

# 激光与 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线复合处理对小麦细胞遗传学效应和诱发突变的影响

伊虎英 彭富荣 鱼红斌

## 摘 要

本实验利用氮分子激光、 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线和激光加 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线分别照射小麦干种子,对其苗高根长、根尖细胞分裂指数、染色体畸变和 $M_2$ 性状变异进行了测定。发现激光能促进幼苗和胚根的生长,射线能使幼苗和胚产生辐射损伤效应。激光与 $\gamma$ 射线复合,不但能修复 $\gamma$ 射线的损伤效应,而且能提高 $\gamma$ 射线的诱变效力。

激光对农作物的效应已有不少报导。我们曾发现氮分子激光能减轻 $\gamma$ 射线的损伤效应并能提高诱变效率<sup>[3]</sup>。其后,又发现激光与中子复合时,也提高了中子的诱变效力<sup>[4]</sup>。曾有人报导<sup>[5]</sup>用激光诱变育出了水稻恢复系。激光能使 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对无性繁殖器官造成的损伤有修复作用<sup>[6]</sup>。Maslov<sup>[7]</sup>研究了激光能使小麦和大麦的细胞染色体畸变率从对照的0.6—1.2%达到1.7—6.7%。Belonozhko<sup>[8]</sup>和Iysikov<sup>[9]</sup>用激光处理荞麦和玉米,获得了早熟、丰产和矮秆的突变体。本文着重研究激光、激光与 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线复合处理小麦干种子对染色体畸变的影响和 $M_2$ 变异的规律,为辐射育种和提高辐射引变效率提供参改资料。

## 材料和方法

试验的材料为小偃4号小麦干种子,种子经本所 $^{60}\text{Co}$ 源进行处理,剂量率为94伦/分钟,总剂量3万伦和4万伦。种子经 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线处理后部分留种,部分再用脉冲紫外激光器处理,氮分子激光的波长为3371 Å,脉冲宽度不大于10 ns,输出能量为0.1 mJ左右,处理时间为0.5、1、2和3分钟。激光束场照射在种子胚部,以未处理种子为对照。细胞学观察是将处理过的种子和对照种子浸种20小时左右,播种在具有吸水纸的培养皿内,经26小时取根尖用卡诺尔液固定,进行孚尔根(Feulgen)核反应染色,压片后统计细胞分裂指数,细胞畸变率和染色体畸变率。苗期试验是将浸湿的种子置于铺有吸水纸的培养皿中,在25°C的恒温间内,用日光灯光照培养7天,然后测定苗高和根长。田间试验: $M_1$ 每个处理用种子100粒,重复三次,播后三叶期进行出苗率统计,成熟收获时,对存活率、株高等进行观察。 $M_2$ 试验是将收获的 $M_1$ 种子,按不同处理分别进行播种,并设立对照,对其熟期、秆型(高矮秆),穗型等进行记载,并进行统计学分析<sup>[10]</sup>。

## 结果与讨论

### (一) $M_1$ 辐射效应

1. 激光、激光与 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对小麦幼苗高度的影响: 从表1看出氮分子激光4个不同时间的处理, 对其苗高发育影响不明显, 激光处理2和3分钟有微弱促进生长的作用, 氮分子激光与 $\gamma$ 射线3万伦和4万伦复合作用时, 均能促进幼苗损伤的恢复作用。

2. 对根长的影响: 幼苗根长对外界因素反应比较敏感, 激光处理0.5、1、2、3分钟都有较明显刺激生长的作用, 当用激光处理1—3分钟时, 比对照根长增长25%左右。激光不同处理时间在与3万伦复合处理时, 处理因素效应不太明显。其中激光处理2分钟, 能减轻 $\gamma$ 射线的损伤的效应较好。激光与 $\gamma$ 射线4万伦复合处理, 减轻 $\gamma$ 射线的损伤较明显。

