

文章编号:1003-8701(2013)01-0062-03

# 氯化钠对分蘖葱头根尖细胞有丝分裂的影响及其致畸效应

杨丽娟<sup>1</sup>, 齐莹<sup>1</sup>, 王晓伟<sup>1</sup>, 李岩<sup>2</sup>, 顾地周<sup>1</sup>

(1. 通化师范学院生物系, 吉林 通化 134002; 2. 吉林省通化市林业局, 吉林 通化 134002)

**摘要:**以分蘖葱头根尖为试验材料,研究了氯化钠对分蘖葱头根尖的毒性效应。用不同浓度(0.05、0.1、0.2、0.3 mol/L)的氯化钠水溶液对分蘖葱头根尖细胞染毒 12 h、24 h、48 h,观察分蘖葱头根尖细胞有丝分裂指数、微核率以及染色体畸变情况。结果表明:在试验剂量范围内,随着氯化钠水溶液浓度的升高,染毒时间增长,分蘖葱头根尖细胞的有丝分裂指数逐渐降低,染色体畸变率和微核率逐渐升高,并且均在氯化钠水溶液浓度为 0.3 mol/L、染毒时间为 48 h 时达到最大值,说明氯化钠是一种胁迫因子。

**关键词:**分蘖葱头;氯化钠;有丝分裂指数;染色体畸变;微核率

中图分类号:S633.201

文献标识码:A

## Effect of Sodium Chloride on Mitotic Index and Chromosome Aberration of Root Tip Cell of *Allium cepa* var. aggregatum

YANG Li-juan<sup>1</sup>, QI Ying<sup>1</sup>, WANG Xiao-wei<sup>1</sup>, LI Yan<sup>2</sup>, GU Di-zhou<sup>1</sup>

(1. Department of Biology, Tonghua Normal University, Tonghua 134002;

2. Forestry Bureau of Tonghua City, Tonghua 134002, China)

**Abstract:** With the root tip as experimental materials, toxic effect of sodium chloride on *Allium cepa* var. aggregatum root tip was investigated. The *Allium cepa* var. aggregatum root tip cells were exposed to aqueous solution of sodium chloride with different concentration (0.05, 0.1, 0.2, 0.3 mol/L) for 12 h, 24 h and 48 h, respectively. And then the mitotic index, micronucleus rate and chromosome aberration of the *Allium cepa* var. aggregatum root tip cell were investigated. The experimental results indicated that with the elevated concentrations of sodium chloride aqueous and the increase of exposing time, the mitotic index decreased, chromosome aberration rate and micronucleus rate increased gradually. Moreover, the maximum value was reached when the concentration of sodium chloride aqueous was 0.3 mol/L and the exposure time was 48 h, which indicated that sodium chloride is a kind of stress factor.

**Keywords:** *Allium cepa* var. aggregatum; Sodium chloride; Mitotic index; Chromosome aberration; Micronucleus rate

分蘖葱头(*Allium cepa* var. *aggregatum*),又称毛葱,属百合科葱属植物,盛产于我国东北各地<sup>[1]</sup>,含有丰富的维生素 C、糖类、蛋白质及各种矿物,味辛而甘,具有驱寒功效,是东北地区喜食的

蔬菜品种和调味品<sup>[2]</sup>。分蘖葱头的化学成分中共得到了 13 种化合物,其中黄酮类化合物含量居多,主要有槲皮素、山柰酚等化合物。药理实验证实该植物具有调节血脂,抗脂肪肝作用及预防动脉粥样硬化发生和发展的作用<sup>[3]</sup>。近年来研究发现,分蘖葱头还具有调节生理机能、美容、抗癌和延缓衰老的作用<sup>[4]</sup>。

自然界许多生命活动都需要 Na<sup>+</sup> 的参与,NaCl 是人类及动植物生存所必需的离子化合物,但是

收稿日期:2012-09-03

基金项目:吉林省科技厅资助项目(200705C05)

