

大豆 Bragg 超结瘤突变系辐射敏感性的改变^[20]

郭房庆 李 群 顾瑞琦

(中国科学院上海植物生理研究所 上海 200032)

摘要 10.75Gy X 射线照射后, 大豆(*Glycine max* L·merr) Bragg 超结瘤突变系 nts382 和 nts246 第一对真叶叶绿素含量较 Bragg 显著下降($P < 0.05$)。随后发育出的叶片 出现畸型改变, 并呈现叶绿素缺失的斑块。10.75Gy 的照射显著抑制三者的生长, 其中对 nts382 和 nts246 的抑制程度显著高于 Bragg($P < 0.01$)。辐射使 Bragg、nts382 和 nts246 平均每株的结瘤数显著降低, 和对照组相比较, nts382 和 nts246 的下降程度较 Bragg 显著($P < 0.01$)。在抑制结瘤数量的同时, 导致结瘤单瘤重的成倍增加。以上两种现象随剂量的增加更为明显。以上结果表明两个超结瘤突变系的辐射敏感性较 Bragg 有显著的改变。

关键词 大豆, 超结瘤突变系, X 辐射, 辐射敏感性

不同植物之间辐射敏感性相差很大, 有的甚至差达 500 倍之多。同一植物不同品种之间辐射敏感性也存在着相当大差异。Ukai^[1,2]等对 580 个大豆品种或品系间辐射敏感性的差异进行了大量的研究, 认为辐射敏感性是由一对等位基因控制的, 其差异主要是由基因控制的遗传差异造成的。大豆 Bragg 超结瘤突变系品种是由 Carroll 和 Gresshoff^[3,4]用化学诱变法选育成功的。其超结瘤突变由大豆 DNA 突变所引起。这种基因型的改变是否能造成 Bragg 和超结瘤突变系辐射敏感性的差异? 本文从生长发育和结瘤方面探讨了突变系辐射敏感性的变化。

1 材 料 和 方 法

1.1 实验材料

材料为大豆(*Glycine max* L·Merr) Bragg, 超结瘤突变系 nts382 和 nts246 以及 与它们共生的根瘤菌 *Bradyrhizobium japonicum* strain USDA 110。USDA 110 用 BMM 配方培养至 10^9 细胞/ml, 使用时稀释到 $10^8 \sim 10^7$ 细胞/ml 用于接种, 每盆加 1ml^[5]。

1.2 种子预处理

种子先用 70%酒精消毒 2min, 然后用重蒸馏水冲洗 4 次, 在水中浸胀后于 25℃恒温培养箱内避光萌发 48h。将 30 粒萌发种子整齐排列于铺有二层湿润滤纸的培养皿中以进行辐射处理。

1.3 辐射处理

X 射线由国产 F34-I 型深部 X 射线治疗机产生, 200kV、15mA, 滤板 0.25mmCu + 1mmAl, 剂量率 2.15Gy/min。

[20] 国家自然科学基金资助项目

收稿日期: 1996-05-14

1.4 植物材料的培养

对照和辐射处理过的种子每盆 6 粒栽种在 800ml 的粗陶盆中。两个花盆套在一起,上部盆底的圆孔中穿一条 10cm 长的纱布作芯稔,可引下部盆中的水向上,防植物脱水也可引水向下防涝,下部盆底圆孔用水泥封闭。上盆装满石英砂和硅石(1:1)的混合基质,先用自来水冲洗可溶物,再用重蒸馏过的去离子水冲洗,然后用纸包盖,置通常消毒条件下消毒 40min,冷却后播种大豆。植物培养在人工气候室内,氙灯光源,照光 15h。照光时气温 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$,夜晚 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。出苗后每盆选留 4 株,子叶充分张开后接种根瘤菌 USDA 110,每盆加 1ml,随后浇 50ml 营养液以扩散菌种,使接种完全。培养其间每天每盆浇灌 50ml Jensen 溶液^[6]。

