

黄土高原25个苜蓿品种的 辐射敏感性

伊虎英 鱼红斌

摘 要

本实验选用了黄土高原上种植的25个苜蓿品种,用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线8万、9万、10万、11万和12万伦对于种子进行照射。实验结果证明:苜蓿对辐射反应的程度可划分为三种类型—敏感型、中间型和迟钝型。苜蓿的出苗率和幼苗高度随着照射量的增加而下降。苗高和出苗率之间呈指数函数关系。根尖细胞的微核率和染色体畸变率随着剂量的增加而增加。通过出苗率、苗高、微核率和染色体畸变率等指标综合鉴定,黄土高原上苜蓿的适宜剂量是4.8万—9.8万伦。

紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 在黄土高原上广泛种植,栽培的历史有两千多年。它的适应能力强,产草量高,营养丰富,适口性好,有“牧草之王”之称。随着该区农牧业生产的开展,对苜蓿的品种要求愈来愈高。目前推广的品种还存在许多问题。由于苜蓿含有可溶性蛋白质和皂素,反刍家畜放牧时易患肚膨胀。苜蓿的抗旱抗寒性较差。因而培育抗旱耐寒低皂素的苜蓿新品种是当务之急。近几年来,国外牧草辐射育种工作发展较快,育出了许多优良牧草新品种⁽¹⁾⁽²⁾。我国已用辐射诱变方法育出了早熟沙打旺⁽³⁾。苜蓿辐射育种开始引起人们的关注。在进行苜蓿的辐射育种工作中,首先要确定适宜诱变剂量。关于苜蓿的适宜诱变剂量,国内外报道极为悬殊。我国有人⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾主张是10-20万伦,国际原子能机构 (IAEA) Seibersdorf 实验室指出苜蓿的突变育种剂量范围是4万—6万拉德。因而对苜蓿的辐射诱变适宜剂量和辐射敏感性的研究就显得十分重要。我们对黄土高原上种植的25个苜蓿品种的出苗率、苗高和细胞遗传学等方面开展研究,为苜蓿辐射育种和研究植物的辐射敏感性提供资料。

材 料 和 方 法

实验采用草原一号紫花苜蓿等25个品种的干种子为材料,用本所 $^{60}\text{Co}\gamma$ 源进行照射,照射剂量分别为8万、9万、10万、11万和12万伦,剂量率是182.8伦/分。以未照射的种子作为对照。每个处理300粒种子,重复三次,每重复一行,顺序排列,春天播种于本所农场,播后40天查出苗率,50天在田间测定幼苗高度。

细胞学观察:将山西苜蓿、绥德苜蓿和东北苜蓿的干种子照射后,浸种4小时,摆在具有吸水纸的培养皿中,置于 $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 的恒温箱中,经过36小时,待根尖长到0.5 cm以上时、取根尖用卡诺尔液固定12小时,用1N HCl在 60°C 恒温下解离10分钟,进行

铁矾、苏木精染色,用压碎法制片,每个片子压5个根尖,进行细胞学观察,每个处理观察间期细胞5,000个,后末期细胞共观察500个。将田间和室内获得的数据进行统计分析。

结 果 和 讨 论

1. $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对苜蓿出苗率的影响。 M_1 出苗率是各种植物的重要指标,是确定辐射敏感性的依据。我们统计了25个苜蓿品种在不同照射量的作用下其出苗率和照射量之

