

CN9201787

CNIC-00532

CSNAS-0046

中国核科技报告

γ 射线诱发大麦叶绿素突变分析

ANALYSIS OF CHLOROPHYLL MUTATIONS
INDUCED BY γ -RAYS IN BARLEY (HORDEUM VULGARE)



原子能出版社

中国核情报中心

China Nuclear Information Centre

CNIC-00502

CSNAS-0046

γ 射线诱发大麦叶绿素突变分析

王彩莲 慎玫 徐刚 赵孔南 陈秋方

(浙江省农科院原子能利用研究所)

摘 要

以 M_2 幼苗叶绿素突变为指标,研究栽培大麦叶绿素突变频率的剂量关系,分析不同栽培类型间及不同辐射敏感类型间的差异。结果表明,叶绿素突变频率的剂量关系可以用线性回归方程 $Y = A + BX$ 拟合。协方差分析表明,不同类型栽培大麦叶绿素突变频率剂量关系无明显差异,而不同辐射敏感类型间存在显著差异,敏感型和中间型诱发最高叶绿素突变的剂量明显低于其他类型。

ANALYSIS OF CHLOROPHYLL MUTATIONS INDUCED BY γ -RAYS IN BARLEY (*HORDEUM VULGARE*)

(In Chinese)

Wang Cailian Shen Mei Xu Gang
Zhao Kongnan Chen Qiufang

(INSTITUTE FOR APPLICATION OF ATOMIC ENERGY,
ZHEJIANG ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCE)

ABSTRACT

Thirty varieties of dormant barley seeds were irradiated with ^{137}Cs γ -rays. Dose-effect relations of chlorophyll mutation frequency in M_2 seedling and differences resulting from cultured types or radiosensitive types were investigated. Experimental results show that the relations between chlorophyll mutation frequency and doses can be fitted by a linear regression equation $Y = A + BX$. According to analysis of covariance, there is no considerable difference in various cultured types, but the difference of five different radiosensitive types is remarkable. The sensitive and intermediate types need much lower doses than other types to induce maximum chlorophyll mutation.

前 言

叶绿素突变是一种非常明显的性状突变,是评价理化因子诱变效率的重要指标。一些研究表明,叶绿素突变与剂量成正相关^[1]。Sreekant等^[2](1979)报道,当剂量在100~300Gy范围内,指状粟叶绿素突变频率几乎是直线上升,高于上述剂量则突变频率下降,出现饱和效应。我们对水稻的研究表明^[3],叶绿素突变频率与剂量之间呈显著一元二次曲线回归关系, M_2 幼苗叶绿素突变与植株农艺性状呈正相关,可以把 M_2 幼苗叶绿素突变作为诱发基因突变的指标和预测 M_2 植株的变异频率^[1]。

许多研究已证实,植物物种间、品种间的辐射敏感性有很大差异^[4~12]。我们^[4]曾对不同类型栽培大麦的辐射敏感性进行了研究,发现裸大麦的辐射敏感性显著大于皮大麦。然而,很少见到有关辐射敏感性与 M_2 突变关系的研究报道,因而我们以大麦为材料,就 M_2 幼苗叶绿素突变频率的剂量关系,分析不同类型大麦和不同敏感类型大麦的叶绿素突变差异,探索大麦的辐射敏感性与 M_2 突变的关系。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

选用不同类型的栽培大麦品种(30个)的干种子为试验材料,其品种的名称和属性见表1。

表1 供试大麦品种所属类型和名称

披 型	皮 大 麦	裸 大 麦
二 披	塔城二披	肖山矮脚二披
	付 八	米麦 114
	沪麦 4号	早熟 41
	早熟 3号	宝元二披
	路南红芒大麦	金华横店
四 披	东风大麦	黑老鸭
	四披白大麦	门源东兰
	太平毛伙子	牡丹青裸
	兴山大麦	黑四披
	枣阳大麦	高原早 1号
六 披	和龙大麦	矮秆齐
	博爱长芒大麦	黑六柱
	滨海大麦	矮秆早
	凤阳大麦	黑六柱元麦
	早黄大麦	天津 1号

1.2 试验方法

每个品种随机选取 1200 颗种子,置于干燥器内将水分平衡至 13%,然后用本所¹³⁷Cs γ 射线源进行辐照处理。剂量设 0,50,100,150,200,250,300 和 350Gy 8 种,剂量率为 91Gy/min。

