

文章编号 :1003- 8701(2010)03- 0006- 03

激光辐射对水稻表型变异的影响

王 丹,侯军梅,王 蕾,关 峰,马景勇*

(吉林农业大学农学院,长春 130118)

摘 要:本试验利用 3 种不同的激光器(He- Ne 激光器、半导体泵浦全固体激光器、Nd³⁺YAG 固体脉冲激光器)、不同的处理时间(5、10、15、20 min),对两个不同的水稻品种吉粳 88 和吉农大 18 催芽种子进行了处理。结果表明:在水稻品种吉粳 88 的 11 个激光处理材料中,利用半导体泵浦全固体激光器处理 20 min 的处理组其表型变异最明显,抽穗期比未经激光处理的对照晚了 6 d,株高也比对照矮 7.5 cm 左右。利用 Nd³⁺YAG 固体脉冲激光器处理 20 次的处理组的抽穗期也比未经处理的对照晚了 6 d;同样在水稻品种农大 18 的 11 个激光处理材料中,利用 Nd³⁺YAG 固体脉冲激光器处理 20 次的处理组其抽穗期发生了明显的变异,比对照晚了 5 d。利用 He- Ne 激光器处理了 20 min 的处理组抽穗期比对照晚了 4 d,处理 5 min 和 10 min 的处理组虽然有变化,但不明显。利用半导体泵浦全固体激光器处理的 3 组处理组都没有产生明显的变化。

关键词:水稻;激光辐射;表型变异

中图分类号:S511

文献标识码:A

The Influence of Laser Radiation on Phenotypic Variation of Rice

WANG Dan, HOU Jun- mei, WANG Lei, GUAN Feng, MA Jing- yong*

(College of Agronomy, Jilin Agricultural University, ChangChun 130118, China)

Abstract: In this study, germinated seed of rice varieties 'Jinongda 18' and 'Jinongda 18' have been treated with three different lasers (He- Ne laser, diode-pumped all solid-state lasers, Nd³⁺ YAG solid-pulse laser) and different treatment time (5 minutes, 10 minutes, 15 minutes, 20 minutes). The results showed that of the 11 materials of the rice variety 'Jinongda 18', phenotypic variation of which treated by the diode-pumped all solid-state lasers for 20 minutes was the most. Heading was 6 days later than the control and plant height was decreased by 7.5 cm. Heading was 6 days later when treated with Nd³⁺ YAG pulsed laser for 20 times. Also in the 11 materials of rice varieties 'Jinongda 18', heading was 5 days later than CK when Nd³⁺ YAG solid-pulsed laser treatment was used for 20 times. Heading of 20-minutes treatment was 4 days later than CK when He- Ne laser treatment was used. There were some changes in 5-minute and 10-minute treatment groups, but it was not obvious when He- Ne laser treatment was used. Three treatments did not produce significant changes when diode-pumped all solid-state laser treatment was used.

Keywords: Rice; Laser radiation; Phenotypic variation

激光育种是诱变育种的一个新的分支。它是一种热物理学过程,通过激光辐射农作物,诱发生物遗传结果改变,甚至发生突变,从而培育有利的变异后代,获得我们需要的新品种,这种科学方法称为激光育种。国外从 20 世纪 60 年代开始,以美

国、前苏联、澳大利亚、加拿大等国在激光辐射育种起步最早。我国激光育种是从 20 世纪 70 年代初期四川大学生物系进行激光油菜育种研究开始的,现在已在水稻、小麦、玉米、蚕豆、洋葱、黄瓜、甜菜等方面有所研究^[1]。至今有 30 多年的历史^[2]。激光在各学科中得到广泛应用,适当强度的激光照射在诱发水稻性状发生遗传变异上效果明显,而且株型、株高等性状变异类型丰富,为选育新品

收稿日期:2010-03-06

作者简介:王丹(1985-),硕士,主要从事水稻新品种选育研究。

通讯作者:马景勇,男,研究员,E-mail: 99n2@163.com

种或改良某些品种特性提供了有利条件^[3]。激光可促使作物增产,提高植物的光合效率、根尖有丝分裂频率等^[4]。辐射处理后代变异率比自然变异率要高 100~1 000 倍,这样就为选育新品种提供了丰富的材料。激光育种使用的激光器有多种^[5],其中,以 CO₂ 和 He-Ne 激光最为常用。湖南省原子能农业利用研究所用 He-Ne 湘矮早 7 号干种子育成了湘早粳 21 t^[6],有利于增强细胞的生物能力、促进种子发育、提高光合效应、缩短成熟期和增强作物的抗病能力。刘文杰^[7]等用 He-Ne 激光照射水稻种子,发现激光照射可诱发核基因突变,如株型、株高、粒重、品质等性状变异,并可真实遗传。本实验就是以激光辐射水稻,使其产生新的遗传变异,观察水稻的表型变异情况,对其中优良变异后代进行定向选择和培育,选育出符合育种目标的优质水稻新品种。

