

钙、铅处理对大豆根尖细胞有丝分裂的影响

杨丽娟¹, 顾地周¹, 栾志慧¹, 郭志欣¹, 高 微¹, 王晓伟^{1,2}, 吴 培¹, 张 峰¹

(1. 通化师范学院 生命科学学院, 吉林 通化 134002; 2. 涿鹿北辰学校, 河北 涿鹿 095600)

摘要:以大豆(2n=40)品种黑河26为材料,研究了铅、钙及二者复合处理对大豆根尖细胞有丝分裂的影响。结果表明:铅、钙及其复合处理对大豆根尖细胞有丝分裂及染色体行为存在不同程度的影响。具体表现为:在0~100 mg·L⁻¹范围内,随Pb(NO₃)₂浓度增大染色体畸变率、微核率递增,有丝分裂指数则降低;0.1~1.0 g·L⁻¹浓度Ca(NO₃)₂有利于植物根尖有丝分裂的进行,但大于2.5 g·L⁻¹则具有抑制作用;铅钙复合处理条件下,钙在0.1~1.0 g·L⁻¹浓度范围会缓解铅的毒害,钙的浓度过高反而会加重铅的毒性效应。

关键词:钙、铅处理;大豆;有丝分裂

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2014)02-0293-03

Effect of Calcium and Lead Treatment on Mitosis of Soybean Root Tip Cell

YANG Li-juan¹, GU Di-zhou¹, LUAN Zhi-hui¹, GUO Zhi-xin¹, GAO Wei¹, WANG Xiao-wei^{1,2}, WU Pei¹, ZHANG Feng¹

(1. School of Life Science, Tonghua Normal University, Tonghua 134002, China; 2. Zhuolu Beichen School, Zhuolu 095600, China)

Abstract: In this paper, we studied the effect of Pb, Ca and their combined treatments on root cell mitosis of soybean (2n = 40) cultivar Heihe 26. The results showed that with the concentration of Pb(NO₃)₂ (0-100 mg·L⁻¹) increased the rate of chromosome aberration and micronucleus rate increased, and the mitotic index decreased. Lower concentration of Ca(NO₃)₂ (0.1-1.0 g·L⁻¹) could enhance the plant root tip mitosis index, but inhibited that at high concentrations (2.5 and 4.5 g·L⁻¹). In the Pb(NO₃)₂ and Ca(NO₃)₂ combined treatment, 0.1-1.0 g·L⁻¹ Ca(NO₃)₂ could relieved the poison of 50 mg·L⁻¹ Pb(NO₃)₂.

Key words: Calcium and lead treatment; Soybean; Cell mitosis

铅是一种对环境和人体健康有害的金属,在原矿开采、原生冶炼、再生铅冶炼等过程中都产生大量的污染^[1],铅含量超标对植物生长以及人体健康均会产生不利影响。钙是植物必需元素,适量钙对植物的生长有益。目前国内外学者研究表明植物根尖细胞在分裂期间对外界环境反应敏感,易产生染色体畸变、微核等分裂异常现象,其变异率与污染物种类及浓度相关^[2-5],但对于铅、钙及二者复合对大豆根尖细胞的诱变效应鲜有报道。本文考察了铅、钙及其复合处理对大豆根尖细胞染色体畸变率及微核率的影响,旨在为抗重金属大豆选育提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验设计

以大豆品种黑河26为材料,选取籽粒饱满、大小均一、无损伤的籽粒,消毒后用蒸馏水浸种直至吸水膨胀。取培养皿,底层铺两层滤纸,置25℃的培养箱中催芽培养,当初生根长到1.0~1.5 cm时,选取发育良好,大小相近的幼根,放入不同浓度的

