

γ 辐照对小麦幼胚愈伤组织的诱变效果

侯广云 何世贤

(山东省农科院原子能农业应用研究所 济南 250100)

摘要 γ 辐照小麦幼胚愈伤组织, 剂量小于 5 Gy 时, 愈伤组织相对生长速率加快, 细胞和染色体畸变频率较低; 剂量超过 15 Gy 时, 细胞和染色体畸变频率明显提高, 但因愈伤组织生长明显受抑, 而使预后生长不良甚至死亡; 剂量为 10 Gy 时, 既有一定频率的细胞和染色体畸变, 又使愈伤组织预后生长不过分受抑, 可视为育种诱变的适宜剂量。

关键词 小麦 幼胚, 愈伤组织, γ 辐照, 诱变效果

利用小麦适龄幼胚作外植体进行离体培养, 取材方便, 操作简单, 无性系后代还能出现有益的可遗传的变异供育种选择^[1~4]。而将辐射诱变与离体培养技术两者相结合, 在适宜剂量范围内, 则能提高出愈率和分化率^[5], 显著提高无性系后代的变异谱和变异率^[1,2]。若再结合试管苗移栽及一年两代培育技术^[6], 不但可使小苗成活率高达 91%~100%, 而且在 2~3 年内即可获得性状稳定的新株系, 大大缩短了育种年限^[1,2,8]。运用这样的组合育种技术已在较短时间内选育出了一批性状各有特色的优异小麦突变体^[1,2]。有的综合性状优良的突变体已在生产上推广。前人已在小麦幼穗离体培养的影响因素、不同基因型离体培养的反应^[7~9]和幼胚愈伤组织诱变效应^[1,2,5,10]等方面开展了研究工作。为深入研究辐射诱变对小麦幼胚离体培养的效应, 本实验对受不同剂量处理后的小麦幼胚愈伤组织在生长速率和细胞学变异方面进行了观察和分析。

1 材料与 方法

1.1 愈伤组织来源

以鲁麦 14 号小麦为实验材料, 取其田间授粉 11~14 d 的幼胚, 接种于盛放特制的 N_6 培养基(2 mg/L 生长素 2,4-D)的小三角瓶中诱导愈伤组织(平面培养), 每三角瓶接种 10 个幼胚, 共接种 100 瓶, 每 20 瓶为一组, 分 5 组供辐照用。20 d 左右继代一次, 在第 4 次继代前 3 d 左右, 在各组中选出浅黄色鲜脆的愈伤组织备用。

1.2 辐照处理

将上述 5 组中选出的愈伤组织, 分别用 0、5、10、15 和 20 Gy 的剂量进行 ^{60}Co γ 照射, 剂量率为 3 Gy/min, 用硫酸亚铁剂量计测定辐照剂量。照射后立即转移至新鲜培养基上供生长速率和细胞学变异观察。以 0 Gy 剂量的处理作为对照。

1.3 愈伤组织生长速率

愈伤组织量用鲜重表示。

农业部“八五”重点资助项目

收稿日期: 初稿 1995-11-02, 修回 1996-02-26

愈伤组织相对生长速率 = $\frac{\text{处理愈伤组织增长量} / \text{处理愈伤组织接种量}}{\text{对照愈伤组织增长量} / \text{对照愈伤组织接种量}} \times 100\%$

1.4 细胞学观察

取不同剂量处理的愈伤组织先置于蒸馏水中, 在 4℃低温下预处理 24 h, 然后用固定液(甲醇:冰乙酸=3:1)固定 2 h, 再用 1 mol/L HCl 在 60℃恒温条件下水浴解离 10 min, 蒸馏水冲洗后, 用涂片法制片, 醋酸洋红染色 10 min, 在显微镜下观察。

