

航天搭载对辣椒 SP₁ 代的诱变效应

郭长虹¹, 于 瑛¹, 王德慧¹, 马 军¹, 郭亚华², 耿月伟²

(1. 哈尔滨师范大学 生命科学与技术学院, 黑龙江省分子细胞遗传与遗传育种重点实验室, 哈尔滨 150025, kaku2008@hotmail.com; 2. 黑龙江省农业科学院 园艺分院, 哈尔滨 150069)

摘 要: 为了研究航天搭载对辣椒的诱变效应, 以 3 种卫星搭载当代(SP₁)的辣椒种子为材料, 对其根尖细胞进行了细胞遗传学分析. 结果表明, 与未搭载对照相比, 航天诱变对辣椒 SP₁ 代种子根尖细胞的有丝分裂产生了促进效应, 同时使根尖细胞产生了微核以及包括染色体桥、染色体断片、多极分裂等在内的多种类型的染色体变异, 说明卫星搭载对辣椒根尖细胞具有诱变效应.

关键词: 辣椒; 航天诱变; 有丝分裂指数; 微核; 染色体畸变

中图分类号: S641.303

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2010)11-1842-03

Cytological effects of space flight on SP₁ root tip cells in pepper

GUO Chang-hong¹, YU Ying¹, WANG De-hui¹, MA Jun¹, GUO Ya-hua², GENG Yue-wei²

(1. Key Laboratory of Molecular Cytogenetics and Genetic Breeding of Heilongjiang Province, College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025, China, kaku2008@hotmail.com; 2. Horticultural Sub-Academy, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150069, China)

Abstract: In order to investigate the genetic effect of space flight on pepper, the mutation on the root tip cells was studied in SP₁ generation. The results showed that aerospace environment increased the mitotic index, and caused micronucleus and chromosomal aberrations including chromosome bridges, chromosome fragments and multipolar division etc. The rate of chromosome aberration and micronuclei were obviously increased in three treated materials compared with the untreated ones, which indicated that cytological mutations were induced by space flight.

Key words: pepper; space mutation; mitotic index; chromosome aberration; micronuclei

航天诱变育种是利用返回式卫星等到达的航天环境对植物(种子)诱变产生有益的变异,经地面选育新种质、新材料,培育新品种的高新技术育种途径和方法^[1]. 航天诱变技术在有效创造特异突变基因资源和培育作物新品种方面已经显示出重要的作用,成为空间生命科学研究的重要组成部分^[2]. 在作物航天诱变育种工作中,对不同作物的不同品种进行诱变后的细胞学效应研究,将有利于材料的选择、诱变效果的提高^[3]. 中国在航天诱变育种方面取得了举世公认的显著成就. 据不完全统计,截至 2007 年,我国已在 45 种植物上诱变育成 741 个突变品种^[4]. 经多年地面种植筛选,先后育

成 60 多个农作物优异新种质、新品系并进入省级以上品种区域试验,其中已通过国家或省级审定的新品种或新组合 30 个^[5].

本研究对经航天搭载的辣椒 SP₁ 代种子根尖细胞进行了观察,研究辣椒根尖细胞有丝分裂指数、染色体畸变率指标的变化规律,探讨航天诱变辣椒根尖细胞的遗传学效应,为植物航天诱变育种机制和辣椒航天诱变育种提供理论参考.

1 材料和方法

1.1 材料

航天搭载的种子由黑龙江省农业科学院园艺分院提供,包括 III-17 SP₁, III-18 SP₁ 种子,以及地面对照种子. 供试材料由首颗航天育种卫星“实践八号”搭载^[6],卫星在近地点为 187 km、

收稿日期: 2009-09-29.

基金项目: 黑龙江省自然科学基金重点资助项目(ZD200818-02).

作者简介: 郭长虹(1968—),女,教授,博士生导师.

远地点为 463 km 的轨道上运行了 355 h (约 15 d), 航程约 9×10^6 km.

1.2 方法

1.2.1 材料制备

将经航天搭载和地面对照的种子, 先用 52 ℃ 温水浸泡, 冷却至室温浸泡 24 h, 将种子用纱布轻轻搓洗, 再用 52 ℃ 温水浸泡, 冷却至室温浸泡 24 h 后轻轻搓洗, 放入铺有双层潮湿滤纸的培养皿中. 置 28 ℃ 恒温条件下萌发. 每天用温水洗涤一次, 以利发芽. 待根长到 1~2 cm 左右时取材, 将根尖转移到卡诺氏固定液 (乙醇与乙酸体积比为 3:1) 中固定 24 h, 蒸馏水冲洗后转入 70% (体积分数) 酒精中, 在 4 ℃ 冰箱中保存. 采用压片法制片, 取出已固定根尖, 蒸馏水冲洗 3 次, 用 1 mol/L HCl 于 60 ℃ 解离 7~8 min, 取出后用蒸馏水冲洗几遍, 希夫试剂染色, 压片镜检.

