

大麦减数分裂早前期诱变效应的研究

赵丽梅 许耀奎 崔秋华

(吉林省农科院大豆所) (吉林农业大学农学系)

摘 要

本试验利用两种有效的诱变剂 PYM 和 EMS, 在大麦减数分裂早前期对幼穗进行注射处理, 通过对其 M_1 花粉母细胞染色体畸变率、花粉育性、结实率及 M_2 性状变异等的研究表明, 幼穗处理能显著提高诱变效果, 增加染色体畸变率和 M_2 基因突变率, 同时也提高了某些有益性状的变异频率。因此, 认为减数分裂早前期是诱变处理的适宜时期。本试验首次采用注射处理的方法, 此法能弥补常见浸泡法所造成的人为损伤过大的缺点, 提高诱变效果, 而且方法简便易行, 是一种行之有效的办法。

关键词 大麦 减数分裂 诱变效应 染色体畸变 基因突变

诱变育种中, 选择适宜的处理时期是提高诱变效应的关键。近年来国内外对此进行了广泛的研究, 利用理化因素处理活体植株的配子体和合子体收到了较好的效果; 在活体植株减数分裂分裂期处理, 诱变效果更佳^[1,2]。

EMS 是一种有效的化学诱变剂, 在诱变育种中被人们广泛应用。而平阳霉素(PYM)是近年来发现的一种新的高效诱变剂, 它不仅在临床上对多种癌症有治疗缓解的作用, 而且对动植物及微生物具有较强的诱变作用^[3~5], 初步证明 PYM 是一种有希望的植物诱变育种的诱变剂。在大麦上的试验结果表明, 种子处理的适宜浓度为 $30\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[6]。本试验旨在通过对大麦不同时期处理, 对化学诱变剂的处理时期及处理方法做进一步的探讨。

材料与方 法

一、试验材料

1. 供试品种: 遗传性稳定的大麦品种“蒙克尔”。
2. 化学诱变剂: 平阳霉素(PYM), 甲基磺酸乙酯(EMS)。均用 pH 值为 7 的磷酸缓冲液配制。

二、试验方法

1. 试验处理:

处 理 时 期	诱变剂	浓 度
减数分裂早前期 幼穗处理 (以下简称幼穗处理)	PYM	$10\mu\text{g}/\text{mL}$ $30\mu\text{g}/\text{mL}$ $50\mu\text{g}/\text{mL}$
	EMS	0.1% 0.2% 0.3%
	CK	磷酸缓冲液
种子处理	PYM	$30\mu\text{g}/\text{mL}$
	EMS	0.3%
	CK	磷酸缓冲液

2. 处理方法:

在大麦幼穗分化时期, 随时进行田间取样镜检, 以确定准确的处理时期。一般花粉母细胞处于减数分裂早前期的大麦植株, 外部形态表现一般是: 主穗为旗叶的叶尖刚刚从它下部叶片的叶鞘中露出; 分蘖为旗叶的叶尖露出倒数第二叶片的叶鞘 1 厘米左右。于每日

上午 9~11 时田间选择处于此时期的大麦植株,找准幼穗所处的部位,用注射器将药液推入,直到药液从旗叶的尖端流出为止。每个浓度处理 30~100 穗,同时设置对照。

3. 细胞学观察的方法:

花粉母细胞减数分裂染色体行为的观察:注射后经 45 小时,取幼穗对花粉母细胞进行观察。采用常规压片,改良卡宝品红染色。

花粉育性观察:采用 I-KI 染色压片观察。

4. 田间种植:

种子处理: M_1 种植按浓度顺序排列,同时设置对照及原品种材料。行长 2 米,株距 4 厘米,单粒点播,每个处理 400 粒种子,3 次重复。 M_1 收获时每个主穗收取 15 粒种子,按浓度混合。 M_2 的种植同 M_1 。

幼穗处理:处理的植株,收获时按浓度混收。 M_2 的种植是将混收的种子单粒点播,3 次重复,同时设置对照及原品种材料。

结果及分析

一、对 M_1 花粉母细胞染色体行为的影响

通过对花粉母细胞减数分裂的观察,发现不论是幼穗处理还是种子处理,其染色体行为均出现不同程度的异常,产生各种染色体畸变,特别是在减数分裂的后期 I、I 出现桥、落后染色体,断片及不均等分裂等(见图版),其变异频率见表 1。

