

# 紫外激光(氮分子3371埃) 对水稻诱变效应试验初报

生物学系植生遗传学  
物理学系光学教研室\*

激光是一种受激跃迁辐射,具有能量高度集中、单色性和方向性好等特点。对于生物有机体,激光辐射能导致产生光效应、热效应、次生冲击波、电磁场效应等。因而,同样波段的激光与普通光对生物体所引起的效应也就不尽相同,它可能比普通光导致发生更大的突变效果。

我们自1973年初开始,曾先后应用氩离子激光器的蓝绿光(波长4880埃及5145埃)和CO<sub>2</sub>分子激光器的红外光(波长10.6微米和9.6微米)对水稻进行辐射诱变育种试验,产生了一些诱变效果和获得某些经济性状的遗传性变异(已有报导)。目前,正在进行第六代(L<sub>6</sub>)和第四代(L<sub>4</sub>)的继续选育工作。经过两年多的试验并结合激光照射对染色体作用的观察,证明激光对植物确有一定的遗传诱变效应,可应用于农业并作为一种新的有效育种手段进一步加以研究。

就目前所知,普通的紫外线在人工诱发突变育种中具有较显著的效果,这是由于组成遗传物质的去氧核糖核酸(DNA)分子的嘌呤和嘧啶具有共轭双键,强烈吸收2600~2900埃的紫外光所致。因此,从辐射的生物学观点出发,两年多来在应用上述两种激光器进行诱变育种并获得一些效果的同时,曾设想应用紫外波段激光进行这方面的试验,希望获得更大的诱变效应。

1975年初物理系光学教研室研制了3371埃近紫外波段的氮分子激光器,从而为应用紫外激光诱变育种的探索试验提供了实践条件。

## 试验材料与方 法

激光器: 横向激励氮分子紫外激光器,输出波长为3371埃的近紫外光,脉宽约为10<sup>-8</sup>秒。

\* 执笔: 林启汉

早造(1~2月)试验所用激光器的输出单脉冲能量,经实测其工作气体用纯 $N_2$ 时为0.006焦耳,用空气(含 $N_2$ 约78.1%)时为0.002焦耳。单脉冲峰值功率用纯 $N_2$ 时为0.6兆瓦,用空气时为0.2兆瓦。脉冲重复频率约为10~12次/秒。距光源15~20厘米处光斑面积约 $0.6 \times 1.5$ 厘米<sup>2</sup>,激光照射的平均功率密度用 $N_2$ 为工作气体时约为66~80毫瓦/厘米<sup>2</sup>,用空气为工作气体时约为22~26毫瓦/厘米<sup>2</sup>。

晚造(6月)试验所用激光器的工作气体全部用纯 $N_2$ ,输出单脉冲能量为0.01焦耳,单脉冲峰值功率约为1兆瓦,脉冲重复频率为3~4次/秒,光斑面积与早造相同,激光照射的平均功率密度约为33~44毫瓦/厘米<sup>2</sup>。

综合以上参数列表如下:

照射水稻用氮分子紫外激光器(波长3371埃)参数

工 作 气 体 特 性	单脉冲 能量 (焦耳)	脉冲宽度 (约) (秒)	单脉冲 峰值功率 (兆瓦)	脉冲重复 频率 (次/秒)	光斑 面积 (厘米 <sup>2</sup> )	平均功率 密度 (毫瓦/厘 米 <sup>2</sup> )	照 射 日 期
工 业 用 氮 ( $N_2$ )	~0.006	$10^{-8}$	0.6	10~12	$0.6 \times 1.5$	66~80	早 造 (1~2月)
	~0.01	$10^{-8}$	1	3~4	$0.6 \times 1.5$	33~44	晚 造 (6月)
空 气 (含 $N_2$ 约 78.1%)	~0.002	$10^{-8}$	0.2	10~12	$0.6 \times 1.5$	22~26	早 造 (1~2月)

水稻品种:早造为“科外选”(1972年生物系农民教师从“科六”系统中选育)、“珍珠矮11号”、“穗郊占”;晚造为“秋二早”、“秋二矮”、“2150”、“化晚1号”、“大穗”、“IR1529-88C-3”、“桂香7号”和“黑糯”等。

种子照射前处理:根据过去两年用氩离子和 $CO_2$ 激光的诱变试验,发现水稻种子的生育状况对辐照敏感性有关,如浸种后的萌发种子比干(休眠)种子的敏感性大,尤以浸种后48小时左右(包括浸种24小时后的催芽时间)的种子其诱变效应较大。在本试验中,考虑到紫外线对组织的穿透力有限,在早造气温低的条件下,于照射前浸种24小时后置于26°C左右进行催芽,促使胚芽鞘伸出谷壳,以便处理时充分受到激光束辐照。