M_2 试验:苗期试验见前报道^[4]。田间试验为种子辐照后按品种、剂量二因子随机区组设

计,播种于院内试验农场。行长 167cm,行距 25cm,每行 25 粒,点播。每处理 150 粒种子,三次重复,随机区组设计。

1.3 叶绿素突变鉴定

M₁ 成熟时,按处理小区收获每一植株的全部穗子,播于苗床上,播后 10 天,鉴定叶绿素突变体。根据突变体幼苗叶色表型变化的差异,可分为白化、黄化、浅绿、白翠、斑点、条纹和其他 7 类。

- (1)白化,叶子呈白色,类胡萝卜素和叶绿素均缺乏;
- (2)黄化,叶子呈黄色,叶绿素缺乏或严重减少,而类胡萝卜素过多;
- (3)浅绿,叶子呈浅绿色,叶绿素减少,能逐渐转变为正常绿色;
- (4)白翠,叶子上部呈白色,下部呈绿色;
- (5)条纹,叶子呈条纹状,黄绿或白色交替的纵向带;
- (6)斑点,叶子呈镶嵌状,黄、褐或白色与绿色交替的水平带状。

以 100 个 M₂ 幼苗为基准表示突变幼苗的频率。

1.4 统计分析方法

用协方差分析法对不同类型大麦和不同辐射敏感类型大麦的叶绿素突变差异进行分析。

2 结果与分析

2.1 叶绿素突变频率的剂量关系

不同剂量下供试品种的叶绿素突变频率统计结果列于表 2。由表可见,各供试品种的自发叶绿素突变频率均为 0,辐照处理后,所有品种的叶绿素突变频率均有随处理剂量的增加而提高的趋势。用线性回归方程 $Y = A + BX$ 拟合剂量关系曲线,均达显著或极显著水准。因而可计算出各品种线性回归方程的实际值(表 2)。各品种的回归系数存在一定的差异,但测验表明,品种间无显著差异。

2.2 不同类型大麦的差异分析

以幼苗生长抑制和过氧化物酶同工酶谱变化为指标研究了供试品种的辐射敏感性,发现供试品种的辐射敏感性有较大的差异,并与品种的属性有很大的关系。从表 2 可以看出,供试品种的叶绿素突变有一定的差异,因而采用协方差分析法对不同类型大麦的叶绿素突变差异进行分析。

2.2.1 皮大麦与裸大麦之间的差异

协方差分析结果表明,皮、裸两类大麦的叶绿素突变均随剂量的增加而提高,线性回归方程 $Y = A + BX$ 拟合剂量关系曲线,均达极显著水准(表 3)。分析各自回归方程的特点,皮大麦与裸大麦的回归系数的差异不显著,而裸大麦的回归截距极显著大于皮大麦。这表明,两者差异的主要原因是由于两大类型的回归截距不同造成的。因此,表示皮、裸大麦叶绿素突变剂量关系的最适方程分别为 $Y = -0.0524 + 0.0075X$ 和 $Y = 0.2830 + 0.0075X$ 。

表 2 不同剂量诱发的叶绿素突变频率(%)

