辐射增强的生理生化响应[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2022, 42(5): 93-101.
- CUI L Y, WANG Q, XU X Y, *et al.* Physiological and biochemical response of potato to enhanced UV-B radiation [J]. *Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2022, 42(5): 93-101.
- [18] 梁俊青.  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 辐照、 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照和氮离子注入对小麦苗期生物学效应的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2017.
- LIANG J Q. Study on biological effects of  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ irradiation,  $^{12}\text{C}^{6+}$  ion beam irradiation and nitrogen ion implantation on wheat seedling [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2017.
- [19] MAXWELL K, JOHNSON G N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(345): 659-668.
- [20] 张娅, 施树倩, 李亚萍, 等. 不同盐胁迫下小麦叶片渗透性调节和叶绿素荧光特性[J]. 应用生态学报, 2021, 32(12): 4381-4390.
- ZHANG Y, SHI SH Q, LI Y P, *et al.* Osmotic regulation and chlorophyll fluorescence characteristics of wheat leaves under different salt stress [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2021, 32(12): 4381-4390.

# Effects of Electron Beam Irradiation on Wheat Growth Vigor, Photosynthetic Characteristics, and Photosynthesis and Antioxidant-related Genes' Expression

TANG Yan<sup>1</sup>, WU Yifan<sup>1</sup>, BAI Junqing<sup>2</sup>, GUAN Yijun<sup>1</sup>, WEI Jiangtao<sup>2</sup>  
ZHOU Chunju<sup>1</sup>, LI Kui<sup>2</sup> and LÜ Jinyin<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China;

2. Yangling Hesheng Irradiation Technologies Co., Ltd., Yangling Shaanxi 712100, China)

**Abstract** Food safety faces significant challenges due to the rapid growth of human population, the reduction of agriculture land area, and climate change. Irradiation mutagenesis methods, such as those using  $\gamma$  rays, laser, or ion beams, provide promising techniques for crop breeding. These methods are highly efficient, cost-effective, widely applicable and environmentally-friendly. In this study, electron beam irradiation was applied to wheat seeds to investigate its effects on plant growth vigor, physiology and photosynthetic and antioxidant-related gene expressions, and to determine the optimal dose of irradiation for wheat breeding. The dry seeds of wheat variety 'Pubing 151' was exposed to three different doses of electron beam irradiation-150 Gy, 250 Gy and 350 Gy by using a 10 MeV electron linac, with non-irradiated seeds as control. The effects of different irradiation doses on the growth characteristics of hydroponic wheat seedlings, such as plant height, root length, biomass, were analyzed. Chlorophyll fluorescence, malondialdehyde (MDA) content, electrical conductivity, superoxide anion ( $O_2^-$ ) content, superoxide dismutase (SOD) activity, the Catalase (CAT) activity and peroxidase (POD) activity were also measured. The results showed that the seedling height, root length, biomass of wheat seedlings decreased with the increasing irradiation dose, and the growth of wheat seedlings treated with 250 Gy, and 350 Gy was inhibited significantly compared with the control seedlings ( $P < 0.05$ ). The antioxidant enzyme activities were activated by low or middle strength irradiation. For instance, the activities of SOD and CAT in 150 Gy and 250 Gy treatments were significantly higher than the control and 350 Gy treatments ( $P < 0.05$ ), indicating that low and middle dose irradiation could increase the expression and activity of protective enzyme genes. The content of chlorophyll a and the maximum light energy conversion efficiency ( $F_v/F_m$ ) significantly decreased by irradiation treatments. The content of MDA and  $O_2^-$ , and the permeability of plasma membrane increased with the irradiation dose, indicating that electron beam irradiation caused the metabolic disorder related to active oxygen species. Compared with the control group, electron beam irradiation up-regulated the photosynthesis-related genes, such as *TaPEPC-5*, *TaPPDK-1*, *TaMDH-7*, *TaRuBisco-2*, *TaNADP-ME-1*. This up-regulation may be related to the compensatory photosynthetic ability and the protective activity of photosynthetic apparatus. In conclusion, electron beam irradiation significantly affects the growth vigor, physiological characteristics, and expression of photosynthesis and antioxidant-related genes in wheat. High-dose irradiation not only inhibits growth and photosynthesis activity but also causes metabolic disorder involving reactive oxygen species. Therefore, optimizing radiation dose is both theoretically and practically necessary for effective radiation mutagenesis breeding. Among the three doses applied in this study, 250 Gy is highly recommended for wheat mutagenesis breeding.

**Key words** Electron beam irradiation; Mutagenesis breeding; Photosynthetic gene; Antioxidant enzyme

**Received** 2023-07-31

**Returned** 2023-12-27

**Foundation item** National Natural Science Foundation of China (No. 31971835).

**First author** TANG Yan, female, Ph. D, lecturer. Research area: molecular mechanism of plant drought resistance. E-mail: tangyanyan418@163.com

**Corresponding author** LI Kui, male, Ph. D, senior engineer. Research area: radiation processing and application of nuclear technology. E-mail: likui@ssn-hs.com

(责任编辑:成敏 Responsible editor: CHENG Min)