

空间环境对植物试管苗生长发育及遗传变异的影响

刘 敏¹ 薛 淮² 鹿金颖³ 潘 毅² 张文利⁴

(中国科学院遗传与发育生物学研究所, 研究员、博士生导师¹; 助理研究员²; 博士后³; 博士生⁴ 北京 100101)

[摘要] 本试验以“神舟三号”飞船搭载的树莓试管苗和“神舟四号”飞船搭载的月季试管苗为材料, 研究空间环境对植物试管苗形态学、细胞学、生理学及分子生物学特性的影响。经空间处理后, 月季试管苗株高、叶片数及植株鲜重均显著大于地面对照。和地面对照相比, 空间处理的树莓和月季试管苗叶片细胞形状、叶绿体、线粒体等细胞超微结构发生较大变化。空间处理后, 月季试管苗叶片中 SOD、CAT 及 POD 3 种保护酶的活性均有增加, 丙二醛的含量下降。经空间处理的树莓和月季分别和地面对照进行 RAPD 分子标记检测, 均扩增出多态性带, 空间条件有可能导致植物 DNA 水平上的变化。

[关键词] 空间环境 试管苗 生长发育 遗传变异

[中图分类号] V4 Q7 Q3

我国自 1987 年以来, 已多次利用高空气球、返回式卫星和飞船搭载植物种子^[1-4], 但对植物活体进行搭载, 研究空间条件对植物活体生长的影响还未见报道。本试验利用我国自行研制的“神舟三号”飞船和“神舟四号”飞船首次搭载的树莓和月季试管苗为材料, 通过对其形态学、细胞学、生理学及分子生物学等方面的观察与检测, 并与地面对照植株进行比较, 揭示了空间环境对植物试管苗生物学特性的影响, 可为今后进一步研究绿色植物的空间搭载、培养和种植提供理论依据。

一、空间环境对植物试管苗生长的影响

经空间处理后月季试管苗的株高、叶片数、植株鲜重等均比地面对照显著增加。空间处理的月季试管苗个体间生长情况差异较大, 部分植株与地面对照生长情况相近, 只略有增加, 部分植株则比地面对照植株有明显的增长(见图 1)。



图 1 地面对照和空间处理月季试管苗生长情况
CK(左): 地面对照 SP(右): 空间处理

二、空间环境对植物试管苗叶片细胞超微结构的影响

细胞超微结构的观察发现, 空间环境对植物叶片细胞超微结构产生了较大影响。空间处理的树莓试管苗叶片细胞体积增大且细胞内容物排列紊乱

并贴壁分布, 核体积变小且核仁异常, 同时还出现部分细胞淀粉粒增多等现象。与地面对照叶绿体的正常形态相比, 空间处理的树莓叶片叶绿体体积增大、结构紊乱、外形扭曲、基质片层方向不定, 同时基粒片层膜皱缩。与地面对照相比, 空间处理的树莓线粒体体积相对变小, 数量增多且排列紧密, 在整体上出现浓密的电子基质区(见图 2)。

地面对照月季试管苗叶片细胞之间结合紧密, 整体呈规则的球型或椭圆型, 而空间处理月季试管苗叶片细胞结合疏松, 部分细胞出现了细胞壁扭曲、收缩变形的现象。地面对照细胞的叶绿体片层结构规则、层次清晰、堆叠紧密、淀粉粒较少。经空间处理后, 叶绿体体积普遍增大, 部分叶绿体形状变得不规则, 基质片层结构扭曲、模糊, 大部分叶绿体中淀粉粒明显增多。地面对照的线粒体结构完整, 嵴明显且排列规则。空间处理后, 部分细胞线粒体数目增多, 个别线粒体内嵴模糊不清和外膜破裂; 细胞间区域分布的胞间连丝变得丰富, 有的很粗大, 其附近常聚集很多线粒体; 部分细胞质中内质网数量增多, 一些内质网体积增大(见图 3)。

三、空间环境对植物保护酶活性及丙二醛含量的影响

与地面对照相比, 空间处理的月季试管苗叶片的 SOD、CAT 及 POD 3 种保护酶活性均有所增加, 其中 SOD 活性增加了 7.0%, POD 活性增加了 9.5%, CAT 活性提高了 18.5%; 空间处理月季的丙二醛(MDA)含量比地面对照下降了 8.9%(见图 4)。

