

离子束辐照对玉米诱变效应的初步研究

余丽霞¹ 李文建¹ 陈学君² 陈婧² 顾红梅¹

¹ (中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

² (甘肃金象农业发展股份有限公司 张掖 734000)

摘要 利用兰州重离子加速器提供的¹²C⁶⁺和³⁶Ar¹⁸⁺离子束对玉米自交系郑58、鲁9801、金象4C-1、CSR24001、308和478进行辐照诱变育种试验,探讨了重离子辐照对玉米的诱变效应。结果显示,重离子辐照后种子出苗率和成苗率根据材料不同表现不一,浸泡后种子对辐照敏感性增加。辐照后M₁代叶型变异较大;M₂代植株经济性状发生变异较多,产生了许多有益的突变性状;M₃代部分突变性状能够稳定遗传。由此可见,重离子束辐照育种有利于品种改良和种质创新,是玉米遗传改良的一种有效手段。

关键词 重离子辐照,玉米自交系,诱变效应

中图分类号 Q691

玉米是全球性作物,在我国农作物生产中占据重要的位置,但是其种质资源的日益狭窄已成为玉米育种生产的一大限制因素。物理诱变在玉米的诱变育种中发挥过重要作用,但是传统的物理诱变主要采用X射线、 γ 射线和中子为主,存在诱变方向及频率难以掌握等问题,从而限制了其在作物诱变中的应用。20多年来,随着加速器技术的不断进步,重离子辐射生物学的研究也得到了长足的发展。重离子已经作为一种新的诱变源在水稻、小麦、棉花及微生物等生物体上进行了研究和应用,并获得了一些较为成功的事例^[1]。本研究利用兰州重离子加速器提供的不同剂量的¹²C⁶⁺和³⁶Ar¹⁸⁺离子束对玉米自交系种子进行辐照,试图探讨重离子辐照对玉米的诱变效应,以期创造玉米新种质及选育优良品种提供一定的理论基础。

1 试验材料和方法

1.1 试验材料

本试验所选用的材料为郑58、金象4C-1、CSR24001、鲁9801、308和478等6个玉米自交系,为生产上推广的优良玉米杂交种的亲本,由甘肃金象农业发展股份有限公司提供。

1.2 试验方法

1.2.1 辐照处理

中国科学院兰州分院和张掖市政府院地合作项目(0806320SZD)资助

第一作者:余丽霞,女,1979年11月出生,2005年于华中农业大学获作物遗传育种专业硕士学位,现就职于中国科学院近代物理研究所,助理研究员,主要从事植物辐射育种及分子机理研究

收稿日期:初稿2009-11-17,修回2010-04-04

代物理研究所HIRFL终端进行,其中郑58、金象4C-1、CSR24001和鲁9801用80.55 MeV/u的¹²C⁶⁺处理,选取5个梯度剂量点照射:10、15、20、25和30 Gy;308和478用100.00 MeV/u的¹²C⁶⁺照射处理,辐照剂量分别为:10、20、30、40和50 Gy;另外部分郑58种子先用水浸泡12 h,然后采用82.55 MeV/u的³⁶Ar¹⁸⁺离子进行照射处理,辐照剂量为10、20和30 Gy。剂量点的选取以往年采用剂量照射后引起的生物效应为参考。所有材料均以未辐照种子作为对照。照射前选择无破损、无皱缩的正常种子为材料,每处理约30粒种子,每个处理4个重复。照射时将装玉米的小盘放置在HIRFL终端电离室下方15 cm处,正常大气下辐照,所有种胚朝上,确保离子束对种子胚部进行照射(因为几个品种不是同次照射,所以每次提供的束流不同导致照射能量不同)。

1.2.2 田间管理与观察 本试验辐照后种子在张掖市金象科技示范园内种植,每年4月中旬播种,宽窄行种植(宽行0.8 m,窄行0.4 m),株距0.22 m,行长5.4 m,每行播种25—30粒,人工开穴,单粒点播,单行区种植,田间正常管理。以60%材料出苗时计算出苗率,玉米长至第五叶时计算成苗率,观察叶片变异情况,生长期观察各材料物候期、株型和抗病性,抽雄后统计穗上叶,收获后室内考种。

