

不同诱变处理下籽粒苋种子细胞学效应的比较

韩微波¹, 刘丽¹, 李禹尧², 唐凤兰¹

(1. 黑龙江省农业科学院 草业研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院 科技推广处, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:以籽粒苋种子为试材,采用搭载第18颗返回式卫星和⁶⁰Co-γ射线2种方法诱变处理籽粒苋种子,研究了种子根尖细胞学效应。结果表明:太空诱变对籽粒苋的根尖细胞有丝分裂活动无明显影响,γ射线辐照抑制了籽粒苋根尖细胞的有丝分裂,根尖细胞有丝分裂指数并随着γ射线剂量的增加逐渐降低。经卫星搭载和γ射线辐照后,籽粒苋种子根尖细胞均出现了包括微核、桥、落后染色体、游离染色体、粘连染色体等染色体畸变类型,单微核是主要畸变类型。第18颗返回式卫星搭载的辐射剂量相当于⁶⁰Co-γ射线辐照20~30 Gy。

关键词:太空诱变; ⁶⁰Co-γ射线; 籽粒苋

中图分类号:S 544+.9 **文献标识码:**A

文章编号:1001-0009(2017)14-0085-04

诱变育种是创造优良育种材料和培育植物新品种的有效手段^[1]。航天育种(也叫太空诱变育种)作为一种新的诱变育种手段和研究领域,发展速度很快。我国从1987年至今,经过近30年的探索发展,航天育种研究工作取得了可喜的成果,在水稻、小麦、棉花、青椒、番茄、芝麻、牧草等作物上育成和审定了40多个高产、优质、多抗的农作物新品种,获得了一批有可能对产量和品质等重

第一作者简介:韩微波(1979-),男,陕西兴平人,硕士,副研究员,现主要从事牧草种质资源创新与诱变育种等研究工作。E-mail:alclever@163.com。

基金项目:中央引导地方科技发展专项资助项目(ZY16C05);优质饲料作物育繁推一体化资助项目。

收稿日期:2017-02-27

要经济性状有突破性影响的罕见突变^[2-3]。但是太空诱变是一个包含多个因素的复合诱变源,诱变剂量较难量化。

籽粒苋(*Amaranthus hypochondriacus* L.)属苋科苋属一年生草本植物,茎叶柔软多汁,清香可口,适口性好,各种畜禽和鱼类均喜食。该研究利用我国发射的第18颗返回式卫星搭载籽粒苋种子,返回地面后通过观察根尖细胞有丝分裂、染色体畸变、微核等指标的变化,与⁶⁰Co-γ射线辐照和未经处理的种子进行对比分析,探讨太空诱变对籽粒苋根尖的细胞学效应,并以⁶⁰Co-γ射线进行太空诱变剂量估计,为揭示太空诱变籽粒苋的作用机理和开拓作物诱变育种新途径提供参考依据。

the plant community structure and improving the function of urban green space to control PM_{2.5}. The results indicated that the purification ability of lawn with few trees to PM_{2.5} was significantly lower than that of woodland; PM_{2.5} removal percentage of mixed broadleaf-conifer forest was larger than that of broad-leaved forest and coniferous forest. ρ (PM_{2.5}) reduction rate of green space had the significantly positive correlations with the diameter at tree's breast height, and the insignificant positive correlations with plant height and crown width. The stand with too large density or crown density could lead to a rise in PM_{2.5} concentrations in green space.

Keywords: park green spaces; plant configuration; PM_{2.5}; removal percentage

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试晚熟籽粒苋种子由黑龙江省农业科学院草业研究所提供。

1.2 试验方法

1.2.1 诱变处理

取 5 g 籽粒苋干种子搭载于第 18 颗返回式卫星(用 SP 表示),该卫星于 2003 年 11 月 3 日 15:20 在酒泉卫星发射中心发射升空,卫星搭载质量 50 kg,近地点 200 km,远地点 350 km,轨道倾角 63°,周期 90 min。卫星经 18 d 太空运行,于 11 月 21 日在四川省遂宁地区成功回收,收回的种子冷藏保存。同批相同质量的籽粒苋干种子采用黑龙江省农业科学院玉米研究所⁶⁰Co-γ 钴源进行照射,射线的剂量分别为 10、20、30 Gy。以同批相同质量不做任何处理的籽粒苋干种子为对照(CK)。

