

文章编号: 1003-8701(2007)01-0008-02

EDTA 对向日葵根尖细胞染色体的诱变分析

王新风¹, 朴铁夫²

(1. 吉林省农业科学院大豆研究中心, 吉林 公主岭 136100; 2. 吉林农业大学 长春 130118)

摘要: EDTA 是辐射敏化剂, 这已经被证实, 而且相关报道很多。EDTA 的使用也多数是和其他诱变因素结合使用, 以达到提高染色体畸变频率的目的。本试验采用 1 mmol 浓度的 EDTA 直接处理向日葵种子根尖, 处理时间分别为 3、5 和 7 h。结果表明: 用 EDTA 处理向日葵种子, 能诱发较高的染色体畸变率; 而且随着处理时间的增加, 染色体畸变率也在增加。

关键词: EDTA; 染色体畸变; 向日葵

中图分类号: S565.5

文献标识码: A

EDTA 又名乙二胺四乙酸二钠($\text{Na}_2\text{-EDTA}$), 在作物的遗传育种中常和其它理化因子一起作辐射敏化剂使用^[1-2]。植物在长期的进化过程中, 由于自然选择和优胜劣汰, 形成了发达的 DNA 损伤修复系统, 可修复理化因子诱发的 DNA 损伤^[3], 因此在自然状态下的作物其突变率比较低。如果作物在理化因子处理后, 再用 EDTA 处理, 结果却是加重 DNA 的损伤, 使突变率大大提高^[4]。但直接应用 EDTA 处理种子是否会对染色体产生影响, 关于这方面的相关报道却很少。本试验采用 1 mmol/L 浓度的 EDTA 处理向日葵种子, 探讨 EDTA 对其染色体的畸变作用。

1 材料与方法

1.1 供试材料

向日葵的干种子匈牙利 4 号, EDTA 浓度 1 mmol/L; 实验设备有光学显微镜、冰箱、烧杯、滤纸、载玻片、盖玻片、镊子、酒精灯、火柴、BH₂Olympus 高级摄影显微镜、定影液、显影液、固定液(无水乙醇 冰醋酸=3 1)、70%酒精、卡宝品红试剂等。

1.2 试验方法

选取无病虫、饱满、大小均匀一致的向日葵种子, 剥去外壳, 均匀地分成 3 份, 用 EDTA 溶液(采用 1 mmol 浓度)浸泡, 处理时间分别为 3、5 和 7 h。处理完毕用流水清洗 10 min, 与未处理的干种子一起用沙土分别进行培养。待根尖长至 1 cm 左右时, 于 9:00~12:00 之间截取根尖, 用固定液(无水乙醇 冰醋酸=3 1)进行固定 5~24 h。固定后的材料可用 70%酒精在冰箱中保存。观察时取根尖的分生组织进行常规制片^[5], 用卡宝品红试剂染色, 压片, 于光学显微镜中镜检, 选取理想的片子在 BH₂Olympus 高级摄影显微镜下显微摄影, 同时观察统计向日葵根尖细胞的染色体畸变率。其中有丝分裂指数以 1 000 个细胞中处于分裂期的细胞所占的百分比表示; 染色体畸变率以 1 000 个处于分裂的细胞中所含畸变的细胞的百分率表示^[6]。

2 结果与分析

2.1 染色体的畸变类型

2.1.1 染色体桥

收稿日期: 2006-08-08

作者简介: 王新风(1975-), 女, 研究实习员, 硕士, 主要从事作物遗传育种研究。

在有丝分裂进入后期时,位于赤道板上的染色体的着丝粒一分为二,在纺锤丝的牵引下,两条分开的染色体分别向两极移动。但是利用外界因素使染色体发生断裂,则断裂后的染色单体就会发生融合,融合之后的染色体含有两个着丝粒,在向两极移动时,因两条染色体端部相连,而形成了在显微镜下所看见的染色体桥,染色体桥是 EDTA 处理向日葵根尖中出现频率最高的畸变类型。

