

# NaCl 胁迫对鹰嘴豆根尖细胞有丝分裂的影响

萨娜瓦尔·艾比布拉, 阿依努尔·阿布拉, 陈全家, 帕丽旦木·买买提, 卡德尔·百克力

(新疆农业大学农学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

**摘要** [目的] 为鹰嘴豆的抗性研究奠定细胞遗传学基础。[方法] 以鹰嘴豆根尖为材料, 用不同浓度的 NaCl 溶液 (0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 mol/L) 分别处理 24 和 48 h, 观察根尖分生组织细胞有丝分裂及染色体行为。[结果] 当 NaCl 浓度  $\geq 0.1$  mol/L 时, 处于分裂期的细胞逐渐减少, 并且鹰嘴豆根尖细胞出现染色体黏连、后期染色体分离不同步、微核、染色体断裂、染色体桥、不均等分裂、后期滞后染色体等畸变现象。[结论] NaCl 作为一种胁迫因子, 对鹰嘴豆细胞的有丝分裂有抑制作用, 且具有遗传毒性效应。

**关键词** NaCl; 鹰嘴豆; 有丝分裂指数; 染色体畸变率

**中图分类号** S503.2 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)16-008-03

## Effects of Salt Stress on Mitosis of Root Tip Cell in Chickpea

SANAWAER Aibibula, AYINUER Abula, CHEN Quan-jia et al (College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052)

**Abstract** [Objective] The research aimed to lay the foundation of cell genetics for the study of resistance of chickpea. [Method] Chickpea root tips were treated by NaCl solutions of different concentrations (0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 mol/L) for 24 and 48 h, and the cell mitosis of root meristem and chromosome behavior were observed. [Result] When NaCl concentration  $\geq 0.1$  mol/L, the mitotic cells decreased gradually, and the chickpea root tip cells appeared chromosome conglutination, out of synchronization of anaphase chromosome separation, micronucleus, chromosome bridge, unequal division in the later stage, and lagging chromosomes aberration phenomenon, etc. [Conclusion] As a stress factor, NaCl had the inhibitory effects on chickpea mitosis and the genetic toxicity effects.

**Key words** NaCl; Chickpea; Mitotic index; Chromosome aberration

鹰嘴豆 (*Cicer arietinum* L.) 是世界第二大食用豆类, 是印度、中东、南美洲重要的粮食作物<sup>[1]</sup>。我国鹰嘴豆主要分布于新疆、青海、甘肃和云南等省。新疆鹰嘴豆资源较丰富, 是我国鹰嘴豆外贸出口的重要产地<sup>[2]</sup>。与其他豆类作物相比, 鹰嘴豆具有需水少、成本低、经济价值高等特点<sup>[3]</sup>。

根尖分生区的有丝分裂活动是植物体得以正常生长发育的基础, 而顶端分生组织区是植物体对不良环境因子反应最敏感的区域<sup>[4]</sup>。国内已有不少关于土壤盐渍化影响体细胞分裂的报道, 研究对象涉及大蒜、玉米、小麦、水稻、黑麦、豌豆等<sup>[5-10]</sup>。目前, 鹰嘴豆的研究主要是集中在鹰嘴豆的营养成分、药理作用、生态价值以及耐盐生理等方面, 而关于鹰嘴豆细胞遗传学的研究至今鲜有报道<sup>[11-13]</sup>。以鹰嘴豆根尖为材料, 笔者测定其在 NaCl 胁迫下的有丝分裂指数和染色体畸变率, 为鹰嘴豆的抗性研究奠定细胞遗传学基础。

## 1 材料与与方法

**1.1 试验材料** 鹰嘴豆品种 213 号, 由新疆农业大学农学院提供。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 鹰嘴豆根尖的培养。** 首先, 将选好的鹰嘴豆种子在清水中泡 24 h, 然后在 25 °C 下置于盛有水的培养皿中培养发根, 每日换水 2 次, 待不定根长至 0.5 cm 时将鹰嘴豆根尖移置盛有 5 种浓度 (0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 mol/L) 的 NaCl 溶液中, 并且设蒸馏水为阴性对照组, 分别培养 24、48 h, 在上午 8:00~10:00 剪取根尖。

