

$^{12}\text{C}^{6+}$ 辐射后兵豆根尖细胞染色体形态变异分析

强晓霞, 张改相, 张志国

(兰州市第四中学, 甘肃 兰州 730050)

摘要: 室温条件下, 利用兰州重离子加速器装置对兵豆干种子进行 $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐射处理, 观察辐射后 M1 代及 M2 代兵豆幼苗根尖细胞染色体结构的结果表明, 辐射处理后兵豆染色体出现各种畸形, 在 0~60 Gy 辐射范围内, 随着辐射剂量的增加, 兵豆根尖细胞染色体畸变率明显升高, 说明辐射处理能引起兵豆染色体形态异常, 诱发变异。

关键词: 微核; 染色体异常; $^{12}\text{C}^{6+}$ 重离子辐射; 兵豆

中图分类号: S529 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2018)03-0014-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.03.005

Analysis of Chromosome Morphological Variation in the Root Tip Cells of *Lens culinaris* After $^{12}\text{C}^{6+}$ Radition

QIANG Xiaoxia, ZHANG Gaixiang, ZHANG Zhiguo

(Lanzhou No. 4 Middle School, Lanzhou Gansu 730050, China)

Abstract: The aims were to study cytological effects and chromosome morphological variation in the root tip cells of M1 and M2 generation, Dry seeds of lentil (*Lens culinaris* Medic.) were irradiated by penetrating $^{12}\text{C}^{6+}$ ion beams on different doses at room temperature. Accelerated $^{12}\text{C}^{6+}$ ion beams ejected from the terminal of the heavy-ions research facility in Lanzhou. The results show that a variety of deformities of the chromosome after radiation treatment in lentil, with the increase of radiation dose, the chromosomal aberration rate of the root tip cells increased significantly, indicating that the radiation treatment could cause the abnormal chromosome morphology and induce variation between the range of the 0-60 Gy.

Key words: Micronucleus; Chromosome abnormality; High energy $^{12}\text{C}^{6+}$ irradiation; *Lens culinaris* Medic.

兵豆(*Lens culinaris* Medic.)俗称小扁豆, 染色体数目 $2n=14$, 豆科蝶型花亚科野豌豆族(Vicieae)兵豆属(*Lens*)双子叶一年生草本植物。兵豆含多种天然活性物质及维生素 A、E、K 等, 营养丰富, 食用价值高^[1]。兵豆产量较低, 辐射育种是选育高产新品种的有效途径^[2]。我们使用不同剂

量的 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐射兵豆干种子, 并观察辐射后 M1 代、M2 代根尖细胞染色体形态差异。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试兵豆种子由甘肃省农业科学院作物研究所提供。

收稿日期: 2017-11-27

基金项目: 甘肃省“十三五”教育科学规划课题“高中生物生态化课堂的教学实践研究”[GS(2016)GHB0494]。

作者简介: 强晓霞(1985—), 女, 甘肃兰州人, 中学二级教师, 硕士, 主要承担高中生物课程教学和实验教学工作。E-mail: 18293192182@163.com。

通信作者: 张改相(1967—), 男, 甘肃静宁人, 中学高级教师, 主要承担高中生物课程教学和实验教学工作。E-mail: 56238986@qq.com。

技, 1979(4): 57-79.

哈尔滨: 东北农业大学, 2006.

[21] 李心文. 胡麻红花蓖麻栽培技术问答[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010.

[24] 张玉娇. 花生生育动态与模拟模型的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2006.

[22] 孙焕良. 南方红壤区冬季亚麻产业化关键技术研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2007.

[25] 徐丽珍, 周以贤. 亚麻植株生长动态规律的研究[J]. 中国麻业科学, 1990(2): 33-36.

[23] 孙海波. 大豆根系及其与地上部分关系的研究[D].

(本文责编: 陈 珩)

1.2 试验方法

1.2.1 辐射处理 将兵豆干种子固定于有机玻璃盘样品盘上,通过机械装置对样品进行旋转。室温条件下,利用兰州重离子加速器装置对干种子进行辐射,加速器的初始能量为 80.55 MeV/u 的 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子。辐射剂量分别为 0 (CK)、10、30、60 Gy (gray),其中 0 Gy 为对照,即不进行种子处理。通过以下公式计算辐射剂量。

$D [\text{Gy}] = 1.6 \times 10^{-9} \times LET [\text{keV}/\mu\text{m}] \times F [\text{ions}/\text{cm}^2] \times \rho^{-1} [\text{cm}^3/\text{g}]^{[3]}$, 式中 D 表示吸收剂量; LET (linear energy transfer) 表示传能线密度; F 表示单位面积的粒子; ρ 表示密度。