本试验所采用的种子状况分别为浸种后48、64、72、96以及120小时的露白和胚芽鞘已伸出的种子。

照射方法:用长方形(或圆盘形)的厚纸板或泡沫塑料板,按一定间隔在光斑

范围  $0.6 \times 1.5$  厘米<sup>2</sup> 面积内, 分组各钻两排(上下两排、每排4~5个)可插入湿谷种的小孔。将供试种子尾部插入孔内, 胚部露于孔外, 每组上下两排8~10粒种子的种胚向内相对。照射时, 将此种播种板插入一壁按光斑面积( $0.6 \times 1.5$ 厘米<sup>2</sup>)开有照射窗的纸制夹套内, 使激光直射于照射窗, 固定好位置, 然后依次将夹套内各组(每组上下两排共8~10粒)种子推移至照射窗范围内, 暴露于激光束进行定时照射。

照射组合: 供试种子采用上述浸种后48、64、72、96和120小时的萌发种子。早造共进行了四次照射, 前三次基本上属于探索性试验, 第四次为正式试验。第一次用“珍珠矮11号”于1月17日进行, 以纯N<sub>2</sub>为工作气体, 照射组合为10、20、30、40、50、80、100次脉冲和30、60、90、120、150秒。第二次亦用“珍珠矮11号”于1月22日进行, 以空气为工作气体, 照射1、2、3、4、5分钟。第三次用“科外选”和“珍珠矮11号”于2月5日进行, 以空气为工作气体, 照射1、2、3、4、5、6分钟。与此同时, 并用水葱花为材料观察激光对细胞染色体的作用。

上述试验的种子经萌发过程和幼苗生育初期(15天)的观察, 发现大多数处理组合中均出现不同程度的有芽无根现象, 而在第三次试验的“科外选”照射5分钟组(10粒种子)中出现叶扭捲苗和白化苗各一株。同时在水葱花的细胞学初步观察中, 亦只在照射5分钟的花中发现四分子期有染色体团聚现象, 而照射5分钟以下的其他各组中均未观察到染色体异常。因此, 已引起对照射5分钟所产生效应的注意, 从而确定第四次试验的照射组合。

第四次正式试验用“科外选”、“珍珠矮11号”和“穗郊占”为材料, 于2月24日至26日进行了连续三天的照射, 脉冲重复频率均为10~12次/秒, 照射时间为3、5、10、20、30分钟。其中, 除“科外选”有7个组合是用纯N<sub>2</sub>为工作气体(平均功率密度66~80毫瓦/厘米<sup>2</sup>)外, 其他各组合均用空气为工作气体(平均功率密度22~26毫瓦/厘米<sup>2</sup>)。以三个水稻品种不同种子状况所进行的照射组合总共为37个。

晚造试验于6月25日和30日用“秋二早”、“秋二矮”、“2150”、“化晚1号”、“大穗”、“桂香7号”、“IR1529-680-3”和“黑糯”进行照射。其中, “秋二早”、“秋二矮”、“2150”和“化晚1号”各为浸种后96小时照射5、10分钟; “IR1529-680-3”和“桂香7号”各为浸种后96小时照射30分钟; “大穗”为浸种后64小时照射10分钟; “黑糯”为浸种后64小时照射5、10、15分钟。总共为14个照射组合。

本试验全部处理组合每组最多10粒种子, 一般8粒种子。以上各组合均于处理后播于盛有土壤的磁盆中, 定期测量和观察苗期生育及变异情况。以后移植于钢室或大田。早造照射第一代(L<sub>1</sub>)的各个组合, 于6月底至7月初陆续分单株主穗和分蘖穗收获完毕。并于7月7日和14日分两批播种第二代(L<sub>2</sub>), 至7月26日与晚造照射的L<sub>1</sub>代各个组合同时插秧。目前, 正继续进行早造照射L<sub>2</sub>代和晚造照射L<sub>1</sub>代的培育与观察。