1.5 萌发种子成苗和株高的观察

试验中每个处理组用 30 粒种子,三个重复组共用 90 粒种子。播种后 3d 观察种子的成苗状况。从三个重复试验组 90 粒种子中随机选取 30 粒种子于播种后 3d、5d 和 8d 时测量株高。

1.6 叶绿素含量测定

叶绿素含量的测定采用 Arnon^[7]的方法,辐照组 and 对照组均取第一对真叶进行测定。

1.7 结瘤的观察

接种后第 15d,每个处理三个重复组共随机取 30 株,用清水将根部冲洗干净,统计各株根瘤数量。然后每株随机切除 10 个根瘤,用滤纸将水分吸干后称重。

2 结果和讨论

2.1 辐照后亲本和突变系叶型及叶绿素含量的变化

10.75Gy 照射使亲本和突变系第一对真叶叶片叶绿素含量显著下降,凭肉眼就可明显地看出叶色浅绿,而未照射组叶色深绿。Bragg 和突变系 nts382 和 nts246 辐照后第一对真叶颜色均变淡,但三者之间的差别肉眼很难区分。图 1 表示三者照射与对照组叶绿素含量的变化。以对照组含量为 100%,突变系 nts382 和 nts246 的下降幅度显著高于 Bragg。突变系之间比较,nts382 下降幅度比 nts246 稍大。随着植株的进一步发育,复叶的叶片颜色大部分恢复,叶面上仍有小部分的浅绿色的叶绿素缺失斑。随后发育出的叶片出现畸型改变,叶的边缘不规则,叶面积显著减少。Bragg 和两个突变系经辐照都存在这种叶的畸型改变。

2.2 辐射对亲本和突变系成苗和生长的抑制作用

每试验组 30 粒萌发种子,进行 10.75Gy 剂量辐照,3d 后观察各组的苗成活情况。图 2 表示各组的苗成活率。其中辐照后 Bragg 下降程度最小,处理的 nts382 比 nts246 苗成活率均有大幅度的下降。比较而言,nts382 比 nts246 更敏感一些。未能成苗的萌发种子,其胚芽发育停滞,只在子叶的基部分化出 2 个极小的叶,胚芽的发育始终不能超出子叶的高度,这是胚芽生长点严重受损的标志。图 3 表示照射后第 3d, Bagg、nts382 和 nts246 三者生长均受到明显的抑制。其中 Bragg 的相对株高为对照的 61.5%, nts246 为 44.1%, 而 nts382 仅为 24.5%。结果表明,nts382 比较敏感,nts246 次之, Bagg 相对较不敏感。

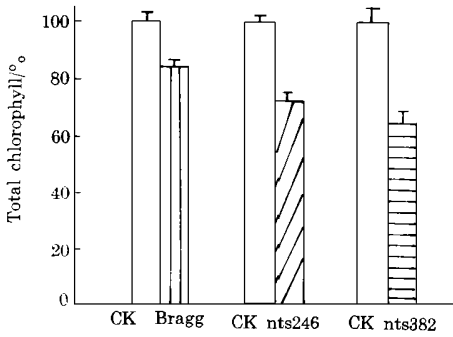


Fig.1 The total chlorophyll changes on the third day after the irradiation of 10.75 Gy

