

文章编号: 1007-4627(2001)03-0174-03

重离子束定点诱变育种初探^{*}

颜红梅¹, 王浩瀚², 王菊芳¹, 卫增泉¹, 刘 秦², 李文建¹

周光明¹, 李 强¹, 郝冀方¹

(1 中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000;

2 甘肃张掖地区农业科学研究所, 甘肃 张掖 734000)

摘 要:介绍了在兰州重离子加速器上采用75 MeV/u ¹⁶O⁴⁺离子进行了贯穿与定点注入的实验, 以及不同注入部位的种子在实验室萌发的根尖细胞染色体的微核率和畸变率与大田培育结果随剂量的变化情况。经过3年5代(南繁加代)的系统选育, 筛选出增产、矮秆、抗(锈)病、抗干热风 and 早熟等9个稳定突变系。

关键词:重离子; 离子注入; 离子贯穿; 定点诱变; 小麦

中图分类号: Q691 **文献标识码:** A

1 引言

重离子与 γ 射线和中子相比, 在诱变生物学方面有下列独特的优势: (1)重离子与生物体相互作用时, 传能线密度(LET)大, 较之其它物理诱变方法, 其生理生化作用强, 它作用到生物分子、细胞所造成的损伤通常不易修复, 突变体稳定较快, 而且具有较高的突变率; (2)在注入离子能量沉积过程中, 在其射程末端存在一个尖锐的能量损失峰, 即 Bragg 峰, 它的值高于前段坪区能损值几倍至十几倍, 因而, 可以选择辐照位置; (3)在注入情况下, 重离子除能量转移和电荷交换外, 还有质量沉积, 因此, 从20世纪80年代中期就开始出现了荷能重离子诱变的尝试^[1-4]。

采用不同能量和剂量的重离子并利用其离子束上述独特优势, 可对小麦作物种子的不同深度、不同部位进行定点注入处理, 这是探索解决诱变育种没有方向性的一种新技术, 同时也研究了其大田农艺性状变异与注入部位的关系, 找出它们的相关性, 试图逐步实现定向诱变育种, 由此探索出辐射育种的一条新途径。

2 材料和方法

2.1 试验材料

选用了甘肃省农科院和甘肃张掖地区农科所提供的89-78, 88-12, 定西24, 81529, 82-579, M₁, M_{434.2-1}, 14615, 86336和82166等10个品系的优良春小麦干种子作为试样。

2.2 辐照及剂量

实验是利用兰州重离子加速器提供的中、低能离子束, 在大气环境中, 于室温下辐照小麦样品, 照射剂量率为3 Gy/min, 对不需要辐照的部位采用了特殊的手段予以屏蔽。现以75 MeV/u ¹⁶O⁸⁺离子为例, 辐照的能量(降能后)、部位等条件为: 注入胚根、胚芽的能量14.7 MeV/u, 注入深度500 μ m; 注入胚乳的能量为36 MeV/u, 从种子顶部注入, 深度为2.4 mm; 剂量均选为 1×10^7 , 5×10^7 和 1×10^8 ions/cm²。贯穿能量75 MeV/u, 在小麦中射程可达8.4 mm, 已超过麦粒长度。辐照剂量选为 $1 \cdot 10^7$, 5×10^7 和 1×10^8 , $2 \cdot 10^8$ 及 5×10^8 ions/cm²。

辐照装置附近的本底辐射是用 γ 电离室^[5]和中子活化法^[6]测量的, γ 射线约为0.42 mGy/min, 中

收稿日期: 2001-03-28; 修改日期: 2001-06-12

* 基金项目: 甘肃省自然科学基金资助项目(SJ970607); 中国科学院“九五”重点项目(KJ952-S1-424); 中国科学院“西部之光”资助项目(XB980604)