1.2.2 细胞学观察

将太空诱变处理籽粒苋的干种子(SP₁ 代),置于 20 ℃恒温培养箱萌发露白。低温 0~4 ℃处理 24 h。待根长 1~2 cm 时,剪下根尖用蒸馏水洗净材料,再用卡诺氏固定液(冰醋酸:无水酒精=1:3)固定。固定的籽粒苋根尖用蒸馏水冲洗,然后放入预热 60 ℃的 1 mol·L⁻¹ 盐酸中解离,用蒸馏水冲洗。醋酸洋红染色。显微观察每种处理的籽粒苋 50 个左右根尖^[4],每个根尖随机观察 100~150 个细胞,对根尖染色体畸变及有丝分裂异常的细胞进行计数,计算有丝分裂指数及微核畸变率、染色体畸变率。有丝分裂指数(%)=有丝分裂细胞数/总观察细胞数×100;微核畸变率(%)=微核畸变细胞数/总观察细胞数×100;染色体畸变率(%)=染色体畸变细胞数/总观察细胞数×100。

2 结果与分析

2.1 太空诱变和 γ 射线对 SP₁ 代种子根尖细胞有丝分裂的影响

从表 1 可以看出,经卫星搭载后,籽粒苋根尖细胞有丝分裂指数为 11.33%,略高于对照

(11.31%),这表明太空诱变对籽粒苋的根尖细胞有丝分裂活动无明显影响。而经 10~30 Gy 的 γ 射线辐射以后,籽粒苋根尖细胞的分裂指数明显降低,分别为 8.57%、7.87% 和 6.30%,并随着剂量的增加逐渐降低,这表明 γ 射线辐照对籽粒苋根尖细胞的有丝分裂有抑制作用。

表 1 太空诱变和 γ 射线辐照的籽粒苋根尖细胞有丝分裂指数

Table 1 Mitotic index in root tip cells of the seeds of *Amaranthus hypochondriacus* L. irradiated by aerospace environment and ⁶⁰Co-γ-rays

处理 Treatment	细胞总数 Total number of cells	有丝分裂细胞数 Total number of mitotic cells	细胞有丝分裂指数 Mitotic index /%
CK	4 908	555	11.31
SP ₁	3 636	412	11.33
10	6 519	559	8.57
γ-ray/Gy	20	488	7.87
	30	380	6.30

2.2 太空诱变和 γ 射线对 SP₁ 代种子根尖细胞微核率畸变的影响

从表 2 可以看出,微核被认为是衡量辐射对染色体损伤的可靠指标^[5-6],经卫星搭载后,籽粒苋微核总畸变率为 3.53%,其中单微核畸变占较大比例,为 3.25%。经 10~30 Gy 的 γ 射线辐照后,籽粒苋微核总畸变率分别为 1.84%、3.23% 和 3.61%,随着辐射剂量的增大畸变率呈上升趋势,其中 10 Gy 和 20 Gy 剂量下未观察到多微核的畸变类型,单微核是主要畸变类型。

卫星搭载和⁶⁰Co-γ 射线辐照处理的籽粒苋微核总畸变率大小为 γ 射线 10 Gy < γ 射线 20 Gy < 第 18 颗卫星搭载 < γ 射线 20 Gy,据此可以推断,第 18 颗返回式卫星搭载的剂量相当于⁶⁰Co-γ 射线辐照 20~30 Gy。

2.3 太空诱变和 γ 射线对 SP₁ 代种子根尖细胞染色体畸变类型及频率的影响

从表 3 可以看出,经卫星搭载和 γ 射线辐照的籽粒苋种子根尖细胞均出现了丰富的染色体畸变类型。空间诱变染色体总畸变率为 1.38%,10~30 Gy γ 射线剂量处理的染色体畸变率分别为 1.53%、1.61% 和 1.64%。太空诱变籽粒苋染色体畸变率小于 γ 射线辐照处理。

