

铜对大蒜根尖细胞有丝分裂影响的研究

高 扬, 辛树权, 何锦冰, 侯 伟

(长春师范学院 生命科学学院 吉林 长春 130032)

摘 要: 用不同浓度(0.05、0.10、0.25、0.50、1.00 g/L)的硫酸铜(Cu^{2+})溶液作为诱变剂, 分别处理大蒜根尖 6、18、24 h。通过常规染色体压片技术, 观察大蒜根尖细胞有丝分裂现象。结果表明: 不同浓度的硫酸铜溶液均能使大蒜根尖细胞有丝分裂指数明显下降。其中染毒 18 h、 Cu^{2+} 的浓度为 0.10、0.25 g/L 时, 有丝分裂指数明显小于其他浓度; 染毒 24 h、 Cu^{2+} 浓度为 0.50、1.00 g/L 时, 有丝分裂指数明显小于其他浓度; 而染毒 24 h、 Cu^{2+} 浓度为 0.05 g/L 时, 有丝分裂指数抑制作用最小。同时还发现: 不同时间不同浓度的硫酸铜溶液均能导致多种类型的染色体畸变, 且畸变率明显高于对照组。结论: 硫酸铜对大蒜根尖细胞具有明显的细胞毒性和遗传毒性。

关键词: 硫酸铜; 大蒜; 有丝分裂指数; 染色体畸变

中图分类号: S 633.404⁺.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2008)06-0012-03

铜(Cu)既是植物生长发育必需的微量元素, 又是环境污染的重金属元素^[1]。适量的 Cu 营养对植物正常的生理代谢及产量的提高、品质的改善具有重要意义^[2]。

一般植物叶片的正常 Cu 含量为 5~30 mg/kg, 高于 30 mg/kg 时则可能引起中毒^[3]。Cu 对植物毒害效应表现之一是抑制生长^[4,5]。近年来随着农业生产上含 Cu 杀菌剂(如蓝矾、波尔多液)的频繁使用, Cu 矿的过度开采及工业生产中含 Cu 污染物的大量排放, Cu 污染已成为世界性难题, Cu 毒害的问题受到了国内外学者的重视。已有不少有关植物 Cu 毒害现象的报道^[6,7], 但对于 Cu

第一作者简介: 高扬(1957-), 女, 吉林九台人, 教授, 主要从事细胞生物学教学及研究工作。E-mail: zhaogroup@126.com.
收稿日期: 2008-01-29

- [3] 杨华, 崔元汁, 孙晓军, 等. 无土栽培基质配比对樱桃小番茄产量的影响[J]. 新疆农业科学 2005, 42(增): 11-13.
- [4] 魏国强, 孙治强, 常高正, 等. 不同施肥量对温室基质栽培番茄产量与品质的影响[J]. 河南农业大学学报 2000 34(4): 385-387.
- [5] 许榴君, 朱世东, 陈贤鑫. 无土栽培基质对蔬菜产量和品质的研究[J]. 生产率系统, 2002, 30, 34-37.
- [6] 周艳丽, 程智慧, 孟焕文, 等. 有机基质对比对番茄生长发育及产量和品质的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2005, 33(1): 79-82.

- [7] 汪雅谷, 张四荣. 无污染蔬菜生产的理论与实践[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 273-283.
- [8] 赵世杰. 植物生理学实验指导[M]. 中国农业出版社 1998: 68-72.
- [9] 郭世荣, 李式军, 程斐, 等. 有机基质培在蔬菜无土栽培上的应用研究[J]. 沈阳农业大学学报 2000 31(1): 89-92.
- [10] 高丽红. 无土栽培固体基质的种类与理化特性[J]. 农村实用工程技术, 2004(2): 28-30.

Effects of Organic Substrate Compositions on Growth, Photosynthetic Characteristics, Yield and Quality of Tomato Grown in Organic Substrate

HAN Dao-jie, LI Kun, XU Zhen-hang, YU Xian-chang

(College of Horticultural Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018 China)

Abstract: A tomato cultivar, Xiuli was used to investigate effects of different substrate compositions on the growth, physiological characteristics, yields and fruit quality of tomato grown in organic substrate. The results showed: growth, photosynthetic characteristic and yield and fruit quality of tomato grown in the treatment 1 (corn stems mixed sheep soil and soil with 2:1:1 ratio) and the treatment 3 (wheat straw) were better than the other treatments. Tomato grown in the treatment 1 was better than that grown in the treatment 3.

