

影响诱变效率的外界条件的研究

张月学 孙光祖 陈义纯 阎文义

唐凤兰 王广金 张东铁

(黑龙江省农业科学院作物育种研究所)

摘要 本试验在液氮、干冰、高温和氮气等不同外界条件下照射春小麦干种子,研究其对不同条件、不同剂量的辐射敏感性和诱变效应。根据苗高、根长等数据和含微核的细胞数以及田间生长等各项指标的结果表明:本试验所采用的几种方法在不同程度上都有减轻辐射生理损伤、增加突变频率的作用,其中液氮条件下处理效果较好,其次氮气、高温和干冰;适宜剂量是 γ 2.0万拉特和3.0万拉特。

在辐射对小麦干种子放射生物学作用中,温度是很重要的影响因子。同一品种在极低温下照射和在常温下照射的辐射敏感性不同,极低温下照射有降低辐射损伤的作用。为了更多的了解外界环境因素对 Co^{60} - γ 射线效果的影响,我们进一步研究了在液氮(-196°C),干冰(-79°C),氮气(99.99%),高温(30°C、40°C、50°C)等条件下照射春小麦干种子的辐射诱变效应。初步研究结果可以看出:本试验所采用的几种方法在不同程度上都有减轻辐射生理损伤增加突变频率的作用。这在小麦辐射育种包括大田作物突变育种中都有较高的应用价值。

材料与方法

试材:九三 85-9364、85 育 3980 均属稳定品系。

方法:处理前将种子放入干燥器内(干燥器里面有甘油和水 1:1 的混合液),平衡水

分十天,使种子的含水量达到 13%。每处理 500 粒种子,用沙布袋装好,用棉线吊入盛有液氮的暖水瓶中,加盖后放在源室内照射;常温下照射的也放在空暖水瓶内,以求条件一致。干冰处理方法与液氮相同。高温处理是将种子放在塑料袋内封口,放在不同水温的暖水瓶内照射。氮气中处理的是用不透空气的双层膜塑料袋装好种子,抽真空后充入氮气,封好口,照射。液氮、干冰和氮气条件下处理的剂量为 1 万、2 万、3 万、4 万和 5 万拉特;高温条件下处理的剂量为 1 万、2 万和 3 万拉特,剂量率均为 100 拉特/分,并相应设有对照。

将照射过的种子每一处理取 100 粒播在装有石英砂的培养皿里,置于 20°C 温箱内发芽,待根长 1 厘米左右时取下一定数量的根尖进行细胞学观察。种子发芽 7 天后调查发芽率,同时测量苗高、根长。另 400 粒种子播于田间观察出苗,成株情况及孕性。所得结果都进行了统计分析。

结果与分析

一、液氮条件下照射的结果

表 1 液氮中照射小麦种子的辐射效应

项 目 处 理	N	发芽 率%	苗高			根长			观察细胞数			田间 出苗 率%	不孕 率%
			\bar{X}	S	C. Vg	\bar{X}	S	C. Vg	正常 数	含微 核数	%		
CK	100	96	12.26	2.53	20.85	9.50	1.44	15.19	1286	8	0.62	42.50	8.31
室温+ γ 1.0万	100	94	12.26	2.31	18.83	9.38	1.60	17.02	1058	52	4.91	33.25	1.78
室温+ γ 2.0万	100	88	11.92	3.24	27.21	8.81	1.97	22.37	1182	150	12.69	35.00	5.22
室温+ γ 3.0万	100	82	11.74	3.07	26.13	7.63	2.02	26.48	1094	135	12.34	30.50	8.04
室温+ γ 4.0万	100	78	10.64	3.40	31.96	6.72	1.72	25.63	1173	503	42.88	2.50	33.56
室温+ γ 5.0万	100	68	8.85	3.27	36.91	5.37	1.98	36.78	1053	511	48.53	1.00	—
液氮	100	92	8.36	2.70	32.41	5.73	1.93	33.69	1117	19	1.70	30.50	8.01
液氮+ γ 1.0万	100	86	8.37	2.48	29.60	5.85	2.59	44.29	1124	133	11.83	33.25	7.62
液氮+ γ 2.0万	100	86	8.39	2.37	28.31	6.99	2.44	34.90	1053	102	9.69	39.25	12.10
液氮+ γ 3.0万	100	84	8.35	3.23	38.71	6.05	2.31	38.19	1055	180	17.06	34.50	15.62
液氮+ γ 4.0万	100	82	7.37	2.35	31.88	5.10	2.35	46.03	1059	223	21.06	33.25	15.74
液氮+ γ 5.0万	100	84	8.45	2.43	28.73	5.31	2.11	39.72	1062	374	35.22	16.75	19.71