表 2

太空诱变和 γ 射线辐照下籽粒苋根尖细胞核的畸变率

Table 2 Rate of micronucleus in root tip cells of the seeds of *Amaranthus hypochondriacus* L. irradiated by aerospace environment and ^{60}Co - γ -rays

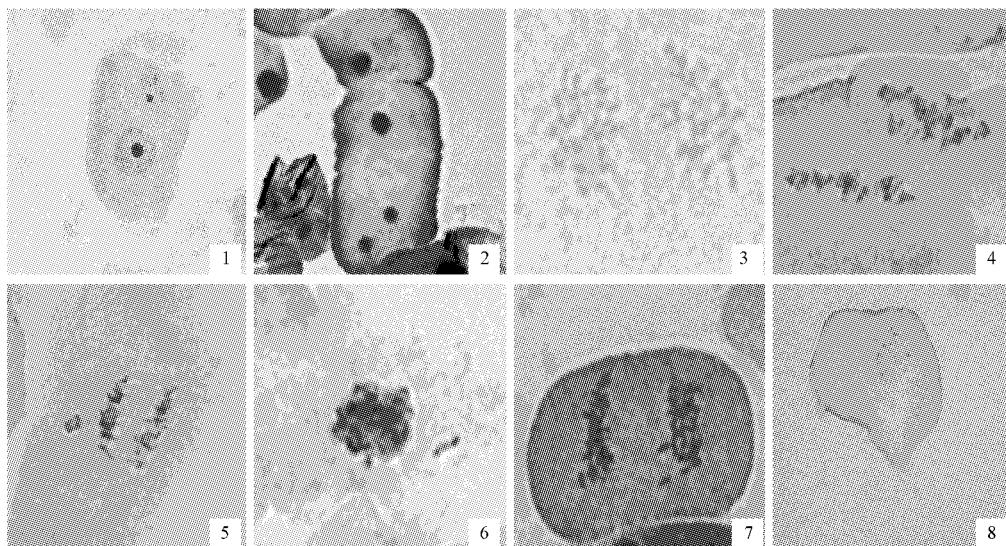
处理 Treatment	细胞总数 Total number of cells	单微核畸变率 Rate of single micronucleus/%	多微核畸变率 Rate of multil-micronucleus/%	微核总畸变率 Rate of total micronucleus/%
CK	4 908	0.00	0.00	0.00
SP ₁	3 636	3.25	0.28	3.53
10	6 519	1.84	0.00	1.84
γ -ray/Gy	20	3.23	0.00	3.23
	30	3.28	0.33	3.61

表 3

太空诱变和 γ 射线辐照下籽粒苋根尖细胞染色体的畸变率

Table 3 Rate of chromosomal aberration in root tip cells of the seeds of *Amaranthus hypochondriacus* L. irradiated by aerospace environment and ^{60}Co - γ -rays

处理 Treatment	细胞总数 Total number of cells	染色体桥总畸变率 Rate of total chromosome bridge/%	染色体落后率 Rate of lagging bridge/%	染色体粘连率 Rate of chromosome fragment/%	染色体游离率 Rate of dissociative chromosomes/%	其它畸变率 Rate of other aberrations/%	染色体总畸变率 Rate of total aberrant types/%
CK	4 908	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SP ₁	3 636	0.55	0.00	0.28	0.28	0.28	1.38
10	6 519	0.46	0.31	0.46	0.15	0.15	1.53
γ -ray/Gy	20	0.48	0.32	0.16	0.32	0.32	1.61
	30	0.33	0.33	0.33	0.16	0.33	1.64



注:1. 单微核;2. 双微核;3. 正常的有丝分裂后期;4. 单桥;5. 多桥;6. 游离染色体;7. 落后染色体;8. 粘连染色体。

Note: 1. Single micronucleus; 2. Double micronucleus; 3. Normal anaphase; 4. Single bridge; 5. Multil-bridge; 6. Dissociative chromosome; 7. Lagging chromosome; 8. Chromosome conglutination.

