

^{60}Co - γ 射线对高粱蔗体细胞无性系 及于种子的辐射效应

母秋华

(吉林市农业科学研究所)

近年来,利用体细胞变异进行品种改良的研究越来越普遍。关于 ^{60}Co - γ 射线照射植物离体的组织和细胞也有报道。Crocome研究了 γ -射线对甘蔗组织培养产生愈伤组织的影响〔5〕,曹致义等对单倍性的玉米细胞系的辐射敏感性进行了研究。但均未涉及用 ^{60}Co - γ 射线照射细胞系再生植株后的表现。

1981年,我们利用高粱蔗茎尖离体培养首次建立既可长期继代培养并可大量再生绿苗的无性系,从而为在细胞水平上进行辐射育种提供了有利条件。1983年春由吉林省农科院生物物理室,利用不同剂量的 ^{60}Co - γ 射线分别照射了高粱蔗体细胞无性系14—1和再生植株的干种子,其目的在于:(1)了解细胞系14—1和干种子对 ^{60}Co - γ 射线的辐射敏感性。(2)找出适宜的诱变剂量。(3)研究 M_1 、 M_2 的引变规律。(4)筛选有益的突变体、进行粮、糖、酒三用作物——高粱蔗的品种改良。

材料和方法

用0.2万伦、0.5万伦、1.0万伦、1.5万伦的(每分100伦) ^{60}Co - γ 射线照射生长旺盛的已继代培养20次的高粱蔗(遗杂10×果糖55/83)体细胞无性系14—1(以下称细胞系)和再生植株的干种子(以下简称干种子)。照射1周时,再将每个处理的细胞系分别转移到8112培养基上〔4〕进行继代培养,重复三次。干种子分别播种在温室与田间。1—2行区,行长4.75米,行距60厘米,株距15厘米,每个处理播种100粒, M_1 、 M_2 的播种方法同上。管理方法同一般大田。

试验期间,细胞系每隔4周转移一次,细胞再生绿苗同对照一起移栽到温室里培养。仔细观察 γ -射线对细胞增殖与分化的影响,系统分析 M_1 、 M_2 的遗传与变异情况,对主要性状进行变异系数的测定,并按辐射育种方法进行选择、收获和考种。茎秆含糖量用折光仪测定。

结果与分析

一、 ^{60}Co - γ 射线对细胞系的影响

1. 细胞系的增殖与分化

用 γ -射线0.2万、0.5万、1.0万和1.5万伦的 ^{60}Co - γ 射线照射细胞系14—1,70天内未见明显变化,但继代培养一周以后,不同处理间表现出明显差异,2周以后差异更明

本试验得到赵铭武所长、母文玉、肖永翔老师指导,田云香、张殿荣、王禾协助试验,史兢波、刘志东摄影,一并致谢!

显。剂量大的处理先是抑制生长。后来逐渐变成黑褐色而死亡。中间剂量的处理大部分变为褐色，继代培养后虽然可从褐色的细胞团上长出淡白色的细胞团，但因完全丧失分化能力，所以也渐渐死亡（见图1），只有用0.2万伦的r-射线照射的细胞团在继代培养初期，细胞团生长旺盛，增殖倍数及绿苗分化频率也明显超过对照（图1）。培养4周后测定其增殖倍数，并统计绿苗分化频率及移栽成活率，结果表明（见图1），在本试验采用的剂量下，有随着剂量增大，抑制与杀伤作用增强的趋势。0.5万伦可以增殖0.2倍，但不能再生绿苗。1.0万伦使细胞团大部份死亡。1.5万伦全部死亡。但0.2万伦其增殖倍数可达4.3倍，绿苗分化率可达95%，移栽成活率达70%以上，此结果表明，照射细胞系14-1的适宜剂量为0.2万伦左右。但有随着细胞系继代培养次数的增加该细胞系的增殖倍数与绿苗