## 試驗初步結果

通过初步的观察与分析,发现紫外波段激光照射水稻于L<sub>1</sub>代即出现许多异常情况和罕见的变异。

**种子萌发与苗期异常:**照射后10天的观察,用“珍珠矮11号”和“科外选”进行三次探索性试验的30多个组合(共300多粒种子)中,发现两个品种的12个组合内均出现不同程度的有芽无根或芽长根短等萌发异常现象。而正式试验中,“珍珠矮11号”浸种后96小时以平均功率密度22~26毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射20分钟组、“科外选”浸种后48小时以平均功率密度66~80毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射30分钟组中,亦出现有芽无根现象(见图1)。这种异常情况,过去用氩离子激光照射的组合中未发现过,而与用CO<sub>2</sub>激光照射或硫酸二乙酯(DES)处理时曾产生过的现象相类似。



图1 有芽无根现象。左为对照(正常萌发)

其次,照射后15~20天的观察中发现,在照射试验的所有组合中,只有“科外选”这一品种的几个组合(浸种后48小时以平均功率密度22~26毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射30分钟、以平均功率密度66~80毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射3、5、20分钟)中出现临时性白化苗;而只在“珍珠矮11号”浸种后72小时以平均功率密度22~26毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射20分钟组(8株)中,出现1株黄化苗(以后死亡)。这些情况,过去用氩离子和CO<sub>2</sub>激光照射的组合中均未发现,仅在快中子处理的组合中出现过。

另外,于照射后20天的观察中发现,“科外选”浸种后48小时以平均功率密度22~26毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射5分钟、以平均功率密度66~80毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射30分钟,“珍珠矮11号”浸种后72小时以平均功率密度22~26毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射10、20分钟等组合中,出现幼苗的第三完全叶顶端被夹于扭卷的第二完全叶片内而弯曲呈圈状。其中尤以“科外选”30分钟的一组(8株)中,有3株呈此异常现象。

引起注意的是,“珍珠矮11号”浸种后72和96小时以平均功率密度22~26毫

瓦/厘米<sup>2</sup>照射20分钟、“科外选”浸种后48小时以平均功率密度22~26毫瓦/厘米<sup>2</sup>和66~80毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射20分钟的组合,于照射后的15~20天内陆续死亡2/8~3/8的幼苗。其他组合虽亦有个别幼苗死亡,但无如此显著。

晚造试验的组合中,于照射后15天内的观察,“秋二早”浸种后96小时以平均功率密度33~44毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射5分钟组的9株中,出现1株两叶(第一、二完全叶)黄绿相间的条纹苗(第三完全叶以后的叶片无此现象)。照射10分钟组的9株中,亦出现1株有两叶的顶端被夹住而弯曲呈双圈状;尤为罕见的是另有1株出现“一谷三苗”现象,三条苗的叶数和高度均比对照及同组合其他植株少而矮小(见图2)

**畸型叶增生与横格纹叶现象:**在“珍珠矮11号”浸种后72小时以平均功率密度22~26毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射5分钟组内,成熟的6株中有1株于主穗的颈节上增生出罕见的2条扭卷成细长筒状叶,长度为12.7厘米和16.7厘米,相对分开于穗的两边



图2 “秋二早”照射L<sub>1</sub>代出现的“一谷三苗”。左为对照

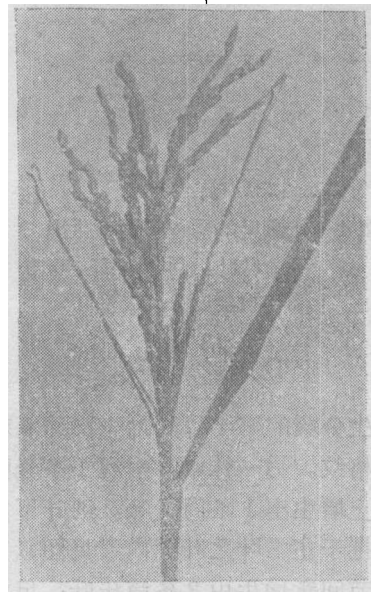


图3 主穗颈节上生出二条扭卷成细长筒状叶的异常现象

(见图3)。该穗长19.8厘米,其剑叶(长58厘米、宽1.5厘米)亦显著比通常长1.5倍以上。

在“穗郊占”浸种后96小时以平均功率密度22~26毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射10分钟组内,成长的9株中有3株出现畸型叶增生现象。一株有2条分蘖的剑叶出现异常:其

中1条分蘖于正常剑叶的叶环部分,增生出1片呈半边状的剑叶,寬0.4厘米,长16.2厘米;另1分蘖则除正常剑叶外,于同一节间增生出2条扭捲成细长筒状叶(无叶环、叶舌和叶耳等),夹于穗和剑叶之间的叶鞘内,而剑叶下第1叶的节间,除正常叶片外亦增生出1条同样的筒状叶(见图4)。而且,这一株陆续有2条高节

