

重离子辐射诱导水稻花粉母细胞 染色体畸变的研究*

何远康¹ 丘运兰¹ 梅曼彤²

(1. 华南农业大学农学系, 2. 华南农业大学实验中心, 510642, 广州)

摘要 分别用高能重离子 ^{40}Ar , ^{56}Fe , 与 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线照射水稻边皮占干种子, 观察 M_1 , M_2 的生长发育及花粉母细胞减数分裂各时期出现的染色体畸变。结果表明 M_1 结实率与染色体畸变率均与辐射剂量显著相关。重离子辐射比 γ 射线更有效减少结实率及诱导染色体畸变, M_1 成苗率与结实率及 M_1 , M_2 花粉母细胞染色体畸变率的相对生物学效应值均大于 1。 M_2 花粉母细胞染色体畸变率较低, 但仍与剂量呈线性关系, 且 γ 射线诱导畸变率在 M_2 下降高于重离子诱导的结果, 可见与 γ 射线相比, 重离子辐射对染色体损伤后的修复较少。

关键词 重离子辐射; 水稻; 染色体畸变; 相对生物学效应

中图分类号 Q345.2

近年来国内外已报导高传能线密度(简称 LET)的重离子辐射处理玉米、水稻等种子诱发各种变异(丘运兰等, 1991; 左清凡等, 1991; 余增亮等, 1991; 郭宝江等, 1982; Ma T et al, 1980), 研究表明重离子束具有处理剂量较低, 诱导损伤较少, 变异率较高, 变异谱较广等优点, 为辐射育种开辟了新的途径。

染色体畸变是监测诱变源生物效应的重要指标。已报导对离子束辐照种子后 M_1 植株根尖细胞或花粉母细胞染色体畸变的观察(卫增泉等, 1991; 刘振声等, 1991; 朱凤绥等, 1993), 但鲜见染色体畸变从 M_1 追踪观察到 M_2 的报导。为了从细胞学水平探讨不同辐射对水稻诱变的机理, 本文观察了 3 种辐射处理诱导水稻 M_1 和 M_2 花粉母细胞中的染色体行为, 并分析其与育性之间的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

供试品种为华南早籼地方品种边皮占, 由华南农业大学农学系遗传研究室提供。辐射处理的干种子含水量为 13% ~ 14%。

1.2 辐射处理

部分供试种子于 1988 年 12 月由美国伯克利加利福尼亚大学 Lawrence Berkeley 研究所的大型线性——回旋组合加速器以 ^{40}Ar , ^{56}Fe 离子束处理。 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线处理则在华南农业大学广东辐照中心进行。以未经处理的同批种子作对照。辐射参数见表 1。

1.3 生育期观察

1993-11-04 收稿

* 国家自然科学基金资助项目

表1 本试验所用辐射的主要参数

辐射类型	⁶⁰ Co-γ	⁴⁰ Ar	⁵⁶ Fe
起始能量	1.17 MeV	570 MeV/u	600 MeV/u
LET/GeV·m ⁻¹	0.27	90.00	190.00

1989 年春取已处理种子和对照种子各100 粒浸种催芽, 调查发芽率, 移植前调查成苗率, 并以对照区为 100% 换算为相对成苗率。成苗植株在华南农业大学试验场种植, 生长发育时期作调查, 成熟期每处理区随机取 50 株考种, 统计各处理区平均结实率, 并以对照区为 100% 换算为相对结实率。M₂ 以株行法种植, 结实率统计法与 M₁ 相同。

1.4 减数分裂的染色体观察

花粉母细胞减数分裂期间随机取分蘖幼穗用 1:2 丙酸铁盐乙醇固定 48 h 后于 70% 乙醇中低温保存。各处理区取 15~20 个幼穗, 每个幼穗观察 2~3 个小穗, 用改良卡宝红与丙酸洋红双重复染。每个小穗在显微镜下观察约 200 个花粉母细胞。统计出现染色体畸变的细胞数, 计算染色体畸变率。

1.5 数据处理

相对成苗率和相对结实率与辐射剂量 D(Gy) 的关系均用最小二乘法拟合 $y=a+bD+cD^2$ 曲线模式。染色体畸变率与剂量关系则拟合 $y=a+bD$ 直线模式。