1.2.2 细胞学观察

每个材料 (包括对照) 观察 10 个根尖, 分别统计细胞有丝分裂指数、染色体畸变率、微核率. 有丝分裂指数是指一定分裂组织或细胞群中处于有丝分裂分裂期的细胞数占其总细胞数的百分数, 它是表示细胞繁殖活动程度的指数, 统计约 6 000 个细胞. 染色体畸变率统计选用分散良好、清晰可见的分裂期细胞约 6 000 个, 统计具有染色体畸变 (如染色体片断、染色体桥等现象) 的分裂相细胞数. 微核的着色与主核相当或稍浅一些, 其形态为圆形或椭圆形, 大小在主核 1/3 以下^[7], 观察约 8 000 个间期细胞, 统计含微核的细胞数. 细胞有丝分裂指数、染色体畸变率、微核率的计算公式如下^[8]:

有丝分裂指数 = (有丝分裂细胞数 / 观察细胞数) × 100 %.

染色体畸变率 = (染色体畸变细胞数 / 观察细胞数) × 100 %.

微核率 = (具有微核的细胞数 / 观察细胞数) × 1 000 ‰.

1.3 数据分析

在 OLYMPUS 显微镜下采用 Leica DFC280 数码显微摄像系统对微核细胞和分裂期具有畸变的细胞进行拍照, 采用 Excel 2007 软件绘制直方图. 运用软件 SPSS 16.0 for Windows (One - Way ANOVA) 进行差异显著性分析^[9].

2 结果与分析

2.1 航天诱变对辣椒根尖细胞有丝分裂指数的影响

辣椒根尖细胞的有丝分裂指数测定结果如

图 1 所示. 经过航天搭载后, III - 17 SP₁、III - 18、III - 31 等 3 个辣椒品种的有丝分裂指数分别从 3.01 %、3.35 %、5.49% 升高至 7.23 %、6.00 %、8.29 %, 达到极显著水平. 这表明航天诱变增加了这 3 个辣椒品种的细胞活性, 明显促进了种子根尖的细胞有丝分裂.

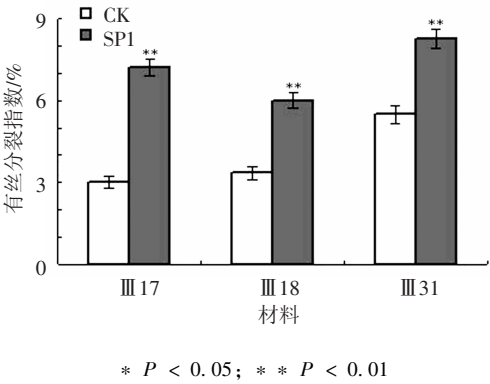


图 1 航天诱变对辣椒根尖细胞有丝分裂指数的影响

2.2 航天诱变对辣椒根尖细胞染色体畸变率的影响

航天诱变对辣椒根尖细胞染色体畸变率的影响见图 2. 经过航天诱变后的辣椒品种空间搭载第 1 代根尖细胞染色体中出现了染色体断片、染色体桥、落后染色体以及多极分裂等畸变, 其中染色体断片和染色体桥是主要的畸变类型. 还看到了染色体双桥和多桥等现象. 测定结果显示出 3 个航天搭载材料的染色体畸变率与对照组相比均大幅度提高, 达到显著差异水平 (P < 0.05).

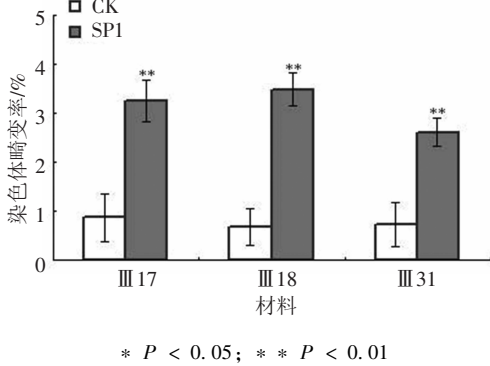


图 2 航天诱变对辣椒根尖细胞染色体畸变的影响

2.3 航天诱变对辣椒根尖细胞微核率的影响

对辣椒根尖细胞的微核千分率进行了测定 (图 3). 结果表明, 地面对照辣椒品系的根尖细胞中几乎看不到微核, 而经航天搭载后, 3 个辣椒品系的根尖细胞中均有微核出现. 其中品系 III - 17 的微核率最高, III - 31 次之, III - 18 最低.