3. 对细胞分裂指数的影响: 细胞分裂和植物体的生长速率有很大的关系, 因而本试验采用分裂指数为指标来衡量氮分子激光对植物的效应。从表2看出: 小麦干种子经0.5—3分钟的激光处理后能提高细胞分裂指数11—12%。小麦干种子经3万伦和4万伦处理后, 均能抑制细胞分裂, 降低分裂指数分别为5.6%和4.3%。3万伦和4万伦剂量处理后, 再用激光处理, 均能促进细胞分裂, 尤其经过2或3分钟激光处理, 使3万伦处理的根尖细胞分裂指数恢复到几乎与对照相等的水平, 对4万伦处理过的种子虽然也有促进恢复的作用, 但细胞的分裂指数仍然很低。

表1 氮分子激光与 $\gamma$ 射线复合处理对小麦苗高和根长的影响

处 理	苗 高		根 长	
	高 度 (mm)	(%)	长 度 (mm)	(%)
对照	108.2	100	91.1	100
激光 0.5分	97.0	89.6	101.5	111.4
激光 1分	103.4	95.6	114.7	125.9
激光 2分	111.5	104.0	114.4	125.6
激光 3分	112.5	104.0	113.2	124.3
3万伦	86.3	79.8	67.4	74.0
3万伦+激光0.5分	86.6	80.0	71.8	78.8
3万伦+激光1分	90.2	83.4	66.0	72.4
3万伦+激光2分	89.7	82.9	73.9	81.1
3万伦+激光3分	91.9	84.9	69.3	76.1
4万伦	62.7	57.9	44.0	48.3
4万伦+0.5分	59.6	55.0	49.3	54.1
4万伦+1分	70.7	65.3	46.6	51.2
4万伦+2分	69.8	64.3	47.6	52.3
4万伦+3分	67.3	62.2	52.8	58.0

表2 氮分子激光和 $\gamma$ 射线复合处理对小麦根尖细胞有丝分裂的影响

处 理 方 式		观 察 细 胞 总 数	分 裂 细 胞		与 对 照 相 比
$^{60}\text{Co}\gamma$ 射线	激 光		细 胞 数	%	
不 处 理	对 照	6000	454	7.6	100
	0.5分	5000	437	8.7	114.5
	1 分	5000	473	9.5	125.0
	2 分	5000	455	9.1	119.7
	3 分	5000	457	9.1	119.7
3 万 伦	对 照	5000	282	5.6	100
	0.5分	5000	361	7.2	128.7
	1 分	5000	335	6.7	119.6
	2 分	5000	379	7.6	135.7
	3 分	5000	357	7.1	126.8
4 万 伦	对 照	5000	213	4.3	100
	0.5分	5000	254	5.1	118.6
	1 分	5000	259	5.2	120.9
	2 分	5000	203	4.1	95.3
	3 分	5000	224	4.5	104.7

4. 对细胞微核率的影响: 射线可使染色体断裂, 遗留在细胞中的染色体断片可以形成微核<sup>[11-12]</sup>, 因而有核细胞微核率的出现也是衡量辐射诱变效力的指标。从表3可以看出: 氮分子激光处理小麦干种子0.5、1、2、和3分钟, 均能使细胞产生微核, 微核率的出现和激光处理的时间长短有一定的关系, 随着处理的时间延长, 微核率的出现也有所增加。当氮分子激光与3万伦 $\gamma$ 射线复合处理干种子时, 0.5分和1分钟处理提高微核率的效果不太明显, 而2分和3分钟处理后分别提高12.0%和12.4%。说明在 $\gamma$ 射线效应的基础上激光具有明显提高微核率出现的效应。当激光与4万伦 $\gamma$ 射线复合处理时, 提高微核率的效果不如与3万伦复合的效果明显。在4个不同的处理时间范围仅提高4.3—5.6%。