2 结果与分析

2.1 辐射对 M₁ 生长发育的影响

处理后种子发芽率比对照区略有降低, 但与辐射剂量无明显相关性。3 种辐射均对水稻幼苗的成苗率有明显抑制(图 1), 且抑制程度因不同辐射而异, 铁离子辐射影响最大, 剂量较低时种子已严重损伤, 剂量达 120 Gy 时, 种子播种 7 天后只有 4 条幼苗存活, 4 周后全部死亡。

由图 2 看出, LET 最高的铁离子束随剂量增加, 结实率降低最显著, 氩离子束次之, 此结果与辐射处理后动物细胞存活率与剂量关系相似(Mei et al, 1986)

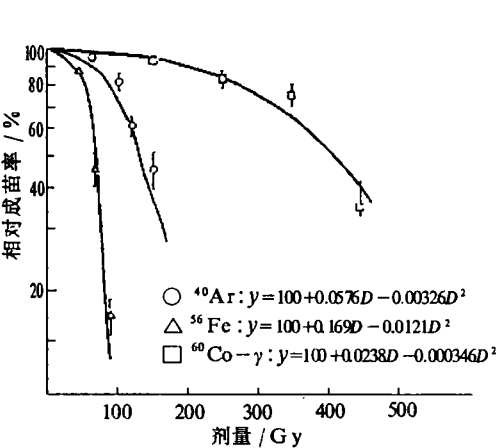


图 1 水稻 M₁ 相对成苗率与剂量的关系

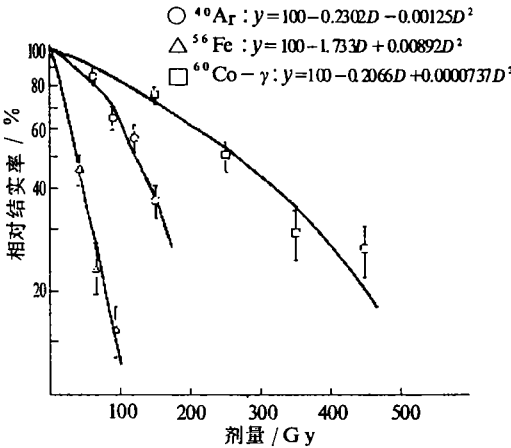


图 2 水稻 M₁ 相对结实率与剂量的关系

2.2 辐射诱导 M₁ 花粉母细胞的染色体畸变

观察水稻花粉母细胞发现种子经辐射处理后受到的损伤一直延续到细胞分裂的各个时期,且出现多种染色体畸变类型(图版 I)。如前期 I 终变期有四体环;后期有落后染色体,后期 I 和后期 II 有染色体断片和很少量染色体桥;末期有大小不等的染色体断片和微核,偶尔看到三极分离的三核。各处理区的染色体畸变率均明显高于对照区,且随辐射剂量增高而上升(图 3)。

由图 3 看出铁离子束诱导的染色体畸变率最高,氩离子束次之。再与图 2 比较得出,随着剂量增高,染色体畸变率上升而育性下降。这表明辐射处理种子后导致的损伤引起染色体结构变异,最终影响雌雄配子的育性。3 种辐射中铁离子束引起的损伤最大,诱导的染色体畸变率最高,育性也最低。

