

文章编号:1000-8551(2005)01-033-04

卫星搭载对凤仙花减数分裂和小孢子的影响

汤泽生^{1,2} 杨 军¹ 刘 平² 袁海云¹ 赵 燕¹

(1. 西华师范大学生物系, 四川 南充 637002; 2. 南充航天农业育种有限公司, 四川 南充 637000)

摘 要:研究了卫星搭载对凤仙花小孢子母细胞的减数分裂和小孢子的影响。结果发现,小孢子母细胞在减数分裂时出现染色体断片、染色体桥和落后染色体等现象。分裂过程中出现染色体分配不均、多极分裂和多核现象,进而形成多分孢子,且多分孢子的染色体数目不一致。发现小孢子的有丝分裂也出现异常,细胞内部的染色体数目多少也不一致。碘液染色后检测小孢子的育性,不同植株的小孢子的育性有差别。

关键词:凤仙花;减数分裂;卫星搭载;染色体;小孢子;变异

EFFECT OF SPACE FLIGHT ON MEIOSIS OF POLLEN MOTHER CELLS AND ITS DERIVED POLLENS IN *Impatiens balsamina*

TANG Ze-sheng^{1,2} YANG Jun¹ LIU Ping² YUAN Hai-yun¹ ZHAO Yan¹

(1. Department of Biology, China West Normal University, Nanchong, Sichuan, 637002;

2. Nanchong Aerospace Breeding Company Ltd., Nanchong, Sichuan, 637000)

Abstract: Effects of space flight on meiosis of pollen mother cells and mitosis of microspores in *Impatiens balsamina* were investigated. It was found that meiosis showed abnormal in most plants germinated from seeds after space flight, and chromosome fragment, chromosomal bridge and lagging chromosome were observed in the process of meiosis in these plants. Disproportional segregation of chromosome, multipolar division and multinucleus were also observed in most plants, which developed into paraspores with different chromosome number. Mitosis of microspores was found to be abnormal in most plants, and the number of chromosome in microspore unequal. The fertility of the pollens was tested with iodine solution, it was found that the fertility of pollens varied in different plants.

Key words: *Impatiens balsamina*; meiosis; space flight; chromosome; microspore; variation

凤仙花 (*Impatiens balsamina*) 属凤仙花科凤仙花属,是一种常见的观赏和药用植物,一直受到人们的重视^[1,2]。但凤仙花类型单一,远不能适应社会发展的需要和人民生活的需求。目前对于凤仙花的研究主要集中在离体快速繁殖、药理学作用等方面^[3,4],而从遗传学的角度培育新品种的研究报道较少。航天诱变作为一种较新的遗传育种手段,已经在多种粮食作物和经济作物的育种过程中得到了应用,并已取得了相当的成果^[5,6],但在凤仙花的育种方面尚未见报道。我们对卫星搭载后的凤仙花种子进行了研究,发现其 SP₁ 代植株中小孢子母细胞减数分裂和小孢子等出现了异常行为。

1 材料和方法

选用烂头凤仙为实验材料,将种子分为 2 组,即实验组和对照组。

收稿日期:2004-03-06

基金项目:四川省科技厅应用基础研究项目和四川省重点学科建设项目(SZD0420)资助

作者简介:汤泽生(1932-),男,重庆涪陵人,西华师范大学生命科学学院教授,主要从事遗传与育种的学科科研工作。E-mail: yangjunl2@tom.com

实验组的凤仙花种子于 2002 年 12 月 30 日搭乘神舟 4 号飞船,绕地球运行 105 圈,历时 6d 19h 1min,实验种子于 2003 年 5 月 10 日在南充市荆溪镇航天农业育种基地育苗,6 月 8 日随机移栽 4 株到西华师范大学生物实验大楼定植观察。在整个生育期进行常规施肥、除虫管理,重点考察植株的株型、花色、叶型等性状,对小孢子母细胞的减数分裂过程及小孢子的形态变化等进行细胞学观察、分析,并对部分结果照相记录。

2 结果分析

2.1 减数分裂

对凤仙花的小孢子母细胞进行细胞学观察,发现实验组和对照组中处于前期的小孢子母细胞都基本正常,细胞的内含物充实、细胞质和细胞核有明显的区别。观察花粉母细胞的进一步发育,发现对照组的花粉母细胞的行为基本正常,但实验组中一些植株的花粉母细胞出现异常的减数分裂行为。在中期,大多数细胞染色体正常(图 1-1、2),但部分细胞中出现染色体环(图 1-7)、分散染色体(图 1-8)等异常情况;到后期,出现染色体分离时分配不均等的现象(图 1-3),在同源染色体分开向两极移动时有染色体桥(图 1-4)、落后染色体(图 1-5)等现象出现;到末期,染色体有不均等分离出现,故形成的两个细胞核大小往往不一致,染色体数目多的细胞核偏大,而染色体数目少的细胞核偏小;与此同时,在末期细胞的正常核外有时还可见微核。