表 1 M_1 花粉母细胞减数分裂染色体行为的异常

处理时期	处 理	观 察 细 胞 数	染色体桥				落 后 染 色 体	断 片	桥 十 断 片	不 同 步 分 裂	三 极	染 色 体 粘 联	总 畸 变	
			单	双	三	多							总 数	%
幼穗处理	CK	873	3				12	14			1	1	32	3.674
	PYM10	984	60	18	2		30	45	16	5	12	11	199	20.224
	PYM30	1949	192	36	11		37	89	29	3	25		413	21.224
	PYM50	1218	125	55	16	12	17	96	33	5		7	366	30.049
	EMS0.1	590	14	8		2	6	8			6	8	52	8.814
	EMS0.2	690	10			3	11	21				2	47	6.763
	EMS0.3	496	12	2	1		3	12	1			3	34	6.855
种子处理	CK	577	1			1		2					4	0.693
	PYM30	643	4	2		2	5	5			1	1	20	3.110
	EMS0.3%	1306	7	1			12	10	5	1	1	3	40	3.063

PYM 幼穗处理染色体畸变率随 PYM 浓度的增加而增高,显著高于同种处理的 EMS 和对照及种子处理。在 EMS 处理中以 0.1% 浓度的畸变率最高,随浓度的增加畸变率反而下降,种子处理则以 0.3% 为最适浓度。由此可见,同种材料对不同诱变剂其敏感性是不一样的,即使同一种诱变剂不同的时期处理敏感性也不一样。

二、对花粉育性的影响

花粉育性作为测量诱变敏感性的指标在辐射研究中应用颇为普遍。PYM 引起花粉母细胞染色体行为的异常,从而也会导致部分花粉的败育,结果见表 2。



图 花粉母细胞减数分裂染色体畸变类型

- 1~2. 后期 I 染色体桥 3. 末期 I 落后染色体 4. 后期 I 染色体桥 5. 后期 I 桥+落后染色体
6. 后期 I 三桥-断片 7. 后期 I 落后染色体 8. 染色体粘联 9. 不同步分裂

表 2 M₁植株花粉育性

处理时期	处 理	调查花粉数	不育花粉粒数	不育率(%)
幼穗处理	CK	1000	25	2.50
	PYM10	1000	213	21.30
	PYM30	1014	259	25.54
	PYM50	1000	317	31.70
	EMS0.1	1000	103	10.30
	EMS0.2	1000	84	8.37
	EMS0.3	1000	85	8.50
种子处理	CK	1000	0	0.00
	PYM30	1007	72	7.15
	EMS0.3	1024	69	6.73

由于幼穗处理使诱变剂直接作用于花粉母细胞,使其染色体畸变率显著提高,细胞代谢紊乱,最终导致花粉败育率增高。所以幼穗处理的花粉败育率显著高于种子处理。

三、M₁结实率

幼穗处理时所引起的花粉败育及处理时所造成的生理损伤,致使 M₁ 植株结实率降低,严重的还会造成幼穗死亡。这种现象在高浓度时尤为明显。

表 3 幼穗处理植株成穗率及结实率

幼穗处理	成穗率(%)	结实率(%)
PYM 10	64.29	52.43
PYM 30	43.33	44.38
PYM 50	17.86	34.70
EMS 0.1	53.63	58.84
EMS 0.2	42.86	55.03
EMS 0.3	35.45	43.12
CK	68.57	64.87

种子处理时结实率和成穗率均为 100%。

四、M₂ 叶绿体变异

在诱变后代中,会出现许多叶绿素缺失突变,大多为隐性,且多为单因子遗传。现已广泛应用做鉴定各种物理和化学诱变效应的

指标⁽⁷⁾。在本试验中出现了各种类型的叶绿体变异。列于表 4。

表 4 M_2 叶绿体变异类型及频率

处 理 时 期	处 理	总株数	黄绿苗	白化苗	条 纹	叶尖黄	黄化苗	橙色苗	总 数	%
幼穗处理	CK	452							0	0
	PYM 10	372	1						1	0.269
	PYM 30	234	2						2	0.355
	PYM 50	210	3		2				5	2.381
	EMS 0.1	398	9	2					11	2.764
	EMS 0.2	508	5	3	1				9	1.772
	EMS 0.3	585	1				1		2	0.342
种子处理	CK	793							0	0
	PYM 30	1326	6	2	2	3		1	14	1.056
	EMS 0.3	1259	77	50	4	2	25	2	160	12.708

