

研究报告

Hg²⁺ 对水稻根尖影响的细胞学研究*

白庆武 李山源 李 洁 张 志 霞

(齐齐哈尔师范学院)

(齐齐哈尔环境监测站)

本实验研究 Hg²⁺ 对水稻根尖细胞有丝分裂频率, 分裂期各期比例变化等细胞学方面的影响, 并对其原因进行初步分析和讨论。

材 料 和 方 法

水稻品种为合江 11 号。将冲洗干净的水稻种子, 按每皿 100 粒均匀摆放在垫滤纸的培养皿内, 分别加入 5 毫升含 Hg²⁺ 浓度为 0.1、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、20.0 和 30.0ppm 的 HgCl₂ 溶液, 以蒸馏水为对照, 共 10 级, 5 次重复, 计 50 皿。第 2—4 日, 每皿按各自浓度补充 HgCl₂ 溶液 3 毫升。

第 4 日统计各处理的发芽率和主胚根长度, 然后每级处理取 30 个根尖, Carnoy 固定液(酒精醋酸 3:1)直接固定, 铁矾—苏木精染色。显微镜下统计了 223 个根尖共 122, 500 个细胞, 以计算有丝分裂频率和分裂各期的比例, 测量了 220 个根尖计 4,551 个细胞, 以确定不同处理的细胞大小。

结 果 和 分 析

1. 对种子萌发的影响

除 0.5ppm 处理的发芽率比对照增加 1.2% 外, 其它各级处理均较对照下降 1—3.3%, 表现出抑制作用(见表 1)。

2. 对主胚根纵向生长的影响

0.1、0.5ppm 处理的主胚根长度分别较对照增加 0.7 和 0.72 厘米, 与对照呈极显著差异, 表明对纵向生长具有刺激作用。1.0—20.0ppm 之间的各处理的主胚根长度较对照

表 1 不同浓度 Hg²⁺ 溶液对水稻发芽率的影响(第 4 日)

处理 (ppm)	重复次数	种子总粒数	总发芽数	平均发芽率 (%)	比对照增加 (%)
对照	5	500	485	97.0	—
0.1	4	400	384	96.0	-1.0
0.5	5	500	491	98.2	1.2
1.0	2	200	189	94.5	-2.5
2.5	5	500	472	94.4	-2.6
5.0	4	400	375	93.8	-3.2
10.0	3	300	281	93.7	-3.3
15.0	5	500	484	96.8	-0.2
20.0	3	300	282	94.0	-3.0
30.0	5	500	476	95.2	-1.8

表 2 不同浓度 Hg²⁺ 溶液对水稻主胚根纵向生长的影响(第 4 日)

处理 (ppm)	重复次数	测量根数	主胚根平均长度 (cm)	P 值
对照	5	459	1.61±0.10	—
0.1	4	384	2.31±0.16	<0.01**
0.5	5	462	2.33±0.17	<0.01**
1.0	2	189	1.56±0.16	>0.05
2.5	5	461	1.40±0.19	>0.05
5.0	4	354	1.47±0.13	>0.05
10.0	3	269	1.31±0.11	<0.05*
15.0	5	427	1.15±0.05	<0.01**
20.0	3	216	1.03 —	—
30.0	5	458	1.27±0.09	<0.05*

* 显著差异 ** 极显著差异

短, 并随着处理浓度的增高, 主胚根长度呈递减趋势。15.0 和 20.0ppm 对主胚根纵向生长

* 本研究承郭德栋副教授指导, 谨致谢意。

具较强的抑制作用，呈极显著差异。然而，30.0ppm 处理的主胚根长度又大于 15.0 和 20.0ppm 的，表明 30.0ppm Hg^{2+} 溶液抑制主胚根纵向生长的作用减弱(表 2)。

3. 对根尖细胞有丝分裂指数的影响

0.1、0.5ppm 处理的根尖有丝分裂指数分别比对照增加 5.1% 和 5.5%，表明具刺激细胞分裂的作用。1.0—20.0ppm 各级处理的有丝分裂指数比对照减少，表明对细胞分裂具抑制作用。然而，30.0ppm 处理的有丝分裂指数开始恢复，与对照无差异(见表 3)。