从M₁代收获种子中选出郑58、金象4C-1、

CSR24001, 鲁 9801 不同吸收剂量的材料共 69 份, 于当年冬季在海南进行加代, 等行距种植, 行长 5.4m, 行宽 0.6 m, 株距 0.22 m, 每行种植 25—30 株, 大田正常管理, 各材料一次重复, 单粒点播, 单行种植, 以未辐照种子作为对照, 观察叶片、株型、株高穗位、穗行数、千粒重、粒型和抗病性等。

2007 年 3 月从海南种植收获的 M_2 代材料中选出发生明显突变的材料, 在张掖市金象科技示范园内进行 M_3 代种植, 不同家系材料分别以未处理自交系作为对照, 田间照样正常管理, 重点观察叶片、株型、株高、穗位、穗行数、千粒重、粒型和抗病性等田间表现性状。

2 结果与分析

2.1 离子束辐照对玉米 M_1 代的诱变效应

2.1.1 离子辐照对 M_1 代出苗率的影响 见图 1 和图 2 所示, 离子束辐照后 M_1 代的出苗率根据材料不同表现也不尽相同, 有些材料随着辐照吸收剂量的增加, 出苗率出现先增高后降低的趋势, 如 478 和鲁 9801; 有些材料的出苗率则随着辐照吸收剂量的增加而逐渐降低, 如 CSR24001; 有的材料随着辐照剂量的增加出苗率先降低后增加然后再降低, 如郑 58 和 308; 金象 4C-1 则是出苗率先随着辐照剂量的增加缓慢下降, 到 20 Gy 后急剧下降, 25Gy 后又逐渐升高。因此, 材料本身对于辐照后的出苗情况有着很大影响。

另外, 辐照后郑 58 浸泡种子出苗率在 25%—60%, 比干种子低约 20%—35%, 说明浸泡后种子对重离子辐射敏感性增加, 这可能是由于浸泡后种子含水量增加, 离子束辐照引起水的辐解反应, 产生的大量自由基也作用于种子, 从而使种子敏感性增加。相同剂量下辐照不同品种其出苗率差别较大, 如在 10 Gy 的辐照剂量下, 种子的出苗率变化范围在 45%—91%之间, 其中浸泡后郑 58 出苗率最差仅有 45%, 而 308 干种子出苗率最高为 91%。不同自交系对于重离子的辐照敏感性也不同, 如郑 58 干种子辐照后的半致死剂量为 30 Gy (浸泡种子为 10 Gy), 鲁 9801 为 25 Gy, 金象 4C 为 20—25 Gy, CSR24001 为 15—20 Gy, 由此可见 CSR24001 和浸泡后种子对重离子辐照最为敏感, 玉米干种子对于重离子辐照的半致死剂量一般在 20—30 Gy 之间。辐照后样品田间成苗率与出苗率基本保持一致, 随辐照剂量和样品的不同表现也不同。但随着繁殖代数的增加, 种子活力有一定的恢复, 其出苗率和田

间成苗率与对照相比相差不大。

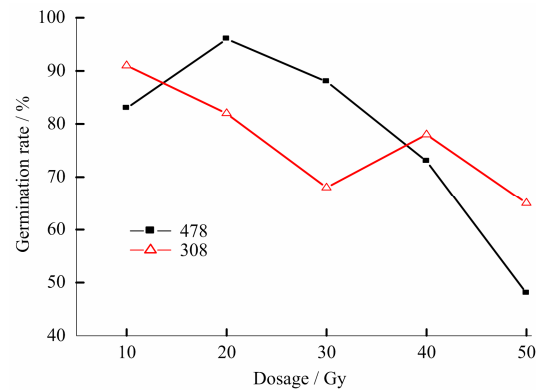


Fig.1 Germination rates of 478 and 308 with different absorbed doses

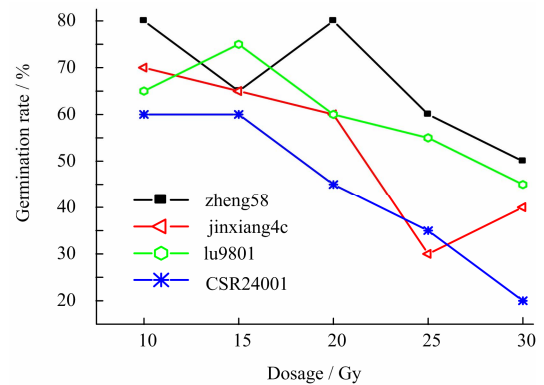


Fig.2 Germination rates of maize inbred lines with different absorbed doses

2.1.2 离子束辐照对 M_1 代植株形态的影响 离子束辐照对于 M_1 代植株形态有着一定的影响。首先, 离子束辐照后 M_1 代叶型发生了很大的变化 (如图 3), 部分叶片严重卷曲、皱缩、变脆, 叶片产生黄色条斑, 叶片变宽或变窄, 出现疣斑、早衰干枯等现象。不同材料叶片发生突变的表现也不同, 但是随着辐照剂量的增加, 叶片畸变情况都变得更为严重, 因此大剂量的照射对于植株的伤害更为严重一些。