四、空间环境对植物试管苗 RAPD 分子标记多态性的影响

RAPD 分析结果(见图 5)表明, 在所用的引物中, 航天试管苗被扩增的条带数均多于地面对照

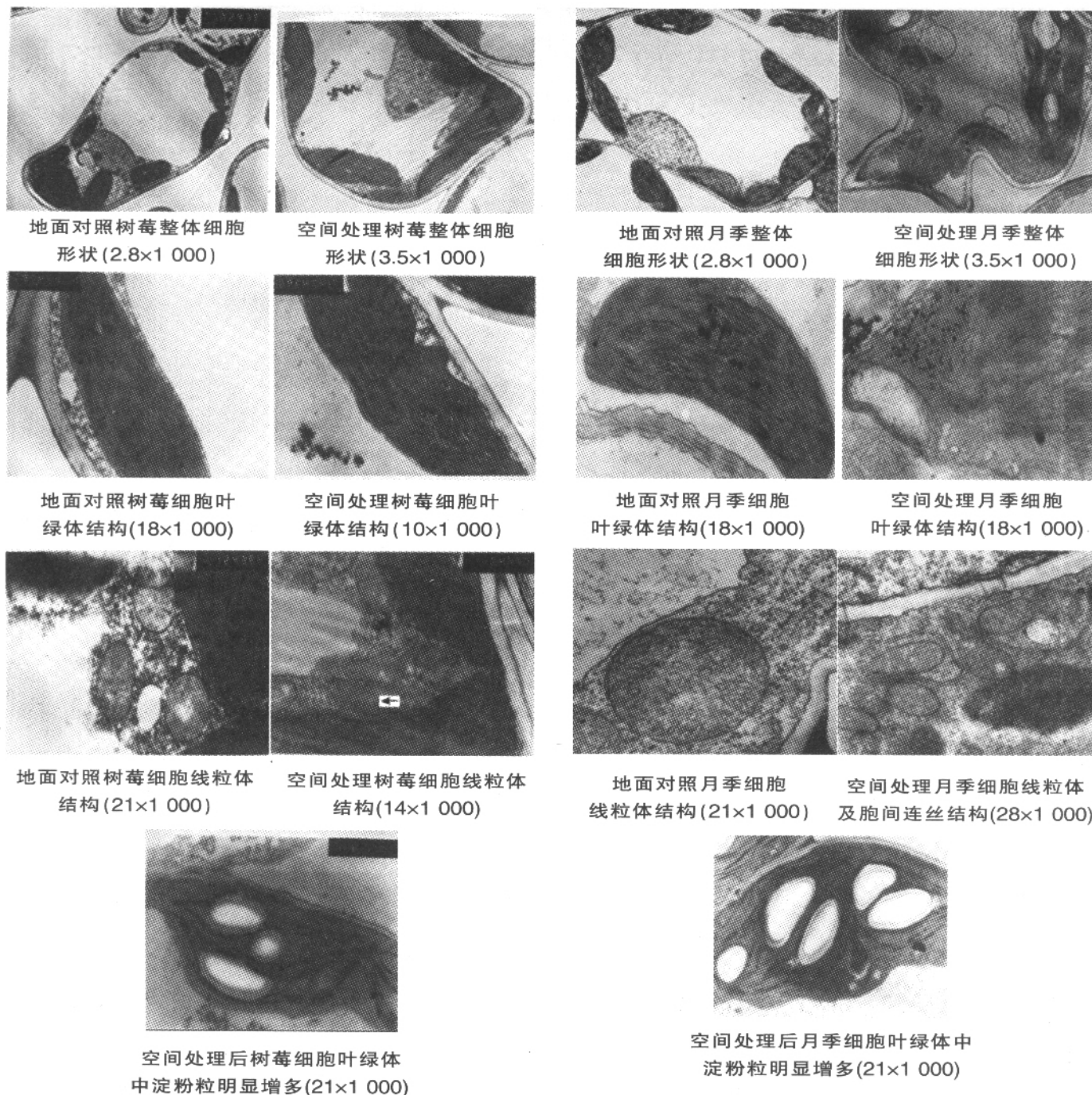


图2 空间处理树莓和地面对照细胞超微结构比较

图3 空间处理月季和地面对照细胞超微结构比较

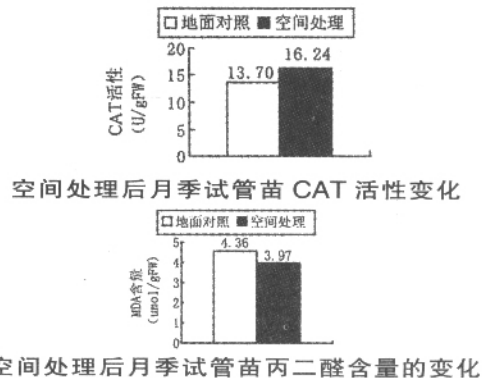
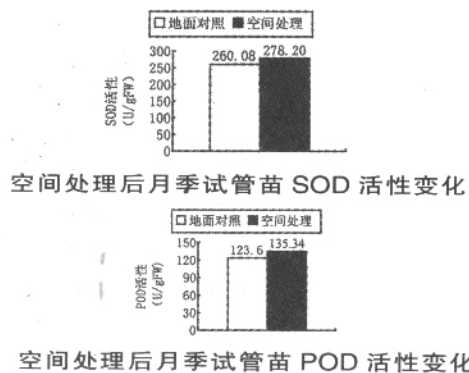
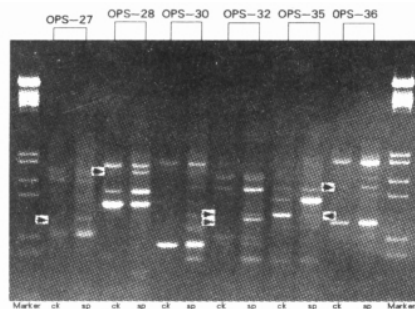


图4 空间处理后月季试管苗三种保护酶活性与丙二醛含量的影响



随机引物 OPS-27、OPS-28、OPS-30、OPS-32、OPS-35 及 OPS-36 的核苷酸序列分别为 5'-GAA ACG GGTG-3', 5'-GTG ACG TAGG-3', 5'-GTG ATC GCAG-3', 5'-TCG GCG ATAG-3', 5'-TTC CGA ACCC-3', 5'-AGC CAG ACGAA-3'; Marker: DNA 标准分子量, (N/EcoRI+ Hind III); CK: 地面对照; SP: "神舟三号"飞船搭载试管苗

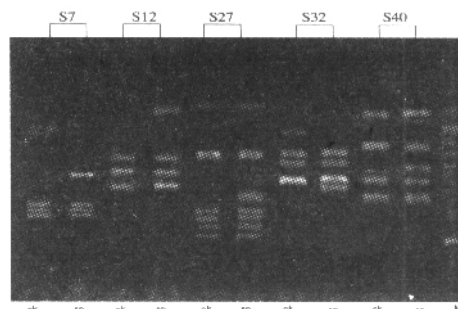