在后期,的花粉母细胞中同样观察到染色体桥、落后染色体及染色体分配不均等现象(图 1-6),到末期也观察到正常细胞核以外的微核。在后期,的花粉母细胞中,还观察到多极分裂的现象(图 1-10),即除形成正常的 4 个极外,还能够形成 5 个、6 个、7 个甚至 8 个极的多极细胞分裂,有时也能够观察到 3 个极的细胞分裂。与此相对应,到减数分裂完成时,除了可以看到正常的 4 分孢子以外,还可以观察到 5 分孢子(图 1-10)、6 分孢子、7 分孢子(图 1-11)等,最多观察到 10 分孢子,少的也有 3 分孢子(图 1-9)。

分析减数分裂过程中染色体数目,发现除了后期,同源染色体分离时分配不均形成的两极中染色体数目不一致外,在后期,时多极分裂形成的多分孢子中,各个小孢子中的染色体数目也不一致。小孢子中染色体数目的多少与小孢子的大小表现出一定的相关性,小孢子越大,相应的染色体数目也越多。

2.2 小孢子

小孢子从 4 分孢子的胼胝质膜中释放出来以后,各自经过两次有丝分裂,形成具有 1 个营养核和 2 个生殖核的成熟花粉粒,然后可以与子房内的胚珠完成双受精作用。经过卫星搭载的某些植株所形成的小孢子有丝分裂过程发生了某些改变。如个别单株的小孢子在 4 分孢子时期就已经开始了第一次有丝分裂。此时在 4 分孢子的小孢子中观察到处于有丝分裂中期的染色体,而且数目清晰可见。有的小孢子之间有胞间连丝(图 1-13),其数目从 1 条到多条不等;有的小孢子之间有更大的管状连接(图 1-14)。这些胞间连接是否介导小孢子之间的细胞质和遗传物质的交流,有待作进一步的研究。在有的单株的 4 分孢子时期,在小孢子之间可以看到较多的管状连接,使得 4 个小孢子即使从 4 分孢子的胼胝质膜中释放出来,彼此之间并不分开,而是形成 1 个近似球型的小孢子群。有时也可见由 2 个或 3 个小孢子连接形成的联体小孢子,2 个小孢子的联体孢子呈哑铃形,而 3 个小孢子的联体孢子呈“C”形。

小孢子的形状多样,大多数小孢子与对照株的小孢子的形状相似,呈长型圆柱状,但有的小孢子呈圆形、椭圆形、五角形(图 1-17)、多角形或者呈不规则的其他形状。成熟小孢子的细胞壁较厚,其外壁具有似蜂窝状的网状结构。细胞壁会随着小孢子发育发生变化,即小孢子越成熟、壁越厚,壁上的蜂窝状突起也越深,网状结构也越明显。

小孢子中的萌发孔数目多少不一。多数小孢子有 4 个萌发孔(图 1-16),有的小孢子具有 5 个(图 1-17)、6 个、7 个甚至 8 个萌发孔,也存在只有 3 个萌发孔的小孢子(图 1-15)。萌发孔数目的多少与花粉粒的形状之间存在某种联系。正常花粉粒呈长的圆柱形,萌发孔位于花粉粒的角隅位置,所以一般具有 4 个萌发孔(图 1-16),而五边形的花粉粒一般具有 5 个萌发孔(图 1-17),6 边形的花粉粒具有 6 个萌发孔。