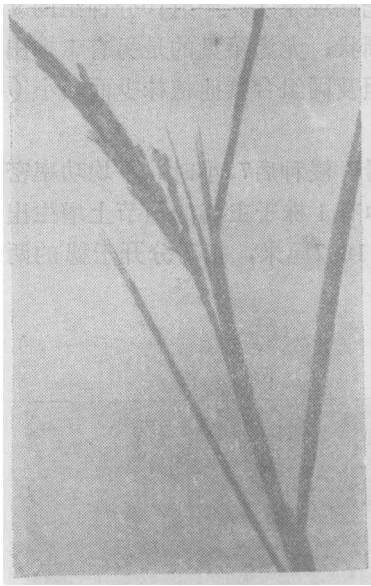


图4 于剑叶的同一节間增生出二条筒状叶,剑叶下第一叶节間亦增生出一条筒状叶



图5 剑叶变短窄,近叶环处縮細,同一节間增生出一条筒状叶,剑叶下第一叶同一节間亦增生出二条筒状叶。

位次生分蘖的第1片叶片上部约 $\frac{1}{3}$ 和 $\frac{1}{2}$ 处起直至尖端,出现5和7条不等间隔的白色横格纹。另一株中,出现1条分蘖的剑叶变短窄和近叶环处縮細,且于剑叶的同一节上增生出1条筒状叶。剑叶下第1叶同一节间除正常叶外,增生出2条筒状叶,捲于正常叶之叶鞘内(见图5)。第三株中,出现1条分蘖除正常剑叶外,于同一节间竟增生出3条筒状叶;另有1条分蘖的剑叶于接近叶环处有扭转2圈,叶片上部恢复正常(见图6)。而且,这一株亦有1条高节位次生分蘖的第1片叶片前端出现横格纹;另2条的第1片叶片约 $\frac{1}{4}$ 呈现皱褶和扭曲。

晚造试验的组合中,“大穗”浸种后64小时以平均功率密度33~44毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射10分钟组成长4株中,有1株的第一次分蘖上有1叶出现9条不等间隔的横格纹。“IR1529—680—3”浸种后96小时照射30分钟组成长10株中,亦有1株的第一次分蘖有1叶片出现4条不等间隔的横格纹。

上述畸型叶增生在过去用氩离子、CO<sub>2</sub>激光、快中子或硫酸二乙酯处理的试验中均未发现过。而叶片横格纹,只在CO<sub>2</sub>激光照射“科外选”5秒组合的L<sub>2</sub>代中

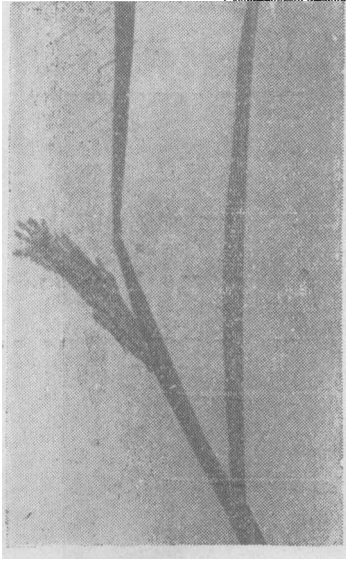


图6 剑叶接近叶环部分扭转二圈

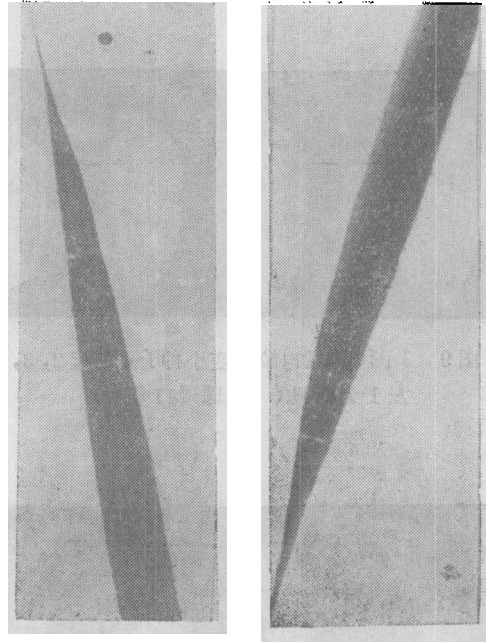


图7 横格纹叶

曾经出现过类似现象,并且其后代(L<sub>3</sub>)的植株亦各有一叶继续出现横格纹(见图7),从而表明这一变异的遗传性。

**L<sub>1</sub>代矮化与粒型变异:**在“珍珠矮11号”浸种后72小时以平均功率密度22~26毫瓦/厘米<sup>2</sup>照射5分钟组的6株成熟植株中,除前述的1株主穗颈节上增生2条筒状叶外,尚出现1特矮株(见图8),株高35.5厘米,仅有的2穗除少数瘪粒外,所有成熟饱满的种子粒型均显著比原来(对照)变小(见图9)。这些种子于晚造播种L<sub>2</sub>代时,除萌发比对照显著迟3~5天外,幼苗期生育无明显异常。