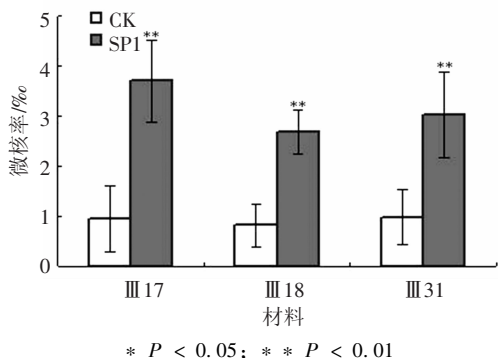


图 3 航天诱变对辣椒根尖细胞微核的影响

3 讨 论

植物种子经空间飞行后,其幼苗根尖细胞分裂会受到不同程度的抑制^[10]或促进^[5,11]. 在本试验中,3 个航天搭载后的辣椒 SP₁ 种子根尖细胞的有丝分裂指数明显增加,细胞分裂活跃程度明显提高. 表明空间环境促进了辣椒根尖的有丝分裂. 在对照材料的有丝分裂间期细胞中微核出现的频率很低,但在航天搭载的材料中均观察到了一定频率的微核. 微核的产生可能是空间环境中的某些因子促进染色体断裂或降低生物自身的修复功能,阻碍染色体断片的愈合,染色体断片由于缺少着丝点,不能随细胞分裂移到细胞两极而停留在细胞质中,经过一个细胞周期形成新的细胞核时,染色体断片在细胞质中凝缩形成的;也可能由于空间环境的作用引起异常分裂、染色体滞后或分组从而由单染色体或几条染色体凝缩而形成的. 在有丝分裂中期观察到了染色体断片,在后期观察到染色体桥和多极分裂等畸变,说明空间环境可以导致染色体断裂,形成染色体断片. 具有着丝点的两条染色单体的断裂端也常常融合,在分裂的后期,着丝点被牵引移向两极,而相连的染色体丝会形成染色体桥,染色体桥可以持续到末期,随细胞分裂也可能形成新的断片.

本研究结果从一定程度上为植物航天诱变育种机制和辣椒航天诱变的研究提供初步的理论参考,但是这种细胞学的畸变与农艺性状及分子水平上的变异还需要进行更多的研究和探索,还需要对诱变后代材料做进一步的分析.

4 结 论

1)空间环境有助于提高辣椒 SP₁ 代根尖细胞有丝分裂指数,促进辣椒 SP₁ 代根尖细胞的有丝分裂. 航天诱变可以增加辣椒 SP₁ 代根尖细胞的细胞活性.

2)空间环境可以诱导辣椒 SP₁ 代根尖细胞产生较高频率的微核和染色体断片、染色体桥、多极分裂等染色体畸变. 航天诱变技术可以诱导产生变异,是创造辣椒突变基因资源的一种有效手段.

参考文献:

- [1] 刘录祥,郑企成. 空间诱变与作物改良[M]. 北京:原子能出版社,1997.
- [2] 刘录祥. 空间技术与空间产业——前景与未来,2003 高技术发展报告[M]. 北京:科学出版社,2003.
- [3] 谢琳,牛应泽,罗谊. 航天诱变对甘蓝型油菜根尖的细胞学效应[J]. 核农学报,2008,22(2):179-182.
- [4] 刘录祥,赵林姝,郭会君,等. 我国作物航天育种 20 年的基本成就与展望[J]. 核农学报,2007,21(6):589-592.
- [5] 谢立波,孟凡娟,黄凤兰,等. 空间环境诱发作物突变的筛选技术及其应用[J]. 核农学报,2008,22(6):811-815.
- [6] RAIN. China Launches 1st Breeding Satellite[J]. Aerospace China, 2006, 7(3):10-11.
- [7] 高雪,胡婧,金毅. EDTA 对蚕豆根尖细胞微核的诱变作用[J]. 氨基酸和生物资源,2004,26(1):35-37.
- [8] 张月学,李成权,申忠宝,等. 太空环境诱变苦苣菜的细胞学效应研究[J]. 草业科学,2007,24(9):38-41.
- [9] 王彤. 医学统计学与 SPSS 软件应用[M]. 北京:北京大学医学出版社,2008.
- [10] 胡延吉. 植物育种学[M]. 北京:高等教育出版社,2003.
- [11] 杜连莹,韩微波,张月学,等. “实践八号”搭载 8 个苜蓿品种细胞学效应研究[J]. 草业科学,2009,26(12):46-49.

(编辑 杨 波)