**1.2.2 染色体制片的准备。** 根尖在 4 °C 用卡诺式固定液固

定 18~24 h, 然后移入浓度 70% 乙醇保存液中, 在 4 °C 冰箱内保存。制片时, 先用蒸馏水冲洗根尖, 然后将根尖放入盛有 1 mol/L HCl 的小烧杯中, 在 60 °C 水浴条件下解离鹰嘴豆根尖 7~9 min, 用改良的苯酚品红染色液染色 10~15 min, 常规压片。

**1.2.3 镜检计数。** 对每个试验组观察 10 个根尖, 每个根尖统计约 2 000 个细胞, 计算有丝分裂指数、染色体畸变率。

有丝分裂指数 = 分裂细胞数 / 观察总细胞数  $\times 100\%$

染色体畸变率 = 染色体畸变细胞数 / 观察总细胞数  $\times 1 000\%$

**1.3 数据统计分析** 利用 Excel 2003 进行数据计算。采用 SPSS 16.0 统计软件进行方差分析。

## 2 结果与分析

**2.1 鹰嘴豆根尖细胞有丝分裂指数** 有丝分裂指数是体细胞分裂的频率和根尖生长速率的一个重要参数<sup>[14]</sup>。通过观察鹰嘴豆根尖分生区细胞, 发现 NaCl 浓度和处理时间均影响鹰嘴豆根尖细胞有丝分裂指数。由表 1 可知, 当 NaCl 浓度为 0.05 mol/L 时, 处理 24、48 h 的有丝分裂指数分别为 5.56%、5.84%, 均高于对照, 且差异不显著。这说明低浓度的 NaCl 对根尖细胞分裂有一定的促进作用。当 NaCl 浓度为 0.1 mol/L 时, 处理 48 h 的有丝分裂指数为 4.32%, 低于对照, 出现显著差异 ( $P < 0.05$ )。当 NaCl 浓度为 0.15 mol/L 时, 差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 说明高浓度的 NaCl 可通过干扰细胞分裂周期, 使得细胞分裂周期延长, 从而降低细胞分裂指数。试验结果还表明, 当 NaCl 浓度相同时, 随着 NaCl 作用时间的延长, 鹰嘴豆根尖细胞有丝分裂指数逐渐降低, 说明相同浓度的 NaCl 对有丝分裂的抑制作用表现出盐胁迫的累积效应。