钙(0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5, 4.5 g·L⁻¹ Ca(NO₃)₂)、铅(0, 10, 30, 50, 80, 100 mg·L⁻¹ Pb(NO₃)₂)及其复合溶液(50 g·L⁻¹ Pb(NO₃)₂; 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5, 4.5 mg·L⁻¹ Ca(NO₃)₂)中浸染,以蒸馏水为对照,每个浓度设3次重复。浸染24 h后切取根尖用蒸馏水冲洗3~4次,再用改良的卡诺固定液^[3]室温固定20~24 h,冲洗3~4次后加入0.1 mol·L⁻¹盐酸在室温下解离5~7 min,直至根尖软化,并用改良苯酚品红染液^[4]染色2~3 h。常规压片后镜检并显微镜拍照,利用中科组织细胞分析诊断图文报告系统进行细胞计数。每个试验组观察3个根尖,每个根尖观察大约500个细胞,使所观察的细胞总数达到1500个以上,计算有丝分裂指数、染色体畸变率以及微核率,公式如下:

细胞分裂指数(%) = (分裂细胞数/观察细胞总数) × 100

畸变率(%) = (畸变细胞数/观察细胞总数) × 100

微核率(%) = (微核细胞数/观察细胞总数) × 1000

收稿日期:2013-09-12

第一作者简介:杨丽娟(1965-),女,硕士,副教授,主要从事植物细胞生物学研究。E-mail:thpgjw@163.com。

1.2 数据分析

利用 Excel 2003 中的 t 测验检测差异显著性。

2 结果与分析

2.1 铅处理对大豆根尖细胞有丝分裂的影响

由表 1 可知,随着 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 浓度的增加,大豆根尖细胞的有丝分裂指数逐渐降低,10 和 30

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时与对照组差异显著,50 ~ 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,差异极显著。随着药剂浓度的增加,大豆根尖细胞染色体畸变率和根尖细胞微核率均逐渐升高,浓度为 30 ~ 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时根尖细胞染色体畸变率与对照组呈极显著差异,浓度为 50 ~ 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时根尖细胞微核率与对照组呈极显著差异。

表 1 不同浓度铅处理对大豆根尖细胞有丝分裂的影响

Table 1 Effect of different $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ treatments on soybean root tip cell mitotic

硝酸铅水溶液浓度 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ concentration/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	有丝分裂指数 Mitotic index/%	染色体畸变率 Chromosome aberration/%	微核率 Micronucleus/‰
0	15.91 ± 0.13	3.67 ± 1.20	2.00 ± 0.58
10	12.59 ± 0.85 *	9.00 ± 0.58 *	6.00 ± 1.15
30	12.57 ± 0.47 *	9.67 ± 0.67 **	12.67 ± 0.67 *
50	10.97 ± 0.52 **	13.33 ± 1.76 **	15.67 ± 0.89 **
80	10.75 ± 0.57 **	16.33 ± 1.76 **	17.00 ± 1.00 **
100	8.47 ± 0.58 **	18.00 ± 1.52 **	18.00 ± 1.15 **

试验组与对照组比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。下同。

Experimental group compared with control group; ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$. The same below.

2.2 钙处理对大豆根尖细胞有丝分裂的影响

由表 2 可知,当 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 浓度为 0.1 ~ 1.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,有丝分裂指数高于对照并随着钙离子浓度的增大呈上升趋势,1.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时与对照组呈极显著

差异,浓度继续增加,指数逐渐减低且均低于对照。 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 水溶液对大豆根尖细胞畸变率和根尖细胞微核率也存在一定的影响,但是相对于对有丝分裂指数的影响效果不明显。

表 2 不同浓度钙处理对大豆根尖细胞有丝分裂的影响

Table 2 Effect of different $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ treatment on soybean root tip cell mitotic

硝酸钙水溶液浓度 Concentration of $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2/\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	有丝分裂指数 Mitotic index/%	染色体畸变率 Chromosome aberration/%	微核率 Micronucleus/‰
0	12.64 ± 0.60	3.67 ± 1.20	2.00 ± 0.58
0.1	13.27 ± 1.47	3.67 ± 2.17	2.67 ± 0.89
0.5	15.81 ± 1.86 *	5.33 ± 1.20	2.00 ± 1.15
1.0	19.74 ± 0.97 **	4.67 ± 1.45	1.67 ± 0.67
2.5	11.09 ± 1.11	3.67 ± 2.18	0.67 ± 0.33 *
4.5	10.63 ± 1.63	1.00 ± 0.56 *	1.33 ± 0.33