图 1 空间飞行和 ^{60}Co - γ 射线辐照诱发的籽粒苋细胞染色体畸变

Fig. 1 Different types of chromosome aberrations of *Amaranthus hypochondriacus* L. irradiated by aerospace flight and ^{60}Co - γ -rays

3 讨论

利用我国发射的第 18 颗返回式卫星搭载了不同的植物进行诱变研究,刘丽等^[7]研究表明,太空诱变促进了苦荬菜种子根尖细胞有丝分裂指数,诱发了微核等染色体畸变;张月学等^[8]研究表明,太空诱变促进了苜蓿种子根尖细胞的有丝分裂指数,并产生了微核畸变。该研究中,太空诱变对籽粒苋种子根尖细胞有丝分裂指数没有明显的诱变效果,这表明不同种类的植物对空间环境的敏感性不同。且太空诱变籽粒苋染色体畸变率小于 γ 射线辐照处理,与刘丽等^[7]研究结果相似。

空间环境的特点是强辐射、微重力($10^{-3} \sim 10^{-6}$ g)、弱地磁、超真空($10^{-3} \sim 10^{-6}$ Pa)和超洁净等。飞行器由于飞行高度、轨道倾角、飞行器方向、外壳防护程度以及太阳周期的时期不同,所受的辐射不同。太空中诱变因素及剂量率已经有了很多研究^[9-11]。该研究中以微核作为指标推断,第 18 颗返回式卫星搭载的剂量相当于 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照 20~30 Gy。

参考文献

- [1] 刘录祥,郭会君,赵林姝,等.植物诱发突变技术育种研究现状与展望[J].核农学报,2009,23(6):1001-1007.
- [2] 刘录祥,郭会君,赵林姝,等.我国作物航天育种 20 年的基本成就与展望[J].核农学报,2006,21(6):589-592.
- [3] 韩微波,张月学,唐风兰,等.我国牧草诱变育种研究进展[J].核农学报,2010,24(1):62-66.
- [4] 李懋学,张赞平.植物染得体研究技术[M].哈尔滨:东北林业大学出版社,1991.
- [5] 沈光平,王钦南,周祉祯.微核与染色体畸变的相关性[J].遗传,1985,7(1):15-17.
- [6] 刘录祥,韩微波,郭会君,等.高能混合粒子场诱变小麦的细胞学效应研究[J].核农学报,2005,19(5):327-331.
- [7] 刘丽,唐风兰,张月学,等.空间飞行和 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照对苦荬菜种子的细胞学效应研究[J].草地学报,2007,15(5):469-472.
- [8] 张月学,刘杰淋,韩微波,等.空间环境对紫花苜蓿的生物学效应[J].核农学报,2009,23(2):266-269.
- [9] 韩微波.我国苜蓿空间环境诱变育种研究进展及展望[J].核农学报,2014,28(8):1379-1383.
- [10] 杨垂绪[美].太空放射生物学[M].广州:中山大学出版社,1995:65-66,206.
- [11] 李谨,耿金鹏,曹天光,等.太空诱变育种的研究进展[J].北方园艺,2015(14):189-193.

Cytological Effects of *Amaranthus hypochondriacus* L. Irradiated by Different Mutation Treatments

HAN Weibo¹, LIU Li¹, LI Yuyao², TANG Fenglan¹

(1. Institute of Forage and Grassland Sciences, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Department of Agricultural Extension, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: Dry seeds of *Amaranthus hypochondriacus* L. was used as material, and irradiated by aerospace environment and $^{60}\text{Co}-\gamma$ -ray to study focus on cytological effects in root tip cell. The results showed that mitotic index irradiated by aerospace environment was not distinct difference than control. The mitotic index irradiated by $^{60}\text{Co}-\gamma$ -ray was lower than control, with the increase of $^{60}\text{Co}-\gamma$ -rays dosage; the mitotic index was more lower than control. Seeds irradiated by aerospace environment and $^{60}\text{Co}-\gamma$ -rays, there were different aberrations in root tip cells, such as micronucleus, chromosome bridge, dissociative chromosome, lagging chromosome and chromosome conglutination. The dosage of aerospace environment on 18th recoverable satellite was similar to $^{60}\text{Co}-\gamma$ -ray between 20 Gy and 30 Gy.

Keywords: aerospace environment; $^{60}\text{Co}-\gamma$ -ray; *Amaranthus hypochondriacus* L.