作者简介:杨丽娟(1965-),女,硕士,副教授,主要研究方向为植物细胞生物学。

多数植物在盐渍条件下不能正常生长发育<sup>[5-7]</sup>。目前,世界上存在着不同类型的盐碱地,约占全球总面积的 10%<sup>[8]</sup>。我国目前的盐碱地和盐渍地土壤约占耕地面积的 20%,我国北方地区的土壤盐碱化尤为严重<sup>[9]</sup>。因此,研究分蘖葱头在盐渍化生境中的生长发育机理及培育耐盐品种是关键。在 NaCl 胁迫中对植物产生影响的是 Na<sup>+</sup> 和 Cl<sup>-</sup>,但是对于大多数植物而言,Na<sup>+</sup> 是 NaCl 胁迫引起危害的最主要原因<sup>[10]</sup>。氯化钠对荞麦、青钱柳、玉米等植物种子萌发及根尖毒性效应已见报道,但国内未见任何氯化钠对分蘖葱头根尖毒性效应的研究。

本试验以分蘖葱头根尖为试验材料,用不同浓度氯化钠来测定对分蘖葱头根尖的毒性效应,以模拟盐渍化生境,为分蘖葱头的抗性研究提供重要的理论和实践意义。

## 1 材料与方 法

取发育良好、大小均一的分蘖葱头鳞茎置于去离子水中进行生根培养,待新生根长至 1~1.5 cm 时转入 0.05、0.1、0.2、0.3 mol/L 的氯化钠水溶液(氯化钠为分析纯,由天津市科密欧化学试剂有限公司生产)并用去离子水做阴性对照。分别于 10:30、16:30 取培养 12 h、24 h、48 h 的新生根 3~5 cm 并将其置于 Carnoy 固定液中固定 20~24 h,用去离子水清洗 3~5 次后转入 70%乙醇于 4℃ 冰箱中保存备用;使用时用解离液在室温下解离 4~6 min,切取根尖并用结晶紫染色液染色 5 min,常规压片后镜检并用中科组织细胞显微摄像系统拍摄照片。每个试验组观察细胞 2 000 个以上,每个试验 3 次重复,计算有丝分裂指数、染色体畸变率以及微核率<sup>[11-13]</sup>。参考杜荣骞<sup>[14]</sup>对所得数据进行分析,利用 Excel 2003 采用 t 检验,检测不同试验组与对照组之间的差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 氯化钠对分蘖葱头根尖细胞有丝分裂指数的影响

表 1 不同染毒处理对分蘖葱头根尖细胞有丝分裂指数的影响

氯化钠(mol/L)	有丝分裂指数(%)		
	染毒 12 h	染毒 24 h	染毒 48 h
CK	12.28	11.86	11.26
0.05	11.67 c	10.79 c	9.89 c
0.1	10.25 b	9.27 b	7.96 b
0.2	8.02 a	6.83 a	5.33 a
0.3	5.25 a	4.98 a	2.14 a

注:各组与对照组比较 a 代表 P<0.01 b 代表 0.01<P<0.05 c 代表 P>0.05,下同。

根尖细胞有丝分裂指数作为表示体细胞繁殖活动程度的指数,有丝分裂指数(%)=[处于分裂期(前、中、后、末)的细胞数/观察细胞总数]×100%<sup>[15]</sup>。本试验统计了不同浓度和时间的氯化钠水溶液染毒处理后分蘖葱头根尖细胞有丝分裂指数的变化(表 1)。

结果表明:在试验剂量范围内,不同浓度的氯化钠溶液对分蘖葱头根尖细胞有丝分裂的影响程度不同。随着氯化钠水溶液浓度的升高,染毒处理时间增长,分蘖葱头根尖细胞的有丝分裂指数逐渐降低,对分蘖葱头根尖细胞的毒性增强。在氯化钠水溶液浓度为 0.3 mol/L、染毒时间为 48 h 时,有丝分裂指数达到最低值 2.14%。其中氯化钠水溶液浓度为 0.05 mol/L 的试验组与对照组不存在显著差异,氯化钠水溶液浓度为 0.1 mol/L 的试验组与对照组存在显著差异,当氯化钠水溶液浓度为 0.2、0.3 mol/L 时,与对照组存在极显著差异。

### 2.2 氯化钠对分蘖葱头根尖细胞染色体畸变率的影响

绝大多数的分蘖葱头根尖细胞的有丝分裂过程是正常的(图 1),并可形成两个子细胞。而用不同浓度的氯化钠溶液处理后,有些细胞的有丝分裂出现异常现象。本试验剂量范围内,分蘖葱头根尖细胞染色体出现了不对称分裂、多极化、染色体断片、染色体桥、染色体粘连、染色体滞后等畸变现象(图 2),说明氯化钠对分蘖葱头根尖细胞染色体具有致畸变效应。本试验统计了不同浓度和时间的氯化钠水溶液染毒处理后分蘖葱头根尖细胞染色体的畸变率(表 2)。