类型	品 种	剂 量 (Gy)								回 归 分 析		
		0	50	100	150	200	250	300	350	a	b	
皮 大 麦	二 號	塔城二號	0	0.1576	0.3830	0.7879	1.6366	1.3204	1.0705	1.7110	0.0624	0.0045
		付八	0	0.4715	1.1590	1.3875	0.5073	1.1254	2.0325	2.8916	0.0691	0.0064
		沪麦4号	0	0.9772	1.1043	2.1277	1.8288	0.7347	2.0498	5.2023	0.0710	0.0096
		早熟3号	0	0.7483	0.7407	1.2195	1.9403	1.2245	2.2346	3.4375	0.0404	0.0080
		路南红芒大麦	0	0.3367	0.6341	0.8403	0.9627	1.2793	1.0169	2.3136	0.0207	0.0052
	四 號	东风大麦	0	0.6218	0.8799	1.0081	2.7166	3.1802	2.8007	3.1579	0.0619	0.0099
		四號白大麦	0	1.1095	1.6380	0.9532	1.2755	2.0772	1.5702	2.2500	0.5386	0.0047
		太平毛伏子	0	0.3527	0.4853	1.0053	2.4709	1.9405	1.8548	3.2676	-0.0685	0.0086
		兴山大麦	0	0.3448	0.5076	0.8194	1.2059	0.6796	1.1455	2.8230	-0.0872	0.0059
		寒阳大麦	0	0.2871	0.3889	0.8306	1.4073	1.7223	3.2776	2.2422	-0.1982	0.0084
	六 號	和龙大麦	0	0.6257	1.2094	0.4082	1.4972	1.9608	1.7808	4.4094	-0.1796	0.0095
		博爱长芒大麦	0	1.1615	1.1260	2.0807	1.2338	1.5072	1.6382	2.8143	0.5127	0.0053
		滨海尺大麦	0	0.6529	0.5593	0.5565	0.7423	1.0157	0.8475	1.2605	0.2314	0.0027
		凤阳六號	0	0.3788	0.4306	1.0076	1.9023	1.7618	1.7876	2.6971	-0.0381	0.0073
		早黄大麦	0	0.3468	0.8333	0.9702	1.2756	1.9506	1.2790	1.7522	0.1933	0.0049
裸 大 麦	二 號	肖山矮脚二號	0	1.0760	0.6154	0.8713	1.5695	1.7167	4.2424	7.0552	-0.7409	0.0165
		米麦114	0	1.4074	1.0479	1.1455	1.6129	1.8797	1.7544	1.6779	0.6306	0.0039
		早熟41	0	0.3155	0.6173	0.5967	0.7653	0.6211	2.8986	3.7037	-0.4361	0.0093
		宝元二號	0	1.1842	0.7706	1.0448	1.0232	2.3037	1.6484	1.8868	0.3950	0.0051
		金华横店	0	0.8675	0.6244	1.2184	1.4430	2.7460	1.8018	1.7804	0.3217	0.0056
	四 號	黑老鸭	0	0.4264	0.4773	1.5699	2.5926	1.8182	2.6201	3.0000	0.0208	0.0088
		门源亮兰	0	0.9901	0.5364	2.1605	1.8363	1.4625	2.3529	5.1282	0.0736	0.0108
		牡丹青裸	0	0.4949	0.9709	0.3063	0.5158	1.0711	4.7511	3.9216	-0.5478	0.0117
		黑四號	0	0.5309	1.1690	0.9174	3.3103	4.8193	2.5000	2.5000	0.2730	0.0097
		高原早1号	0	1.0753	1.4706	1.9048	1.8252	1.7241	2.2727	1.8109	0.7044	0.0046
	六 號	矮秆齐	0	0.3200	1.3060	1.3605	1.5123	1.7123	2.1930	1.2270	0.3987	0.0046
		黑六柱	0	0.7790	0.6613	2.9221	2.3158	2.5172	2.5316	2.6178	0.4577	0.0076
		矮秆早	0	1.0877	1.0234	1.9029	4.5752	2.5370	3.9474	3.2253	0.4503	0.0105
		黑六柱元友	0	0.9121	0.8272	2.4596	1.6461	1.0333	2.1148	1.8797	0.5684	0.0045
		天津1号	0	0.4805	0.6993	0.8569	2.1438	1.6993	3.7234	3.8462	-0.2945	0.0113

表 3 皮大麦和裸大麦叶绿素突变频率剂量关系的协方差分析结果

类型	回归方程	t 值	类型间差异 P 值	回归截距间差异 P 值	回归系数间 差异 P 值
皮大麦	$Y = 0.0875 + 0.0067X$	13.67**	7.80**	12.11**	3.50
裸大麦	$Y = 0.1475 + 0.0083X$	12.03**			

本试验共得到 3726 株叶绿素突变幼苗,其突变谱为:白化突变占 46.31%,黄化占 35.26%,浅绿占 4.86%,白翠占 5.45%,斑点占 4.91%,条纹占 3.03%,其他类型为 0.16%。对 30 个品种的叶绿素突变谱按皮大麦和裸大麦分类统计见图 1。由图 1 可见,皮大麦和裸大麦的叶绿素突变谱较广,而且均以白化类型的比例最高,其次是黄化,浅绿、白翠、斑点和条纹的比例均在 10% 以下。然而,皮、裸大麦的突变谱也存在一定的差异,白化和黄化的比例,皮大麦高于裸大麦,其余几种突变类型均是裸大麦高于皮大麦。