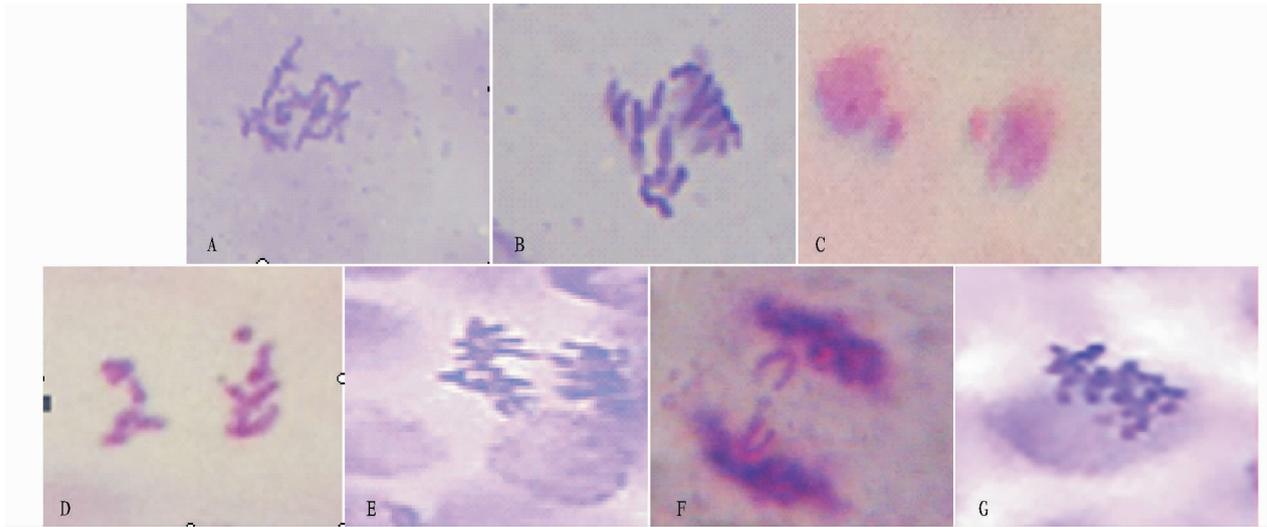
表 1 不同浓度 NaCl 溶液对鹰嘴豆根尖生长点细胞有丝分裂指数的影响

处理时间//h	NaCl 浓度//mol/L	有丝分裂指数//%
24	0	5.32
	0.05	5.56
	0.10	4.90
	0.15	4.74*
	0.20	3.23**
	0.25	2.38**
48	0	5.54
	0.05	5.84
	0.10	4.32*
	0.15	3.65**
	0.20	2.86**
	0.25	2.16**

注: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

**2.2 鹰嘴豆根尖细胞染色体畸变率** NaCl 诱导鹰嘴豆根尖细胞出现染色体畸变现象。畸变类型主要有染色体黏连、后期染色体分离不同步、微核、染色体桥、染色体断裂、不均等分裂、后期滞后染色体等(图 1)。

由表 2 可知,当 NaCl 浓度为 0.05 mol/L,处理 24 h 时,没有观察到染色体畸变类型;当 NaCl 浓度达到 0.15 mol/L 时,总畸变率为 1.34‰,与对照相比有极显著差异( $P < 0.01$ )。在处理 48 h 时,NaCl 浓度 0.10 mol/L 时总畸变率与对照相比差异显著( $P < 0.05$ ),NaCl 浓度为 0.15 mol/L 时总畸变率达到 2.30‰,且差异极显著( $P < 0.01$ )。由此可知,当处理时间相同时,NaCl 对鹰嘴豆根尖细胞的畸变作用随着 NaCl 浓度的增加而加强;随着 NaCl 作用时间的延长,鹰嘴豆根尖细胞染色体畸变率升高。



注:A. 染色体黏连;B. 后期染色体分离不同步;C. 微核;D. 不均等分裂;E. 染色体桥;F. 滞后染色体;G. 染色体断裂。

图 1 染色体异常行为图片

表 2 不同浓度 NaCl 溶液对鹰嘴豆根尖细胞染色体行为的影响

处理时间//h	NaCl 浓度 mol/L	异常分裂细胞比率//‰							染色体总畸变率//‰
		黏联	染色体不同步分离	微核	不均等分裂	染色体桥	染色体断裂	落后染色体	
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.05	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.10	0.17	0	0.25	0	0	0.13	0	0.55
	0.15	0.29	0	0.51	0.12	0	0.27	0.15	1.34**
	0.20	0.53	0.28	0.76	0.21	0.12	0.45	0.29	2.64**
	0.25	0.79	0.26	1.06	0.35	0.16	0.58	0.37	3.57**
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.05	0	0	0.21	0	0	0	0	0.21
	0.10	0.27	0	0.33	0.10	0	0.11	0	0.81*
	0.15	0.48	0.15	0.61	0.22	0.19	0.37	0.28	2.30**
	0.20	0.78	0.31	0.94	0.37	0.31	0.64	0.49	3.84**
	0.25	1.06	0.27	1.29	0.48	0.53	0.84	0.61	5.08**

注: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

显微镜观察和数据统计还表明,在鹰嘴豆根尖细胞表现的各种畸变类型中,微核、染色体黏联和染色体断裂所占的比例较高。微核的形成主要是由染色体畸变引起的,即不正常的有丝分裂过程中形成的染色体断片和滞后染色体,在细

胞分裂末期不能进入主核,便形成主核之外的核块,当子细胞进入下一次分裂间期时,它们便浓缩成主核以外的小核,即形成微核,引起基因片段的丢失和基因的重组<sup>[15]</sup>。染色体黏联的出现是因为 NaCl 对鹰嘴豆根尖细胞染色体产生毒