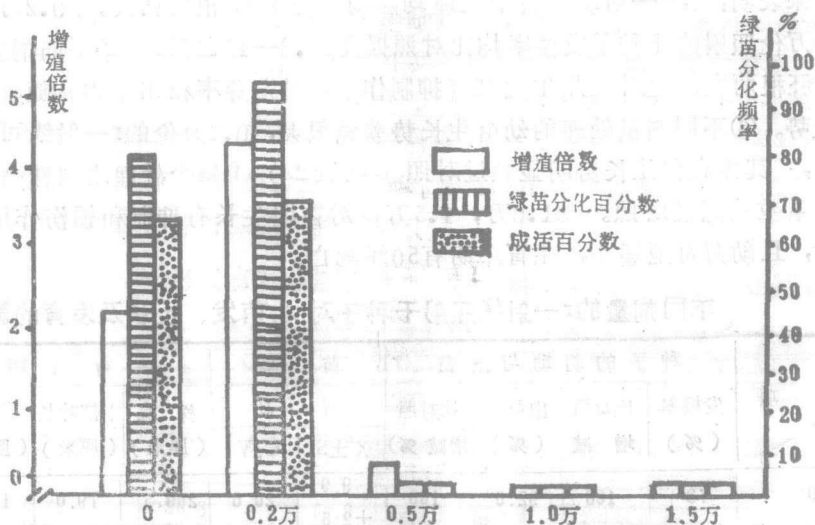


图1 不同剂量⁶⁰Co-r射线对细胞系14-1的影响

分化情况有逐步趋于正常的趋势，这可能是r-射线对细胞系的刺激作用逐步减弱的原故。

2. r-射线对细胞系再生植株M₁、M₃的辐射效应

据观察，用不同剂量的r-射线照射细胞系，0.5万伦以上的各处理不能再生绿苗，0.2万伦可刺激细胞团的增殖和绿苗的分化，并可提高移栽的成活率，增加幼苗生长速度和成株的产量。从表1可以看出：①在温室栽培条件下，用0.2万伦r-射线照射的细胞系再生植株，M₁株高比对照高10厘米，穗长比对照长2厘米，生育期间植株的生长势明显

表1 ⁶⁰Co-r射线对细胞系再生植株M₁—M₃的影响

材 料	M ₁						M ₂						M ₃			
	株高(cm)		穗长(cm)		绿苗	白苗	株高(cm)		穗长(cm)		绿苗(株)	白苗(株)	白苗/绿苗(%)	绿苗(株)	白苗(株)	白苗/绿苗(%)
	$\bar{X} \pm S$	C.V	$\bar{X} \pm S$	C.V			$\bar{X} \pm S$	C.V	$\bar{X} \pm S$	C.V						
CK: 细胞系14-1的再生植株	173 ±20.6	9.0	20.9 ±2.1	9.4	30	0	24.9 ±8.8	3.5	21.8 ±2.2	9.0	560	0	0	1200	0	0
r-0.2万伦处理细胞系14-1的再生植株	183 ±22.0	11.6	22.9 ±3.1	10.9	32	0	238 ±11.9	5.0	22.0 ±1.6	7.2	828	280	33.9	819	290	32.9

超过对照。②其株高,穗长出现了明显的变异,变异系数与变异幅度均高于对照。③再生植株的当代(M₁)全部是绿苗。④再生植株的M₂其株高仍存在变异。平均标高比对照低。⑤穗长与对照相近,但同一穗系的穗长比较整齐。⑥M₂种植的7个株系全部出现白化苗,白绿苗的比例接近1:3。⑦这种由于r-射线引起的一对基因的隐性突变可以遗传,在M₃试验的株系中有的仍然有1/3的白化苗出现。

二、不同剂量的⁶⁰Co-r射线对干种子的辐射效应

用不同剂量的r-射线处理的干种子7天后播种在培养皿中,观察其胚根,胚芽的萌动情形及发芽势,然后,将长出1厘米以上胚根的种子播种在松软的土壤中,调查出苗率及生长势,并对M₁、M₂主要性状的遗传与变异情况进行了考查与分析。

1. r-射线照射干种子对种子的萌芽及幼苗成活率的影响

试验结果表明:①r-射线的各个处理均能刺激种子胚根的萌发,0.2万、0.5万、1.0万、1.5万伦照射的干种子发根率均比对照提高11.8—12.3%。②不同剂量的r-射线虽然能刺激胚根萌发,但对胚芽生发却有抑制作用,其发芽率和出土力有随着剂量的增加而降低的趋势。③不同剂量处理的幼苗生长势差异很大,0.2万伦的r-射线可促进幼苗的生长和发育,其株高和生长势明显超过对照(见表2)④每个处理之内株高变异幅度较大,其变异系数均超过对照。⑤1.0万,1.5万伦对苗期生长有抑制和损伤作用,1.5万伦不仅出苗少,且幼苗奇型矮小,生育中期有50%死亡。