作者简介: 颜红梅(1952—), 女(汉族), 甘肃甘谷人, 从事核物理与生物学交叉科学研究。

子约为 $2.05 \times 10^4 \text{ n}/(\text{cm}^2 \cdot \text{min})$ 。

2.3 室内萌发及细胞学观测

取各组处理种子25粒,放于培养皿中萌发到胚根长至1—2 cm时,截取主根根尖,用卡诺氏固定液固定24 h,转入70%乙醇中保存。

实验时,一次压片根尖2—3条,在60℃ 1M热HCl中水解15 min,席夫试剂染色30 min,然后用常规压片法制成临时压片,各组10个根尖,在显微镜下统计根尖细胞中的微核率及畸变率。

3 结果和讨论

3.1 相同剂量下注入与贯穿萌发表现的差别

对相同剂量辐照的小麦,注入的当代出苗率低于贯穿情况,注入比贯穿抑制更为明显,主要表现

为幼苗发育畸形、迟缓、植株生长势减弱、分蘖少、叶片小和穗部扭曲等。在实验室萌发中观察其生长情况有类似的现象:注根的根短,形状像蜘蛛,注芽在很小剂量的情况下就有一半致死。这表明注根、注芽严重损伤了胚细胞,使苗期受到抑制,而注乳不太明显,因为胚乳是萌发期间提供营养的部分,在苗期由于胚未受损伤而抑制不明显。总的说来,由定点诱变得到的当代生理损伤程度依次为:胚芽>胚根>胚乳>贯穿。

3.2 微核率及畸变率随剂量的变化

细胞学实验主要对当代萌发种子的根尖细胞进行染色体观测,统计其微核率与总畸变率,结果见表1。从镜检结果来看,染色体的微核率与畸变率都与辐射剂量有关,剂量增大,微核率与畸变率增高,基本呈现正相关性。

表1 $^{16}\text{O}^{8+}$ 离子对种子不同处理后当代根尖细胞中染色体的变化

辐照方式	辐照剂量 (ions/cm ²)	镜检细胞数	微核细胞数	畸变细胞数	微核率(%)	畸变率(%)
对照	0	10 000	24	24	0.2	0.3
注根	1×10^7	10 000	875	911	8.8	9.1
	5×10^7	10 000	1 193	1 209	11.9	12.1
	1×10^8	10 000	1 041	1 101	10.4	11.0
注芽	1×10^7	10 000	605	626	6.05	6.26
	5×10^7	10 000	682	729	6.82	7.29
	1×10^8	10 000	922	946	9.22	9.46
注乳	1×10^7	10 000	350	372	3.50	3.70
	5×10^7	10 000	690	715	6.90	7.20
	1×10^8	10 000	826	869	8.30	8.70
贯穿	1×10^7	10 000	106	116	1.10	1.20
	5×10^7	10 000	243	280	2.40	2.80
	1×10^8	10 000	648	686	6.50	6.90
	2×10^8	10 000	1 897	1 973	19.0	19.7
	5×10^8	10 000	2 152	2 172	21.5	21.7

在相同剂量范围内(1×10^7 — 1×10^8 ions/cm²),注根畸变率的变化为9.1%—12.1%,注芽畸变率的变化为6.3%—9.5%,注乳畸变率的变化为3.7%—8.7%,贯穿畸变率的变化为1.2%—6.9%,这些均比对照(0.3%)高得多。微核率的结果有同样的趋势。

3.3 育出新品系及突变体

经过3年5代的田间系统选育,共筛选出籽粒由红变白、由白变红,矮秆,早熟大于晚熟,小穗排列紧密,芒的有无和千粒重高于亲本的新突变系59份,

突变体85份,可供进一步试验和育种应用。其中97852-15-1, 97832-15-3, 962-15-7等9个优良稳定新品系在品系鉴定试验中,不仅折合亩产最高可达476.2 kg,较对照(张春14号,甘肃张掖地区广种品种)增产36.4%,而且抗病、抗倒伏、抗旱、抗干热风。由这种定点离子注入诱变试验初步得到的倾向性结果是:(1)注芽趋向于穗粒数增多、千粒重增加;(2)注根的倾向性结果暂时还不明显;(3)注乳趋向于矮秆(最多可降低20 cm)、穗部性状突变频率高(包括棍棒形、圆锥形、椭圆形、长方形的转型和芒(顶,无)的变异等)(见图1)。