5. 对小麦根尖后末期细胞染色体畸变率的影响: 染色体对射线反应特别敏感, 它又是生物体遗传基因的载体, 因而这方面的研究引起人们普遍重视: 激光能引起染色体畸变的类型, 我们曾有过报导<sup>[3][4]</sup>。从表2中可以看出: 不同时间的激光处理, 对小麦根尖细胞染色体的畸变有比较明显的影响, 经0.5、1、2、3分钟分别处理, 染色体畸变率可比对照高4—20倍, 随着处理时间的延长, 染色体畸变率有增加的趋势。干种子经 $\gamma$ 射线3万伦剂量处理后, 再分别用不同时间激光处理, 均可提高染色体畸变率, 激光处理1—3分钟可提高染色体畸变率7.6—14.0%, 而在4万伦作用的基础上, 最高可提高染色体畸变率6.4%。从而可以看出: 激光与中剂量(3万伦对小麦的引变剂量而言)复合的效果要比高剂量(4万伦)效果好。

表 3 氮分子激光与 $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 射线复合对小麦根尖细胞微核率的影响

处 理 方 式		观 察 细 胞 数	微 核 细 胞 率		与 对 照 比
$^{60}\text{Co}$ $\gamma$ 射线	激 光		数 目	%	
不 处 理	对 照	5000	6	0.12	100
	0.5分	5000	43	0.86	716.7
	1分	5000	73	1.46	1216.7
	2分	5000	94	1.9	1583.3
	3分	5000	99	1.98	1650
3 万 伦	对 照	5000	3382	56.3	100
	0.5分	5000	3836	56.7	100.7
	1分	5000	3083	61.7	109.6
	2分	5000	3418	68.3	121.3
	3分	5000	3433	68.7	122.0
4 万 伦	对 照	5000	3329	66.6	100
	0.5分	5000	3578	71.2	106.9
	1分	5000	2544	70.9	106.5
	2分	5000	3584	71.7	107.7
	3分	5000	3609	72.2	108.4

## (二) 激光与 $^{60}\text{Co}$ $\gamma$ 射线复合处理对 $M_2$ 性状变异的影响

应用辐射的方法可以诱发出多种多样的突变体,能遗传的变异大多是在 $M_2$ 中表现出来。从表 5 看出:氮分子激光能引起 $M_2$ 产生多种变异类型。秆型变化:小偃 4 号株高 87.3cm,通过激光、 $\gamma$ 射线加激光处理可以出现约 4.5cm 矮秆植株(见照片 1—4)。熟性变化:仅在氮分子激光的处理后代中出现 4 株均比对照早抽穗 10 多天,其它与 $\gamma$ 射线复合处理的都没有,激光能诱发早熟突变,这点应引起我们的注意。穗形突变:小偃 4 号的穗型为纺锤形有芒。在激光和 $\gamma$ 射线及复合处理的后代中,出现了很多穗型变异(见图片 6—10)。如棒状穗,长方形穗等类型。我们曾对表中例举 5 种处理类型的突变率进行了统计分析,3 万、4 万伦和激光 3 分钟处理与对照相比,均能提高诱变率,经 t 检验 ( $P < 0.001$ ) 差异非常显著,激光分别与 3 万伦、4 万伦复合处理均能提高 $\gamma$ 射线的诱变效率 69.7 和 57.1%,经 t 检验 ( $P < 0.01$ ) 差异极为显著。特别使人感兴趣的是:激光与 3 万伦复合照射,所引起的性状变异率要超出二者各自独立引起的畸变率的总和。

从上述结果看出:通过苗期实验和细胞分裂的观察,氮分子激光均能刺激小麦生长,并能修复 $\gamma$ 射线的损伤效应,它与 $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 射线复合能显著提高小麦的突变频率。

激光育种是一门新兴的育种技术,有很多理论问题需进一步探讨。从表 4 看出, $\gamma$ 射线 3 万、4 万伦引起的染色体畸变比激光引起染色体畸变分别高 8.4 和 12.3 倍,而 3 万