表 1

 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对25个苜蓿品种 M_1 出苗率的影响

品 种	照 射 量 (万伦)						(万伦) LD ₅₀	回 归 系 数	相 关 系 数
	0	8	9	10	11	12			
内蒙草原2号苜蓿	100	26.3	10.5	9.2	3.6	8.4	5.5	-8.3504	-0.9776**
山 西 苜 蓿	100	28.8	19.5	12.8	14.3	5.7	5.9	-8.0311	-0.9898**
卒 粒 苜 蓿	100	40.1	25.2	9.3	9.3	14.0	6.2	-7.9093	-0.9797**
丹麦米拉苜蓿	100	31.6	34.7	30.6	11.4	0	6.4	-7.9214	-0.9849**
苏 联 苜 蓿	100	23.5	33.2	19.7	11.8	7.4	6.1	-7.7951	-0.9838**
抗 旱 苜 蓿	100	43.6	33.3	20.2	13.1	11.1	6.6	-7.6736	-0.9954**
新西兰521苜蓿	100	44.3	30.6	26.6	11.4	2.9	6.6	-7.9536	-0.9934**
黑龙江肇东苜蓿	100	46.8	42.9	38.9	6.2	3.9	7.0	-7.7643	-0.9603**
彭 阳 苜 蓿	100	45.1	47.0	25.0	14.9	6.8	7.0	-7.6146	-0.9802**
野 苜 蓿	100	60.0	40.0	0	42.0	0	7.0	-7.7143	-0.8783**
布 尔 津 苜 蓿	100	41.6	38.8	28.8	20.7	18.1	7.1	-6.9832	-0.9979**
绥 德 苜 蓿	100	49.2	44.6	33.9	8.5	5.3	7.1	-7.7293	-0.9690**
丹麦雷西斯苜蓿	100	57.1	41.3	21.1	17.6	10.5	7.2	-7.5454	-0.9729**
兰 花 苜 蓿	100	50.6	44.7	30.8	29.9	23.0	7.6	-6.4821	-0.9956**
蒿 蓿 苜 蓿	100	48.4	46.9	28.2	23.4	30.5	7.7	-6.3961	-0.9782**
忻 县 苜 蓿	100	40.0	34.3	44.8	35.9	21.6	7.7	-6.1521	-0.9657**
茹 远 苜 蓿	100	55.7	61.7	47.9	34.0	8.9	8.5	-6.5104	-0.9266**
新疆大叶苜蓿	100	70.7	42.3	38.1	31.5	16.3	8.3	-6.6582	-0.9477**
工农×黄花苜蓿	100	66.4	54.4	55.1	21.5	12.0	8.6	-6.7075	-0.9113**
杂 交 苜 蓿	100	64.8	42.3	31.0	18.7	17.6	8.6	-4.6232	-0.8852**
草原1号苜蓿	100	45.6	57.7	42.3	42.3	34.9	9.0	-5.3443	-0.9691**
丹 麦 苜 蓿	100	42.6	63.8	55.3	43.1	14.8	9.0	-5.8246	-0.8904**
新西兰树状苜蓿	100	82.5	75.0	50.0	50.0	0	9.8	-6.3661	-0.7855*
杂交2号苜蓿	100	54.3	63.9	76.6	31.9	51.1	11.3	-4.3775	-0.8076*
东 北 苜 蓿	100	81.9	91.1	56.9	37.5	55.6	13.0	-4.2986	-0.7684*

注:**表示 $p < 0.01$; *表示 $p < 0.05$; LD₅₀代表半致死剂量,

间的关系均列入表1。从表1看出：苜蓿的出苗率随着剂量的增加而下降，出苗率和剂量之间呈负相关，即剂量愈大，出苗率越低。当剂量是8万伦时，25个苜蓿品种的平均出苗率为51%，当剂量增加到12万伦时，出苗率仅为对照的19.3%。25个苜蓿品种平均的半致死剂量理论值是7.8万伦。用最小二乘法统计分析，每个品种的出苗率和剂量之间关系均符合 $Y = a + bx$ 方程式。这里 y 代表出苗率， x 代表照射量。通过 t 检验，出苗率和剂量之间的相关性显著 ($p < 0.01$ 或 $p > 0.05$)。

表1的资料表明，不同的苜蓿品种对射线的反应是极不相同的。我们根据 $Y = a + bx$ 方程，求出每个品种的半致死剂量理论值，对其敏感性进行分析。不同苜蓿品种的半致死剂量差别很大。内蒙草原2号对辐射最敏感，它的半致死剂量仅为5.5万伦。而东北苜蓿抗性最大，半致死剂量是13.0万伦，是内蒙草原2号的1.4倍。这些不同品种苜蓿的半致死剂量最大差值达3.7万伦。