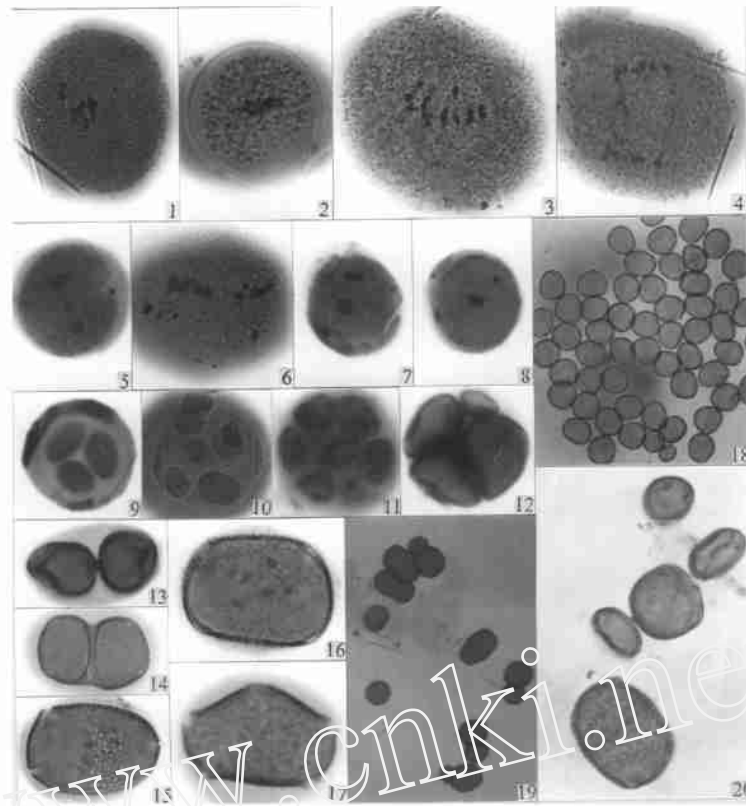


图 1 卫星搭载的凤仙花减数分裂和小孢子

Fig. 1 Meiosis of pollen mother cells and metosis of microspores in *Impatiens balsamina* from space flight treated seeds

1. 前中期, 同源染色体配对; 2. 中期, 染色体位于赤道面; 3. 中后期, 同源染色体不均等分离, 上面 3 条, 下面 7 条; 4. 后期, 染色体桥; 5. 后期, 落后染色体; 6. 后期, 染色体不均等分离; 7. 染色体环; 8. 微核; 9. 3 分孢子; 10. 5 分孢子; 11. 7 分孢子; 12. 不均等的 4 分孢子; 13. 联体花粉; 14. 联体花粉; 15. 3 个萌发孔的花粉; 16. 正常的 4 个萌发孔的花粉, 呈圆柱形; 17. 5 个萌发孔的花粉, 呈五边形; 18. 未经搭载的凤仙花的花粉粒大小一致, 仅极个别较小; 19. 搭载后的凤仙花花粉粒大小差别明显; 20. 经搭载后凤仙花的花粉粒大小差别明显, 且有联体花粉

1. synapsis of homologous chromosomes at prometaphase. 2. chromosomes located in equatorial plane at metaphase. 3. disproportional segregation of homologous chromosomes at late metaphase, 3 in upper side and 7 in down side. 4. chromosomal bridge at anaphase. 5. lagging chromosome at anaphase. 6. disproportional segregation of chromosomes at anaphase. 7. chromosome ring. 8. micronucleus. 9. trispore. 10. pentaspore. 11. heptaspore. 12. disproportional tetraspore. 13. conjugated microspores. 14. conjugated microspore. 15. microspore with 3 temata. 16. normal cylindraceous microspore with 4 temata. 17. pentagonous microspore with 5 temata. 18. similar microspores in size in control plants. 19. various microspores in size in treated plants. 20. various microspores in size in treated plants with conjugated microspore

因此, 小孢子中萌发孔的数目与小孢子的角数一致, 呈正相关。也有例外。

经航天诱导的凤仙花小孢子, 在大小方面也出现了很大的变化。诱导后的小孢子大小不一致, 特别是出现了许多体积较小的小孢子 (图 1-19, 20)。而未经处理的小孢子大小基本一致, 仅有极个别的微小孢子 (图 1-18)。

2.3 小孢子育性的检测

采用碘液染色法检测成熟小孢子的育性^[7]。结果显示, 对照植株的花粉粒有 83% ~ 98% 能被染成蓝色, 表明绝大多数花粉粒可育。而经卫星搭载的凤仙花种子, SP_1 代的植株的小孢子与碘液反应的差别较大。有的植株中 95% 的花粉粒能够与碘液反应变成蓝色, 表明花粉的生理活性正常; 而有的植株中只有不到 30% 的花粉粒被染成蓝色, 表明其大部分小孢子的育性不正常, 这与在 SP_1 代植株中看到的结实率较低的结果相一致。

3 讨论与结论

3.1 凤仙花种子经卫星搭载后, SP_1 代植株在株形、花色、花形等性状上有不同程度的变化。如花瓣增多, 有的植株主茎顶端的花先开, 形似牡丹, 有的植株枝上的花为重瓣, 花萼上的距由 1 个变成 2 个, 甚至 3 个。卫星搭载能够引起多种植物遗传物质的改变^[8~10], 为此我们推测凤仙花这些性状上的变异都是由卫星搭载引起的, 种子在高真空、微重力、宇宙辐射等综合因素的作用下其遗传物质发生了改变。为此, 我们分析了这些性状变异植株的减数分裂和小孢子的变化情况。