其次, 辐照对株高和穗位高度也有一定的影响。除郑 58 浸泡种子和 308 株高和穗位高随着辐照剂量的增加略有增高外, 其余几个自交系株高和穗位高都是随着辐照剂量的增加而有所降低。最后, 在重离子辐照的 M_1 代中, 部分材料穗部性状变化比较明显, 郑 58 经 20 Gy 辐照后出现畸形穗, 浸泡后种子经 10 Gy 辐照生成同位双穗, 有两株雄穗花药颜色由紫色变为黄绿色。



Fig.3 Mutation induced by heavy ion irradiation: a, control; b, leaf curl up; c, yellow strip on leaf; d, two-spike in apposition; e, f, malformed spikes

2.2 离子束辐照对玉米 M_2 、 M_3 代的诱变效应

2.2.1 离子束辐照对 M_2 和 M_3 代植株形态的影响
在 M_2 代材料中, 植株叶片功能逐渐恢复, 郑 58 辐照材料中只有个别叶片出现皱缩和卷曲, 并且有益突变性状比例有所增加, 如叶片宽大、持绿期长等。在金象 4C-1 材料中, M_2 代有 5 株抗病性与对照相比有明显提高; 在鲁 9801 中部分叶片变得宽大, 株型变得平展; 在 CSR24001 的 18 份 M_2 中, 基本上都发生了叶片皱缩和变窄, 个别植株叶片扭曲。如表 1 所示, 在 M_2 代中郑 58 株高和穗位高随着辐照剂量的增加呈现先降低后升高再降低的“类马鞍形”曲线, 20 Gy 剂量辐照后植株最高, 15 Gy 剂量辐照后株高和穗位高最低; M_3 代株高表现趋势与 M_2 代基本相同, 穗位高则是先降低, 在 20 Gy 时达到最低 59.5 cm, 30 Gy 辐照后又迅速增高为 92.5 cm。

浸泡后郑 58 M_2 代株高和穗位高在 20 Gy 时达到最大, 比对照分别增加 11.8 和 15.6 cm, M_3 代也是在 20 Gy 时最高, 分别增高 84.0 cm 和 68.0 cm。鲁 9801 M_2 代株高和穗位高与对照相比有明显的增高, 10Gy 辐照后株高最高 251.3 cm, 15 Gy 辐照后穗位最高达到 119.4 cm; 金象 4C 辐照后株高和穗位高与对照相比均有所下降, CSR24001 辐照后 M_2 代株高变化不大, 穗位略有升高。由此可见, 重离子束对于植株株高和穗位的影响与辐照剂量和辐照材料本身也有很大的关系, 不同剂量照射同一材料表现不同, 相同剂量照射不同材料后表现也不同, 某些材料表现为刺激生长作用使株高增高, 某些材料则表现出抑制生长作用使植株变矮。因此, 由重离子辐照引起的变异情况比较复杂, 因材料的遗传组成不同反应不一。

Table 1 The height and spike position in M_2 and M_3 generation after irradiation

Inbred lines	Height/cm	Dose / Gy					
		Control	10	15	20	25	30
Zheng58 (M_2)	Plant height	198.0	217.5	182	233.6	225.3	186.8
	Spike position	74.0	89.2	63.7	85.4	89.7	78.8
(M_3)	Plant height	190.0	194.0	185.0	220.5	—	209.5
	Spike position	76.0	70.0	65.0	59.5	—	92.5
Zheng58 (M_2) dipped in water	Plant height	198.0	172.7	—	209.8	—	187.3
	Spike position Plant	74.0	62.0	—	89.6	—	63.0
(M_3)	height	190.0	175.0	—	274.0	—	184.0
	Spike position	76.0	65.0	—	144.0	—	60.0
Lu9801 (M_2)	Plant height	209.5	251.3	237.0	235.0	232.3	240.7
	Spike position	87.5	112.5	119.4	99.4	118.0	93.3
Jinxiang4C (M_2)	Plant height	211.0	178.8	181.0	181.7	180.0	171.7
	Spike position	87.5	55.0	67.75	68.3	71.0	66.3
CSR24001 (M_2)	Plant height	255.0	256.0	246.8	252.7	251.9	258.6
	Spike position	110.0	131.0	125.2	129.0	129.1	127.3