表2 不同剂量的r-射线照射干种子对M₁萌发、生长及发育的影响

处 理	目 项	种子的萌动与出苗				苗 粗		生育后期长相			
		发根率 (%)	比对照 增 减	出苗率 (%)	比对照 增减(%)	苗 高		株 高 (厘米)	中部叶长 (厘米)	茎 粗 (厘米)	穗 长 (厘米)
						$\bar{x} \pm S$	C. V				
CK	0	78	100	92.6	100	9.9 ±2.5	20.6	209.5	79.0	1.23	32.0
1	r-0.2万	92	+11.8	88.0	-7.2	11.7 ±2.9	24.5	206.0	73.4	1.40	33.1
2	r-0.5万	96	+12.3	82.6	-11.0	10.0 ±4.1	40.9	203.3	72.5	1.03	30.7
3	r-1.0万	90	+11.5	71.0	-23.1	8.5 ±2.6	30.6	190.8	70.5	0.90	30.7
4	r-1.5万	92	+11.8	49.0	-47.0	2.2 ±7.2	32.6	190.0	65.0	0.70	25.0

2. 成熟植株的表现及变异类型

试验表明:用不同剂量的r-射线照射干种子,在M₁的生育后期,各处理之间有很大差异。从表2可见:①M₁成熟前的植株有随着剂量的增加其株高逐渐降低,叶片变短的趋势。②0.2万伦可使茎秆增粗,穗长稍长,对植株生长有促进作用。③1.5万伦对M₁植株生长有抑制作用,其茎粗叶长及穗长明显低于对照和其它处理。④用0.2万、0.5万、1.0万、1.5万伦处理干种子,M₁均可出现植株短小细弱、茎粗节密、秆硬扭曲、叶片硬直易破碎;多分蘖,多分枝穗、小穗增多、或侧生等变异类型。

三、⁶⁰Co-r射线处理细胞系“14-1”和干种子M₂辐射效应

1. 辐射效应

①用0.2万伦r-射线照射细胞系,对M₂的生物学性状仍有影响。有些株系苗期产生

1/3白化苗,有的株系株高变矮,茎秆变粗,含水量增多。②在M₂叶长、穗长也有变异,变异幅度高于对照,低于M₁。③用0.2万伦r射线照射细胞系,其辐射效应可通过细胞遗传给再生植株的M₂,并获得子粒产量较高的变异体。④用不同剂量r—射线照射干种子, M₂表现不同。1.5万伦处理的M₂种子没出苗, 0.2万伦和0.5万伦两个处理在M₂出现的变异类型不够理想,而1.0万伦在M₂却出现了茎秆粗壮,抗倒伏等有益的变异类型。

2. 适宜剂量对M₂生物系性状影响的比较

在本试验条件下的试验结果证明,用r—射线照射细胞系的适宜剂量为0.2万伦,照射干种子的适宜剂量为1.0万伦,说明干种子较细胞系抗辐射。但它们在诱变效应方面共同点如:①植株变矮,变粗,叶片变短。②通过选择在M₂都可以获得穗大粒多的类型及子粒产量高于对照的变异体,又有不同点如:①用0.2万伦照射细胞系的M₂的辐射影响比1.0万伦照射干种子的影响大。如从0.2万伦照射细胞系的后代中获得了茎秆产量和含糖量较高的类型,而从1.0万伦照射干种子的后代中共获得了茎秆产量较高的类型。②它们在M₂植株高度的变异系数虽然都高于对照,但1.0万伦照射干种子M₂的叶片长度及穗长都较原品种(甜粮2)整齐。以上说明用适宜剂量,⁶⁰Co-r射线处理细胞系和干种子都能产生变异,获得生物学产量高的新类型,同时稳定速度比有性杂交快,如果再继续选择,在M₄就可能获得符合育种目标的新品系。

表3 r—射线照射细胞系14—1和干种子M₂主要性状的田间表现

材料和处理	株高(厘米)		中部叶长(厘米)		穗长(厘米)		子粒产量*		青株产量*		含糖量**
	$\bar{X} \pm S$	C.V %	$\bar{X} \pm S$	C.V %	$\bar{X} \pm S$	C.V %	$\bar{X} \pm S$	C.V %	市斤/亩	比对照增产	蔗液重量 %
CK 细胞系14—1 D ₂	229.7 ±15.9	2.6	75.9 ±3.3	4.4	20.2 ±1.9	8.6	777.7	100	8147.7	100	10.0
0.2万伦r—射线照射细胞系14—1 M ₂	226.8 ±15.8	7.0	74.9 ±4.9	5.6	20.4 ±3.1	14.9	814.8	104.7	7999.6	98.2	11.2
CK 甜粮2	249.0 ±8.8	3.5	75.5 ±5.5	7.3	21.0 ±2.1	9.4	536.2	100	5960.7	100	12.2
1.0万伦照射干种子 M ₂	230.1 ±19.3	8.4	71.8 ±3.5	5.5	24.6 ±1.5	7.0	814.8	152.0	7703.0	129.2	11.8

