

辐射诱发柑桔无籽突变机理的研究^{*}

叶自行

(园艺系)

摘要 经辐射处理的甜橙花粉母细胞减数分裂中出现染色体易位、倒位、不联会的单价体等异常现象。由此而引成的花粉形态出现各种变异,育性降低,因而产生无籽少籽的果实。经统计分析,染色体畸变的细胞频率与果实的种子数为显著的负相关,花粉发芽率与果实的种子数为显著的正相关。在各种染色体异常中,不联会的单价体是引起花粉败育产生无籽果实的主要原因。

关键词 染色体;无籽机理;单价体

柑桔无籽性状是一个重要的商品指标。自从1960年Hensz用热中子处理葡萄柚的种子获得了红肉无核的星路比葡萄柚以来,世界各国学者对柑桔辐射育种产生了浓厚的兴趣,我国也广泛地开展了柑桔的辐射育种工作,目前已经选育出了一些无籽的优良品种或突变体^[1~5]。辐射诱变机理在近几十年来有了深入的了解^[2,3,5~7,9~11],但对辐射诱发柑桔无籽突变的原因报道较少,有认为染色体易位导致花粉粒败育不能形成种子^[2],也有通过辐射选育出的无籽突变体,检查其花粉发芽率显著低于对照,退化、畸形花粉明显增加^[3],对于系统地研究辐射诱发柑桔无籽突变机理未见报道。本文以⁶⁰CO γ 射线处理的甜橙,经多年分析鉴定为无籽、少籽的突变体为材料,对辐射引起柑桔育性有关的染色体畸变,花粉形态变异及花粉发芽率等进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

选用经过⁶⁰CO γ 射线处理的甜橙,经过多年果实分析鉴定的无籽、少籽单株为材料,用同品种无辐射处理果实种子数正常的为对照。

1.2 染色体检查

植株现蕾期,上午8:00~10:00时,选择花蕾发育正常,直径大约4~5 mm的单顶花或有叶花,用卡诺液固定24 h,用95%~85%~75%的梯度酒精依次漂洗,最后置于75%酒精保存。用丙酸—水合氯醛—铁矾苏木精染色,压片法制片,在显微镜下观察分裂期的染色体行为。

1.3 花粉电镜扫描

花粉用冰乙酸固定并保存,醋酸酐法分解花粉,梯度酒精逐级脱水,乙酸异戊酯还原花粉原形,在HUS-5GB型真空喷镀仪中镀膜导电处理,用JSM-25S型扫描电镜观

^{*} 本研究为农业部资助的重点科研项目。1990-03-15收稿

察花粉形态并照相。

1.4 花粉发芽检查

花粉培养基:0.3%琼脂+10%蔗糖+90%蒸馏水。把煮好的培养基倒入直径5 cm的培养皿中,将新鲜花粉播种在培养基上,显微镜检查花粉发芽率。

2 观察结果

2.1 花粉母细胞减数分裂行为

2.1.1 染色体异常 经过辐射处理的无籽、少籽的甜橙,在减数分裂过程中染色体有如下几种异常:

(1)染色体环与链:染色体环与链是易位在终变期的表现,常见的有四价环、八价环和四价链(图版1)。(2)单价体:甜橙染色体 $2n=18$,减数分裂染色体配对 $2n=9\text{ I}$ 。但无籽、少籽的甜橙终变期经常观察到染色体数目超过9,这是因为部分染色体在偶线期不联会而出现的单价体,常见的有 $8\text{ I}+2\text{ I}$, $7\text{ I}+4\text{ I}$, $6\text{ I}+6\text{ I}$,有个别细胞甚至全部染色体不配对,成为 18 I (图版2~3)。(3)中期染色体离开赤道板:正常的减数分裂,中期染色体排列在赤道板中,但无籽、少籽的植株常见有些细胞在中期染色体不是全部排列在赤道板中,而是有部分染色体离开赤道板(图版4)。(4)落后染色体:在细胞分裂的后期I,染色体被拉向两极,但无籽、少籽的植株有些细胞含有落后染色体,落后染色体的数目不等,有的细胞有1条落后,有的细胞有多条落后(图版5)。(5)染色体桥:在细胞分裂后期I,有1个染色体联结于两极之间,形成染色体桥(图版6),染色体桥是臂内倒位在后期I的表现。(6)染色体分配不均等:由于辐射的影响,出现染色体分配不均等的现象,在后期I一极的染色体多,一极的染色体少(图版7)。