表 3 不同浓度 Hg^{2+} 溶液对水稻根尖细胞有丝分裂指数的影响

处 理 (ppm)	观察根数	观察细胞数	分裂细胞数	分裂细胞所占百分率
对照	20	13,687	2,591	18.9
0.1	23	12,048	2,896	24.0
0.5	25	13,353	3,255	24.4
1.0	16	8,203	1,265	15.4
2.5	24	13,196	1,996	15.1
5.0	21	10,976	1,694	15.4
10.0	22	11,597	1,865	16.1
15.0	26	13,400	2,305	17.2
20.0	20	12,241	1,755	14.3
30.0	26	13,798	2,590	18.8

4. 对根尖细胞有丝分裂各期比例的影响

从表 4 可见，不同浓度的 Hg^{2+} 溶液对分裂期各期分裂指数的影响有一个共同点，即与对照比较，前期和中期的变化较大。0.1 和 0.5ppm 处理的前期细胞比例增大，表明这种浓度 Hg^{2+} 刺激细胞由间期进入前期，而中期细胞比例减小，则表明抑制染色体由前期进入中期。1.0—20.0ppm 五个处理，前期细胞减少，表明这些处理的 Hg^{2+} 溶液抑制细胞由间期进入分裂期。而 30.0ppm 处理的前期细胞较对照又有增加，表明 30.0ppm Hg^{2+} 溶液恢复对细胞由间期进入前期的刺激作用。

5. 对根尖细胞大小的影响

0.1 和 0.5ppm 处理的间期细胞，直径比

表 4 不同浓度 Hg^{2+} 溶液对水稻根尖细胞有丝分裂各期比例的影响

处 理 (ppm)	前 期	中 期	后 期	末 期
对照	11.10	4.10	3.40	0.35
0.1	17.90	2.97	3.00	0.12
0.5	19.40	2.90	3.50	0.47
1.0	8.10	3.20	3.70	0.46
2.5	8.60	2.80	3.20	0.43
5.0	9.60	2.10	3.30	0.36
10.0	9.80	2.50	3.70	0.03
15.0	11.90	1.90	3.10	0.27
20.0	8.50	2.80	2.90	0.57
30.0	13.70	2.20	2.70	0.15

表 5 不同浓度 Hg^{2+} 溶液对水稻根尖细胞大小的影响

处 理 (ppm)	观察根数	细 胞 数	细胞直径平均 (μ)	P 值
对照	20	393	16.32 $\pm$ 0.12	—
0.1	23	460	18.61 $\pm$ 0.19	<0.01**
0.5	26	500	18.37 $\pm$ 0.12	<0.01**
1.0	16	330	16.25 $\pm$ 0.13	>0.05
2.5	25	500	16.07 $\pm$ 0.08	>0.05
5.0	18	385	16.05 $\pm$ 0.06	>0.05
10.0	23	464	15.93 $\pm$ 0.05	<0.01**
15.0	25	500	16.17 $\pm$ 0.13	>0.05
20.0	19	517	15.84 $\pm$ 0.04	<0.01**
30.0	25	502	16.12 $\pm$ 0.11	>0.05

* 显著差异 ** 极显著差异

对照大 2.29 μ 和 2.05 μ ，差异极显著，表明对细胞生长的刺激作用。0.1ppm 以上各级处理，间期细胞直径均较对照减小或接近，其中以 10.0ppm 和 20.0ppm 减小最甚，与对照呈极显著差异，表现对细胞生长的抑制作用(见表 5)。

6. 根尖细胞无丝分裂现象

各处理的根尖分生组织中均见到无丝分裂现象，说明重金属 Hg^{2+} 有诱导有丝分裂转化为无丝分裂的作用。但 Hg^{2+} 浓度不同，出现无丝分裂的频率也不同。2.5ppm 出现的频率最高，6 个根尖计 4,317 个细胞的统计结果，无丝分裂细胞占 2.64%，其中劈裂为