2.1.2 染色体落后

在有丝分裂后期或末期,染色体分别到达两极,有少数染色体被遗弃在赤道板上,而不进入任何一极,形成落后染色体或断片。落后的染色体或断片一般为一条。

2.1.3 中期染色体落后

在正常情况下,有丝分裂开始时,细长的染色体开始缩短变粗高度螺旋化,同时向赤道板移动,最后染色体的着丝粒均匀地排列在赤道板上,同时被纺锤丝牵引。但如果将其处理后,染色体向两极移动的频率就会不一致,进入中期后就会有部分染色体没有到达赤道板,而形成滞后染色体。

2.1.4 单极纺锤体

有丝分裂进行时,由于外界因素作用使其中一极的纺锤丝产生受阻,形成单极纺锤体。单极纺锤体在本试验中出现的频率很低。

2.2 EDTA 处理向日葵种子可诱发较高的染色体畸变率

通过实验研究发现,EDTA 单独处理对向日葵种子根尖细胞中的染色体有诱变作用(表 1)。没有 EDTA 处理时,染色体的畸变率是很低的,为 0.04%,随着处理时间的增加,染色体的畸变率也在增加,呈现不断上升的趋势,处理 7 h 时达到最高为 3.56%,由此说明用 EDTA 处理向日葵种子可诱发较高的染色体畸变率。用 EDTA 处理其他的作物种子是否会产生同样高的染色体畸变率还有待于进一步验证。

表 1 EDTA 对向日葵根尖细胞染色体畸变的影响

EDTA 处理时间 (h)	检查根尖数(个)	检查后末期细胞数(个)	单桥	双桥	多桥	落后染色体	微核	总畸变频率(%)
0(ck)	10	1000	0.4±0.699	0.1±0.316	0	0	0	0.6±0.966
3	10	1000	2.9±1.101	1.6±0.843	3.1±1.197	0.3±0.483	0.2±0.422	8.10±1.197**
5	10	1000	3.7±0.949	1.4±0.516	3.9±1.524	0.9±0.876	0.5±0.707	11.30±1.337**
7	10	1000	5.4±2.366	2.1±0.994	6.6±1.35	1.3±1.494	1.2±1.033	17.2±1.687**

注:** P<0.01

2.3 EDTA 对向日葵根尖细胞分裂的影响

一定浓度的 EDTA 可引起向日葵根尖细胞有丝分裂指数下降(如图 1 所示)。随着 EDTA 处理时间的增加有丝分裂指数下降,且均低于对照组。由此可以推测 EDTA 能够抑制细胞的分裂。

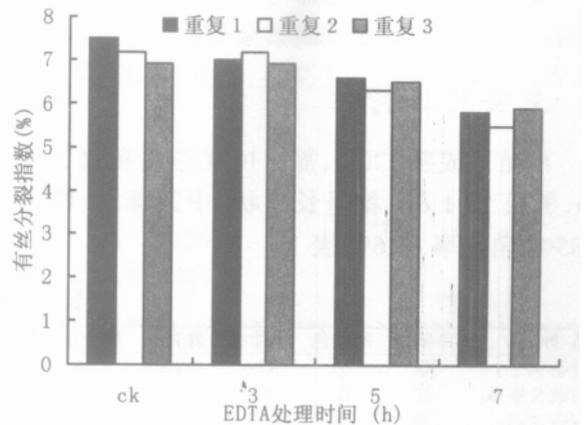


图 1 EDTA 处理对向日葵根尖细胞有丝分裂的影响

3 讨论

EDTA 是辐射损伤修复抑制剂,它能够有效地抑制 DNA 的损伤修复,加重辐射损伤,从而提高辐射诱变频率^[7,8]。结合本实验的结论,EDTA 除了作为辐射损伤修复剂使用外,平时在实验中作为植物培养液中的螯合剂使用时,还应当考虑其在某一浓度下是否具有诱变作用以及对试验结果的潜在影响。

参考文献:

[1] Yamamoto K, Yamaguchi H. mutation in plant breeding. Mutation Res, 1969, (8):428-430 .
 [2] 赵孔南, 等. EDTA 对辐射诱发水稻突变的修饰效应[J]. 浙江农业大学学报, 1985, 11(3): 271-279 .
 [3] 朱 军. 遗传学(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002, 259-262 .
 [4] Y, H. 使用非按期 DNA 合成的抑制剂提高 射线对大麦种子的诱变效率[J]. 原子能农业译丛, 1981, (4): 21-23 . (下转第 13 页)