2.3 铅钙复合处理对大豆根尖细胞有丝分裂的影响

由表 3 可知,在铅浓度为 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 条件下,钙浓度为 0.1 ~ 1.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时有丝分裂指数呈上升的趋势,1.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时处理组有丝分裂指数达到最高,与单独铅处理组相比差异极显著,说明 1.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 钙离子能够去除 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 铅离子的毒害作用;而当钙离子浓度继续增大时,大豆根尖细胞有丝分裂指数反而显著降低,说明钙离子浓度过大反而加重了铅的毒害作用,当钙浓度为 4.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时处理组有丝分裂指数极显著低于单独铅处理组,降低了 41.93%。

铅、钙复合的各处理组相较于单独硝酸铅处理组,均降低了大豆根尖细胞染色体的畸变率,其中钙浓度为 1.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时处理组与蒸馏水对照组的畸

变率相近,说明钙浓度为 1.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 可以很好地去除铅毒害的作用,钙浓度为 0.5 ~ 4.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时处理组与单独铅处理组相比畸变率差异极显著。

铅、钙复合处理组相较于铅单独处理组,都降低了大豆根尖细胞的微核率,钙浓度为 0.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时复合处理与单独铅处理差异显著,1.0 ~ 4.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时差异极显著。钙浓度为 1.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 复合处理组微核率与蒸馏水处理相近,说明 1.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 钙离子具有很好的去除铅毒害作用。

钙浓度为 2.5 和 4.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时处理组的染色体畸变率和微核率均低于蒸馏水对照组,但是不能说这两个浓度具有很好的去除铅的毒害作用。原因在于该浓度条件下有丝分裂指数很低,不能正确地反映染色体畸变和微核应有的水平。

表 3 不同浓度钙铅复合对大豆根尖细胞有丝分裂的影响
Table 3 Effect of different $Pb(NO_3)_2$ and $Ca(NO_3)_2$ compound treatments on soybean root tip cell mitotic

铅、钙水溶液浓度 Concentration of compound		有丝分裂指数 Mitotic index/%	染色体畸变率 Chromosome aberration/%	微核率 Micronucleus/%
$Pb(NO_3)_2/mg \cdot L^{-1}$	$Ca(NO_3)_2/g \cdot L^{-1}$			
0	0	15.91 ± 0.13	3.67 ± 1.20	2.00 ± 0.58
50	0	10.97 ± 0.52	13.33 ± 1.76	15.67 ± 0.89
50	0.1	11.32 ± 0.67	12.00 ± 1.73 *	14.33 ± 0.67
50	0.5	11.98 ± 0.17 *	7.33 ± 1.45 **	6.00 ± 0.58 *
50	1.0	14.57 ± 0.56 **	4.00 ± 0.20 **	2.00 ± 0.15 **
50	2.5	9.40 ± 0.86 *	2.67 ± 0.67 **	2.33 ± 0.33 **
50	4.5	6.37 ± 1.92 **	1.67 ± 0.33 **	1.33 ± 0.33 **

各组与单独铅处理组比较; ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。

Each group compared with single $Pb(NO_3)_2$ group; ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

近几年来,重金属对我国植物以及土壤的污染越来越严重,对植物根尖细胞的影响也越来越受大家的关注。本试验研究了铅、钙及其复合物对大豆根尖细胞的诱变效应。在 $0 \sim 100 mg \cdot L^{-1}$ 范围内,随 $Pb(NO_3)_2$ 浓度增大染色体畸变率、微核率递增,有丝分裂指数则降低,这与前人对蚕豆^[4]、小麦^[6]和大蒜^[7]的相关研究结果一致,产生这种变化的原因可能是植物吸收一定量的铅后会产生“植物中毒”效应,当铅进入到植物细胞中可能会抑制 S 期需要的触发蛋白的形成^[8],从而延长了细胞周期,降低了细胞分裂指数,细胞周期延长,会导致细胞分裂受阻,而发生染色体畸变。当进入下一细胞周期时,染色体发生丢失或断裂,没有进入到子细胞中而是在细胞质中形成圆形或不规则形状的小核^[9],造成微核率增加。