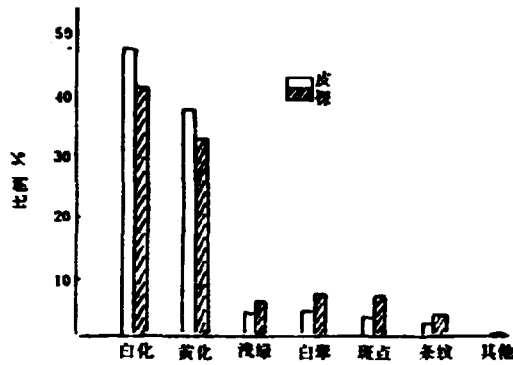


图1 皮、裸大麦突变谱比较

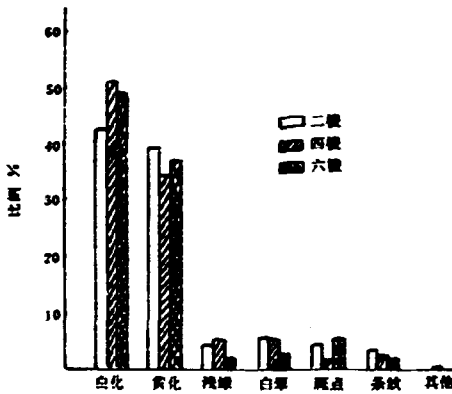


图2 二、四、六棱皮大麦突变谱比较

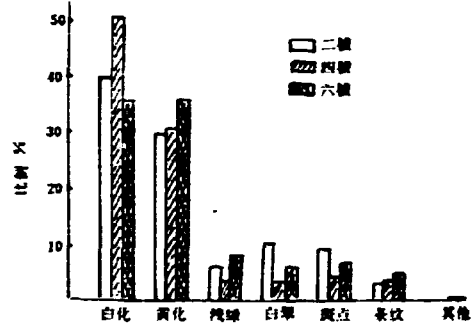


图3 二、四、六棱裸大麦突变谱比较

2.2.2 二、四、六棱、皮、裸大麦间的差异

根据栽培大麦的分类,按有否稃壳和穗的棱型多少可将供试品种归类为二棱、四棱、六棱皮大麦和二棱、四棱、六棱裸大麦等6大类型。不同类型的叶绿素突变频率列于表4,从表中看出,不同类型大麦叶绿素突变的剂量效应关系有一定的差异,因而,采用协方差分析法,对上述6大类型的叶绿素突变剂量关系进行分析(表5)。结果表明,6大类型叶绿素突变剂量关系呈极显著直线回归关系。就6大类型比较而论,类型间的回归系数没有显著差异,仅回归截距间的差异达极显著水准。因而,这6大类型叶绿素突变剂量关系的回归是一组斜率相同的回归线,其最适回归方程可以用共同回归系数0.0075,不同回归截距表示。

进一步分析这6个类型间回归截距的差异,发现这种差异主要表现于四棱和六棱裸大麦与二棱和六棱皮大麦的差异,其余类型间的差异均未达显著水准(表6)。

表4 不同类型大麥的叶綠素突变頻率(%)

类型		剂量(Gy)							回归分析		
		0	50	100	150	200	250	300	350	a	b
皮大麥	二穗	0	0.5383	0.8042	1.2726	1.3751	1.1369	1.6809	3.1112	0.0486	0.0068
	四穗	0	0.5432	0.7799	0.9233	1.8152	1.9200	2.1300	2.7481	0.0457	0.0075
	六穗	0	0.6331	0.8317	1.0046	1.3302	1.6392	1.4666	2.5867	0.1439	0.0060
裸大麥	二穗	0	0.9701	0.7351	0.9753	1.2828	1.9534	2.4691	3.2208	0.0340	0.0081
	四穗	0	0.7035	0.9248	1.3718	2.0160	2.1790	2.8994	3.2721	0.0754	0.0091
	六穗	0	0.7159	0.9034	1.9004	2.4386	1.8998	2.9020	2.5593	0.3161	0.0077

表5 不同类型大麥叶綠素突变頻率剂量关系的协方差分析结果

类型	回归方程	t 值	类型间差异 F 值	回归截距间差异 F 值	回归系数间 差异 F 值
皮大麥	二穗 $Y = 0.0612 + 0.0067X$	7.008**	2.093*	3.065*	1.122
	四穗 $Y = 0.0477 + 0.0075X$	9.766**			
	六穗 $Y = 0.1365 + 0.0060X$	7.585**			
裸大麥	二穗 $Y = 0.0331 + 0.0081X$	6.183**			
	四穗 $Y = 0.0784 + 0.0091X$	7.647**			
	六穗 $Y = 0.3174 + 0.0077X$	7.064**			