表2 不同品种苜蓿对 γ 射线敏感性频率分布表

组 号	分 组 (万伦)	品 种	频 率	类 型
1	5.5—6.5	内蒙草原2号、山西苜蓿、卒粒苜蓿、丹麦米拉苜蓿	4	敏感型
2	6.6—7.6	苏联苜蓿、抗旱苜蓿、新西兰521苜蓿、黑龙江肇东苜蓿、彭阳苜蓿、野苜蓿、布尔津苜蓿、绥德苜蓿、丹麦雷西斯苜蓿、兰花苜蓿	10	中间型
3	7.7—8.7	蔺蓿苜蓿、忻县苜蓿、茹远苜蓿、新疆大叶苜蓿、工农×黄花苜蓿、杂交苜蓿	6	中间型
4	8.8—9.8	草原1号苜蓿、丹麦苜蓿、新西兰树状苜蓿	3	迟钝型
5	9.9—10.9		0	
6	11.0—12.0	杂交2号苜蓿	1	迟钝型
7	12.1—13.1	东北苜蓿	1	迟钝型

为了对苜蓿的辐射敏感性变化规律和类型划分的探讨，我们用半致死剂量制定频率分布表（见表2）。根据频率分布，把25个苜蓿品种分为三类（见表3），当半致死剂量为5.5—6.5万伦时，属于敏感型；半致死剂量为11.1—13.2万伦时，为迟钝型，半致死剂量为6.6—9.8万伦时，为中间型。属于中间型的数目最多，占总数的76.0%，敏感性占16.0%，迟钝型仅占8%。

表3 苜蓿三种辐射类型的半致死剂量表

类 型		敏 感 型	中 间 型	迟 钝 型
剂 量 (万伦)		4.9—6.5	6.6—9.8	9.9—13.1
品 种	数 量	4	19	2
	%	16.0	76.0	8.0

2. 照射量对苗高的影响。苗高对射线的反应是一个很敏感的指标,人们常以幼苗高度的变化来判断植物的辐射敏感性。从表 4 看出,25 个苜蓿品种的平均高度与照射量之间的关系十分密切。苗高随着照射量的增加而降低,两者之间呈负相关。经统计分析,相关性甚显著 ($P < 0.01$)。

表 4 25 个苜蓿品种幼苗高度平均值与剂量的关系

照射量 (万伦)	CK	8	9	10	11	12	回归系数	相关系数
苗高 (cm)	8.7	6.5	5.7	4.8	4.6	3.5		
苗高 %	100	74.1	65.5	55.6	52.8	40.7	4.6250	0.9669**