2.1.2 小孢子的数目异常 甜橙的花粉母细胞在减数分裂完成后,形成4个小孢子。在观察无籽、少籽的植株的四分体期出现不正常的分体,有三分体、五分体、六分体、七分体,甚至更多的分体。多分体之间的大小与对照差异较大,有的比对照大,有的比对照小(图版8~10)。

无籽、少籽植株花粉母细胞减数分裂的各种异常情况的统计见表1,从表1可以看出,1. 经过辐射处理的甜橙,种子数受染色体畸变细胞比例的影响,频率越高,种子越少,两者之间成反比,达到无籽水平的植株(种子3粒以下)的染色体畸变细胞为62.8%以上。2. 个别细胞在同一个细胞内可以同时有两种的染色体畸变现象出现,如四价环+单价体,染色体桥+落后染色体(图版11)。3. 被查植株每株都有两种以上的染色体异常现象出现,如1-1-21有四价环、单价体、染色体桥等多种异常现象。

表1 辐射甜橙不同种子数的植株花粉母细胞减数分裂期染色体出现的各种变异

植株编号	果平均种子数	终变期										后期I								四分体期							
		单价体										单价体								单价体							
		四价环										四价环								四价环							
		8M	7M	6M	5M	4M	3M	18J	+	四价环	正带	落后染色体	染色体桥	落后+桥	观察细胞总数	染色体畸变细胞数	染色体畸变细胞(%)	四分体	三分体	五分体	六分体	七分体	八分以上分体				
1-1-21	0.50	10	7	12	16	16	12	4	4	3	1	22	30	3	140	108	77.14	353	43	44	30	10	21				
4-7	1.90	22	4		25	15	7	3		1	8	14			99	69	69.7										
1-1-14	2.60	11			12	9	6	3	2	1		50	69	1	164	103	62.8										
1-2-18	3.76	50	5	2	98	8	1								164	114	69.5										
5-2	4.81	23			6	8						47	20		104	34	32.7										
CK (4-2-12)	12.0	83			4	1						526	43	3	660	51	7.73	689		34		6					

2.2 花粉形态畸形

在扫描电子显微镜下,甜橙花粉为椭圆形,4条萌发沟,梳状,萌发孔位于萌发沟中央,外壁网眼大,花粉直径20 μm左右(图版12~14)。无籽、少籽植株的花粉出现多种形态变异;有花粉变小,萌发沟变异(包括三沟、二沟,萌发沟变窄,有沟无孔,沟弯曲等),网眼变大、变小等,这些变异的花粉是败育的(图版15~19)。

2.3 花粉发芽率降低

花粉发芽率见表2,从表2可以看出,甜橙辐射后果实的种子数受花粉发芽率影响,种子越少,花粉发芽率越低,种子越多,花粉发芽率越高,两者成正比。达到无籽水平的植株花粉发芽率为7.72%以下。在这些无籽、少籽植株的花粉中,有部分花粉的花粉管生长畸形,如花粉管生长极慢(短),管头破裂,卷缩,纤弱等现象。