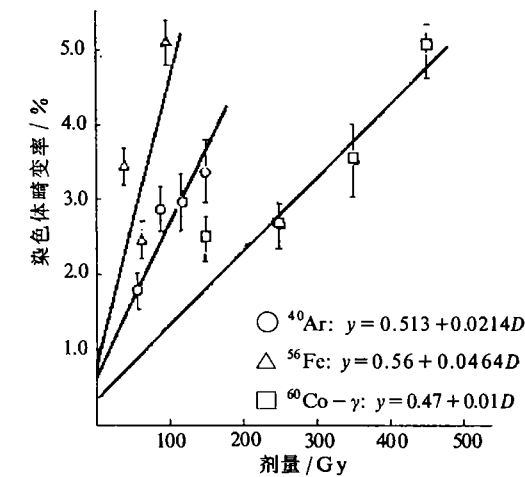


图 3 水稻 M₁ 花粉母细胞染色体畸变率与剂量的关系

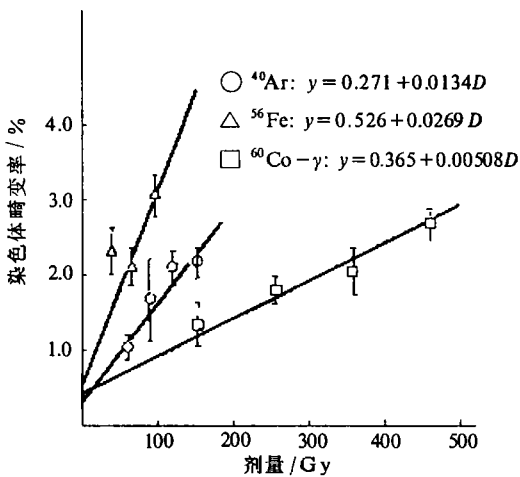


图 4 水稻 M₂ 花粉母细胞染色体畸变率与剂量的关系

2.3 M₁ 的辐射损伤对 M₂ 的影响

为了探讨 M₁ 的辐射损伤对 M₂ 的影响,追踪观察各处理区的 M₂ 花粉母细胞染色体畸变率和相对结实率。由图 4 看出,各处理区的 M₂ 花粉母细胞染色体畸变率与 M₁ 相比均明显下降,但仍高于对照区。根据图 3 和图 4 对应的直线斜率,可算出对氩、铁离子束和 γ 射线, M₂ 染色体畸变率分别降低为 M₁ 染色体畸变率的 62.6%, 58.0% 和 50.8%, 即经高 LET 离子束处理的种子长成的植株中约有 60% 的花粉母细胞染色体畸变可遗传给后代, 而经 γ 射线处理则降低到 50% 左右。用哺乳动物为材料进行的研究已证明重离子束比低 LET 辐射能诱导更多的遗传物质非修复性损伤(Roots et al, 1990), 从本试验观察 M₂ 的结果看来与此一致。

表 2 M₁ 和 M₂ 的相对结实率

辐 射 类 型		⁴⁰ Ar				⁵⁶ Fe			⁶⁰ Co-γ				对 照
剂 量 /Gy		60	90	120	150	40	65	95	150	250	350	450	0
相 对 结 实 率 /%	M ₁	84.46	64.15	56.09	37.88	45.61	23.75	16.45	74.70	49.98	30.65	27.04	100
		±3.45	±4.77	±4.95	±4.73	±4.75	±4.01	±3.42	±4.19	±5.30	±4.87	±4.57	
	M ₂	95.98	94.39	92.92	89.11	92.19	91.76	85.19	88.37	82.33	63.75	57.56	100
		±2.13	±2.17	±2.58	±5.83	±2.91	±2.91	±5.12	±3.92	±3.90	±5.16	±5.43	

由表 2 看出,在铁、氩离子束处理区,即使 M_1 相对结实率相当低,如铁离子束 95 Gy 处理区低至 16% 左右,但 M_2 相对结实率则普遍回升到大于 85%。与此相比, γ 射线处理区的回升则较少,高剂量区只回升至 60% 左右。这意味着重离子辐射引起的生理损伤在后代恢复较快。

观察 M_2 各处理区均出现多种类型的变异株,如早熟,矮化,叶型变异或出现白条纹,稃尖或叶鞘色变异,粒型变异等。不同类型的辐射诱导的变异类型也略有不同(将另文发表)。

氩离子束 60 Gy 的处理区中有一植株出现叶窄长,稃尖绿色,早熟。进行染色体观察时,发现其花粉母细胞分裂后期 I 出现染色体断片和染色体桥等现象。这意味着表型的性状变异在生殖细胞水平上也有反映。

3 讨论

本研究结果表明,用不同 LET 的 3 种辐射处理水稻种子,对当代成苗,结实以及 M_1 和 M_2 花粉母细胞中染色体结构变异均有一定的影响,而且高 LET 的重离子辐射比低 LET 的 γ 射线有效。表 3 列出以 γ 射线为基准,两种重离子辐射的相对生物学效应(简称 RBE)的值。对 M_1 成功率和 M_1 育性的 RBE 值,在降至对照区 50% 水平的剂量处计算;而对 M_1 和 M_2 花粉母细胞染色体畸变的 RBE 值,在 3% 畸变率的水平上计算。