抗逆性: 高抗玉米大斑病、茎腐病、灰斑病, 中抗丝黑穗病、弯孢菌叶斑病, 抗玉米螟, 抗倒伏。

4 栽培技术要点及适宜区域

播种日期 4 月下旬至 5 月初; 种植密度一般公顷保苗 4.5~5.0 万株; 施足底肥, 一般公顷施种肥磷酸二铵 150~200 kg、钾肥 150 kg、追肥尿素 300 kg。

适宜吉林省的延边、白山、通化的部分地区及黑龙江省第三四积温带(四早 11 种植区内)均可种植。



(上接第 9 页)

[5] 朱 徽 . 植物染色体及染色体技术[M]. 北京: 科学出版社, 1982, 42- 83 .

[6] 常学秀, 王焕校, 文传浩 . Cd²⁺、Al³⁺ 对蚕豆胚根根尖细胞遗传学毒性效应研究[J]. 农业环境保护, 1999, (1): 1- 5 .

[7] Yamaguchi H . The use of unscheduled DNA synthesis to increase the rate of induced mutation of - irradiated barley seeds. Proceedings of the Sixth International Congress of Radiation Research, IAEA , Vienna, 1979, 575- 581 .

[8] 高明蔚, 等 . 液氮、辐照和咖啡因处理水稻种子的当代效应[J]. 浙江农业大学学报, 1982, 8(2): 143- 149 .

The Analysis of Chromosome Aberration in Root Tip of Sunflower Induced by EDTA

WANG Xin-feng¹ PIAO Tie-fu²

(1. Soybean Research Institute, Academy of Agricultural Sciences of Jilin Province, Changchun 130124;
 2. Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: It is well know that EDTA is the sensitizing agent which has been reported by many papers concerned. EDTA was used in plant together with other aberrant factors in order to increase the frequency of chromosome aberration. In this test, the cells of sunflower root tip were treated by EDTA with the same concentration but different duration, i.e. 3, 5 and 7 hours. The results indicated that the three treatments of EDTA induced high frequency of chromosome aberration. Moreover, the frequency of chromosome aberration increased with the increasing of treatment duration.

Key words: EDTA; Chromosome aberration; Sunflower



连续多年高考中考试题命中率超过 80%

抓紧订阅 2007 年《少年文摘报》高中系列版

少年文摘报作为全国唯一一份以指导中小学生学习为主要内容的学习辅导类精品文摘报纸, 从全国四千多种教辅类报刊和辅导资料中汲取精华, 经过编辑精心锤炼, 重难点突出, 同步性强, 释疑解惑切中要害, 十分注重思路、方法、技巧的讲解及重难点的归纳分析和总结提高, 内容紧扣教学主线, 试题难易搭配科学合理, 呈梯度上升, 具有很强的实用性和指导性。

少年文摘报从小学三年级直至高三, 各年级还出版达标试题版和高考中考冲刺试题版, 从全国各大出版社、名校、题库和相关教辅资料的数万种备选试题中精中选精, 优中选优, 是中小学生学习检测学习效果的首选试题。

少年文摘报连续六年在高考、中考中试题命中率平均超过 80%。全国上万所中小学校将本报作为首选的教学辅导资料, 期中、期末考试和高考、中考模拟试题借鉴或直接从本报选取。新疆、江苏、浙江、陕西、甘肃、广东、四川、山东等二十多个省、市、区的宣教部门以各种方式向读者推荐本报。中国报业协会授予本报“全国青少年喜爱的名报名刊”称号。全国中小学教学研究改革中心“我最喜爱的中国少年儿童类报刊”选评, 本报荣获第一名。

少年文摘报分年级出版, 融合人教版、北师大版、苏教版、华东师大版、鲁教版、粤教版、冀教版等各种版本, 适用全国各分区读者。

订阅与索样方法: 索要样报, 来信附 1 元邮资, 即寄近期出版的所需样报。错过邮局订阅, 请汇款到报社订阅。

温馨提示: 1- 8 月份订本年级报纸, 9- 12 月份订下年级报纸。

汇款地址: 兰州市白银路甘肃新闻大厦 13 楼少年文摘报 何亦云(730030) 咨询电话: 0931- 8156591 8156600

欢迎登陆: www.shnwzb.com 诚征全国各市县发行代理