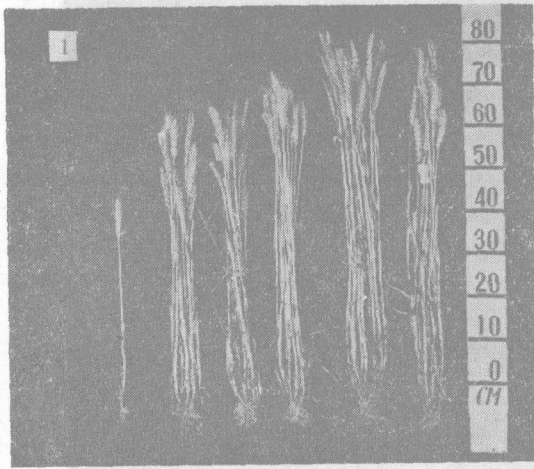


图1 激光3分钟处理籽型突变(右1为对照)

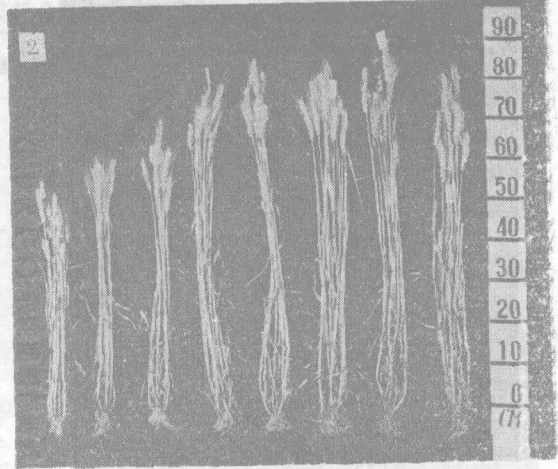


图2 3万伦处理后籽型突变(右1为对照)

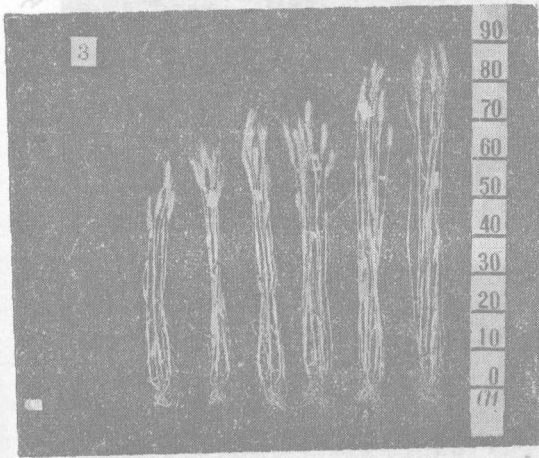


图3 激光与3万伦复合籽型突变(右1为对照)

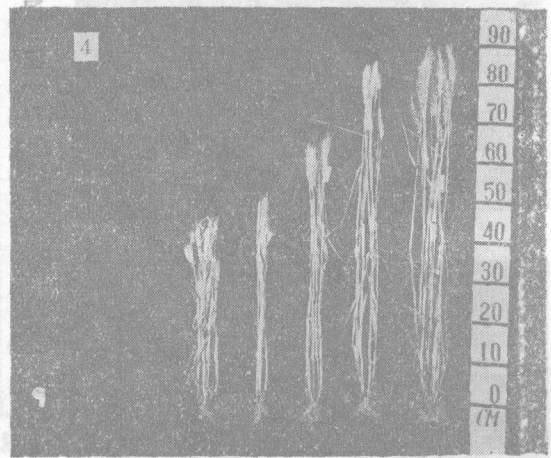


图4 4万伦处理后籽型突变(右1为对照)