Key words: Tomato; Organic substrate; Substrate formula; Yield

毒害的机理以及 Cu 毒害的治理还处在探讨阶段, 需要进一步研究。植物受 Cu 毒害的最初部位是根, 过量的 Cu 积累于根部导致根的伤害, 从而影响整个植株的生长^[8-9]。目前, 以大蒜根尖为材料来研究 CuSO₄对植物细胞的毒害作用尚未见报道。用不同浓度的 CuSO₄分别处理大蒜根尖 6、18、24 h, 观察 CuSO₄对细胞有丝分裂的影响, 为进一步研究 Cu 对植物的毒害机理提供有价值的参考。

1 材料与方法

1.1 材料

大蒜 (*Allium Sativum*): 百合科植物, 购于农贸市场, 附近没有污染源。

1.2 药品

硫酸铜 (Cu²⁺): 北京化工厂生产, 分析纯。

1.3 方法

将大蒜置于盛有蒸馏水的培养皿中, 在室温 (15~17℃)发根, 每天换 2 次水, 待根长至 1~2 cm 时, 将其转入盛有不同浓度 (0.05、0.10、0.25、0.50、1.00 g/L)硫酸铜溶液的培养皿中, 分别染毒 6 h (上午 10:30 处理, 当天下午 4:30 取材), 18 h (下午 4:30 处理, 次日上午 10:30 取材), 24 h (上午 10:30 处理, 次日 10:30 取材)。用卡诺固定液 (V 无水乙醇 :V 冰醋酸=3 :1)固定 24 h, 然后移入 70%乙醇中并放入 4℃冰箱中保存。制片时, 将根尖放入盛有 1 mol/L HCl 的小烧杯中, 在 60℃恒温水浴条件下解离 4~4.5 min, 后用改良的石碳酸品红染色液染色 10~15 min, 常规压片, 镜检。计算有丝分裂指数, 并对数据用 SPSS 13.0 软件统计学分析。用日本 OlympusB×5040×0.75 对畸变的染色体进行拍照。

2 结果与分析

2.1 不同染毒时间、不同浓度的 Cu²⁺ 溶液对大蒜根尖细胞有丝分裂指数的影响

表 1 染毒 6 h 不同浓度的 Cu²⁺ 溶液对大蒜根尖细胞有丝分裂指数的影响

浓度/g · L ⁻¹	细胞总数	分裂细胞数	有丝分裂指数/%
0	2 070	127	6.14
0.05	2 000	76	3.80
0.10	2 040	60	2.94
0.25	2 000	68	3.40
0.50	2 040	55	2.70
1.00	2 000	59	2.95

通过光镜观察发现, 不同染毒时间不同浓度的 Cu²⁺溶液均对大蒜根尖细胞的有丝分裂产生抑制作用。其中染毒 18 h, Cu²⁺ 的浓度为 0.10、0.25 g/L 时有丝分裂指数明显小于其他浓度; 染毒 24 h, Cu²⁺ 浓度为 0.50、1.00 g/L 时有丝分裂指数明显小于其他浓度; 而染毒 24 h, Cu²⁺ 浓度为 0.05 g/L 时, 有丝分裂指数抑制作用最小 (见表 1、2、3)。

表 2 染毒 18 h 不同浓度的 Cu²⁺ 溶液对大蒜根尖细胞有丝分裂指数的影响

浓度/g · L ⁻¹	细胞总数	分裂细胞数	有丝分裂指数/%
0	2 020	141	6.98
0.05	2 050	51	2.49
0.10	1 920	34	1.77
0.25	2 000	33	1.65
0.50	2 000	54	2.70
1.00	2 000	57	2.85

表 3 染毒 24 h 不同浓度的 Cu²⁺ 溶液对大蒜根尖细胞有丝分裂指数的影响

浓度/g · L ⁻¹	细胞总数	分裂细胞数	有丝分裂指数/%
0	2 036	152	7.47
0.05	1 990	90	4.52
0.10	2 010	59	2.94
0.25	1 980	78	3.94
0.50	2 050	36	1.76
1.00	2 050	37	1.80