表6 不同类型间回归截距比较测定的 t 值

		皮大麥			裸大麥		
		二穗	四穗	六穗	二穗	四穗	六穗
皮大麥	二穗		0.7521	0.2806	1.2895	2.5993*	2.5636*
	四穗			1.0327	0.5375	1.8472	1.8115
	六穗				1.5702	2.8799**	2.8442**
裸大麥	二穗					1.3098	1.2741
	四穗						0.0357
	六穗						

6大类型间的叶綠素突变谱均较广(图2和3)。而且均以白化和黄化的比例较高,其余类型突变的比例均低于12%。然而,各种突变类型的比例6大类型间有一定的差异。白化类型以四穗皮大麥和裸大麥的比例最高,黄化类型以二穗皮大麥的比例最高,其余类型的比例6大类型之间也有差异。

2.2.3 不同辐射敏感类型间的差异

按多靶单击模型 $F(D) = 1 - (1 - e^{-a_1 D})^n$ 拟合苗高、根长、苗高活力指数和根长活力指数的剂量效应曲线,用计算机求得各品种的辐射敏感系数 a_1 ,按离差平方和法对供试品种进行聚类分析,可将供试品种的敏感性分为极敏感型、敏感型、中间型、迟钝型和极迟钝型5种不同类型^[4](表7)。对供试品种的叶綠素突变剂量关系按上述5种类型进行协方差分析,结果表明,类型之间没有共同的回归方程可拟合,因为其回归截距和回归系数差异均达极显著水准(表8)。对其回归常数和回归系数的差异进行 t 测验(表9),表明敏感型与迟钝型和极迟钝型、中间型与极迟钝型间的回归截距差异极显著,其余类型间的回归截距均无显著差

异。不同敏感类型间回归系数的 t 测验表明,敏感型与极迟钝型、中间型与极敏感型的差异达极显著水准,中间型与迟钝型和极迟钝型、敏感型与极敏感型的差异显著。

表 7 大麦品种的辐射敏感性类型

类型	品 种
极敏感型	西陵白大麦、高原早一号、黑六柱元麦
敏感型	东风大麦、牡丹青稞、腰杆齐、黑六柱、肖山矮脚二穗、米麦 114、腰杆早
中间型	和龙大麦、沪麦 4 号、枣阳大麦、早熟 3 号、黑老鸦、门源交兰、黑四穗、早熟 41、金华酒店、天津一号
迟钝型	太平毛伙子、凤阳六穗、早黄大麦、宝元二穗
极迟钝型	塔城二穗、付八、博爱长芒大麦、滨海尺大麦、兴山大麦、越南红芒大麦

表 8 不同辐射敏感类型大麦叶绿素突变频率剂量关系的协方差分析结果

类型	回归方程	t 值	类型间差异 F 值	回归截距间差异 F 值	回归系数间差异 F 值
极敏感型	$Y = 0.6046 + 0.0046X$	11.443**	6.330**	5.000**	7.662**
敏感型	$Y = 0.0929 + 0.0093X$	8.532**			
中间型	$Y = 0.0452 + 0.0091X$	12.745**			
迟钝型	$Y = 0.1194 + 0.0065X$	9.393**			
极迟钝型	$Y = 0.1354 + 0.0050X$	8.403**			

表 9 不同辐射敏感类型间回归截距和回归系数比较测定的 t 值

	极敏感型	敏感型	中间型	迟钝型	极迟钝型
极敏感型		1.2345	0.5935	0.4890	1.4912
敏感型	2.5:05*		1.3315	2.204*	4.2849**
中间型	3.2374**	0.1563		1.5496	3.7598**
迟钝型	1.7925	1.7610	2.1613*		1.1049
极迟钝型	0.3883	3.1618**	2.3853*	1.6484	

注:右上方表示回归截距 t 值,左下方表示回归系数 t 值

3 讨 论

3.1 叶绿素突变频率的剂量关系

Chadwick 和 Leenhouts(1981)^[12]以数学分析和放射生物学效应联系起来,将 DNA 双链断裂的诱发与突变频率相联系,并考虑到突变的表现可能受抑制和细胞的死亡,认为每个受照射细胞的突变频率等于突变诱发数乘以突变不能抑制的机会,再乘以细胞能够活存并表现出突变的机会,因而每个受照射细胞的突变频率是从原点开始,按线性二次方程增高,达到一个高峰值,然后在较高剂量时下降。并指出“点”或“基因”突变表现明显的线性剂量关系,而 Coustantin(1982)^[14]认为,大麦叶绿素突变的类型是点突变的结果,这类基因存在于染色体组中,而且影响这些位点的多数突变是由隐性单基因遗传的。Sarma 等(1979)报道,水稻 M_2 叶绿素突变与叠氮化钠处理浓度呈直线相关。郭宝江等(1983)研究表明,水稻 M_2 幼