3. 幼苗高度和出苗率的相关性。苜蓿干种子经 γ 射线作用后,其出苗率和幼苗高度均受一定损伤,两者之间是否有相关性,这是生产实践中需要解决的问题。如果有相关性,

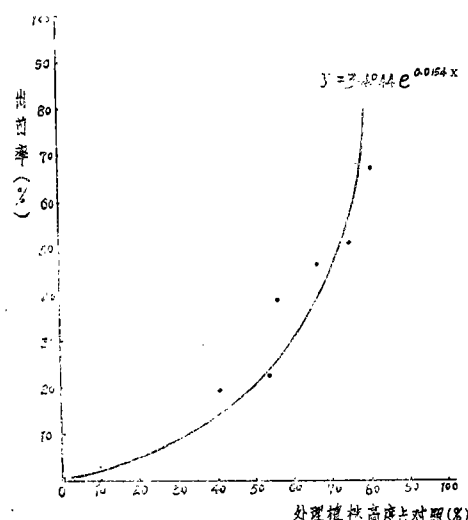


图 1 幼苗高度和出苗率之间的关系

人们就可用苗高预测存活率和出苗率,这样可以节约人力物力和缩短实验周期。从图 1 看出,在不同的照射量作用下 25 个苜蓿平均出苗率和幼苗高度之间呈指数函数关系,其方程为 $y = ae^{bx}$, y 代表出苗率, x 代表幼苗高度。经 t 检验, $P < 0.01$, 相关性非常显著。Gaul^[7]曾在高草、黑麦草和多花黑麦草的实验中指出幼苗高度和存活率之间有一定的相关性,并提出用苗高预测这些牧草的存活率。我们也在苜蓿的实验结果中进一步证明,用苗高可以预测出苗率,本实验的结果与 Gaul 等人^[7]的结论基本一致。

4. 对根尖细胞微核率的影响。我们曾研究了小麦干种子经 γ 射线作用后,在根尖细胞中产生了微核,微核率的高低与照射剂量有

关。本实验曾对山西苜蓿等三个品种的根尖细胞的微核率进行了研究。在 γ 射线作用下,三个品种的苜蓿根尖细胞均产生微核。有的细胞具有一个微核,有的具有二个或三个,个别的达到 5—6 个。有微核具有核仁。微核的核质与主核的核质相似。从表 5 中看出,当剂量从 8 万伦加到 12 万伦时,山西苜蓿的微核率从 9.7% 增加到 50.0%,绥德苜蓿从 9.8% 增加到 44.8%,东北苜蓿从 5.3% 增加到 19.7%。三个苜蓿品种比较,山西苜蓿的微核率最高,而东北苜蓿的微核率最低。从微核率进行分析,山西苜蓿最敏感,而东北苜蓿抗性最大。三个苜蓿品种的微核率与剂量的关系均呈线性正比关系,微核率随着剂量的增加而增加。经统计分析,相关性显著 ($P < 0.05$)。在农作物方面,小麦和蚕豆的微核

研究比较多, 国内外一些学者曾倡道微核法是测定染色体辐射损伤的快速和灵敏的方法。对苜蓿还未见过这方面的报导, 我们的实验结果说明, 可以用微核法测定苜蓿的辐射损伤效应。

表5 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对苜蓿根尖细胞微核率的影响

品 种	辐 照 量 (万伦)						回 归 系 数	相 关 系 数
	0	8	9	10	11	12		
山西紫花苜蓿	0.8	9.7	16.8	29.0	32.0	50.0	3.84104	0.8357**
绥德紫花苜蓿	0.9	9.8	19.8	35.9	40.4	44.8	3.5814	0.8687**
东北紫花苜蓿	1.0	5.3	7.2	15.0	16.6	19.7	1.4593	0.8584**

注: ** $P < 0.01$

5. 对根尖细胞染色体畸变率的影响。染色体畸变是检验辐射损伤既敏感又可靠的指标。染色体畸变与性状遗传变异直接有关, 它又是生物遗传的物质基础。因而染色体变异引起了人们极大的兴趣。苜蓿干种子经 γ 射线处理后, 根尖细胞有丝分裂后期和末期染色体畸变类型如下: (1) 染色体桥: 有单桥、双桥和多桥。(2) 落后染色体: 有单条和双条和多条染色体(染色体组)。(3) 桥加落后染色体。另外还有染色体断片, 断片有单断片, 双断片和多断片等类型。在统计时以前三种为主。从表6中看出, 三个苜蓿品种的根尖细胞染色体畸变率随着剂量的增加而增加, 经最小二乘法的统计, 公式为 $y = a + bx$ 。 y 是染色体畸变率, x 是剂量。经 t 检验, 相关性极显著($P < 0.01$)。当剂量每增加1万伦时, 山西苜蓿染色体畸变率增加5.0761%, 绥德苜蓿增加4.6021%, 东北苜蓿增加3.4375%。经统计分析三个苜蓿的回归系数(b)之间差异显著($P < 0.05$), 其辐射敏感性的次序: 山西苜蓿 > 绥德苜蓿 > 东北苜蓿。通过染色体变率的检验, 苜蓿的敏感性与出苗率的表现相一致。