表2 甜橙不同种子数植株的花粉发芽率

植株编号	单果平均种子数 (粒)	检查花粉数 (粒)	花粉发芽数 (粒)	花粉发芽率 (%)
6-3	1.70	431	10	2.32
4-7	1.90	585	45	7.70
1-1-14	2.60	726	24	3.31
6-5	2.80	279	17	6.09
6-25	3.70	411	29	6.33
1-2-18	3.76	661	51	7.72
6-6	3.80	589	37	6.30
5-2	4.81	602	88	14.61
2-4	5.30	495	78	15.75
CK(4-14)	11.30	291	151	51.89
CK(3-13)	12.04	306	163	53.26

2.4 果实种子数与染色体畸变细胞频率及花粉发芽率的相关分析

2.4.1 果实种子数与染色体畸变细胞频率的关系 染色体畸变影响果实种子的含量,经分析表明,在一定的范围内,果实种子数随染色体畸变细胞的频率增加而减少,两者之间为显著的负相关(图1)。

2.4.2 果实种子数与花粉发芽率的关系 花粉发芽率高低影响果实种子的含量,经分析表明,在一定的范围内,果实种子数随花粉发芽率的降低而减少,两者之间为显著的正相关(图2)。

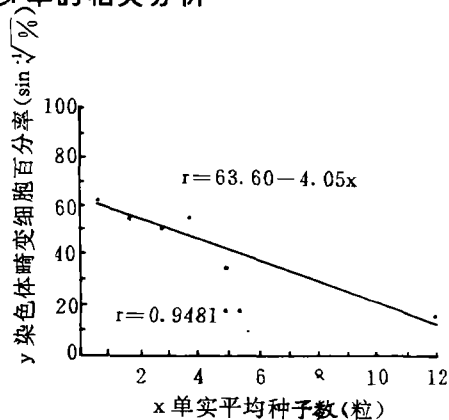


图1 染色体畸变细胞频率与果实种子数的关系

3 讨论

3.1 甜橙经过辐射处理后,能引起花粉母细胞在减数分裂中出现染色体畸变^[8~13],因此,在分裂过程中能看到不联会的单价体、染色体环、落后染色体、染色体桥、染色体分配不均等等异常现象。这些变异使减数分裂中染色体分配发生混乱,产生不育或半不育的孢子,出现无籽、少籽的果实。经统计分析,染色体畸变细胞频率与果实种子数为显著的负相关,花粉发芽率与果实种子数为显著的正相关。

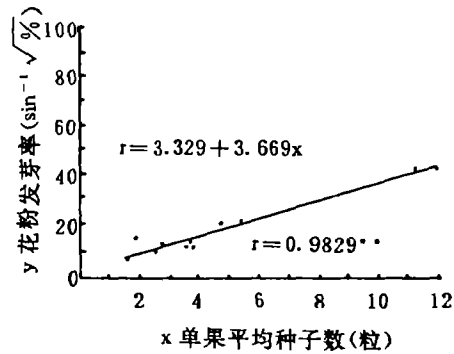


图2 花粉发芽率与果实种子数的关系

3.2 经辐射处理的甜橙在四分体时期,除了四分体外,尚有多于四分体的多分体出现。关于多分体的产生,可能是由于辐射使染色体不联会而出现单价体,这些单价体在后期成为落后染色体,由落后染色体在四分体期组成独立的分体而出现多分体。这与蚕豆受 α 射线照射后在有丝分裂中出现微核相似^[12]。在一个细胞中多分体的数量可能与单价体的数量有关,即单价体多的细胞落后染色体也多,最后形成的多分体数目也多。多分体细胞中的小孢子大小很不一致,形态发生各种变异,这些小孢子染色体分配不均等,是败育花粉。

3.3 由上述分析表明,甜橙辐射处理后虽然发生各种类型的染色体畸变,但主要的变异是由于不联会而产生的单价体,占了变异细胞中的大多数,如1-1-21的单价体细胞占了变异细胞总数的82.4%,4-7占了92.7%,1-1-14占了99.0%,1-2-18占了93.8%,5-2占了100%(表1),而易位和倒位等变异细胞比例极少。因此,甜橙辐射出现不联合的单价体是引起花粉不育、半不育而产生无籽、少籽果实的主要原因之一。