2.2.2 重离子辐照对作物熟性的影响 重离子辐照对玉米 M_1 代植株熟性影响不大, 熟性变异表现不明显, 但在 M_2 和 M_3 代中多个材料都出现了熟性变异, 主要表现为抽雄期提前或推后, 活杆成熟等优良突变性状。在处理剂量为 20 Gy 的材料中, 郑 58 有两份抽雄期比对照提前 4 d, CSR24001 有 2 份出现抽雄提前和活杆成熟现象; 金象 4C-1 经 15 Gy 和 30 Gy 辐照后也出现成熟期早且活杆成熟的材料。在辐照材料中生育期推迟的有 35 份, 突变率为 9.72%, 早熟的材料有 81 份, 突变率为 22.5%。因此, 重离子辐照玉米自交系能够改变玉米的生育期, 为将来选育早熟品种奠定基础。

2.2.3 重离子辐照对玉米穗部性状的影响 重离子束辐照后对玉米 M_2 、 M_3 代穗部性状的影响十分明显, 包括畸形穗、同位双穗以及穗行数、粒质、千粒重和轴色的变化。另外, 辐照后玉米雄穗花药颜色和雌穗花丝颜色也发生了明显的变化。如在 M_3 代, 穗行数增加的材料 138 份, 有益突变率为 13.42%, 千粒重增加的材料 138 份, 有益突变率 15.27%。经 $^{12}C^{6+}$ 辐照玉米郑 58 后有 2 株出现了同位双穗, 3 株出现了畸形穗, 3 株雄穗花药颜色由紫色变为淡紫色或黄绿色, 穗长增长, 穗行数由对照的 12—14 行增加至 16 行, 20 Gy 辐照后有 2 株穗行数增为 20 行, 25 Gy 处理材料 1 株穗行数增至 18 行。另外, 辐照后有 15 个株系千粒重达到了 400—500 g, 与对照相比增加了 11%—38% 不等。鲁 9801 辐照材料中有 5 个株系千粒重由对照的 320g 增加至 400 g 以上, 比对照增重了 25% 以上。金象 4C 辐照后也出现雄穗花药颜色的改变, 由紫色变为黄绿色。此外, 辐照后玉米轴色也发生了变异, 其中郑 58 红轴 (对照为白轴) 突变率为 8.7%, CSR24001-1 白轴突变率为 25.14%, 478 红轴突变率为 11.29%。

3 讨论

重离子辐照育种是近年发展起来的一种新的有效育种手段, 离子与生物体之间有着复杂的相互作用, 不仅有能量的传递, 还有质量的沉积和电荷的交换, 这些复杂的作用方式导致了对生物体更为复杂的生物学效应。本实验利用中科院近代物理研究所的加速器 HIRFL 对 6 个玉米自交系进行辐照处理, 研究了不同剂量离子束照射对玉米自交系的诱变效应, 实验发现植株从 M_1 代至 M_3 代都出现了各种变异现象, 主要包括叶片、株高、穗位高和各种穗部性状的变化, 其中包括很多有益突变类型。

从研究结果看, M_1 代种子的出苗率根据自交系

的不同和辐照剂量的不同表现不同, 部分材料随着辐照剂量的增加出苗率逐渐降低, 有些材料则是在一定的剂量范围内出苗率呈现上升的趋势, 这与人研究结果较为一致^[2,3]。出现这种结果的原因可能是不同剂量重离子辐照对玉米自交系干种子的损伤不同从而产生了不同的诱变效应。有的自交系对于离子束辐射较为敏感, 随着辐照剂量的增加损伤变得严重, 所以出苗率相应下降; 有的自交系对于低剂量的辐照产生一定的刺激效应, 高剂量照射后又形成一定损伤, 因此使出苗率随辐照剂量的增加呈现先升高后降低的“马鞍形”变化曲线。另外, 不同自交系对于重离子的辐射敏感性也不同, 浸泡后种子对重离子辐射最为敏感, 玉米干种子对于重离子辐照的半致死剂量一般在 20—30 Gy 之间。