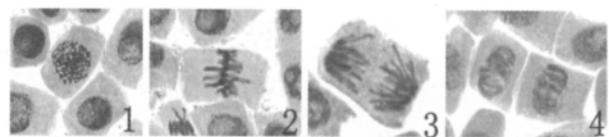


图 1 分蘖葱头根尖细胞正常分裂相

1. 前期 2. 中期 3. 后期 4. 末期

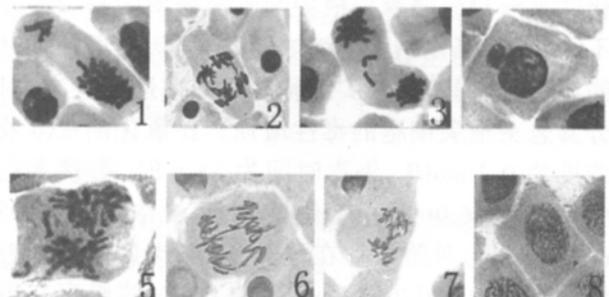


图 2 分蘖葱头根尖细胞畸变

1. 不对称分裂 2. 多极化 3. 滞后染色体 4. 核破裂 5. 染色体断片 6. 染色体桥 7. 染色体粘连 8. 微核

表 2 不同染毒处理对分蘖葱头根尖细胞染色体畸变率的影响

氯化钠(mol/L)	染色体畸变率(%)		
	染毒 12 h	染毒 24 h	染毒 48 h
CK	0.16	0.35	0.84
0.05	1.05 b	1.73 b	2.42 b
0.1	2.11 a	2.96 a	3.84 a
0.2	4.54 a	4.99 a	5.53 a
0.3	5.81 a	6.23 a	6.96 a

结果表明:在试验剂量范围内,不同浓度的氯化钠溶液对分蘖葱头根尖细胞染色体畸变率的影响程度不同。随着氯化钠水溶液浓度的升高,染毒处理时间增长,分蘖葱头根尖细胞的染色体畸变率逐渐升高,对分蘖葱头根尖细胞的毒性增强。在氯化钠水溶液浓度为 0.3 mol/L、染毒时间为 48 h 时,染色体的畸变率达到最大值 6.96%。氯化钠水溶液浓度为 0.05 mol/L 时,与对照组存在显著差异,当氯化钠水溶液浓度为 0.1、0.2、0.3 mol/L 时,与对照组存在极显著差异。

### 2.3 氯化钠对分蘖葱头根尖细胞微核率的影响

微核,是由各种理化因子作用而产生真核细胞染色体畸变在间期细胞中的一种表现形式(图 2 中的 8)。

本试验统计了不同浓度和时间的氯化钠水溶液染毒处理后分蘖葱头根尖细胞微核率(表 3)。

表 3 不同染毒处理对分蘖葱头根尖细胞微核率的影响

氯化钠(mol/L)	微核率(%)		
	染毒 12 h	染毒 24 h	染毒 48 h
CK	1.06	1.47	1.82
0.05	2.22 b	2.53 b	3.24 b
0.1	3.45 a	3.83 a	4.59 a
0.2	4.56 a	4.95 a	5.41 a
0.3	5.46 a	5.78 a	6.06 a

结果表明:在试验剂量范围内,不同浓度的氯化钠溶液对分蘖葱头根尖细胞微核率的影响程度不同,随着氯化钠水溶液浓度的升高,染毒处理时间增长,分蘖葱头根尖细胞的微核率逐渐升高,对分蘖葱头根尖细胞的毒性增强。在氯化钠水溶液浓度为 0.3 mol/L、染毒时间为 48 h 时,微核率达到最大值 6.06%。氯化钠水溶液浓度为 0.05 mol/L 时,与对照组存在显著差异,当氯化钠水溶液浓度为 0.1、0.2、0.3 mol/L 时,与对照组存在极显著差异。