致谢 本文承蒙已故杨子安教授指导。梁元岗教授审阅,黎祖强讲师帮助统计分析,章潜才、杨秉辉工程师帮助拍片,谨此致谢。

参 考 文 献

- 1 陈力耕等. 优良辐射突变体418号红桔. 中国柑桔, 1981, (3): 1~3
- 2 吴绍彝等. ^{60}Co 射线诱发柑桔无籽突变类型的研究. 原子能农业应用——植物突变育种专辑(增刊), 1985, 161~167
- 3 张镜昆. 极少核雪柑的辐射育种初报. 园艺学报, 1987, 14(1): 65~68
- 4 黄柳根. 锦橙辐射育种二代分离的研究. 原子能农业应用, 1983(1): 24
- 5 HII杜比宁(苏). 辐射遗传学问题. 上海: 科学技术出版社, 1964. 78~88
- 6 郭宝江. 辐射诱发染色体畸变的机理. 原子能农业应用, 1981(4): 32~36
- 7 郭宝江. 辐射诱发蚕豆微核的研究. 植物学报, 1984, 26(2): 134~139
- 8 王鸣等. 用 γ 射线诱发染色体易位选育少籽西瓜的研究. 园艺学报, 1988, 15(2): 125~130

- 9 陶华,张伯林.⁶⁰Co γ 射线诱发大麦根尖细胞染色体畸变类型及频率与剂量的关系.原子能农业应用,1984(4):1~6
- 10 汤泽生等.钴-60 γ 射线处理蚕豆干种子的细胞学效应.原子能农业应用,1981(4):27~31
- 11 石荫坪等.果实突变育种.上海:科学技术出版社,1986.79~88
- 12 杜若甫等.作物辐射遗传育种.北京:科学出版社,1981.67
- 13 F.グルテボス.染色体のレクあとはろるま.株式会社,昭和56年3月