2 结果与分析

2.1 γ 辐照对愈伤组织生长的影响

对于经不同剂量 γ 辐照处理后的小麦幼胚愈伤组织, 分别在辐照处理后的第 20 d、40 d 和 60 d 观察其生长量, 并计算其相对生长速率, 示于图 1。

由图 1 可看出, 5 Gy 小剂量辐照时, 愈伤组织的相对生长速率高于对照。说明小剂量照射对愈伤组织生长具有刺激效应, 但这种刺激效应随时间的延长逐渐消失。对于用 15 Gy 和 20 Gy 剂量照射的愈伤组织, 其在 60 d 内的相对生长速率均低于对照。对同一剂量而言, 随着时间的延长, 愈伤组织相对生长速率的下降幅度也越来越大。例如经 15 Gy 剂量照射后, 20 d 时的愈伤组织相对生长速率为 62.35%。60 d 时则仅为 9.32%, 继续培养后, 多数愈伤组织丧失胚性, 生长差, 转接后逐渐死亡。当剂量为 20 Gy 时, 愈伤组织生长缓慢, 5 d 后颜色变褐, 继代 1 次后绝大部分死亡或全部死亡。可见高剂量照射对小麦幼胚愈伤组织具有抑制生长效应, 且随着剂量的增加, 抑制效应越明显。

为了解 γ 辐射对小麦幼胚愈伤组织细胞大小的影响, 将 10 Gy 剂量和未辐照的进行了比较(表 1)。未辐照的细胞长度均在 0~450 μm 范围内, 且以 51~250 μm 范围内的细胞数目最多, 占 92%, 其细胞总平均长度为 156 μm 。而辐照 10 Gy 时, 细胞长度的分布范围扩展到 51~650 μm 甚至大于 650 μm 。以 151~350 μm 范围内的细胞数目分布最多, 占 66%, 其细胞总平均长度为 269 μm 。在细胞学观察中, 还发现一些不规则的巨型细胞。这类细胞内含物较少, 着色浅, 甚至不着色, 在培养过程中一般不再分裂。

2.2 γ 辐射对愈伤组织细胞分裂的影响

小麦幼胚愈伤组织经 γ 辐照后, 其细胞变异性是多种多样的。对细胞分裂中出现的多核

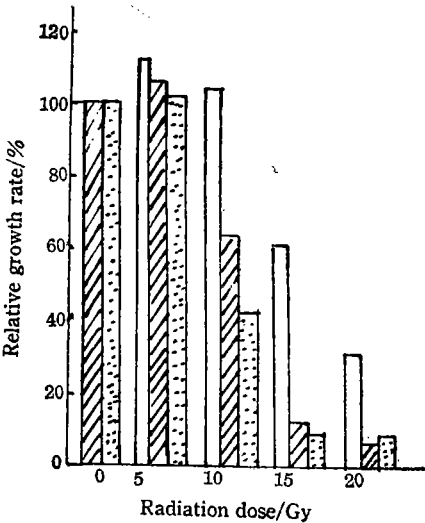


Fig 1. Effect of γ -radiation on the growth of immature embryo callus of wheat
The time after irradiation(d)
(□)20 (▨)40 (▩)60

Tab 1. The effect of γ -radiation on the cell size distribution of immature embryo callus in wheat

Cell length / μm	Number of cells	
	Non-radiation	10 Gy radiation
0~50	2	0
51~150	48	16
151~250	44	40
251~350	5	26
351~450	1	9
451~550		6
551~650		2
650~		1

Note, Counted on the 7 th day after radiation

Tab 2. The effect of γ -radiation on the cell division of immature embryo callus in wheat

Radiation dose/Gy	Normal cell		Binucleated cell		Trinucleated cell		Tetranucleated cell	
	Number	Percent age /%	Number	Percent age /%	Number	Percent age /%	Number	Percent age /%
0	292	97.3	8	2.7	0	0	0	0
5	269	89.6	24	8.0	7	2.7	0	0
10	229	76.3	39	13.0	23	7.7	9	3.0
15	212	70.7	44	14.7	31	10.3	13	4.3
20	187	62.3	73	24.3	23	7.7	18	6.0
Average	238	78.3	38	13.0	17	6.1	8	2.7

Note: Counted on the 8th or 9th day after radiation. Number of counted cells is 300

现象进行了观察分析(表2, 图2-10, 11, 12)。可以看出: 随着辐照剂量的增加, 正常细胞所占的比率越来越低。在多核细胞变异中, 以双核细胞出现的频率最高, 三核细胞次之, 四核细胞出现的频率最低。说明随着辐照剂量的增加, 对小麦幼胚愈伤组织细胞分裂的影响也越来越大, 细胞变异的频率也越来越高。对于育种工作而言, 高的细胞变异频率并非均对育种选择有实际利用价值。因为在大剂量照射时引起的严重的细胞变异往往不利于愈伤组织的修复和分化成苗, 甚至死亡。只有在适宜剂量范围内, 既能引起一定频率的变异, 又不过分影响愈伤组织的修复和分化, 这样对育种工作才有实际利用价值。