1 材料与方法

1.1 试验材料

水稻(*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*)栽培品种为吉粳 88 和吉农大 18,由吉林农业大学农学院水稻研究所提供。

1.2 试验方法

表 1 激光器参数

激光器	光	波长(nm)	功率	工作方式
He-Ne 激光器	红光	632.8	15 mw	连续
Nd ³⁺ YAG 固体脉冲激光器	红外光	1064	4 kw	脉冲
半导体全固体激光器	绿光	532	8 mw	连续

2007 年,在长春大学利用 He-Ne 激光器、Nd³⁺YAG 固体脉冲激光器和半导体泵浦全固体激光器这 3 种不同的激光器(表 1)对已浸种发芽的两种不同品种的水稻种子进行不同次数或不同时间的激光辐射处理,处理后的种子按常规栽培方法播种育苗,进行常规的田间管理。4 月 11 日播种,5 月 25 日插秧,行株距 30 cm× 20 cm,由于成苗少,每个处理组插 1 行,插单棵,生育期间记录抽穗期,并调查株高上的变异情况,共设 24 组处理材料(表 2)。

表 2 激光处理水稻试验参数

品种	处理编号	波长 (nm)	功率	照射时间(min)	株数	品种	处理编号	波长 (nm)	功率	照射时间(min)	株数
吉粳 88	ck	0	0	0		农大 18	ck	0	0	0	
	1	632.8	15 mw	5	5		12	632.8	15 mw	5	5
	2	632.8	15 mw	10	5		13	632.8	15 mw	10	5
	3	632.8	15 mw	15	4		14	632.8	15 mw	15	5
	4	632.8	15 mw	20	6		15	632.8	15 mw	20	5
	5	532	8 mw	10	5		16	532	8 mw	10	5
	6	532	8 mw	15	5		17	532	8 mw	15	5
	7	532	8 mw	20	2		18	532	8 mw	20	5
	8	1 064	4 kw	6	4		19	1 064	4 kw	6	5
	9	1 064	4 kw	10	4		20	1 064	4 kw	10	5
	10	1 064	4 kw	15	5		21	1 064	4 kw	15	5
11	1 064	4 kw	20	5	22		1 064	4 kw	20	8	

2 结果与分析

水稻生育期间对激光处理的水稻群体进行了表型变异情况调查,发现 22 个处理材料均发生了不同程度的表型变异,依处理时间强度从弱到强,

水稻植株的变异情况从小到大;发现不同的激光器对水稻植株的变异情况不同,22 个处理材料中有 10 个处理组出现了较明显的变异,其中 6 个处理组均是处理最长时间的处理组,但不同处理之间出现的变异规律不明显。



图 1 农大 18 的表型变异情况



图 2 吉粳 88 的表型变异情况

在水稻品种吉粳 88 的 11 个激光处理材料中,从 3 种激光器上看,利用半导体泵浦全固体激

激光器处理的材料,在抽穗期和株高上发生了较明显的表型变异;从处理时间来看(表 3),每个激光

器的最大处理时间、最大处理强度的处理组发生的变异情况是最明显的。其中利用半导体泵浦全固体激光器处理情况来看,表型变异最明显的是处理时间为 20 min 的处理组,其抽穗期比未经激光处理的对照晚了 6 d,株高也比对照矮 7.5 cm,

处理时间 10 min 和 15 min 的变异情况不是很明显。其他两个激光器处理之后的变异情况和半导体泵浦全固体激光器的变异情况是基本一样的。其中利用 Nd³⁺YAG 固体脉冲激光器处理了 20 次处理组的抽穗期也比未经处理的对照晚了 6 d。