图5 空间处理与地面对照树莓
RAPD 分子标记扩增结果

(其中部分差异带用箭头表示),表明树莓试管苗经空间飞行后出现 RAPD 扩增多态性。从而暗示,空间条件有可能导致植物 DNA 水平上的变化。

用 40 个随机引物对空间处理和地面对照的月季试管苗基因组 DNA 进行 PCR 扩增,有 36 个引物扩增出了 DNA 片段,共扩增出 148 条带,每个引物扩增出的带在 1~10 条之间,其中 31 个引物的扩增 DNA 带带型一致,5 个引物在地面对照和空间处理扩增出的 DNA 带带型表现多态性,5 个多态性引物分别为 S7、S12、S27、S32、S40。

由图 6 可见,与地面对照相比,空间处理的月季试管苗样品在引物 S7 扩增的带型中缺少 1 条 600bp 的带,多 1 条 1 050bp 的带;在引物 S12 扩增的带型中多 1 条 510bp 的带;在引物 S27 扩增的带型中多 1 条 1 280bp 的带;在引物 S32 扩增的带型中缺少 1 条 610bp 的带,多 1 条 1 150bp 的带;在引物 40 扩增的带型中缺少 1 条 990bp 的带,多了两条带,其大小分别为 560bp 和 920bp。由此可见,空间处理的月季试管苗和地面对照相比有 9 条带出现了差异,地面对照共扩增出 142 条带,空间处理月季试管苗的 DNA 变异频率(空间处理样品出现变异的带数/地面对照所扩增的总带数)为 6.34%。