表 3 处理水稻种子的多种相对生物学效应值

辐射类型	LET/GeV·m ⁻¹	RBE 值			
		M_1 成苗率	M_1 结实率	M_1 花粉母细胞染色体畸变率	M_2 花粉母细胞染色体畸变率
⁶⁰ Co- γ	0.27	1.0	1.0	1.0	1.0
⁴⁰ Ar	90.00	3.10	2.20	2.22	2.42
⁵⁶ Fe	190.00	6.03	6.97	4.48	5.36

由表 3 看出 LET 最高的铁离子束诱发各种效应的能力最强,即 RBE 值最大。两种重离子束诱导 M_2 花粉母细胞染色体畸变的 RBE 值均大于诱导 M_1 同一效应的 RBE 值,这表明与低 LET 辐射相比,高 LET 辐射引起花粉母细胞的染色体畸变在 M_2 保留得较多。

综上所述,本研究通过比较重离子辐射对 M_1 和 M_2 植株育性及花粉母细胞染色体畸变率,证明重离子辐射引起的损伤在生殖细胞中传递率较高,而表现生理损伤的结实率则恢复较快,这也与先前(丘运兰等, 1991; 余增亮等, 1991)提出的某些高 LET 辐射处理植物种子后生理损伤较少而诱变能力较强的看法提供了细胞学的依据。

参 考 文 献

- 卫增泉,刘玉岩,王桂玲. 1991. 重离子对作物胚根细胞中染色体畸变频率的影响. 安徽农学院学报, 18(4): 318 ~ 322
- 丘运兰,梅曼彤,何远康,等. 1991. 加速重离子辐射对玉米的诱变效应. 华南农业大学学报, 12(1): 48 ~ 54
- 左清凡,梅曼彤,卢永根,等. 1991. 加速器氩离子辐射对水稻诱变效应的初步研究. 核农学报, 5(4): 199 ~ 204

- 刘振声,丘泉发,黄文忠. 1991.加速重离子及 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照水稻干种子的当代生物学效应.辐射研究与辐射工艺学报, 9(3):139~144
- 朱凤绥,陆挺,卫俊智,等. 1993. N^+ 离子引起的黑麦染色体易位.作物学报, 19(4):299~303
- 余增亮,邱励俭,霍裕平. 1991. 离子注入生物效应及育种研究进展.安徽农学院学报, 18(4):251~257
- 郭宝江,伍育源,阮继红. 1982. 5 MeV 电子辐射对水稻诱变效应的研究.遗传学报, 9(6):461~467
- Ma T, Kontos G, Anderson J. 1980. Stage sensitivity and dose response of meiotic chromosomes of pollen mother cells of *Tradescantia* to X-rays. Environmental and Experimental Botany, 20:169~174
- Mei M, Craise L M, Yang T C. 1986. Induction of proline prototrophs in CHO-K1 cells by heavy ions. Int J radiat Biol, 50:213~224
- Roots R, Hoolley W, Chatterjee A, et al. 1990. The formation of strand breaks in DNA after high-LET irradiation: a comparison of data from in vitro and cellular systems. Int J Radiat Biol, 58:55~69

CHROMOSOME ABERRATION OF POLLEN MOTHER CELLS OF RICE INDUCED BY HEAVY ION RADIATION

He Yuankang¹ Qiu Yunlan¹ Mei Mantong²

(1 Dept. of Agronomy, 2 Experimental Center, South China Agr. Univ., 510642, Guangzhou)

Abstract The effects on growth, development and meiotic chromosome of pollen mother cells induced by three types of radiation with different LET were investigated after rice seeds were irradiated with these radiations. The results showed that the survival rates, setting rates in the first generation, and the chromosome aberration rates in the first and second generation all were dose-dependent. High LET heavy ion beams, e.g. ^{40}Ar or ^{56}Fe ions, were more effective than that of low LET $^{60}\text{Co}-\gamma$ rays in inducing these effects. Compared with the corresponding chromosome aberration rates in the first generation, all the chromosome aberration rates observed in the second generation were smaller, however, those induced by heavy ions declined less than that of gamma rays, indicating the damage on genetic materials caused by high LET heavy ions was less repairable than that by low LET gamma rays.

Key words Heavy ion radiation; Rice; Chromosome aberration; RBE