* 折算亩产, ** 收获同时,在田间用折光仪测定。

问题与讨论

一、在植物组织培养中细胞和组织对辐射的敏感性是一个复杂问题,它涉及到材料的类型,生理状态和遗传背景及放射源的种类,照射条件和培养条件等问题。Spiegel—Roy等〔6〕报道0.16万伦的r—射线可以刺激胚的发生。我们的试验表明:0.2万伦的r—射线可以刺激细胞系的增殖和分化。促进细胞系和干种子再生绿苗的生长和发育。两组结果趋势一致。

二、Crocome用0.5、1.0、1.5万伦r—射线照射甘蔗愈伤组织时发现,器官再生取决于培养基中细胞分裂素(C)和生长素(A)的比例,而与照射的剂量无关。我们的试验表明:用0.2万,0.5万,1.0万,1.5万伦照射在相同培养基和培养条件下的体细胞无性系,随着剂量的增加对细胞系的损伤增大。除0.2万伦可促进细胞团的分化和绿色植株的

再生外，其它处理均不能再生绿苗，0.5万伦可使细胞系半致死，1.0、1.5万伦全部致死。

三、曹致义等为玉米单倍性细胞性系，这比干种子敏感，500伦是细胞系的半致死剂量，我们采用不同剂量的 γ -射线照射细胞系和干种子的试验结果表明：细胞系对 γ -射线的反应比干种子敏感得多。0.5万伦是细胞系的半致死剂量而且不能再生绿苗。而干种子1.5万伦的有49%的种子正常出苗；0.2万伦照射细胞系在 M_2 、 M_3 均有1/3白化苗发生，而每个处理的干种子均没出现白苗，这可能是由于由芽原基(bud-primordium)组成的细胞系其细胞处于十分活跃的生长状态，细胞核原生质浓、分裂周期短， γ -射线可以直接照射到裸露的细胞团上，所以易引起染色体的局部缺损，基因的突变，从而导致失去部份或全部遗传信息，而产生白化苗或其它遗传与变异。

据试验，用0.2万伦照射细胞系，1.0万伦照射干种子均得了茎粗壮，粮食产量及生物学产量都高的株系，通过筛选可能把这些有利变异保存下来，从而为利用 ^{60}Co - γ 射线在细胞水平上进行高粱蔗的诱变育种展示了美好前景！

参 考 文 献

- [1] 赵成章等：1983年，遗传学报，9(4)320—324。
- [2] 母秋华等：1983年，实验生物学报，16(2)223—229。
- [3] 曹致义等：1981年，原子能农业应用，4.22—26。
- [4] 母秋华等：1984年，吉林农业科学，4.17—23。
- [5] Crocome, O. et al 1979, An Nat. Congness, Sugar, Jech. Soc. (STABA) 1: 241—243.
- [6] Spiegel, Roy. P. et al. 1973, Radiation Botany, 13, 97—103.

(上接第71页)

(一) 添加0.1% Met的试验组，增重为 46.37 ± 4.346 公斤，日增重为 509 ± 12 克，比对照组增重 42.42 ± 8.827 公斤，提高9.31%。差异不显著($P > 0.05$)。

(二) 饲料报酬：添加0.1% Met的试验组，比对照组高9.30%，添加Met后对饲料粗蛋白质利用率有一定作用，比对照组高16.46%，大体上使用1吨Met的营养效果相当于61.68吨豆饼、55.98吨鱼粉。

(三) 经济效益：使用Met的经济效益是明显的，添加0.1% Met的试验组，比对照组高61.20%，大体使用1吨Met，可提高收益近7万元。

(四) 最佳比例：试验过程中，赖氨酸与蛋氨酸+胱氨酸的比例，试验组为1.9:1，对照组为2.3:1。试验组比例较好。试验只是一次结果有待重复和验证。