表 3 水稻品种吉粳 88 的激光处理材料

激光器	编号	波长(nm)	功率	时间、次数	抽穗期(月·日)
He-Ne 激光器	H1	632.8	15mw	5	8·06
	H2			10	8·03
	H3			15	8·05
	H4			20	8·08
半导体泵浦全固体激光器	H5	532	8mw	10	8·03
	H6			15	8·04
	H7			20	8·09
Nd ³⁺ YAG 固体脉冲激光器	H8	1064	4kw	6	8·03
	H9			10	8·04
	H10			15	8·04
	H11			20	8·09
	对照				8·03

表 4 水稻品种农大 18 的激光处理材料

激光器	编号	波长	功率	时间、次数	抽穗期(月·日)
He-Ne 激光器	H12	632.8	15mw	5	8·04
	H13			10	8·03
	H14			15	8·07
	H15			20	8·08
	H16			10	8·04
半导体泵浦全固体激光器	H17	532	8mw	15	8·04
	H18			20	8·05
	H19			6	8·07
Nd ³⁺ YAG 固体脉冲激光器	H20	1 064	4kw	10	8·07
	H21			15	8·08
	H22			20	8·09
				对照	

在水稻品种农大 18 的 11 个激光处理材料中,从 3 种激光器上看(表 4),利用 Nd³⁺YAG 固体脉冲激光器处理的材料,在抽穗期和株高上也发生了较明显的表型变异,株高与对照相比矮(图 1);从处理时间来看,每个激光器的最大处理时间强度的处理组发生的变异情况是最明显的。其中利用 Nd³⁺YAG 固体脉冲激光器处理情况来看,处理了 20 次的处理组,其抽穗期发生了明显的变异,比对照晚了 5 d,处理次数 6 次、10 次和 15 次的处理组抽穗期虽比对照晚了 3~4 d,但情况没有处理次数 20 次的明显。利用 He-Ne 激光器处理了 20 min 的处理组抽穗期比对照晚了 4 d,处理了 15 min 的处理组比对照晚了 3 d,处理了 5 min 和 10 min 的处理组虽然有变化,但是不是很明显。利用半导体泵浦全固体激光器处理的 3 组处理都没有产生明显的变化。

3 结 论

不同的激光器对水稻植株的表型变异的影响是不同的,即使在同样的激光器下,不同的处理时

间对水稻产生的影响不同。吉粳 88 处理组中,从激光器来看,利用半导体泵浦全固体激光器处理的材料在抽穗期和株高上发生了较明显的表型变异;从处理时间来看,每个激光器的最大处理时间强度的处理组发生的变异情况是最明显的。

同样农大 18 处理材料中,从激光器上看,利用 Nd³⁺YAG 固体脉冲激光器处理的材料,在抽穗期和株高上也发生了较明显的表型变异;从处理时间来看,每个激光器的最大处理时间强度的处理组发生的变异情况是最明显的。两个品种间相比较,水稻品种农大 18 的表型变异比吉粳 88 的表型变异明显。

本研究通过对水稻吉粳 88 和农大 18 进行各种组合的激光照射,明确激光处理对水稻植株表型变异的影响,为利用激光进行水稻新品种选育提供依据。

参考文献:

- [1] 陈恒雷,徐辉,吕长武,等.激光诱变育种的研究概况[J].激光生物学报,2006(15):436-440. (下转第 20 页)

533bp 的特异条带,结果见图 3。

2.3 表达载体 pCLe1Ri 的检测

对表达载体 pCLe1Ri 进行酶切检测。以 *Xba* I 和 *Pst* I 双酶切表达载体 pCLe1Ri, 得到 527bp 大小的正义片段条带; 以 *Hind* III 和 *Bst* EII 双酶切表达载体 pCLe1Ri, 得到 527 bp 大小的反义片段条带; 以 *Pst* I 和 *Hind* III 双酶切表达载体 pCLe1Ri, 得到 750bp 大小的内含子片段条带; 以 *Eco*RI 和 *Xba*I 双酶切表达载体 pCLe1Ri, 得到 1396bp 大小的启动子片段条带。酶切检测结果显示, 其含有种子特异表达启动子、正义片段、内含子片段和反义片段序列, 符合实验设计要求。酶切检测结果见图 4。