对以上 LSD 统计结果进行分析发现, 在试验剂量范围内, 无论染毒时间长短还是处理液浓度高低, Cu²⁺ 对大蒜根尖细胞分裂的影响均具有极显著的毒害作用。

2.2 不同染毒时间、不同浓度的 Cu²⁺ 溶液对大蒜根尖细胞有丝分裂染色体畸变的影响

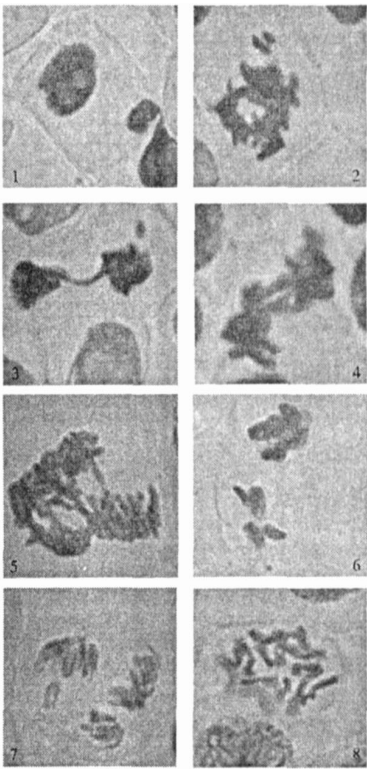


图 1 染色体畸变类型

注: 1. 微核; 2. 染色体断片; 3. 染色体单桥及微核; 4. 染色体双桥; 5. 染色体多桥; 6. 染色体丢失; 7. 多极化; 8. 纺锤丝被打断。

硫酸铜处理大蒜根尖细胞后, 可导致多种染色体畸变现象的发生。如上次有丝分裂过程中染色体受损或染色体活动异常而形成的微核; 染色体的损伤或纺锤丝

的破坏而造成后期两组子染色体不能正常分开, 部分子染色体间发生融合而出现染色体断片、单桥、双桥和多桥以及染色体丢失现象; 分裂极的不确定造成的多极现象(见图 1)等。

3 讨论

该试验发现, 不同浓度 CuSO_4 均能使大蒜根尖分生组织细胞有丝分裂指数下降, 而且能引起染色体畸变。其中 Cu^{2+} 的浓度小于或等于 0.25 g/L 时, 随着时间的延长, 有丝分裂指数呈先降后升的变化。这种现象的产生可能是因为: Cu^{2+} 在大蒜根尖细胞内暂时积累, 对细胞造成毒害作用, 诱发自由基等有害物质的产生, 因而导致有丝分裂指数下降; 但有害物质的产生也激活了细胞中的过氧化物酶, 在过氧化物酶的作用下, 使细胞中有害物质得以及时清除, 有丝分裂指数重新升高。过氧化物酶的活性也存在一个域值, 当 Cu^{2+} 的浓度大于 0.50 g/L、处理时间延长至 24 h 时, 有丝分裂指数迅速下降, 说明此时细胞中毒很深, 已经超出过氧化物酶所能抵御的范围^[10]。有学者研究证明硒、铅可以降低植物的有丝分裂指数是由于抑制了细胞 DNA 的复制及蛋白质的合成, 使细胞不能进入下一次的分裂期, 从而降低有丝分裂指数^[11-14]。因此, 可以推测, Cu^{2+} 长时间、过量地积存在大蒜根尖细胞中, 抑制了与细胞有丝分裂有关的蛋白质合成, 从而阻碍了细胞周期的运行, 导致了有丝分裂下降。

大蒜用鳞茎进行无性繁殖, 作为试验材料具有遗传背景稳定的优势, 已有应用大蒜根尖细胞有丝分裂的现象进行水质检测、监测大气污染状况的研究报道^[15-19]。研究表明, 诱变剂进入大蒜根尖细胞后通过切断 DNA 分子或干扰 DNA 合成和修复, 造成染色体损伤, 或引起纺锤体丝断裂及其他畸变而导致微核及各种染色体畸变的形成, 其结果有助于阐明污染物对生物及人体的危害程度和损伤机制^[17-18]。