苗叶绿素突变与⁶⁰Co γ射线的剂量呈显著直线回归关系。本试验所采用的剂量在 350Gy 以下,其叶绿素突变频率与剂量呈线性关系,与上述论点相符。

3.2 辐射敏感性与 M₂ 突变的关系

关于 M₁ 的损伤与 M₂ 突变频率的相关性,是国内外研究者共同关心的问题。因为利用早期性状的损伤程度来推测后代的突变频率,在诱变育种工作中往往具有较大的实践意义。以前一些研究者提出 M₁ 的损伤程度与 M₂ 突变频率成正相关^[1]。Blixt 等(1964)在豌豆的实验中表明, M₁ 的叶斑点与 M₂ 植株中叶绿素突变两者之间存在着密切的关系。但近来发现生物体在正常的情况下都有一整套的修复系统,只有那些被修复固定下来的损伤或产生错误修复的损伤才有可能形成突变的表现。因而植物辐射敏感性与 M₂ 突变的关系是一个复杂的问题。本试验发现敏感型大麦的突变频率较高,且出现最高叶绿素突变频率的剂量亦低,如敏感型品种黑六柱和矮秆早出现最高叶绿素突变频率的剂量为 150Gy 和 200Gy,突变频率分别为 2.92%和 4.58%;极迟钝型品种兴山大麦和路南红芒大麦出现最高突变频率的剂量为 350Gy,突变频率分别为 2.83%和 2.31%。试验还发现,辐射敏感性不同的皮大麦和裸大麦其叶绿素突变谱也有一定的差异,皮大麦的白化和黄化类型比例大于裸大麦,而裸大麦的浅绿、白翠、斑点、条纹等的比例高于皮大麦。根据 Ukai^[12]的研究结果,大麦品种间的辐射敏感性差异是受遗传控制的,隐性主基因 r₁ 控制了大麦的辐射敏感性,这个基因位于染色体 1 上,而且与皮(N)、裸(n)对应的基因连锁,因而裸大麦的辐射敏感性明显大于皮大麦。多数研究表明叶绿素突变是细胞核基因控制的隐性单基因遗传^[13]。因而,可能由于不同类型栽培大麦的染色体组、染色体和基因水平上遗传结构的差异,以及遗传成分控制的损伤修复能力的差异和基因突变的差异所致。至于两者的遗传规律有何联系尚需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 郭宝江等.遗传学报,1981,8: 256~261
- [2] Sreeshant, et al. Environ. Exp. Bot., 1979, 19(3): 123~126
- [3] 王彩莲等.原子能农业应用,1985(1): 10~16
- [4] 王彩莲等.核农学报,1990,4(1): 7~12
- [5] 王彩莲等.浙江农业大学学报,1986,12(3): 246~253
- [6] 丘冠英等.原子能农业应用,1983(3): 10~15
- [7] 冯志杰等.原子能农业应用(增刊),1985: 109~116
- [8] 汪少彬等.原子能农业应用,1980(1): 3~7
- [9] Inoue M. et al. Environ. Exp. Bot., 1980, 20(2): 161~168
- [10] Yamashita H. A. et al. Environ. Exp. Bot., 1982, 22(2): 211~216
- [11] Ukai Y. Jap. J. Genet., 1980, 55: 225~234
- [12] Ukai Y. et al. Jap. J. Breed., 1988, 38: 292~300
- [13] Chadwick K. H., Leenhouts H. P. The Molecular Theory of Radiation Biology. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1981.
- [14] Constantin M. J. et al. Mutation Research, 1982, 99: 37~49

γ射线诱发大麦叶黄素突变分析

原子能出版社出版

(北京 2104 信箱)

原子能出版社激光照排中心排版

北京市海淀区三环快速印刷厂印刷

☆

开本 787×1092 1/16 · 印张 $\frac{1}{2}$ · 字数 12 千字

1991 年 6 月北京第一版 · 1991 年 6 月北京第一次印刷

ISBN 7-5022-0498-9

TL · 268

CHINA NUCLEAR SCIENCE & TECHNOLOGY REPORT



ISBN 7-5022-0498-9
TL • 268

P.O.Box 2103
Beijing, China

China Nuclear Information Centre