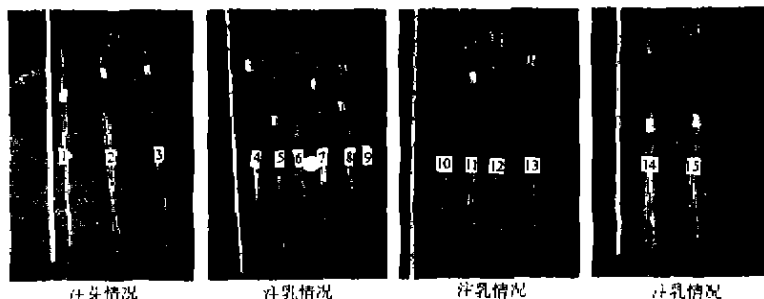


图1 离子注入不同部位的种子选育后得到的结果(1, 4, 10, 14为对照; 其余为矮秆、增产、抗干热风等稳定突变系)

参 考 文 献:

[1] 余增亮, 程备久, 卫增泉, 等. 全国第一次离子注入生物效应研究学术讨论会[J]. 安徽农学院学报, 1991, 18(4): 251-332.

[2] 卫增泉, 颜红梅, 韩光武, 等. 110 keV $^{56}\text{Fe}^{1+}$ 离子注入麦胚中的能量沉积分布[J]. 核技术, 1995, 18(2): 81-84.

[3] 颜红梅, 卫增泉, 李文建, 等. 中能离子束注入与贯穿辐射对小麦种子萌发生长的影响[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 1996, 14 (1): 50-54.

[4] 余增亮, 卫增泉, 杨剑波, 等. 全国第二次离子注入生物效应研究学术讨论会[J]. 安徽农学院学报, 1994, 21(3): 221-378.

[5] Wei Zengquan, Liu Yuyan, Wang Guiling, et al. Biological Effects of Carbon Ions with Medium Energy on Plant Seeds [J]. Radiat Res, 1995, 141: 342-344.

[6] 党秉荣, 卫增泉, 王 径, 等. 75 MeV/u ^{16}O 离子在辐照生物实验区产生的中子角分布[J]. 核技术, 1998, 21(9): 525-527.

Preliminary Research into Site-chosen Mutation with Heavy Ion Beams for Crop Breeding*

XIE Hong-mei¹, WANG Hao-han², WANG Ju-fang¹, WEI Zeng-quan¹, LIU Qin²

LI Wen-jian¹, ZHOU Guang-ming¹, LI Qiang¹, HAO Ji-fang¹

(1 Institute of Modern Physics, the Chinese Academy of Sciences,

Lanzhou 730000, China;

2 Zhangye Institute of Agricultural Science, Zhangye 734000, China)

Abstract: Penetration and site-chosen implantation of spring wheat seeds at HIRFL with 75 MeV/u $^{16}\text{O}^{5+}$ ions were carried out. The seeds, of which the different sites were implanted by the ions were germinated in room. The frequency of micronuclei and chromosome aberration in their root tip cells was observed. The results of their cultivation in the field were different. Through selection of three year-five generations (adding a generation in southern-China each year), nine stable new strains with high-output, short-straw, disease-resistant, hot dry wind-resistant and early-maturing such as 97852-15-1, 97832-15-3 and 965-15-7 have been obtained and took part in the appraisal test in 1999. Some of them were placed on the regional test in Gansu province in 2001 and there will be hopeful of providing application to production and breeding with them.

Key words: heavy ion; ion implantation; ion penetration; site-chosen mutation induction; wheat

* Foundation Item: The Natural Science Foundation of Gansu Province(SJ370607); Major Subject of the Chinese Academy of Sciences (KJ953-S1-424); Foundation of "Xibuzhiguang" of the Chinese Academy of Sciences(XB980604)