害,增加染色体的黏性,染色体之间不易分开,表现为染色体形态不清晰,中期染色体集中在一起不能计数。NaCl 浓度较高或作用时间较长,可造成染色体断裂,两条断裂端相互愈合,产生双着丝粒染色体,在细胞分裂后期受 2 个着丝粒的牵引会出现染色体桥。如果染色体断裂后的游离端相互黏联,那么会导致不均等分裂<sup>[6]</sup>。所以,染色体断裂是染色体各种结构变异的前奏。

### 3 结论与讨论

植物的抗盐性是一个极为复杂的反应过程。不同植物甚至同一种类不同品种的植物对盐胁迫的反应及其适应机制也不尽相同<sup>[17]</sup>。该次研究选用较高浓度的 NaCl 溶液(0.05~0.25 mol/L)培养鹰嘴豆。结果表明,NaCl 溶液对鹰嘴豆根尖细胞有丝分裂产生抑制作用,且随着 NaCl 浓度的增加以及处理时间的延长,有丝分裂指数明显下降,说明有丝分裂指数与处理液浓度、处理时间呈负相关。

在正常情况下,细胞周期受到一系列基因、酶和蛋白质等内在因素的精确调控。外界环境因素对细胞分裂的影响是通过内因起作用的。因此,NaCl 有可能造成 DNA 分子的损伤,从而影响酶或蛋白质的作用,扰乱正常的代谢关系,改变细胞内原有的物质平衡,阻止细胞向分裂态转化,相应地延长细胞周期。该试验的显微观察和数据分析进一步显示,NaCl 溶液能诱发鹰嘴豆根尖各时期细胞产生畸变染色体。所观察到的染色体畸变类型主要有染色体黏连、后期染色体分离不同步、微核、染色体桥、不均等分裂、滞后染色体、染色体断裂等。染色体是基因的载体。染色体结构发生变异可能改变基因的剂量或基因之间的关系,从而改变遗传信息,引起生物性状发生变异<sup>[18]</sup>。因此,研究 NaCl 胁迫对鹰嘴豆根尖细胞染色体行为的影响,从遗传学角度揭示盐害机理,