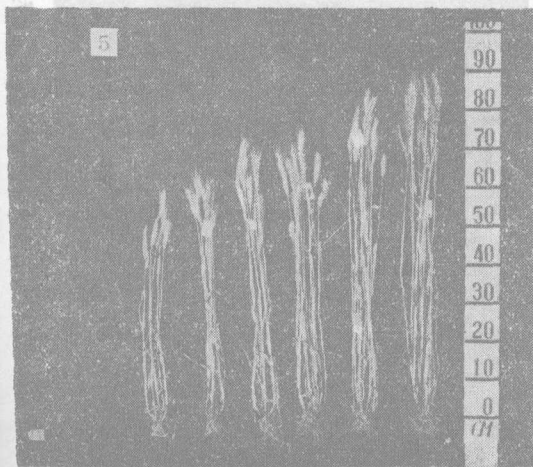


图5 激光3分钟与万伦复合处理出现的籽型突变(右1为对照)



图6 激光3分钟处理穗型变异(右1为对照)

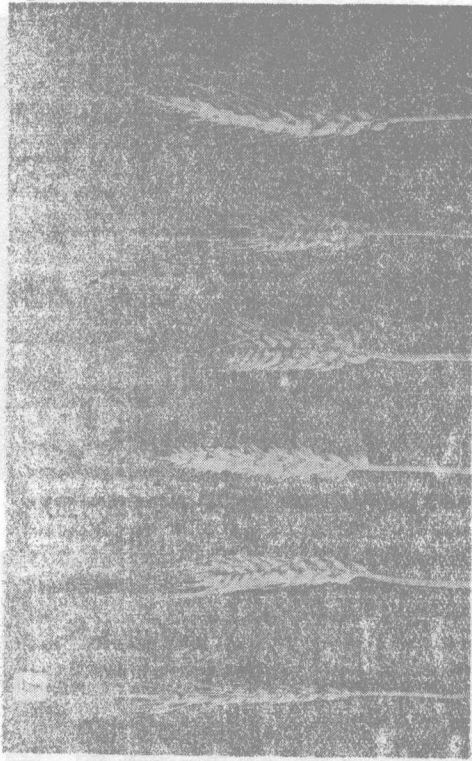


图7 4万伦处理后穗型变异(右1为对照)

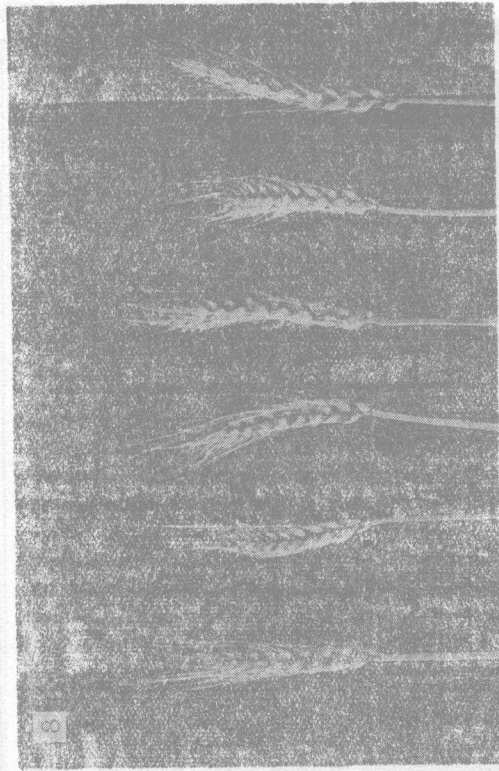


图8 激光3分钟+3万伦处理后穗型变异(右1为对照)