## 3 讨 论

本次试验研究了氯化钠水溶液对分蘖葱头根尖毒性效应,Na<sup>+</sup>和 Cl<sup>-</sup>过量积累则会对分蘖葱头产生多种毒害作用。测定结果表明,在试验剂量范围内,随着氯化钠水溶液浓度的升高,染毒处理时间增长,分蘖葱头根尖处于分裂期的细胞有丝分裂指数逐渐降低,染色体畸变率逐渐升高,微核率逐渐升高。

较高浓度的氯化钠可以看作是对植物的一种毒害作用,不但影响分蘖葱头根尖细胞的有丝分裂,而且造成染色体畸变、影响微核率的现象。过量的 Na<sup>+</sup>和 Cl<sup>-</sup>会引起细胞内离子环境的改变,影响诸如蛋白质和 DNA 等大分子的结构或活性。分蘖葱头根尖细胞在氯化钠浓度提高时有丝分裂指数降低,细胞周期延长,是由于氯化钠对植物根尖细胞有丝分裂产生抑制作用,影响了细胞内原来的代谢过程,改变了细胞内原有的物质平衡,尤其是某些蛋白质表达方式的改变,会阻止细胞向分裂态转化,相应地延长细胞周期<sup>[16-18]</sup>,从而导致了分裂指数的降低;由于不同浓度氯化钠对分蘖葱头根尖细胞有丝分裂的影响程度不同,高浓度氯化钠还会干扰纺锤丝微管的形成,使染色体没有纺锤丝的牵拉,不能向两极移动,并且常出现染色体损伤、分布不均等结构变异,而在形态上表现出了染色体桥、染色体粘连、不均等分裂等畸变现象<sup>[19-20]</sup>;微核的产生是由于滞后染色体在有丝分裂的后期、末期不能与正常的染色体同步而形成的,而在细胞质中形成的圆形或椭圆形核。所以当氯化钠浓度较高时,不但植物生长发育受到限制,而且在遗传上造成 DNA 分子的损伤。说明氯化钠是一种胁迫因子,且具有遗传毒性效应。本试验不仅在细胞水平上检测了氯化钠对分蘖葱头根尖细胞的毒性效应,同时,对于在盐碱地进行分蘖葱头鳞茎的繁殖,并保持遗传稳定性,培育耐盐品种并改良和利用盐碱地资源促进分蘖葱头品质提供了理论依据。

参考文献:

- [1] 刘丽娟,周小平,王广树,等.分蘖葱头中含氮化合物的分离与鉴定[J].中国药物化学杂志,2009,19(5):369-370.
- [2] 尚丽芬,刘晓峰.毛葱栽培技术[J].中国农村小康科技,2010(1):52.
- [3] 张沐新,杨晓虹,陈滴,等.不同型号大孔树脂对分蘖葱头总黄酮吸附的研究[J].解放军药学报,2007,23(2):107-109.
- [4] 王成武.分蘖葱头栽培技术[J].黑龙江农业科学,2008(3):162.
- [5] 施成熙,粟宗高.农业水文学[M].北京:农业出版社,1984:20-21.

(下转第 74 页)

的愈伤组织的诱导率；其中以子叶和胚轴为外植体,在同时使用 2.0 mg/L 的 2,4-D 和 0.5 mg/L 的 6-BA 的条件下,愈伤组织的诱导率最高,分别达到 91.7%和 100%,而且愈伤组织颜色呈白色、量大而疏松。

本实验所加的植物生长物质有 6-BA 和 2,4-D,单独使用 6-BA 和 2,4-D 时,其诱导效果均没有同时使用两种激素的效果好。当 6-BA 与 2,4-D 结合使用时愈伤组织疏松,愈伤组织诱导量增加,其长势很好,颜色呈白色并且呈膨大状,出愈率最高。这与以往的研究结果不一致<sup>[6-9]</sup>,可能与不同品种的基因型有关<sup>[10]</sup>。

本实验中选用的外植体为辣椒无菌苗的子叶、根和下胚轴,从诱导结果看,以下胚轴为外植体,愈伤组织诱导效果最好,是较理想的外植体。这与以往的研究结果不一致<sup>[2-5]</sup>,可能与基因型<sup>[10]</sup>和外植体的状态有关。胚轴的表面积小并且内部是管状,营养及激素吸收效果好。子叶的适应能力没有胚轴强,有部分接入培养基后,出现褐化的现象,但是一旦长出愈伤组织效果还是很好的。而根