钙对大豆有丝分裂影响的研究结果与邢树平等^[10]对小麦根生长的影响结论是一致的。在植物铅中毒情况下,加入一定浓度的钙溶液,有丝分裂指数增加,染色体畸变率和微核率降低,说明一定浓度的钙溶液具有去除铅毒害的作用,但高浓度的钙反而会加重铅的毒害效应。

参考文献

- [1] 张正杰,李东红,许增贵.我国铅污染现状、原因及对策[J].环境保护科学,2005(4):41-42,47. (Zhang Z J, Li D H, Xu Z G. Present conditions, reasons and measures of lead pollution in China [J]. Environmental Protection Science, 2005(4):41-42, 47.)
- [2] 李林,宗浩.铅对大豆幼苗生长和生理生化特性的影响的初步研究[D].成都:四川师范大学,2009. (Li L, Zong H. The preliminary studies on growth and the physiological and chemical characteristic of soybean seedling under the stress of Pb [D]. Chengdu: Sichuan Normal University, 2009.)
- [3] 高扬,武法清,何正飏.铅对洋葱根尖细胞有丝分裂的影响[J].长春师范学院学报,2003,22(2):57-59. (Gao Y, Wu F Q, He Z B. Effect of Pb on the mitosis of root tip of onion [J]. Journal of Changchun Normal University, 2003, 22(2):57-59.)
- [4] 张英慧.铅、钙及其复合物对蚕豆有丝分裂的影响[D].成都:四川师范大学,2005. (Zhang Y H. Effects of Pb^{2+} , Ca^{2+} , Pb^{2+} & Ca^{2+} on cell division of root tips of *Vicia faba* [D]. Chengdu: Sichuan Normal University, 2005.)
- [5] 赵风云,王元秀,王志国.铅锌对蒜根尖细胞的遗传毒理作用[J].菏泽师专学报,2005,22(2):49-51. (Zhao F Y, Wang Y X, Wang Z G. The heredity toxicant effect of Zn and Pb on the root cell in the bulb of *Allium* L. [J]. Journal of Heze Teachers College, 2005, 22(2):49-51.)
- [6] 陈冬朋,于丽杰,朱宏.硝酸铅对小麦(*Triticum aestivum* Linn.)根尖有丝分裂的影响[J].哈尔滨师范大学自然科学学报,2010,26(2):65-88. (Chen D P, Yu L J, Zhu H. Effect of $Pb(NO_3)_2$ on the mitosis of root tip cells of wheat (*Triticum aestivum* Linn.) [J]. Natural Sciences Journal of Harbin Normal University, 2010, 26(2):65-88.)
- [7] 高扬,石秀红,何正飏,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. (Gao Y, Shi X H, He Z B, et al. Effects of $Pb(NO_3)_2$ on mitosis of garlic root tip [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2004, 26(6):603-605.)
- [8] 曹德菊,汤斌.铅、镉及其复合污染对蚕豆根尖细胞的诱变效应[J].激光生物学报,2004,13(4):302-305. (Cao D J, Tang B. Effect of plumbum, cadmium and the combined pollution actate on root tip cell of *Vicia faba* [J]. Acta Laser Biology Sinica, 2004, 13(4):302-305.)
- [9] Shahin S A, El-Amoodi K H. Induction of numerical chromosome aberrations during DNA synthesis using the fungicides nimrod and rubigan-4 in root tips of *Vicia faba* L. [J]. Mutation Research, 1991, 261(3):169-176.
- [10] 邢树平,李兴国,张宪省,等. Ca^{2+} 对小麦种根及其根毛生长发育的影响[J].植物学通报,1998,15(2):41-45. (Xing S P, Li X G, Zhang X S, et al. Effects of calcium on growth and development of seed root and root hair in wheat [J]. Chinese Bulletin of Botany, 1998, 15(2):41-45.)