五、 M_2 其它性状变异

在 M_2 代中除出现叶绿体变异外,还会出现其他的多种类型的变异,见表 5。

表 5 M_2 农艺性状的变异及频率

处理时期	处 理	总株数	株型变异					穗型变异					熟期变异				总变异							
			矮株	矮丛	单秆	狭叶矮生	直立	稀穗	多花大穗	密穗	二棱穗	侧生花不育	早熟	晚熟	冬性	分蘖力强	总 数	%						
幼穗处理	CK	320																1	0.312					
	PYM 10	521	5	1			4		5									11	13	1	2	42	8.061	
	PYM 30	495	4	3			1	7	1	5								17	11		1	50	10.101	
	PYM 50	556	6	1			6	2	6	1			1	21	13	2		3	21	13	2	3	62	11.151
	EMS 0.1	631	5	3	6		2	2	6		1	3	2	12	3			1	2	12	3	1	46	7.290
	EMS 0.2	635	7	4	4	1	1	1	6	2		5	5	17	5			1	5	17	5	1	59	9.291
	EMS 0.3	669	7	6	5	6	3	1	7	1	1	5	4	21	8			2	4	21	8	2	77	11.510
种子处理	CK	501	1																				1	0.200
	PYM 30	1278	31	13	5	5	14	2	7	1		1	19	7	5			10	19	7	5	10	120	9.390
	EMS 0.3	1203	34	17	7	11	15	5	4	3		9	1	17	13			1	1	17	13	1	137	11.390

从表中结果可以看出,在 M_2 性状变异上其变异频率和变异谱,种子处理和幼穗处理 PYM 和 EMS 各有其特点。

讨 论

一、对处理时期的评价

以往诱变育种常用的方法是种子处理,此方法虽简便易行,但因诱变时易产生嵌合体,突变细胞往往受到正常细胞抑制,进而造成恢复突变。因此对多细胞结构的组织或器官进行诱变处理尽可能减少细胞间的选择是试验成功的关键⁽⁸⁾。活体植株减数分裂期对外界环境条件最敏感,此时期任何因素的影响都能引起遗传物质的载体——染色体行为的异常,从而引起突变,且此时期产生的任何可遗传的变异都可通过配子直接传递给后代,减少细胞间的选择。为此我们在减数分裂的早前期对大麦幼穗进行处理。试验结果表明,不论是 PYM 还是 EMS 在细胞学效应上幼穗处理显著高于种子处理。在 M_2 的性状变异上两种处理方法的

效应相近,但幼穗处理能扩大成熟期变异的范围,此外,多花大穗变异出现的频率也高于种子处理,值得注意的是,种子处理的 EMS 0.3% 叶绿体变异频率为 12.708%,远远高于 PYM 种子处理,与在幼穗处理中的变异频率相差较大。产生这种现象的原因是由于不同的诱变剂其性质和作用机理不同,产生的变异谱和变异频率存在差异;即使是同一种诱变剂由于处理时期不同,变异谱和变异频率也会有所差异。

Г. Н. ОХРИМЕНКО 曾提出, M_1 、 M_2 某些变异类型出现频率的高低取决于处理时期^[6]。本试验中幼穗处理所产生的较高频率多花大穗及成熟期变异均是高产育种的有益性状变异,因此,本试验所采用的处理时期对于提高有益突变频率是一个比较有效的时期。

二、对处理方法的评价

应用化学药剂处理幼穗,以往均采用浸泡幼穗的方法,这种方法对幼穗和旗叶都会造成很大的损伤,且操作较难。特别是对大麦来说,处于减数分裂早期期的幼穗仍被叶鞘紧紧包被,如采用浸泡的方法,势必要将幼穗剥出。本试验所采用的方法是在不破坏顶部叶片的前提下,于适宜时期用注射器将药液注入到由叶鞘紧紧包被的幼穗中去,以达到处理幼穗的目的。此方法能使药液在幼穗中停留 3 小时以上。通过对 M_2 变异谱及频率的分析,认为此方法具有可行性,且处理简单,易于掌握,能够减少由常见浸泡法所造成的人为损伤。

参 考 文 献

- [1]张伯林、陶舜华:冬小麦合子期不同阶段辐射效应研究,《原子能农业应用》(植物育种专辑),1985,增刊:243~246。
- [2]文义湘、吴新能等:⁶⁰Co- γ 射线辐照水稻不同发育时期诱变效应的观察,《郴州农业科技》,1986,(1):13~19。
- [3]陈爱玲等:平阳霉素诱发枯草杆菌基因回复突变,《科学通报》,1981,(15):941~943。
- [4]谷爱秋等:平阳霉素诱发蚕豆染色体畸变,《科学通报》,1981,(15):941~943。
- [5]沈光平等:平阳霉素三种成份诱发染色体畸变的研究,《遗传学报》,1984,11(12):109~112。
- [6]赵丽梅等:平阳霉素 Pingyangmycin 对大麦诱变效应,《核农学报》,1990,(4):199~205。
- [7]郭光荣等:水稻幼穗分化前³²P内照射处理的诱变效果研究初报,《湖南农业科学》,1987,(3):15~16。
- [8]Е. В. Виленский:植物突变育种的方法问题,《原子能农业译丛》,1983,(2):6~8。