The Study of the Effect of Copper on the Caryomitosis of Garlic Root Tips

GAO Yang, XIN Shu-quan, HE Jin-bing, HOU Wei

(The Life Science College of Changchun Normal University, Changchun, Jilin 130032, China)

Abstract: Using different concentrations (0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 g/L) of CuSO_4 as mutagenic substance, we treated the garlic root tips for 6 h, 18 h and 24 h, respectively. And then observed the phenomenon of its caryomitosis with common technique of chromosome-tabletting. The result indicated that all concentrations of it significantly decreased the Chromosome index. Among them, both the concentrations of Cu^{2+} were 0.10 g/L and 0.25 g/L whose chromosome index by far less than others when treated for 18 h; however, when the time-treated was up to 24 h, 0.50 g/L and 1.00 g/L of CuSO_4 gave rise to a significantly less caryomitosis index and the inhibitory effect of CuSO_4 on the chromosome was least with 0.05 g/L. Simultaneously, different time and concentrations-treatment could result in various chromosome aberrations, and had a higher aberration rate than control. We concluded that CuSO_4 rendered the cells of garlic root tip more cyto-toxicity and inherent toxicity.

Key words: CuSO_4 ; Garlic; Caryomitosis index; Chromosome aberration

参考文献

- [1] 高拯民. 中国百科全书环境科学卷[M]. 北京: 中国大百科全书出版社 1983; 383-386.
- [2] 张国军, 邱栋梁, 刘星辉. Cu 对植物毒害研究进展[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2004, 33(3): 289-294.
- [3] 常红岩, 孙百晔, 刘春生. 植物铜素毒害研究进展[J]. 山东农业大学学报, 2000, 31(2): 227-230.
- [4] 黄细花, 赵振纪, 刘厚勇, 等. 铜对紫云英生长发育影响的研究[J]. 农业环境保护, 1993, 12(1): 1-6.
- [5] 王宏康, 阎寿沧. 污泥施肥时对铜农作物的污染[J]. 环境科学, 1990, 11(3): 6-11.
- [6] 李宁, 吴华龙, 李法云, 等. 不同铜污染土壤下海洲香薷生长及铜吸收动态[J]. 土壤, 2006, 38(5): 598-601.
- [7] 李华, 骆永明, 宋静. 不同铜水平下海洲香薷的生理特性和铜积累研究[J]. 土壤, 2002, 34(4): 225-228.
- [8] 赵振纪, 黄细花, 刘厚勇, 等. 铜对土壤-植物系统的影响及其临界值指标的研究[J]. 环境与开发, 1993, 8(1): 4-9.
- [9] Alva A K, Chen E Q. Effects of external copper concentrations on uptake of trace elements by citrus seedling[J]. Soil Sci, 1995, 159: 59-64.
- [10] 关日强, 黄卓烈. 二氯苯醚菊酯对黄瓜叶片几种氧化酶活性的影响[J]. 华南农业大学学报, 2001, 22(1): 63-73.
- [11] Grant F W. The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens[J]. Mutat Res, 1994, 310: 175-195.
- [12] Tomsett A B, Thurman D A. Molecular biology of metal tolerances of plants[J]. Plant Cell Environ, 1988(11): 383-394.
- [13] Woolhouse H W. Toxicity and tolerance in the responses of plant to metals[C]//. In: Yong G T. Physiological Plant Ecology II: Response to the Chemical and Biol Environment[C]. Berlin: Springer-Verlag, 1983; 246-360.
- [14] Foy C D, Whits M C. The physiology of metal toxicology in plants Ann Rev[J]. plant Physiol, 1978, 29: 511-566.
- [15] 侯家龙, 张庆. 应用大蒜根尖微核技术检测水质污染的初步研究[J]. 生态学杂志, 1988, 7(3): 50-52.
- [16] 仪惠兰, 孟紫强. SO_2 衍生物对大蒜根尖细胞遗传效应损伤的研究初报[J]. 环境科学学报, 2001, 21(4): 486-490.
- [17] 高扬, 石秀红, 何正彪, 等. 硝酸铅对大蒜根尖细胞有丝分裂的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2004, 26(6): 603-605.
- [18] 高扬, 马子明, 何正彪. 硒铅混合液对大蒜根尖有丝分裂的影响[J]. 长春师范学院报, 2004, 23(3): 46-49.