的生理损伤和染色体畸变^[3]。在极低温下照射主要是限制自由基的活动,减弱它们对生物大分子和酶促反应的干扰,从而减轻 M₁ 代辐射生理损伤和染色体畸变,提高了 M₁ 代存活率和诱发突变率,增加了选择的机会^[6]。在 1983 年处理的材料中已有 5 个突变品系进入了产量鉴定试验和做为突变品系间接利用。

二、干冰条件下照射的结果

由试验结果可以看出(表 2),室温和干冰中照射的种子发芽率、苗高和根长等的辐射损伤程度都是随着剂量的增大而加大,而干冰处理的与室温相比损伤幅度要小的多,如室温下处理的从 1~5 万拉特的苗高依次是 9.95 厘米、5.75 厘米、2.66 厘米、1.68 厘

米和 1.47 厘米,而干冰的则是 9.38 厘米、8.18 厘米、5.75 厘米、3.40 厘米和 2.95 厘米。从田间出苗情况看:室温下 1 万拉特照射的出苗率为 62.25%,2 万拉特的几乎没出苗;而干冰条件下 1 万拉特照射的出苗率是 70.50%,2 万拉特的是 57.25%,从照射后细胞内出现的微核数看:干冰+1 万拉特和干冰+2 万拉特照射的微核数均低于室温+1 万拉特和室温+2 万拉特照射的,干冰+3 万拉特以上处理的微核数要显著高于室温相对应的处理。辐射产生的自由基一般认为在低于 -148°C 时是稳定的,在 -148~-37°C 范围内,活性随温度的升高而增加(Power 和 kaleta 1960)。干冰中照射种子,也是由于自由基的活动受到限制而降低了辐射损伤。

表 2

干冰中照射小麦种子的辐射效应

项 目 处 理	N	发芽 率%	苗高			根长			观察细胞数			田间 出苗 率%	不孕 率%
			\bar{x}	S	C.Vg	\bar{x}	S	C.Vg	正常 数	含微 核数	%		
CK	100	89	11.90	2.22	18.65	4.38	1.06	24.20	1479	9	0.61	71.75	10.20
室温+ γ 1.0万	100	74	9.95	3.18	31.91	3.83	1.51	39.43	1151	173	15.03	62.25	16.94
室温+ γ 2.0万	100	30	5.75	1.98	34.46	3.02	0.80	26.49	1281	165	12.88	1.75	
室温+ γ 3.0万	100	39	2.66	0.78	29.21	1.12	0.61	54.40	1320	201	15.23	0	
室温+ γ 4.0万	100	54	1.68	0.37	22.18	0.69	0.47	67.53	1218	216	17.73	0	
室温+ γ 5.0万	100	49	1.47	0.34	23.34	0.73	0.36	48.90	1333	260	19.50	0	
干冰	100	61	9.98	2.67	26.85	4.40	1.06	24.14	1200	41	3.41	69.80	15.19
干冰+ γ 1.0万	100	53	9.38	2.92	31.16	3.90	0.93	23.97	1384	86	6.21	70.50	16.83
干冰+ γ 2.0万	100	65	8.18	2.71	33.10	4.09	1.11	27.17	1218	112	9.20	57.25	14.36
干冰+ γ 3.0万	100	45	5.75	2.48	43.14	3.40	1.11	32.55	1120	244	21.79	0.60	
干冰+ γ 4.0万	100	58	3.40	1.66	48.88	1.99	1.02	51.42	1142	356	31.17	0	
干冰+ γ 5.0万	100	79	2.95	1.21	41.09	1.54	0.82	52.96	1185	452	38.10	0	

三、氮气条件下照射的结果

从试验结果看出(表 3):在氮气条件照射从 1~5 万拉特对发芽率、苗高和根长特别是田间出苗率和孕性都有保护作用,高剂量时变异系数增大。氮气中照射的含微核细胞数与空气中照射的相近。在充氮气条件下进行