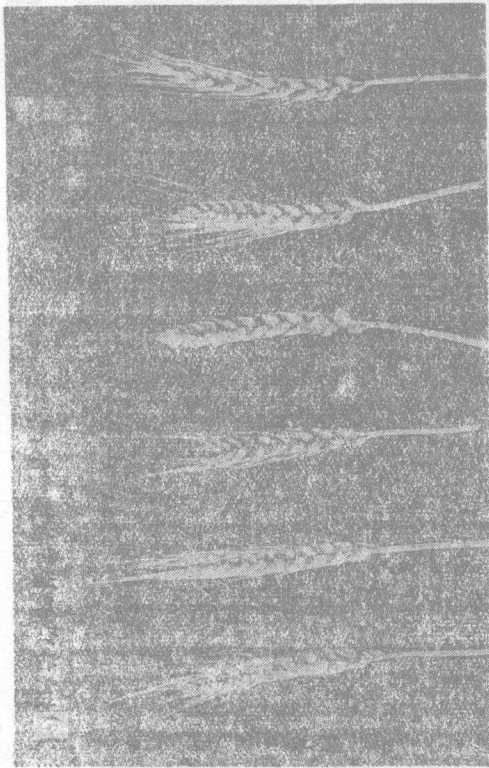


图9 4万伦+激光3分处理后穗型变化(右1为对照)

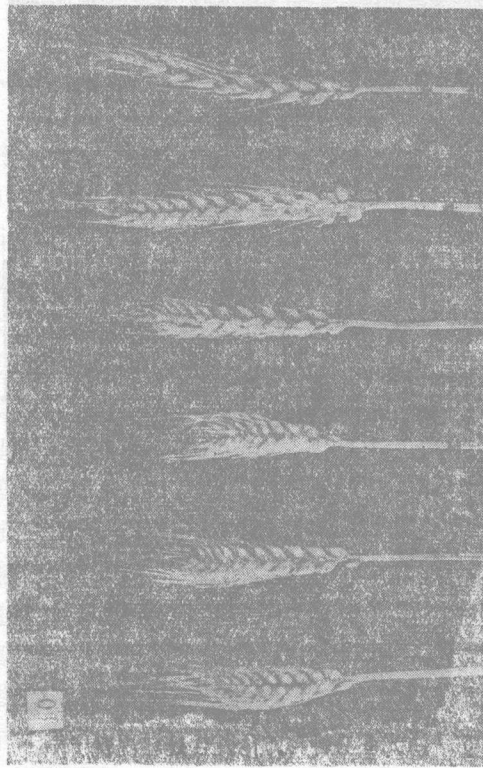


图10 3万伦处理后穗型变化(右1为对照)

表 4 氮分子激光与<sup>60</sup>Co γ射线复合处理对染色体畸变的影响

处 理 方 正		观 察 细 胞 总 数	后 末 期 细 胞 染 色 体 畸 变 类 型						与 对 照 相 比
<sup>60</sup> Co γ 射 线	激 光		断片 + 桥	单桥	双桥	多桥	畸 变 率		
							总 数	%	
不 处 理	对 照	500	0	1	0	0	1	0.2	100
	0.5分	500	1	1	1	1	4	0.8	400
	1分	500	0	4	3	0	7	1.4	700
	2分	500	1	5	6	8	20	4.0	2000
	3分	500	2	4	3	3	12	2.4	1200
8 万 伦	对 照	500	138	12	8	10	168	33.6	100
	0.5分	500	143	6	2	19	170	34.0	101.2
	1分	500	147	14	10	35	206	41.2	122.6
	2分	500	201	11	10	26	238	47.6	141.7
	3分	500	181	8	7	15	211	42.2	125.6
4 万 伦	对 照	500	190	19	9	27	245	49.0	100
	0.5分	500	207	6	9	23	245	49.0	100
	1分	500	220	5	17	35	277	55.4	113.1
	2分	500	213	11	5	29	258	51.6	105.3
	3分	500	209	17	9	27	262	52.4	106.9

表 5 氮分子激光和<sup>60</sup>Co γ射线复合处理对小麦 M<sub>2</sub>性状突变的影响

处 理 方 式		调 查 株 数	性 状 变 异 类 型										突 变 率		
			秆 型		穗 形				芒		早 熟	白 化 穗	株 数	突 变 %	与 对 照 相 比
<sup>60</sup> Coγ 射 线	激 光		高 秆	矮 秆	密 穗	棒 状 穗	长 方 形 穗	斯 卑 尔 托 穗	无	顶					
	对 照	2413	8	4	1	4	0	0	2	0	0	0	14	0.58	100
	8 分 钟	1789	1	27	0	5	7	0	0	0	4	0	44	2.46	424.1
8 万 伦		1971	6	52	5	14	9	1	1	0	0	0	89	4.52	779.3
4 万 伦		2146	6	69	4	22	4	0	2	0	0	11	118	5.50	948.3
8 万 伦	8 分 钟	1629	1	96	1	12	10	8	2	0	0	0	125	7.67	1322.4
4 万 伦	8 分 钟	868	0	56	0	11	7	1	0	0	0	0	75	8.64	1489.7