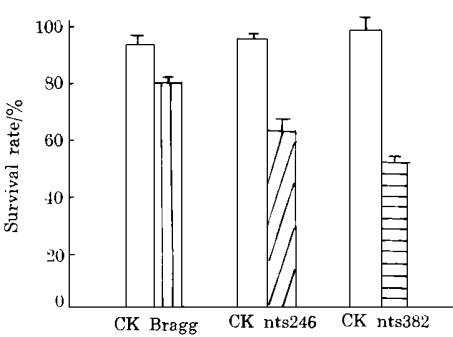


Fig.2 The survival rates on the third day after the irradiation of 10.75 Gy

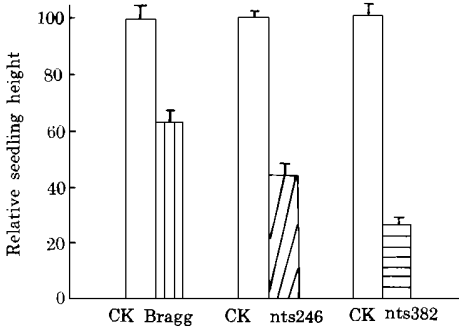


Fig.3 The growth inhibition on the third day after the irradiation of 10.75 Gy

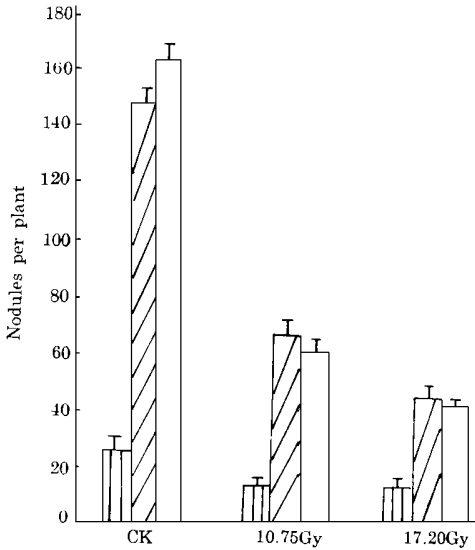


Fig.4 The nodules per plant with the irradiation of 10.75 and 17.20Gy
(▨)Bragg (▤)nts 246 (□)nts 382

2.3 辐射对 Bragg 和突变系结瘤的影响

如图 4, Bragg 和超结瘤突变系 nts382 和 nts246 平均单株结瘤数量相差 6 倍左右。经 10.75Gy 的辐照, 突变系和 Bragg 的结瘤数均明显减少, 但两个突变系结瘤数仍显著高于 Bragg, 但差距缩小到 5 倍左右。从抑制结瘤的强度来看, 处理的 Bragg 的结瘤数相当于对照的 50%, 而 nts382 和 nts246 分别为对照的 39.2%和 41.4%。随剂量进一步增加到 17.20Gy, Bragg 和突变系之间的结瘤数差距缩小到 3 倍左右。Bragg 的结瘤对剂量的大幅度增加并不敏感, 平均单株结瘤数从上一剂量占对照的 50, 下降到 48.8%, 只下降了 1.2%, 而 nts382 从

39.2%下降 27.2%，nts246 从 41.4%下降到 28.2%。以上结果表明，突变系的结瘤状况对辐射较 Bragg 敏感，这种趋势随剂量的增加更为明显。

由于辐射处理对植株生长及结瘤数量的抑制，从而使 Bragg 和突变系所结瘤的平均单瘤重显著增加(见图 5)。以对照组的平均单瘤重为 100%，10.75Gy 照射使 Bragg 的平均单瘤重增至对照的 218.2%，nts382 和 nts246 分别增至对照的 226.6% 和 210.8%。剂量增至 17.20Gy，nts382 和 nts246 的单瘤重分别达到对照组的 349.4%和 311.7%，两个突变系的单瘤重均有大幅度的增加。Bragg 的单瘤重从 10.75Gy 处理的 218.2%增加到 17.20Gy 处理的 223.1%。剂量增加对 Bragg 单瘤重增加的作用不明显，这和辐射对 Bragg 结瘤状况的作用趋势是一致的。