2.3 γ 辐射对小麦幼胚愈伤组织染色体畸变的影响

小麦幼胚愈伤组织经 γ 辐射后, 通过镜检可发现染色体畸变类型有: 染色体断片、断片和微核(图2-6)、双着丝粒及多着丝粒(图2-2)、染色体粘连(图2-2)、染色体环(图2-3)、染色体碎片(图2-4, 5)、染色体桥(图2-8, 9)和落后染色体(图2-7)等。上述变异中, 出现频率最高的是染色体断片及微核, 其次为染色体桥和落后染色体, 染色体环出现的频率最低(表3)。不同剂量照射时, 染色体变异细胞数和变异频率随剂量增加而增加。小剂量照射时, 出现染色体变异的细胞数少。大剂量照射时, 出现染色体变异的细胞数目增加, 但染色体出现严重变异或被击成碎片的细胞数目也增加。这种变异往往不易修复而致使细胞逐渐死亡, 这与大剂量照射时愈伤组织生长受抑和分化成苗率低或分化成苗但不易成活现象有关。

Tab 3. Chromosome variation induced by γ -radiation

Radiation dose/Gy	Fragment and micronucleus		Chromosome with double kinetic body		Chromosome ring		Chromosome bridge and lagging chromosome		Total variation frequency /%
	No. of cells	Frequency /%	No. of cells	Frequency /%	No. of cells	Frequency /%	No. of cells	Frequency /%	
0	2	1.0	0	0	0	0	2	1.0	2.0
5	5	2.5	2	1.0	1	0.5	3	1.5	5.5
10	11	5.5	3	1.5	3	1.5	5	2.5	11.0
15	8	4.0	5	2.5	5	2.5	6	3.0	12.0
20	5	2.5	7	3.5	4	2.0	9	4.5	12.5

Note: Counted on the 5th or 6th day after irradiation. Number of observed cells is 200