另外,在“珍珠矮11号”浸种后120小时以同上平均功率密度和照射时间的组合内,5株成熟植株中亦有1株出现粒型变异,比原来明显变窄长(见图10)。这些种子于晚造播种L<sub>2</sub>代



图8 L<sub>1</sub>代的特矮株。右为对照(正常植株)

时，其萌发比对照及其他所有组合较快而整齐。并且在播种的40粒中，发现有1粒种子出现“一谷三苗”现象（见图11），三条幼苗的茎、叶大小和高度均显著比对照及同组合其他植株细小而矮约 $\frac{1}{4}$ 左右。

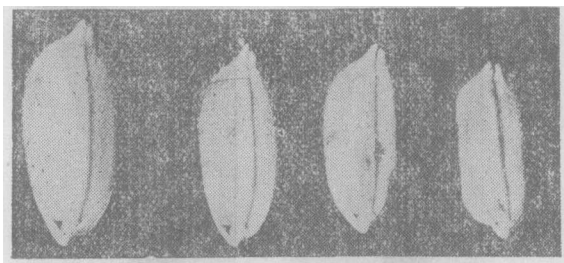


图9  $L_1$ 代出现的粒型变小种子（左起2,3,4）  
左1为对照（“珍珠矮11号”）

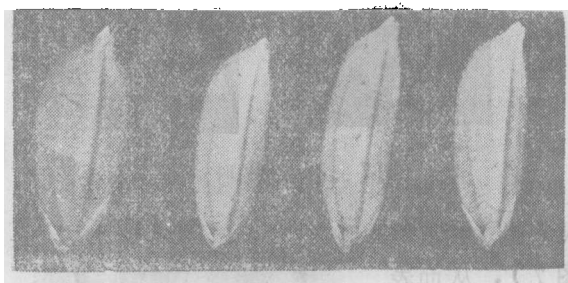


图10  $L_1$ 代出现的粒型变细长种子（左起2,3,4）  
左1为对照（“珍珠矮11号”）

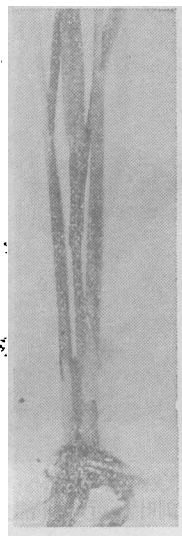


图11  $L_1$ 代出现的  
“一谷三苗”

## 讨 论

一、利用3371埃紫外波段激光照射水稻种子第一代即出现较多而罕见的性状变异，如畸型叶增生、横格纹叶、矮化、粒型变异和“一谷三苗”等现象。而且这些变异是在各处理组合的种子数不超过10粒（一般8粒）的范围内发生，诱发频率较高。因而，就诱变效应而言，与我们过去两年多以来利用氩离子、 $CO_2$ 激光照射以及快中子、硫酸二乙酯处理相比较来看，似乎较为显著而具有其特异性。这对诱变育种的应用以及遗传理论的研究均可能有一定的意义。

二、本试验所用平均功率密度最大不到100毫瓦/厘米<sup>2</sup>（22~80毫瓦/厘米<sup>2</sup>）

的范围内,即可产生显著效应。而在所有处理组合中,以浸种后64小时以上照射5分钟和10分钟的效应较显著。上述 $L_1$ 代出现的性状变异类型,几乎多是在这两个照射时间的组合中观察到。

三、本试验早造正式试验所照射的全部(37个)组合中,绝大部分(30个)组合均用空气为工作气体(平均功率密度22~26毫瓦/厘米<sup>2</sup>),且能发生上述显著诱变效应,这对不易获致纯氮的地区应用氮分子紫外激光器进行诱变育种试验,具有实用意义。

四、上述 $L_1$ 代出现的性状变异与其后代将会产生的变异情况及相互关系,尚在继续进一步的观察和研究。