讨论 空间环境中的微重力、宇宙射线、宇宙磁场等条件,对于地球上正常生长的植物来说是逆境胁迫条件。这种逆境引起植物试管苗叶片保护酶活性提高,膜质过氧化产物丙二醛含量降低;叶片细胞超微结构也发生很大的变化,如部分细胞细胞壁扭曲、叶绿体片层结构排列松散、个别线粒体嵴模糊且膜破裂等。这些变化与有些植物在逆境胁迫下的反应是一致的。在正常情况下,植物体内活性氧产生与清除处于平衡状态,SOD、CAT 和 POD 作为氧自由基的清除剂,三者协调一致,使植物自由基维持在一个低水平上,从而防止自由基对植物细胞的伤害。在干旱、盐、低温等逆境胁迫条件下,植物体内活性氧代谢系统的平衡受到影响,增加了自由基的产生量,植物体通过保护酶活性或稳定性的增加来提高清除自由基的能力^[5-7]。植物在干旱、盐、低温、高温等逆境胁迫条件下,引起叶绿体和线粒体超微结构的显著变化^[8-11]。植物在微重力状态下,细胞形状、细胞壁、



CK: 地面对照;SP:空间处理;M: Marker,100bp
DNA Ladder VII;S7、S12、S27、S32、S40 为随机引物

图6 空间处理与地面对照月季

RAPD 分子标记扩增结果

液泡、淀粉粒、叶绿体、线粒体等细胞器以及细胞骨架的微管系统等均发生了变化^[12]。

我们对“神舟三号”飞船搭载的树莓试管苗及“神舟四号”飞船搭载的月季试管苗的 DNA 进行了 RAPD 分析,结果显示,在空间处理与地面对照树莓及月季试管苗之间所扩增的条带数均存在差异,出现了 DNA 多态性。这可能与空间射线、宇宙磁场、重粒子等环境因素对其 DNA 复制的影响有关,这与一些文献所报道的空间环境对植物遗传物质的影响相同^[13]。我们的实验是研究空间环境对植物试管苗生长发育及遗传的变化,而文献报道的主要植物种子后代的变化。

参考文献

- [1] 吴岳轩,曾高华. 空间飞行对番茄种子活力及其活性氧代谢的影响[J]. 园艺学报, 1998, 25(2): 165~169
- [2] 邱芳,李金国,翁曼丽. 空间诱变绿豆长英型突变系的分子生物学分析 [J]. 中国农业科学, 1998, 31(6): 38~43
- [3] 施巾帼,范庆霞,王琳清. 太空环境诱发红小豆大粒突变[J]. 核农学报, 2000, 14(2): 93~98
- [4] 李社荣,刘雅楠,刘敏. 玉米空间诱变效应及其应用的研究[J]. 核农学报, 1998, (5): 274~280
- [5] 孙国荣,彭永臻,严秀峰等. 干旱胁迫对白桦实生苗保护酶活性及质脂过氧化作用的影响 [J]. 林业科学, 2003, 39(1): 165~167
- [6] 李绍庆. 低温胁迫下红厚壳幼苗保护酶活性及丙二醛含量的变化[J]. 思茅师范专科学校学报, 2002, 17(3): 84~85, 89
- [7] 张士功,高吉寅,宋景芝. 甜菜碱对 NaCl 胁迫下小麦细胞保护酶活性的影响 [J]. 植物学通报, 1999, 16(4): 429~432
- [8] 陈立松,刘星辉. 水分胁迫对荔枝叶片超微结构的影响[J]. 福建农业大学学报, 2001, 30(2): 171~174
- [9] 刘爱峰,赵檀芳,段友臣. 盐胁迫对大麦叶片细胞超微结构影响的研究[J]. 大麦科学, 2000, (3): 20~22
- [10] 杨凤仙,董俊梅,杨晓霞. 低温胁迫下棉叶叶绿体、液泡超微结构的变化 [J]. 山西农业大学学报, 2001, (2): 116~117
- [11] 苗琛,利容千,王建波. 甘蓝热胁迫叶片细胞的超微结构研究[J]. 植物学报, 1994, 36(9): 730~732
- [12] 刘敏,薛淮,王亚林等. 水平回转对马铃薯细胞超微结构的影响[J]. 细胞生物学杂志, 2002, 24(6): 365~367
- [13] Dutcher F R, Hess E L, Halstead T W. Progress in plant research in space [J]. Adv Space Res, 1994, 14: 159~171

(责任编辑 苏青)