的愈伤组织则是很难长出,这可能与苗龄过长和根部的木质化程度较高有关。

参考文献:

- [1] 何建文. 辣椒组织培养及其在育种中的应用[J]. 贵州农业科学, 2009, 37(7): 6-9.
- [2] 王旭英, 朱道玉. 彩色辣椒愈伤组织的诱导与植株再生[J]. 河南农业科学, 2006(8): 101-103.
- [3] 张春芬, 孟玉平, 曹秋芬, 等. 辣椒的离体培养及再生体系研究[J]. 山西农业科学, 2008, 36(11): 34-37.
- [4] 柳建军, 于宏欣, 于彦丽. 辣椒离体培养及植株再生的研究[J]. 山东农业科学, 2001(2): 25-26.
- [5] 崔群香, 朱土农, 刘卫东. 彩色辣椒离体培养外植体及诱导培养基的筛选[J]. 金陵科技学院学报, 2005, 21(1): 78-81.
- [6] 李永文, 李红. 彩色辣椒子叶愈伤组织诱导影响因素的研究[J]. 北方园艺, 2007(5): 205-206.
- [7] 罗兰兰, 王鹏程, 张转, 等. 辣椒离体高效再生体系及其卡那霉素筛选体系的建立[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2003, 21(1): 51-57.
- [8] 李学宝, 陈光荣, 金波. 辣椒下胚轴离体培养的研究[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 1995, 29(3): 367-371.
- [9] 王迅, 洪亚辉. 辣椒愈伤组织辐射诱变及离体再生培养的研究[J]. 湖南农业科学, 2010(15): 11-13.
- [10] 龙凤, 张金文. 辣椒子叶和下胚轴的离体培养及高效再生体系的建立[J]. 甘肃农业大学学报, 2005, 40(1): 31-37.

(上接第 64 页)

- [6] 仪慧兰. NaCl 对大麦的毒性实验[J]. 应用与环境生物学报, 1998, 4(1): 92-94.
- [7] 仪慧兰, 王强. NaCl 对大麦幼苗生长及姊妹染色单体交换的影响[J]. 植物研究, 1997, 17(2): 174-179.
- [8] Li-Changsheng, Chen-Xiquan, Haiehao, et al. A study on growth of plantation on soda-saline-alkali soil[J]. J. Northeast For Univ, 1991, 11(2): 42-43.
- [9] 张新春, 庄炳昌, 李自超. 植物耐盐性研究进展[J]. 玉米科学, 2002, 10(1): 50-56.
- [10] Tester, M. Davenport, R.J.. Na<sup>+</sup> Transport and Na<sup>+</sup> Tolerance in Higher plants[J]. Ann. Bot. 2003(91): 503-527.
- [11] 龚莉, 许建军. 甲醛对洋葱根尖细胞的遗传毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(2): 215-218.
- [12] 曾秀存, 许耀照, 王晓琴, 等. 氯化钠对豌豆根尖细胞的致畸效应[J]. 甘肃农业科技, 2009(6): 16-17.
- [13] 丁晓雯, 李红, 王海燕. 环磷酰胺对蚕豆根尖细胞微核率

的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(1): 194-197.

- [14] 杜荣骞. 生物统计学(第 3 版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- [15] 王洪刚, 张娟, 姜丽君. 小麦、大麦、玉米根尖细胞有丝分裂指数及分裂频率的研究[J]. 山东农业大学学报, 1989(4): 62-64.
- [16] 刘岩石, 彭学贤. 植物抗渗透胁迫基因工程研究进展[J]. 生物工程进展, 1997, 17(2): 31-37.
- [17] 王小军, 鲍文奎. 八倍体小黑麦耐盐细胞系产生的遗传机制[J]. 植物学报, 1998, 40(4): 330-336.
- [18] 贺道耀, 余叔文. 水稻高脯氨酸愈伤组织变异体盐胁迫下氨基酸和蛋白质组分的变化[J]. 植物生理学报, 1995, 21(2): 123-130.
- [19] 王燕, 孙晓东, 龚坚, 等. NaCl 培养液对植物根尖有丝分裂的影响[J]. 长江大学学报, 2009, 6(3): 52-53.
- [20] 时丽冉, 刘志华, 高汝勇. NaCl 胁迫对玉米根尖细胞染色体行为的影响[J]. 玉米科学, 2008, 16(1): 71-73.