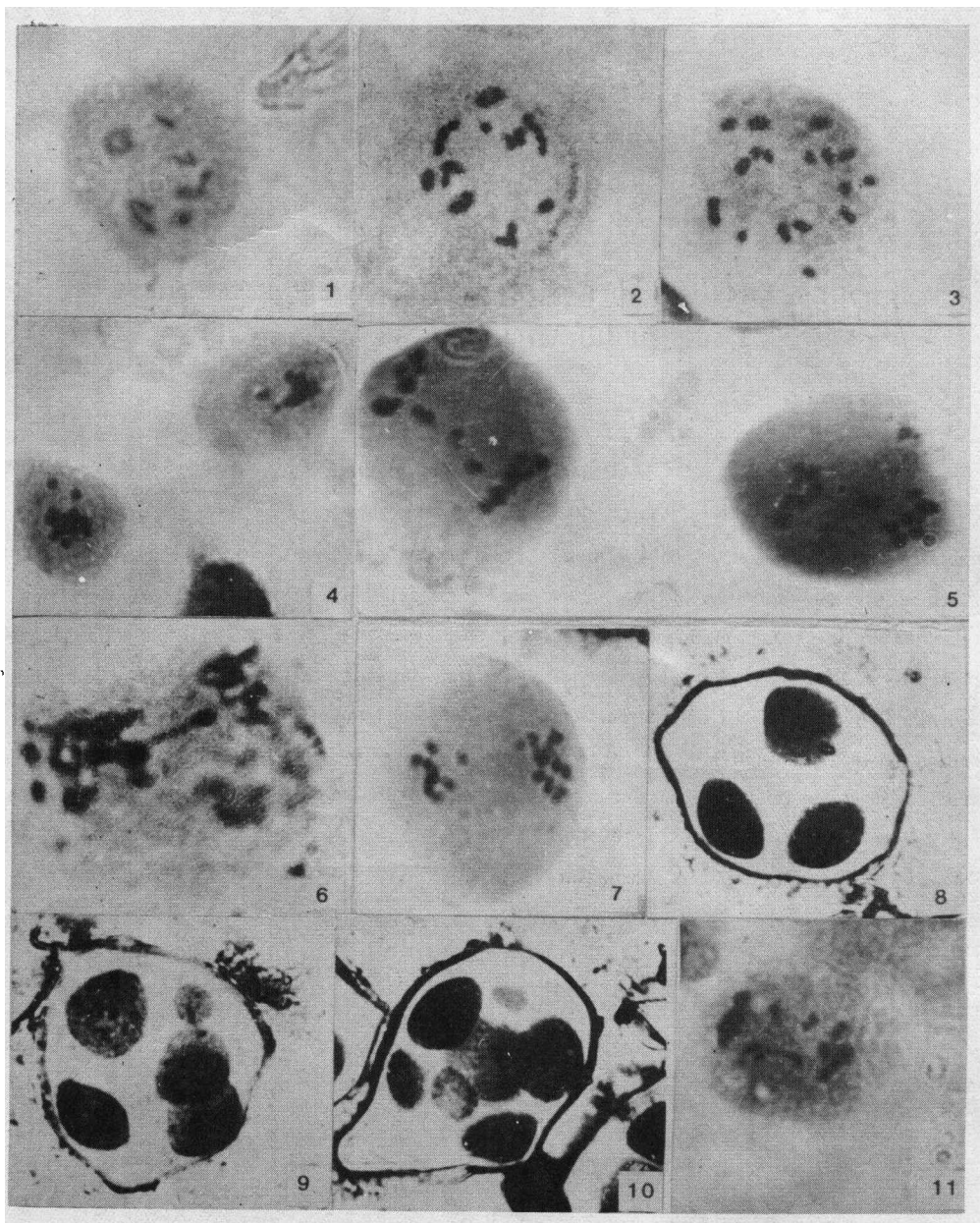
RESEARCH ON MUTATION MECHANISM FOR SEEDLESS FRUIT OF IRRADIATED SWEET ORANGE

Ye Zixing

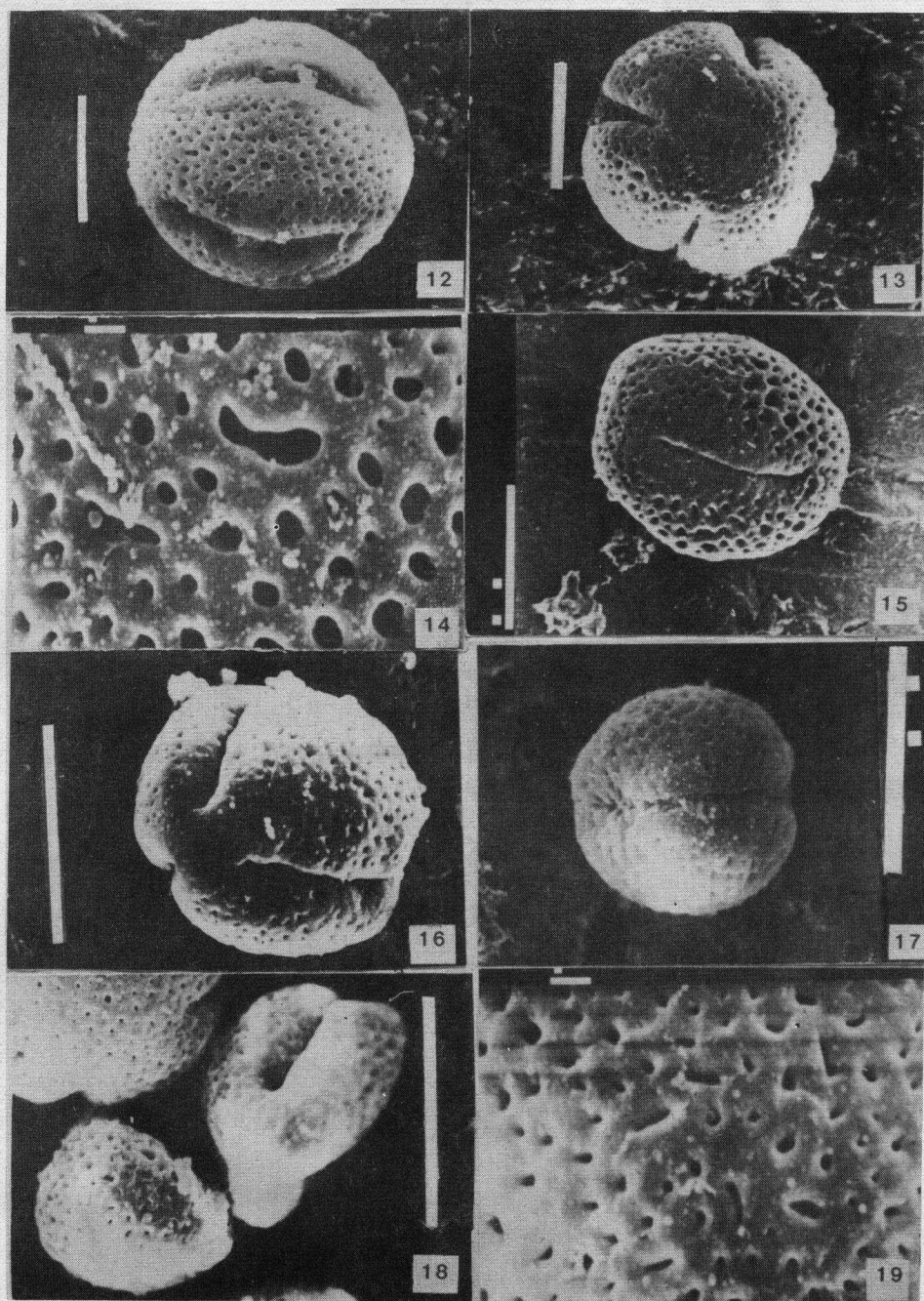
(Department of Horticulture)

Abstract The chromosomes of pollen mother cells of the sweet orange (*Citrus Sinensis* L.) exhibited translocation, inversion and a synapsis during meiosis after irradiation treatment. These chromosomal mutations and abortion in the pollen mother cells resulted in decreased fertility and the production of seedless or commercially seedless fruits. Statistical analysis of the data indicated that there was marked inverse relation between the frequency of cells with chromosomal mutation and number of seeds in fruit; and marked positive correlation between germinative rate of pollen and number of seeds in fruit. Of all the chromosomal aberrations, the appearance of asynaptic univalent and resultant pollen abortion was the major cause of seedless fruits.

Key Words Chromosome; Seedless mechanism; Univalent



图版 1. 染色体易位出现的四价环 2. 不联会出现的单价体 $8\text{II} + 2\text{I}$ 3. 全部染色体不联会 18I 4. 中期 I 部分染色体离开赤道板(左:有三条离开,右:有一条离开) 5. 后期 I 出现的落后染色体(左:三条落后,右:一条落后) 6. 后期 I 出现的倒位桥 7. 后期 I 染色体分配不均等(左极少,右极多) 8. 四分体期出现三分体, 9. 五分体 10. 七分体 11. 后期 I 出现两种异常:染色体桥与落后染色体



12. 13. 14. 甜橙的正常花粉 15. 萌发沟变窄, 无萌发孔, 花粉直径只有 $15\ \mu\text{m}$ 16. 少了一条萌发沟, 为三沟, 17. 药粉特小 ($10\ \mu\text{m}$), 萌发沟窄、无孔 18. 花粉畸形, 直径不到 $10\ \mu\text{m}$, 19. 花粉表面网眼变小。