重离子辐照的玉米种子, M_1 代变异主要是叶片的皱缩、卷曲、叶片宽度的变化、出现疣斑、早衰干枯或持绿期延长。本实验中还发现辐照能诱发植株叶片出现一定几率的黄色条斑, 而且条斑较宽, 这也与文献报道的情况类似。丘运兰等^[4]认为辐射导致叶肉细胞 Lw1 基因有轻微的损伤, 抑制了部分前质体向叶绿体转变的过程, 从而出现结构较简单的叶绿体, 但对光合作用起关键作用的叶绿素未形成, 最终表现为叶片出现黄色条斑。在 M_2 和 M_3 代中, 辐照自交系主要表现为株高和穗位的变化, 雄穗花药颜色的改变, 雌穗花丝颜色的改变, 以及抽雄提前、早熟, 穗行数和千粒重的增加, 粒质变为硬粒形, 以及抗锈病和抗红叶病等有益突变类型。这些变异情况与前人的研究结果也有相同之处^[5,6]。上述多种变异有些在 M_1 代表现, 有些只有到 M_2 代才会显现出来, M_3 代仍可以表现, 因此这些连续表现的性状能够被认为是可遗传的性状, 那些表现优良的性状更为以后优势杂交组合的选配和新品种的选育打下了良好的基础。

参考文献

- 1 陈彦惠, 吴连成, 吴建宇, 等. 河南农业大学学报, 1999, **33**(增刊): 1-3
CHEN Yanhui, WU Liancheng, WU Jianyu, *et al.* Acta Agriculturae Universitatis Henanensis, 1999, **33**(Suppl): 1-3
- 2 莫海玲, 于松保, 邓国富, 等. 广西农业科学, 2003, **5**: 13-15
MO Hailing, YU Songbao, DENG Guofu, *et al.* Guangxi Agricultural Sciences, 2003, **5**: 13-15
- 3 黄中文, 赵俊杰, 常胜合, 等. 河南农业科学, 2004, **12**: 11-13

- HUANG Zhongwen, ZHAO Junjie, CHANG Shenghe, *et al.* Henna Agricultural Sciences, 2004, **12**: 11-13
- 4 丘运兰, 梅曼彤, 何远康, 等. 华南农业大学学报, 1991, **12**(1): 48-54
- QIU Yunlan, MEI Mantong, HE Yuankang, *et al.* Acta Agriculturae Universitatis Huananensis, 1991, **12**(1): 48-54
- 5 罗红兵, 赵葵, 郭继宇, 等. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2004, **30**(4): 385-388
- LUO Hongbing, ZHAO Kui, GUO Jiyu, *et al.* Journal of Hunan Agricultural University (Nat Sci Ed), 2004, **30**(4): 385-388
- 6 刘志生, 陈吉法, 范广华, 等. 激光生物学报, 2002, **11**(2): 142-144
- LIU Zhisheng, CHEN Jifa, FAN Guanghua, *et al.* Acta Laser Biology Sinica, 2002, **11**(2): 142-144

Preliminary study on mutagenic effects of heavy ions irradiation on maize inbred lines

YU Lixia¹ LI Wenjian¹ CHEN Xuejun² CHEN Jin² XIE Hongmei¹

¹(Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

²(Gansu Jinxiang Agriculture Developing Co. LTD, Zhangye 734000, China)

ABSTRACT In order to study mutagenic effects of different heavy ions irradiation on maize inbred lines, corn seeds of Zheng58, Lu9801, Jinxiang4C-1, CSR24001, 308 and 478 were irradiated with $^{12}\text{C}^{6+}$ and $^{36}\text{Ar}^{18+}$ ions. The experimental results showed that the germination rate and planting percent were different after irradiation. The wettish seeds had higher sensibility to heavy ion irradiation. The leaf type of the plant appeared visible changes in M_1 generation. In M_2 generation, great changes had taken place in economic traits, many of which are beneficial mutation. Some beneficial mutation could be stably inherited in M_3 generation. From the above, it can be predicted that heavy ions irradiation is an effective means of genetic improvement of maize.

KEYWORDS Heavy ions irradiation, Maize inbred lines, Mutagenic effects

CLC Q691