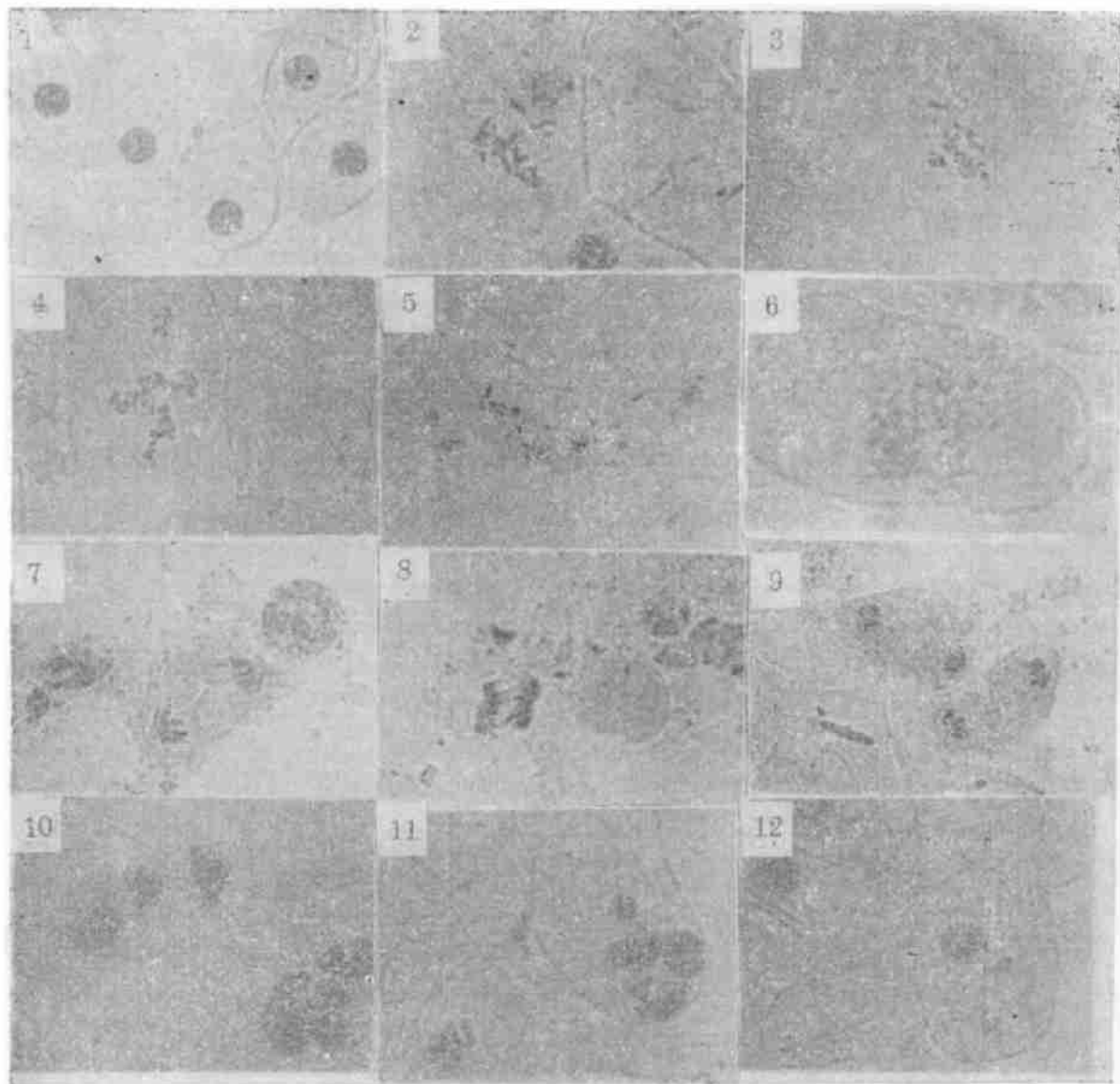


Fig 2. The effect of γ -radiation on the chromosome aberration of wheat immature embryo callus
(1) Normal cell (2) Chromosome adhesion and chromosome with polykinetic body on 5 Gy (3) Chromosome ring on 10 Gy (4) Chromosome fragment on 15 Gy (5) Chromosome fragment on 20 Gy (6) Chromosome segment (7) Lagging chromosome (8) Chromosome poly-bridge (9) Chromosome single-bridge (10) Binucleated and polynucleated cell (11) Polynucleated cell (12) Polynucleated cell (including micronucleus)

参 考 文 献

- 1 何世贤等. 核农学报, 1993, 7(2): 65
- 2 何世贤等. 山东农业科学, 1992, (5): 6
- 3 Larkin P J et al. Theor. Appl. Genet., 1984, 67: 443
- 4 Sears R G et al. Crop Sci., 1982, 22(3): 546
- 5 高明尉等. 中国农业科学, 1987, 20(1): 25
- 6 何世贤等. 山东农业科学, 1993, (3): 13
- 7 肖海林. 北京大学学报, 1989, 15(7): 147
- 8 梁竹青等. 中国农业科学, 1986, 19(2): 42
- 9 曾寒冰. 东北农学院学报, 1989, 20(3): 205
- 10 郑企成等. 核农学通报, 1991, 12(1): 8

γ -RADIATION EFFECT ON THE IMATURE EMBRYO CALLUS OF WHEAT

Hou Guangyun He Shixian

(Institute for Application of Atomic Energy, Shandong Academy of Agricultural
Sciences, Jinan 250100)

ABSTRACT The imature embryo callus of wheat were radiated by γ -rays of different doses. When the dose was below 5 Gy, the relative growth rate of callus increased, the aberration frequency of callus and chromosomes were very low. When the dose was above 15 Gy, the aberration frequency of cells and chromosomes increased significantly, but the growth rate of callus decreased significantly, thus much callus grew so slowly and died. When the dose was 10 Gy, the aberration frequency of cells and chromosomes were not very low, and the growth of callus was not greatly inhibited. So, 10 Gy may be regarded as a suitable radiation dose for wheat imature embryo callus.

KEYWORDS Wheat imature embryo, Callus, γ -radiation, Inductive effect