STUDIES ON THE MUTAGEN EFFECTS OF THE EARLY STAGE OF MEIOSIS PROPHASE ON BARLY

Zhao Limei Xu Yiaokui Chui Qiuhua

(Jilin Acadmey Agricultural Sciences) (Jilin Agricultural University)

ABSTRACT

Two effective mutagens, PYM and EMS were applied to inject young spikes during at the early stage of meiosis prophase in barley. The rate of chromosome aberration of pollen mother cell, pollen fertility, setting percentage in M_1 and character variation in M_2 were studied. The results indicated that both the chromosomal aberration frequency and gene mutation frequency of M_2 could be increased significantly, by injecting the solution of PYM and EMS into young spikes during at the early stage of prophase of meiosis, (下转第 39 页)

表 3

精盖草能对大豆生育状况的影响

处 理	平均株高 (cm)		平均单株结荚 数(个)		百粒重量 (g)		产 量 (kg/ha)		比对照增产 (%)	
	1988年	1989年	1988年	1989年	1988年	1989年	1988年	1989年	1988年	1989年
1	68.3	61.9	26.0	27.7	17.8	15.0	1000.5	1444.5	5.2	28.4
2	67.3	61.7	26.1	26.7	19.0	14.9	1015.5	1504.5	6.8	33.7
3	72.5	71.0	26.3	37.9	18.1	15.3	1135.5	1305.0	19.4	16.0
4	65.5	68.5	27.4	36.1	19.2	16.3	1230.0	1710.0	29.3	52.0
5	72.9	67.9	25.9	39.1	18.5	15.5	1110.0	1135.5	16.9	0.9
6	71.1	63.4	25.7	29.4	18.2	15.2	1050.0	1180.5	10.0	4.9
7	66.0	63.2	26.0	26.4	18.2	15.1	1165.5	1384.5	22.6	23.1
8	68.3	65.5	26.4	28.3	18.1	14.6	1200.0	1480.5	26.2	31.6
9	69.6	72.5	27.7	37.7	18.6	15.0	1251.0	1684.5	31.6	49.7
10	70.6	69.9	27.4	28.0	13.5	15.0	1150.5	1375.7	21.0	22.3
11	70.5	65.5	26.9	28.1	16.5	14.8	1185.0	1525.5	24.7	35.6
12	64.0	63.7	26.1	35.3	16.5	14.7	1105.5	1264.5	16.3	12.4
13	64.0	59.8	25.9	21.3	17.8	14.8	951.0	1125.0	—	—

小 结

通过试验表明,精盖草能的除草活性在本试验条件下高于或等于盖草能、精稳杀得和禾草克。从两年试验结果看,精盖草能有效用量 36.0~45.0 克/公顷时,能获得良好的效果,低于此用量范围药效不稳定。

两种剂型比较,乳油的药效明显高于水溶性颗粒剂(相同用量下),这与乳油施用后对杂草体附着力强,抗雨水冲刷,易渗入杂草体内等因素有关。

经对大豆生育状况调查,认为精盖草能对大豆安全。

参 考 文 献

(1) Douglas D. Buhler et al. 1984. Herbicidal activity of fluzifop-Butyl, haloxyfop-methyl, and sethoxydim in soil. *Weed science* 32:824~831.

(2) B. Clifford Gerwick, Lucinda A. et al. 1988. Preemergence and postemergence activities of the (R) and (S) enantiomers of haloxyfop. *Weed science* 36:453~456.

(3) 赵仁箴等:《田间试验方法》,农业出版社,1979.

(上接第 23 页)

indicating this method being more effective than others.

Based upon the results obtained, the author presumed that the early stage of prophase of meiosis be the optimal stage for mutation treatment. The injecting method, which was utilized first in this experiment, proved to be effective. It could compensate the mechanical injury caused by conventional dipping method, and increase mutagenic effect. In addition, it is easier to conduct. The author considered that the injecting method is a recommendable one.

Key words: Early, Mutagen effects, Meiosis prophase, Gene mutation, Chromosome aberration