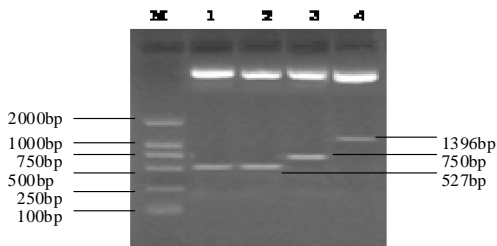


图 4 表达载体 pCSBARi 酶切检测结果

M:DL2000 标准分子量 Marker; 1:正义片段; 2:反义片段; 3:GFP 基因片段; 4:种子特异启动子

3 讨论

大豆凝集素约占大豆总含量的 3%, 是大豆主要营养抑制因子之一, 极大地影响着豆制品的质量。在大豆凝集素的改良中, 人们多采用传统的杂交、回交等方法, 由于受到育种方法和种质资源的限制, 育种时间长, 效果有限。RNA 干扰作用 (RNAi) 是近年来新发现的一种通过 dsRNA 介导的特异性高效抑制基因表达的途径, 其在基因功能研究和生物品质改良中具有广阔应用前景, 越来越受到广大科研工作者的重视^[6-7]。在作物品

质改良中, 如水稻、小麦、玉米中已有一些成功应用 RNA 干扰改良品质的报道^[8-11]。本项研究应用基因工程手段, 克隆了大豆凝集素基因 (*Le1*) 核心保守序列 515bp 片段, 并且构建了在特定器官进行调控大豆凝集素基因的 RNAi 表达载体, 为研究大豆凝集素的基因功能和作用奠定了基础。

参考文献:

- [1] Fire A, Xu S, Montgomery MK, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 1998, 391: 806-811.
- [2] Li J R, Zhao W, Li Q X. RNA Silencing of Waxy Gene Results in Low Levels of Amylose in the Seeds of Transgenic Wheat [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(8): 846-854.
- [3] GUO Zhi-hong, ZHANG Jin-wen, WANG Di, et al. Using RNAi Technology to Produce High-Amylose Potato Plants [J]. *SCIENTIA AGRICULTURA SINICA*, 2008, 41(2): 494-501.
- [4] Zang J. J., Li D. F., Piao X. S., et al. Effects of soybean agglutinin on body composition and organ weights in rats [J]. *Arch Anim Nutr*, 2006a(60): 245-253.
- [5] Li Z. T., Li D. F., Qiao S. Y., et al. Anti-nutritional effects of a moderate dose of soybean agglutinin in the rat [J]. *Arch Anim Nutr*, 2003b(57): 267-277.
- [6] 马建, 刘艺苓, 王丕武, 等. 植物 RNA 干扰的研究进展 [J]. *中国油料作物学报*, 2008, 30(2): 252-259.
- [7] 白描, 杨国顺, 陈石, 等. 植物 RNAi 的特点及其应用研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2009(8): 6-10.
- [8] 李加瑞, 赵伟, 李全梓, 等. Waxy 基因的 RNA 沉默使转基因小麦种子中直链淀粉含量下降 [J]. *遗传学报*, 2005, 32(8): 846-854.
- [9] Kusaba M, Miyahara K, Iida S, et al. Low glutelin con2tent1: a dominant mutation that suppresses the glutelin multigene family via RNA silencing in rice [J]. *Plant Cell*, 2003(15): 1455-1467.
- [10] Pinto Y M, Kok R A, Baulcombe D C. Resistance to rice yellow mottle virus (RYMV) in cultivated African rice varieties containing RYMV transgenes [J]. *Nature Biotechnology*, 1999 (17): 702-707.
- [11] 刘仲齐, 王宁宁, 白艳玲. 利用反义技术和 RNA 干扰技术改良番茄品质特性的研究 [J]. *天津农业科学*, 2006, 12(2): 1-4.

(上接第 8 页)

- [2] 万贤国. 我国植物激光诱变育种的概况 [J]. *激光生物学报*, 1996, 5(3): 865-869.
- [3] 庞伯良, 万贤国. 湘早籼 21 号的选育与激光育种 [J]. *激光生物学报*, 1998, 7(1): 45-46.
- [4] 朱新军, 岳明. 激光对植物的作用及其机理 [J]. *科技情报开发与经济*, 2006(16): 182-184.
- [5] M I Fu shun. Sensitization of HPD to different phases of ra-

dio therapy treatment [J]. *Chinese Journal of Radiation Oncology*, 1990(4): 282 (in Chinese).

- [6] 张俊国, 张三元, 张学臣, 等. 水稻激光育种的研究 I. 种子及减数分裂期幼穗激光处理诱发变异分析 [J]. *吉林农业科学*, 2005, 30(2): 17-20.
- [7] LIU Y. J. Study on the Laser 2induced Hereditary Breeding of Rice [J]. *Applied Laser*, 1991, 11 (2): 88-92.