3.2 发现 SP_1 代凤仙花的小孢子减数分裂过程中染色体存在诸多变化, 如出现染色体断片、染色体桥、落后染色体。染色体断片和落后染色体是由高空条件的多种因素造成染色体断裂所致; 染色体桥是由于断裂后的染色体重接、形成具有 2 个着丝粒染色体, 细胞分裂时 2 个着丝粒牵引染色体向两极移动而形成。因此, 可以进一步推测, 高空条件的多种因素也可以使 DNA 或基因发生类似的断裂或重排或基因突变, 从而使基因控制的性状发生相应的改变。

3.3 高空条件也可造成减数分裂的细胞学行为和染色体数目改变。减数第 1 次分裂和第 2 次分裂时两极的染色体分配不均, 则围绕染色体所形成细胞核的大小不一致, 细胞核外部的细胞质的多少也不相等, 因此细胞的大小出现差异。此外, 第 2 次减数分裂还出现多极分裂的情况, 使减数分裂完成后所形成的不仅有 4 分孢子, 还有 5 分、6 分等多分孢子, 而且多分孢子的大小也有很大差异。这是由于空间条件破坏了相关的染色体或基因结构, 进而干扰基因的正常表达, 致使细胞代谢紊乱, 使减数分裂出现不均等分离和多极分裂等。

3.4 经航天诱导的凤仙花小孢子表现出不同程度的变异。从 4 分孢子的胼胝质膜中释放出来, 有的小孢子之间并不分开, 彼此连接成联体花粉。连接管是否介导花粉粒之间的物质交流还有待进一步的研究; 有的植株小孢子的有丝分裂过程提前, 有的在 4 分孢子时期就已经开始了有丝分裂, 从胼胝质膜中释放出来的小孢子就可以看见处于前中期的染色体。

3.5 从分析的结果可以看出, 种子经卫星搭载后, 凤仙花 SP_1 代的小孢子母细胞的减数分裂、减数分裂形成的小孢子及其育性等变化上都出现了不同程度的差异, 这是由于高空条件下的高真空、微重力及宇宙辐射等多种因素作用于种子的染色体或者 DNA, 造成染色体或基因改变, 由种子萌发形成的植株在性状和代谢过程出现异常现象, 不同植株之间性状和代谢过程存在差异, 也可能与每粒搭载种子之间的差异以及综合条件, 特别是宇宙辐射诱变的随机性有关。正是这种诱变的随机性, 使得我们可以从众多的突变体中, 选择对人类有利的突变体, 供进一步的栽培和育种之用。同时, 这种诱变的随机性可能对人类的生产和生活造成负面影响。因此, 只有正确认识空间环境对生物体的作用及机理, 才能够让空间科学技术更好的为人类的生产生活服务。

致谢 本研究得到四川省南充航天农业育种有限公司的潘庆泉、卿崇益、谯宏、邓盛、曾文才、李海军和西华师范大学彭正松、王祖秀、夏玲等同志的大力支持和帮助, 特此致谢。

参考文献:

- [1] 陈俊愉主编. 中国花卉品种分类学. 北京: 中国林业出版社, 2001
- [2] 鲁涤非主编. 花卉学. 北京: 中国农业出版社, 1998
- [3] 及华, 温春. 何氏凤仙花的离体快速繁殖. 植物生理学通讯, 1997, 33(5): 356 ~ 356
- [4] 王冰, 张彦福. 维吾尔药指甲花本草学考证及其生药学研究. 中国民族民间医药杂志, 1991(1): 55 ~ 57
- [5] 朱昌兰, 胡岳, 陈莹峰. 作物空间诱变育种研究进展. 江西农业大学学报, 1999, 21(3): 35 ~ 437
- [6] 贾建航, 王斌. 空间诱变育种研究进展. 干旱地区农业研究, 1996, 17(3): 187 ~ 192
- [7] 罗素兰, 符列, 等. 6 种番茄种质花粉活力的鉴定. 海南大学学报, 2002, (3): 243 ~ 246
- [8] 郭亚华, 邓立平, 等. 空间条件对番茄诱变遗传的影响. 空间科学学报, 1996, 16: 162 ~ 163
- [9] 孙野青, 李玉芬, 等. 空间条件对青椒和番茄遗传诱变研究. 植物研究, 1997, 17(2): 184 ~ 189
- [10] 李能芳, 张伦德, 陈安全. 番茄种子经卫星搭载后的变异初探. 四川农业大学学报, 1997, 15(2): 229 ~ 232, 240
- [11] 漆青厚, 许鑫. 凤仙花染色体核型. 江西林业科技, 1993, 4: 31 ~ 32