1.2.2 种子萌发 将处理后的 M1 代和 M2 代种子随机取 30 粒,放入底部垫有 2~3 层滤纸的大培养皿中,加入无菌水浸湿滤纸和种子,置 25 °C 光照培养箱中,12 h 光照培养,培养 5~7 d,每天早晚各加水 1 次,根尖长 1~2 cm 时为最佳取样状态。

1.2.3 根尖染色体的取样和观察 切下根尖,长约 1 cm,置于卡诺固定液(无水乙醇与冰醋酸的质量比为 3:1)中固定 8 h,蒸馏水冲洗干净后置于 70% 的乙醇中,4 °C 下保存备用。将固定好的根尖在 5 mol/L 的 HCl 溶液中水解 3 min,再用 1% 的混合酶液(1% 纤维素酶和 1% 果胶酶)水解 5 min,取出置载玻片上,滴卡宝品红染色 1~2 min,盖好盖玻片压片。光学显微镜下观察根尖分生区的细胞,并计数。

1.2.4 根尖染色体畸变率的计算 不同辐射剂量处理各观察根尖 30 个,每个根尖随机选择细胞约

50 个,高倍显微镜下镜检、拍照,计数,统计包括含有染色体桥、微核、滞后染色体、游离染色体等的畸变细胞所占的比例。

染色体桥连率 = (含有染色体桥连的细胞数/观察细胞总数) × 100%

滞后染色体率 = (含有滞后染色体的细胞数/观察细胞总数) × 100%

染色体总畸变率 = (含有染色体畸变的总细胞数/观察细胞总数) × 100%

核畸变率 = (核总畸变数/观察细胞总数) × 100%

2 结果与分析

2.1 M1 代兵豆根尖细胞核与染色体畸变类型及畸变率

未经辐射处理的兵豆根尖细胞染色体有丝分裂前期、中期、后期和末期,染色体形态均正常(图 1 A-D)。经过 $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐射处理的 M1 代兵豆根尖细胞,观察到细胞有丝分裂前期单微核与双微核(图 1 E、F 箭头表示)。中期染色体断裂,分成两部分(图 1 G);中期滞后染色及染色体断片(图 1 H、I),染色体未排列在赤道板中央(图 1 J)。有丝分裂后期染色体单桥与染色体双桥(图 1 K、L)、染色体桥与微核粘连,后期单微核(图 1 M)。分裂期无规则排列的染色体(图 1 N)。在 M1 代根尖细胞中,出现了各种核与染色体畸变类型,如单微核、多微核、染色体桥连、滞后染色体和不均等分裂等。由表 1 可以看出,M1 代根尖细胞中的染色体畸变与微核畸变率,随着辐射剂量的增加而明显增加,在 0~60 Gy 的辐射强度范围内,60 Gy

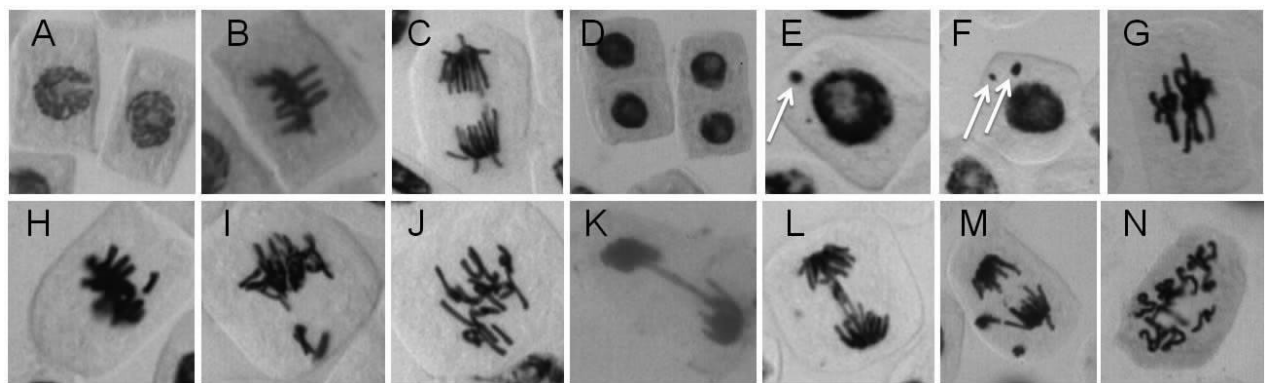


图 1 $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐射处理兵豆 M1 代根尖细胞染色体微核与染色体畸变