Sparrow^[8,9]发现 ICV 值(间期染色体体积)与辐射敏感性之间有很好的相关性，即 ICV 值越大就越敏感。对以上结论，也有不同的看法，如同一个种的不同品种之间 ICV 相差不大，但辐射敏感性却相差很大^[10,11]。现以 Bragg 和其超结瘤突变体为系统来研究辐射敏感性的差别。由于以前大量的工作均是以不同种或同一种不同品种的植物为供试材料，而利用亲本和突变体的研究则很少。超结瘤突变系 nts382 和 nts246 是利用化学诱变从 Bragg 大豆品种中获得的。化学诱变产生突变一般是以点突变的形式发生的。因此，Bragg 和 nts382、nts246 三者之间的 ICV 值相差极其微小，这也就消除了由于 ICV 值的差异影响三者辐射敏感性的可能性。本结果显示两个超结瘤突变系的辐射敏感性显著高于 Bragg，从而表明化学突变在改变突变系结瘤状况的同时，也改变了它们的辐射敏感性，说明结瘤突变和辐射敏感性之间有某种连锁关系。辐射敏感性的差异表现在萌发种子的苗存活状况、生长和结瘤的抑制作用几个方面。其中值得特别指出的是大豆结瘤状况对辐射处理十分敏感，两个超结瘤突变系表现得更为明显，这为进一步研究辐射和结瘤的关系提供了良好的实验系统。

致谢 大豆 Bragg 以及两个超结瘤突变系种子和根瘤菌均由中科院上海植物生理研究所李止正研究员提供。龚颂福先生在根瘤菌接种中提供帮助，在此一并深表谢意

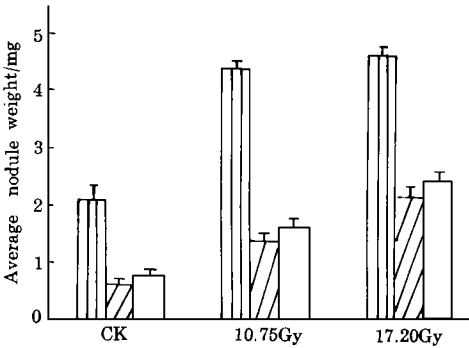


Fig.5 The average nodule weight changes with the irradiation of 10.75 and 17.20 Gy (□)Bragg (▨)nts 246 (■)nts 382

参 考 文 献

1 Ukai Y, Yamashita A· Gamma Field Symp, 1969, (8) :69
2 Ukai Y, Yamashita A· Jap J Genet, 1980, 55(2) :25
3 Carroll B J, McNeil D L, Gresshoff P M· PANS USA, 1985, 82:4162
4 Carroll B J, McNeil D L, Gresshoff P M· Plant Physiol, 1985, 78:34
5 Li Z Z, Gresshoff P M· J Exp Bot, 1990, 41:1231
6 Jensen H L· Proc Linn Soc, NSW, 1942, 66:98

- 7 Arnon D I. Plant Physiol, 1949, 24:1
8 Gunkel J E, Sparrow A H. In: Encyclopedia of Plant Physiology(Ruhland W. ed), 1961, 16:555
9 Ichikawa S, Sparrow A H. Radiat Bot, 1967, 7:429
10 Wangenheim K H, Von Walther F. Radiat Bot, 1968, 8:251
11 Conger B V. Environ Exp Bot, 1967, 16:165

THE VARIATION OF RADIOSENSITIVITY OF SOYBEAN SUPERNODULATED MUTANTS

Guo Fangqing Li Qun Gu Ruiqi

(Shanghai Institute of Plant Physiology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032)

ABSTRACT With 10.75Gy X-ray irradiation, the chlorophyll contents in the first pair of leaves decreased in Bragg and supernodulated mutants. The decreased quantities in nts³⁸² and nts²⁴⁶ were more than that in Bragg. There were a lot of leaf figuration and chlorophyll aberrations occuring in the leaves of Bragg and the mutants. With 10.75Gy treatment, the effects of growth inhibition on nts³⁸² and nts²⁴⁶ were more significant than that on Bragg. The numbers of nodules per seedling in supernodulated mutants more severely decreased than that in Bragg when they were treated at 10.75Gy or 17.20Gy. With the numbers of nodules decreasing, the average weight of the nodule increased in times. These results mentioned above indicated that supernodulated mutants, nts³⁸² and nts²⁴⁶, became more sensitive to radiation than Bragg.

KEYWORDS Soybean, Supernodulated mutants, X-radiation, Radiosensitivity