和4万伦引起的 $M_2$ 性状变异比激光引起的性状变异分别只高1.8和2.2倍(见表5),这说明虽然激光对染色体畸变的效应比较低,但引起基因突变的效率比较高。此外, $\gamma$ 射线高剂量照射农作物大大加重了有机体的损伤效应,而激光不仅没有表现出损伤效应还有刺激生长的效应,这是它突出的优点之一。激光作为一种新的育种手段,前途是广阔的。

### 参 考 文 献

- [1] Manakov, M. E. Stimulating Effect of Impulse Concentrated Sunlight and Laser on Yield and Seed Yield in Cucumber. *Plant Breeding Abstracts*, Vol48, No8, 1978, P668.
- [2] Wolbarsht, M. L. Laser Applications in Medicine and Biology. Plenum press, 1971, P75-79.
- [3] 西北水土保持研究所同位素组: 激光与 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线复合处理小麦干种子对根尖细胞的影响。《激光》, 3卷, 1976年, No.4, P 8-11.
- [4] 伊虎英、彭富荣: 激光与中子结合使用对小麦根尖细胞遗传学效应的影响, 《细胞生物学杂志》1984年 No.1, P21-22.
- [5] 武汉师范学院激光育种教研组: 采用激光选出新的恢复系—激光四号, 《激光》1980年, 7卷No9, P59.
- [6] 黄柳根等: 激光对 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线造成的生物损伤的“修复效应”的研究, 《激光》, 7卷, 1980年, No.9, P59-60.
- [7] Maslov, A. B., Study of the After-effects of Treating Wheat and Barley with Laser Beams. *Plant Breeding Abstracts*, Vol48, 1978, No.4, P267.
- [8] Belomzhko V. Ya. Use of Laser Radiation to Produce Breeding Material of Buckwheat. *Plant Breeding Abstracts* Vol55, 1985, No.1, P39.
- [9] Iysikov, V. N., Use of Some Physical Factors to Induce Mutant Lines in Corn, *Plant Breeding Abstracts* Vol48, 1978, No.12, P942.
- [10] 杨纪柯等译: 应用于农业和生物学实验的数理统计方法, 科学出版社, 1964年, P136-212.
- [11] Bag Z. M. et al. Fundamentals of Radiobiology. Pergamon Press, 1961, P183-184.
- [12] 伊虎英: 应用微核法测定小麦根尖细胞染色体辐射效应的研究, 《遗传》1981年, No.3, P 30-32.

## Effect of Laser and Gamma Radiation on Cytogenetics and Modificinal Mutation of the Wheat

Yi Huaying Peng Furong Yu Hongbin

### Abstract

In the present experiments, dry wheat seeds were exposed to  $N_2$  laser  $^{60}\text{Co}\gamma$  rays and  $N_2$  laser +  $^{60}\text{Co}\gamma$  rays. Seedling height, root length, index of cells division of root tip, chromosomal aberrations and form of variability in  $M_2$  generation have been determined in this experiment. Laser radiations stimulated growth of the root and the seedling, but damage effect of seedling and root was produced by  $\gamma$ -rays. Chromosomal aberrations and form of variability in  $M_2$  generation were caused by both laser and gamma radiations. The results indicated that the yields of mutagenic by laser post-treatment were markedly higher than the treatment with  $\gamma$ -rays alone, but laser is efficient to repair the damage induced by gamma radiations too.