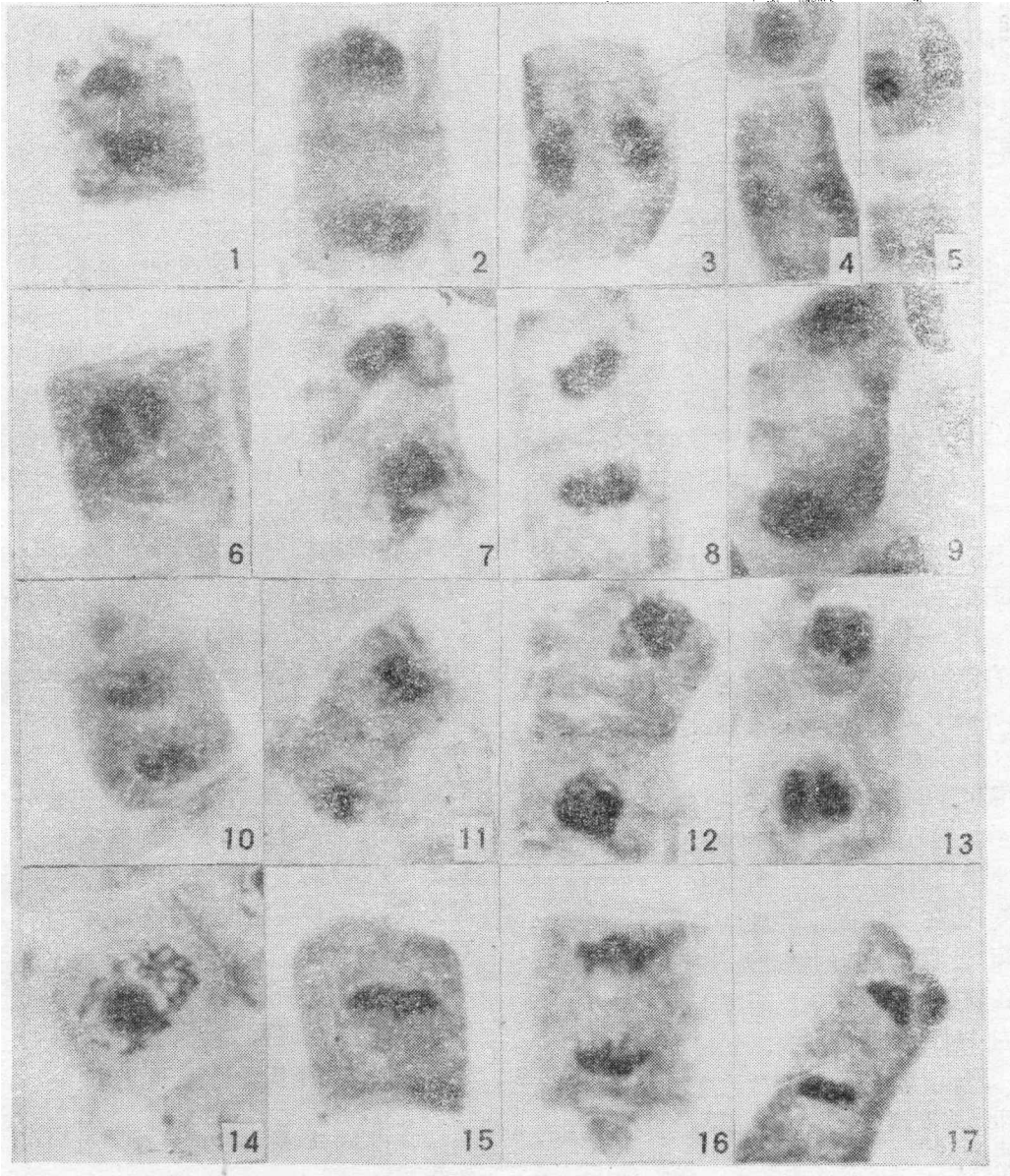


图 1 水稻根尖细胞无丝分裂形态

1—3 一次劈裂； 4—5 核及细胞分裂； 6—8 渐次劈裂； 9—10 半周缢裂；
11—13 环周缢裂； 14—17 有丝分裂的前、中、后、末期

0.23%，半周缢痕为 0.14%，环周缢痕为 0.26%，两核仁分离者占 1.67%，形成两个子核者占 0.12%，形成两个子细胞者占 0.23%。各种无丝分裂的细胞形态(见图 1)。

两核仁分离者所占比例较大，这是因为核仁一经相互分离开，便很难判断是由哪种无丝分裂而来的。

7. 电导率测定

为了说明 Hg^{2+} 溶液对细胞透性的影响，在培养后第 4 日，用去离子水将各级处理培养皿内的培养液稀释至 30 毫升，测定电导率。10.0ppm 和 15.0ppm 的电导率增长值为最高峰，且趋于平衡，20.0ppm 的电导率增长值开始下降，30.0ppm 与 20.0ppm 的电导