照射排除了氧效应,减轻了大的生理损伤,因此提高了抗辐射能力,这与 M. N. Saleh 的试验结果一致^[6]。

四、在高温下照射的结果

从所做的四个温差、三个剂量共 12 个处理的试验结果看出(表 4),所有处理间发芽率

表 3

氮气中照射小麦种子的辐射效应

项 目 处 理	N	发芽 率%	苗高			根长			观察细胞数			田间 出苗 率%	不孕 率%
			\bar{x}	S	C.Vg	\bar{x}	S	C.Vg	正常 数	含微 核数	%		
CK	100	79	11.88	2.73	22.99	6.64	1.65	24.79	1312	18	1.37	85.0	9.60
室温+ γ 1.0万	100	80	10.94	2.96	27.04	5.75	1.52	26.35	1257	83	6.60	31.0	19.13
室温+ γ 2.0万	100	76	7.96	2.89	36.26	4.73	1.46	30.83	1166	248	21.27	23.5	66.67
室温+ γ 3.0万	100	75	3.36	1.24	36.94	2.08	0.91	43.96	1167	419	35.90	0	—
室温+ γ 4.0万	100	84	2.04	0.49	24.24	1.20	0.49	41.24	1096	536	48.91	0	—
室温+ γ 5.0万	100	68	1.80	0.34	18.66	1.47	0.34	23.06	1133	659	58.16	0	—
氮气+ γ 1.0万	100	78	12.46	2.04	16.34	5.94	1.12	18.82	1348	39	2.89	83.0	15.65
氮气+ γ 2.0万	100	79	9.72	3.29	33.89	5.61	1.52	27.06	1233	81	6.57	83.0	10.03
氮气+ γ 3.0万	100	80	6.11	3.65	59.79	3.52	1.51	42.54	1018	426	41.85	28.0	31.80
氮气+ γ 4.0万	100	78	4.36	2.30	52.77	3.49	2.36	67.49	1009	463	45.89	17.0	63.78
氮气+ γ 5.0万	100	73	3.64	2.11	57.85	2.53	1.32	51.99	1106	647	58.50	11.5	63.61

表 4

高温照射小麦种子的辐射效应

项 目 处 理	N	发芽 率%	苗高			根长			观察细胞数			田间 出苗 率%	不孕 率%
			\bar{x}	S	C. Vg	\bar{x}	S	C. Vg	正常 数	含微 核数	%		
CK	100	88	14.57	2.48	17.02	11.13	2.22	19.95	1263	37	2.93	75	5.38
室温+ γ 1.0万	100	78	10.03	3.41	34.03	7.00	2.13	30.43	1216	36	2.96	50	68.42
室温+ γ 2.0万	100	68	2.82	1.10	39.03	1.61	0.57	35.19	1253	172	13.73	6	—
室温+ γ 3.0万	100	68	1.53	0.16	10.17	1.09	0.27	24.63	1154	394	34.14	0	—
30°C+ γ 1.0万	100	75	13.01	3.63	27.90	8.75	2.56	29.26	1140	89	7.81	48	30.80
30°C+ γ 2.0万	100	83	9.56	3.05	31.93	6.82	2.10	30.77	1180	151	12.80	50	59.52
30°C+ γ 3.0万	100	50	2.24	1.08	48.07	1.21	0.35	29.21	1198	321	26.79	0	—
40°C+ γ 1.0万	100	75	13.15	3.88	29.50	1.01	2.58	23.40	1196	92	7.69	62	28.45
40°C+ γ 2.0万	100	65	11.02	3.57	32.28	7.15	2.23	31.24	1054	164	15.56	68	46.36
40°C+ γ 3.0万	100	68	7.96	3.11	39.02	3.68	1.40	38.07	1102	384	34.85	52	87.48
50°C+ γ 1.0万	100	80	12.92	4.04	31.24	9.66	2.18	22.56	1071	88	8.22	68	33.72
50°C+ γ 2.0万	100	73	12.84	2.56	19.94	7.41	1.95	26.35	1242	155	12.48	34	78.13
50°C+ γ 3.0万	100	60	8.82	2.76	31.52	4.40	1.82	41.31	1260	482	38.25	52	66.34