表6 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对苜蓿根尖类细胞染色体畸变率的影响

品 种	辐 照 量 (万伦)						回 归 系 数	相 关 系 数
	0	8	9	10	11	12		
山西紫花苜蓿	1.0	42.0	49.8	48.1	58.0	62.2	5.0761	0.9950**
绥德紫花苜蓿	0.6	27.0	34.8	44.6	50.0	58.0	4.6021	0.9728**
东北紫花苜蓿	1.0	25.0	29.8	32.5	38.3	44.0	3.4375	0.9912**

注: ** $p < 0.01$

关于各种不同植物间的辐射敏感性的差异, 目前已积累了大量的材料。Преображенская⁽⁸⁾根据绝对致死照射量进行判断, 不同科的植物对辐射的抗性相差30倍, 同一

科的各种之间相差20倍,同一种不同品种之间相差2—3倍。我们依据出苗率的半致死剂量(LD_{50})判断苜蓿品种间的辐射敏感性相差1.4倍。植物辐射敏感性不同的原因,国内外曾进行了广泛的研究。普遍认为辐射敏感性与环境条件(如温度、湿度和氧等)、品种的遗传类型、生理特性和植物细胞的大小及DNA^[6]含量的多少等因素有关。

在辐射育种中,关于适宜剂量的选择,国内外一般采用临界剂量和半致死剂量^[10]。近年来多采用植株存活50%左右、不育率低于30%的照射剂量,也有人主张较高或较低的剂量。我们的实验资料证明,黄土高原上的苜蓿适宜剂量以4.8万—9.8万伦为宜,与一些国外学者的结论基本一致。

参 考 文 献

- [1] 伊虎英:国外牧草和豆科饲料作物辐射诱变综述,《水土保持通报》,1984年No3, P57—60.
- [2] FAO, IAEA: Manual on Mutation Breeding. 1977, P43—45.
- [3] 苏盛发等,沙打旺早熟品系区(中)试初报,《辽宁农业科学》,1983年, No4, P14—18.
- [4] 浙江农科院作物所:《农作物辐射育种》,上海人民出版社,1972, P17.
- [5] 杜若甫:《作物辐射遗传与育种》,科学出版社,1981, P32.
- [6] 许耀奎等:《作物诱变育种》,上海科学技术出版社,1985, P117.
- [7] Gaul, H., Mutation in der pflanzenzüchtung. 2. pfizücht. 1963, No50, P194—307.
- [8] Преображенская. Е. Н. М. Радио Рувствате лтво сть расте ние, Радиобиология, 1963, No3. P184—189.
- [9] Sparrow, A. H., et al. Some factors affecting the responses of plants to acute and chronic radiation exposures, Radiat. Botany. 1961, No1, 10—34.
- [10] Osborne, T. S. et al. The cooperative plant and seed irradiation program of the University of Tennessee. Intern. F. Appl. Radiation Isotopes. 1961, No10, 198—209.
- [11] 徐冠仁:辐射育种的进展,《中国农业科学》,1961, No12, P7—12.

The Radiative Sensitivity of 25 Alfalfa in the Loess Plateau

Yi Huiying

Yu Hongbin

ABSTRACT

Alfalfa (*Medicago Sativa*) 25 varieties planted in the loess plateau were chosen for this investigation. Their dry seeds were exposed with ^{60}Co γ ray at 8 to 12 kR. The experimental results indicated that the alfalfas has been divided into three types — sensitive, moderation and dull, according to extent of response of alfalfas on radiation. Seedling height and field germination decreased as the radiation exposure increased. Exponential function relationship was found between seedling height and yield germination. Frequency of micronuclei of root tip cells and chromosomal aberration increased as the radiation exposure increased.

The criteria used for determining useful dose range of alfalfa for mutation breeding were yield germination, seedling height, frequency of micronuclei and chromosomal aberration. The Alfalfa planted on loess plateau has a useful dose of 4.8 to 9.8 kR.