丰富鹰嘴豆遗传育种基础,具有重大意义。

### 参考文献

- [1] 肖俊松,吴华,张亚歌. 鹰嘴豆萌发过程中营养成分和抗营养因子的变化规律[J]. 食品科学,2011,32(23):134-138.
- [2] 杨金波,苗昊翠,王威. 鹰嘴豆的应用价值及其研究与利用[J]. 作物杂志,2011(1):10-12.
- [3] 库尔班·尼扎米丁. 鹰嘴豆在旱作条件下不同播种期对产量影响的研究[J]. 新疆农业科学,2008,45(1):175-179.
- [4] 闫先喜,赵擅方,胡延吉. 中度盐胁迫对大麦根尖细胞的影响[J]. 华北农学报,1994,9(S1):61-65.
- [5] 高扬,李淑梅,幸树权,等. NaCl 对大蒜根尖细胞有丝分裂的影响[J]. 长春师范学院学报,2007,26(6):47-50.
- [6] 时丽冉,刘志华,高汝勇. NaCl 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.
- [7] 张海燕. NaCl 胁迫对耐旱性不同的小麦细胞分裂效应的研究[J]. 植物研究,2002,22(3):292-295.
- [8] 时丽冉,白丽荣,刘志华,等. NaCl 胁迫对早稻萌发及根尖细胞染色体行为的影响[J]. 华北农学报,2006,21(S1):95-98.
- [9] 陈小燕,秦素平,何蓓如. NaCl 胁迫对黑麦根尖细胞有丝分裂的影响[J]. 西北农业学报,2004,13(2):24-27.
- [10] 曾秀存,王晓琴,谢宗平,等. 氯化钠对豌豆根尖细胞的遗传损伤[J]. 河西学院学报,2009,25(2):45-48.
- [11] 赛尔兰·热合买提,萨娜瓦尔·艾比布拉,陈全家,等. 不同预处理对鹰嘴豆根尖细胞染色体制片的影响[J]. 生物学通报,2014,49(4):47-49.
- [12] 林嘉鹏,张巨松,王希东,等. NaCl 胁迫对 5 种鹰嘴豆生理生化特征的影响[J]. 新疆农业大学学报,2008,31(4):62-65.
- [13] 杨建梅,张慧,余琛,等. 鹰嘴豆的研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2010,12(1):89-90.
- [14] 陈东朋,于丽杰,朱红. 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):65-68.
- [15] 刘艳阳,梅鸿献,崔承齐,等. EMS, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 和 Co<sup>60</sup> 射线处理对芝麻根尖的细胞学效应[J]. 河南农业科学,2012,41(12):47-51.
- [16] 幸亨泰,梁万福. 生漆对洋葱根尖分生组织细胞有丝分裂影响的研究[J]. 遗传学报,1997,24(1):50-53.
- [17] 李妮娜,江可珍,别之龙. 植物盐胁迫及耐盐机制研究进展[J]. 黑龙江农业科学,2009(3):153-155.
- [18] 李惟基. 遗传学[M]. 北京:中国农业大学出版社,2011.
- [8] 王耘,穆勇,刘庆红. 基于灰关联分析的模糊聚类最优划分判定模型[J]. 山东大学学报:工学版,2006,36(2):86-89.
- [9] 尹利,逯晓萍,傅晓峰,等. 高丹草杂交种灰色关联分析与评判[J]. 中国草地学报,2006,28(3):21-25.
- [10] 杨晓容,黄泽素,王通强,等. 运用灰色关联度综合分析甘蓝型杂交油菜新组合[J]. 贵州农业科学,2004,32(4):40-42.
- [11] 关周博,郑磊,李殿荣,等. 干旱半干旱地区甘蓝型油菜产量与相关经济性状的灰色关联度分析[J]. 陕西农业科学,2012(6):19-21.
- [12] 张锦芳,周贤琼,蒲晓斌,等. 高产、双低杂交油菜产量构成因素与产量的相关分析[J]. 西南农业学报,2008,21(4):939-942.
- [13] 廖淑梅,徐洪志,张大琼,等. 甘蓝型油菜主要性状间的灰色关联度分析[J]. 西南农业学报,2004,17(2):152-155.
- [14] LEACH J E, STEVENSON H J, RAINBOW A J, et al. Effects of high plant populations on the growth and yield of winter oilseed rape (*Brassica napus*) [J]. Journal of Agricultural Science, 1999, 132(2):173-180.
- [15] 关周博,田建华,郑磊,等. 适宜机械化栽培的甘蓝型油菜农艺性状与单株产量的相关性分析及耐密油菜育种探讨[J]. 中国农学通报,2013,29(18):79-83.

(上接第 7 页)

选育和栽培中合理株型性状的重要性,说明良好的株型性状是群体高产的基础。

### 参考文献

- [1] 周留昌,张永新. 油菜主要性状间的灰色关联度分析[J]. 上海农业科技,1995(1):26-27.
- [2] 俞琦英,刘凤兰,张冬青. 2000-2009 年中国冬油菜区试品种品质及产量性状的演变[J]. 中国农学通报,2010,26(16):119-123.
- [3] 傅寿仲,张洁夫,戚存扣,等. 甘蓝型油菜高含油量种质选育研究[J]. 中国油料作物学报,2008,30(3):279-283.
- [4] 张建国,袁本威,刘冬梅,等. 油菜杂交种单株产量与相关因素灰色关联分析[J]. 陕西农业科学,2001(1):9-11.
- [5] 钟丽. 油菜产量与主要性状的灰色关联度分析[J]. 南方农业学报,2012,43(4):421-424.
- [6] 闫志利,张东昱,牛小霞,等. 西北沿山区油菜主要农艺性状与产量的灰色关联分析[J]. 土壤与作物,2012,1(1):15-20.
- [7] 胥岚,李芝凡. 灰色关联分析在杂交油菜育种上的应用[J]. 绵阳经济技术高等专科学校学报,2001,18(3):5-7.