差异不明显,但是苗高和根长有差异。在同样剂量下随着温度的升高保护作用加强,如室温+3万拉特的苗高是1.53厘米、30°C+3万拉特的苗高是2.24厘米。40°C+3万拉特的苗高是7.96厘米,50°C+3万拉特的苗高是8.82厘米。从田间出苗率和育性看,高温具有降低辐射损伤的作用。高温下+1万拉特的细胞微核均高于室温+1万拉特的,其它比较接近。但是高温高剂量的变异系数加大。高温下照射种子能降低辐射损伤。这是因为高温加速了自由基的活动和碰撞,使自由基相互结合、失去了活性。

讨 论

本试验在液氮、干冰、高温和氮气等不同外界条件下照射春小麦干种子,根据苗高、根长等数据和含微核的细胞数以及田间生长等各项指标看出:(1)液氮(-196°C)条件下照射春小麦干种子对减轻辐射损伤是有效的,这

样可以在高剂量下照射,提高M₁的成活率,保证了M₁代有一个较大的群体,提高了辐射后代的选择效果。(2)干冰条件下照射也具有保护作用,与常温下照射的效果相比能提高一个剂量级,同液氮比较,保护作用次之。(3)高温条件下照射保护作用明显,特别是50°C下进行照射,得到了几乎等于液氮下照射的效果。宫越顺二(1984)认为射线所造成的DNA单链断裂在42°C下初期修复率高于37°C。H. Nakai(1979)报道了热冲击处理可以减轻大麦和水稻的辐射损伤。高温防护作用主要是由于加强了自由基的结合而减少辐射引起的自由基的数量,而极低温下处理是使自由基完全不能活动。因此它们的作用结果都是消除自由基以减轻辐射损伤。(4)氮气条件下照射排出了氮效应,因为缺氧会使种子处于SH含量较高的条件下,抗辐射能力增强;另一方面是辐射产生的有害自由基通过氧化氮变为无反应活性的化合物。

对突变育种来说,既能减少生理损伤和

总的染色体畸变,又不降低诱变频率的处理方法最为理想,这样可使用较高的照射剂量,提高突变频率。我们认为在不同外界条件下处理春小麦种子时,液氮条件下处理比较好,其次是氮气、高温和干冰。适宜剂量是 γ 2.0万拉特和 γ 3.0万拉特。

参 考 文 献

[1] 徐世明等:热辐射和快中子等对春小麦生长发育

的影响,原子能农业译丛,1984,2:9-15

[2] 汤泽生等:液氮对 γ 射线诱变蚕豆种子染色体畸变效应的研究,简报,原子能农业应用,1984,2:26-28

[3] 张月学、孙光祖、陈义纯等:极低温和EDPA复合处理春小麦种子对 γ 射线辐射细胞学效应的影响,黑龙江农业科学,1986,4:34-38

[4] 官越顺二:加温对射线的增感作用,原子能农业译丛,1984,2:20-21

[5] Nakai, Hetal, Enphytica, 1987(28), 697-704

[6] M. N. Saleh, 1981 Hereditas 94, 8391

[7] M. Lnoe. ect1982 Environm. Experim. Bot22(4): 415-426

玉米自交系花粉量 及花丝生活力初步观察

谢忠玉

(黑龙江省农业科学院合江农研所)

摘要 玉米花粉量的多少是玉米制种田确定父母本行比的重要科学依据。本文提出以雄穗成对小穗数为单位来衡量玉米花粉量的多少,它比用“多中少”及雄穗分枝数表示的花粉量更接近于实际。玉米雄穗成对小穗数的多少与玉米类型关系不明显,但与雄穗分枝总长度相关极为显著。随着父本雄穗成对小穗数的增加,制种田的母本行比也在增加,这说明了玉米制种比例的变化是依据父本花粉量的多少而异,根据成对小穗数的多少进行花粉量的分级是有其实用价值的。雄穗散粉天数越长,花丝生活力降低速度越慢,制种花期就容易相遇,结实率亦高;反之,花期容易脱节,制种结实率会降低,产量减少。总之,父本的花粉量大及散粉天数长和母本花丝生活力强是玉米制种结实率高的三个重要条件。

玉米是我省主要粮食作物之一,对全省粮食总产起着重要作用。近年来,我省玉米制种常受自然灾害、花期不遇或花粉量不足的影响,使结实率降低,产量减少,每年都有不

同程度的损失,多则几十万元。因此,掌握好玉米亲本自交系的花粉量、散粉天数及花丝生活力,对于提高制种结实率增加产子量是十分重要的。

注:本文承蒙刘忠堂副研究员审阅,在此表示谢意。