[A-D 为对照,根尖细胞有丝分裂前期、中期、后期和末期,染色体形态正常;E 为前期单微核(白色箭头指示);F 为前期双微核(白色箭头指示);G 为中期染色体断裂,分成两部分;H 为中期滞后染色体;I 为中期染色体断片;J 为中期染色体未排列在赤道板中央;K 为后期染色体单桥;L 为后期染色体双桥;M 为后期染色体桥与微核粘连,后期单微核;N 为分裂期无规则排列染色体]

表 1 M1 代兵豆根尖细胞染色体畸变率和微核率^①

辐射剂量 /Gy	染色体桥连 /%	不均等分裂 /%	滞后染色体 /%	染色体总畸变率 /%	微核频率 /%
0(CK)	0	0	0	0	0
10	0.8 ± 0.3	0.2 ± 0.3	1.1 ± 0.4	2.1 ± 0.6	0.33 ± 0.13
30	1.7 ± 0.3	0.4 ± 0.4	2.1 ± 0.6	4.2 ± 1.1	1.43 ± 0.73
60	2.4 ± 0.7	0.5 ± 0.8	3.4 ± 0.9	6.3 ± 1.6	6.78 ± 1.06

①实验重复 3 次, $n=1\ 500$; 下表同。

表 2 M2 代兵豆根尖细胞染色体畸变率和微核率

辐射剂量 /Gy	染色体桥连 /%	不均等分裂 /%	滞后染色体 /%	染色体总畸变率 /%	微核频率 /%
0	0	0	0	0	0
10	0.2 ± 0.1	0	0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.3	0
30	0.2 ± 0.1	0	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.4	0.27 ± 0.23
60	0.6 ± 0.2	0.1 ± 0.1	0.4 ± 0.1	1.1 ± 0.5	0.96 ± 0.12

是最佳辐射剂量, 出现各种突变的概率最高。微核一般来源于染色体断片或由细胞核向外突出并延伸而成。微核率和染色体畸变率是检测诱变源的生物效应和遗传效应广泛采用的遗传损失评估指标, 微核率及染色体畸变率的高低反映了致突变效应能力的大小, 可以快速检测染色体受损程度^[4-5]。

2.2 M2 代兵豆根尖细胞核与染色体畸变率

观察了兵豆 M2 代根尖细胞核及染色体形态。在 M2 代中, 这种微核畸变率及染色体畸变率明显减少(表 2)。可能是由于辐射后代染色体重组、DNA 自身修复等作用, 减少了辐射对后代的染色体损伤。但仍然有一部分染色体损伤和变异是不可恢复的, 如 DNA 片段的缺失, 碱基增加、颠换、异位及染色体缺失、倒位等, 从而造成了后代表型多样性^[6-7]。

3 小结

在 0~60 Gy 重离子 $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐射范围之内, 辐射诱变能引起兵豆根尖细胞核及染色体形态异常, 并随着辐射剂量的增加, 微核畸变率及染色体畸变率明显升高。60 Gy 剂量辐射出现各种核及染色体变异的概率最高。

参考文献:

[1] MONDAL M M A, PUTEH A B, MALEK M A, *et al.* Contribution of morpho-physiological traits on yield of

lentil (*Lens culinaris* Medik L.)[J]. Australian Journal of Crop Science, 2013(7): 1167-1172.

- [2] ZHOU W Q, WU Z L, ZHANG Y C, *et al.* Stable inheritance of excellent agricultural traits induced by $^{12}\text{C}^{6+}$ heavy-ions in lentil (*Lens culinaris* Medik.) [J]. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 2015, 51(1): 29-35.
- [3] NAGATOMI S, Characteristics of chrysanthemum mutants regenerated from in Vitro explants irradiated with $^{12}\text{C}^{5+}$ ion beam[J]. Tokyo International Exhibition Center, 1998, 12: 8-10.
- [4] 袁成凌, 余增亮. 低能重离子生物学研究进展[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2004, 22(1): 1-7.
- [5] 刘忠祥, 徐大鹏, 姚泽恩, 等. ^{252}Cf 裂变中子辐射玉米种子生物学效应初步研究[J]. 华北农学报, 2016, 31(5): 17-77.
- [6] SHIKAZONO N, SUZUKI C, KITAMURA S, *et al.* Analysis of mutations induced by carbon ions in *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 56: 587-596.
- [7] TANAKA A, SHIKAZONO N, HASE Y. Studies on biological effects of ion beams on lethality, molecular nature of mutation, mutation rate, and spectrum of mutation phenotype for mutation breeding in higher plants [J]. Journal of Radiation Research, 2010, 51: 223-233.

(本文责编: 陈 伟)