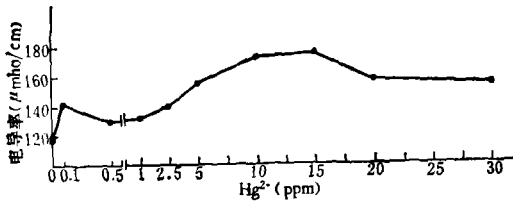


图2 电导率的测定

率增长值相差不大。

讨 论

1. 0.1 和 1.0ppm 处理对所观察各项指示都分别表现为刺激和抑制作用的起点。

0.1—0.5ppm 处理, 主胚根纵向生长、发芽率、根尖细胞有丝分裂指数、有丝分裂各期比例以及根尖细胞直径等与 Hg^{2+} 浓度升高呈正相关趋势。

15.0—30.0ppm 处理对所观察各项指标的影响较为复杂, 最大的抑制作用发生在 20.0ppm, 而 30.0ppm 处理反而有所回升。

为了说明这个问题, 测定了不同处理的电导率。结果表明, 10.0—15.0ppm 的电导率增长值为最高, 且趋于平衡, 20.0ppm 的电导率增长值反而下降, 可能由于细胞膜透性的变化, 在 20.0ppm 时破坏了膜内外的离子平衡, 造成 Hg^{2+} 的被动外流, 因此在 30ppm 时各项指标所受影响反而减小, 表明根尖细胞内 Hg^{2+} 数量的减少。

因此, 0.1ppm 是刺激浓度阈值, 1.0ppm 是抑制浓度阈值, 而 20.0ppm 是抑制作用的最低点。

2. 0.1 和 0.5ppm 处理的细胞分裂指数增高, 说明分裂期细胞的增多, 而在一定数量的细胞内, 分裂细胞增多, 说明细胞分裂周期的加快。细胞周期是由间期和分裂期组成, 因此, 分裂期细胞增多, 间期细胞减少, 细胞周期加快。间期是细胞旺盛的代谢期, 在这里

涉及到蛋白质合成、DNA 复制、RNA 转录以及 ATP 能量的准备等, 因此只有刺激细胞代谢加快, 才能促进细胞分裂周期加快。

1.0—20.0ppm 处理的细胞分裂指数降低, 其作用也在间期, 抑制了间期细胞的代谢活动, 减慢细胞由间期进入分裂期的速度, 因此间期细胞增多, 分裂期细胞减少。

3. В. В. Василевский 用水合三氯乙醛处理豆子小根, 曾见到无丝分裂。但关于无丝分裂尤其是化学品诱发的无丝分裂, 报道甚少。在我们的实验中, 发现缢裂的同时, 还发现了少见的劈裂。这里有两个问题引起我们的注意, 一是 2.5ppm Hg^{2+} 溶液的无丝分裂频率最高, 似乎存在着诱发无丝分裂的最适浓度。至于究竟什么原因促使无丝分裂发生? 无丝分裂是对 Hg^{2+} 的一种防御反应还是细胞正常生理代谢的改变? 这些问题均有待深入研究。另一个问题是诱发的根尖无丝分裂发生在有丝分裂的末期, 这时细胞没有经过染色体的复制, 那么, 这时无丝分裂的结果, 将可能产生: (1) 不均等分裂, 产生非正倍体; (2) 均等分裂, 产生单倍体。无论哪种方式, 水稻根尖将出现嵌合体。我们完全可以设想, 当应用 Hg^{2+} 诱发更多的无丝分裂细胞时, 应用组织培养的方法, 分离这些单倍体或非正倍体细胞, 这将为植物染色体工程和育种提供一条新的途径。

主要参考文献

- [1] 胡汉升, 环境医学与环境科学, 1(1), 63—66 (1980).
- [2] 林舜华等, 环境科学学报, 1(4), 324—329 (1981).
- [3] 瞿爱权, 环境科学, 1(6), 50—52 (1980).
- [4] 蒋德富等, 环境科学, 2(5), 14—18 (1981).
- [5] П. В. 马卡洛夫, 细胞学原理, 376—381 页, 1958 年。