

# 荷叶离褶伞发酵液对 NaCl 胁迫下洋葱根尖细胞有丝分裂的影响

王兴珍<sup>1</sup>, 沈昱彤<sup>2</sup>, 魏生龙<sup>3</sup>, 卯旭辉<sup>1</sup>, 贾秀苹<sup>1</sup>, 梁根生<sup>1</sup>, 王晓琴<sup>3</sup>

(1. 甘肃省农业科学院作物研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 白银有色嘉华园林工程有限公司, 甘肃 白银 730400; 3. 河西学院农业与生物技术学院, 甘肃 张掖 734000)

**摘要:** 研究了荷叶离褶伞发酵液对 NaCl 胁迫下洋葱根尖细胞有丝分裂的影响。结果表明: 低浓度 NaCl (0.05 mol/L) 对洋葱根的生长有促进作用, 高浓度 NaCl ( $\geq 0.10$  mol/L) 对洋葱根的生长有抑制作用, 根尖细胞有丝分裂出现异常, 且随着 NaCl 浓度增高和 NaCl 处理时间延长抑制作用越明显。荷叶离褶伞发酵液对低浓度 NaCl ( $\leq 0.10$  mol/L) 短时间处理 (24 h) 导致的洋葱根尖细胞遗传损伤有一定的修复作用。

**关键词:** 荷叶离褶伞发酵液; 洋葱; 盐胁迫; 有丝分裂; 修复作用

**中图分类号:** S567.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2016)11-0038-05

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2016.11.013](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2016.11.013)

## Effects of Fermentative Fluid of *Lyophyllum decastes* on Mitosis of Root Tip Cells of *Allium cepa* L. Under NaCl Stress

WANG Xingzhen<sup>1</sup>, SHENG Yutong<sup>2</sup>, WEI Shenglong<sup>3</sup>, MAO Xuhui<sup>1</sup>, JIA Xiuping<sup>1</sup>, LIANG Gensheng<sup>1</sup>, WANG Xiaojin<sup>3</sup>

(1. Institute of Crop, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. Silver colored jiahua garden Co, LTD, Baiyin Gansu 730400, China; 3. College of Agriculture and Biotechnology, Hexi university, Zhangye Gansu 73400, China)

**Abstract:** The root tip of *Allium cepa* L is treated with different concentrations of NaCl for 24 hours and 48 hours. The results shows that low concentrations of NaCl significantly promoted the growth of *Allium cepa* L, but higher concentrations ( $\geq 0.1$  mol/L) played a poisoned role on the growth of *Allium cepa* L and have a dose-effect relationship. while we cultured the different NaCl treated *Allium cepa* L using diluted Fermentative Fluid of *Lyophyllum decastes* for 24 hours, the result shows that diluted Fermentative Fluid of *Lyophyllum decastes* can repair the genetic damage and promote the growth of a short period of time NaCl treated *Allium cepa* L (24 h), such as decreased micronucleus rate and chromosome aberration rate, increased mitotic index, but have a weak role for a long period of time treated NaCl *Allium cepa* L (48 h).

**Key words:** Fermentative fluid of *Lyophyllum decastes*; *Allium cepa* L.; NaCl Stress; Mitosis; Repair

荷叶离褶伞(*Lyophyllum decastes*)是担子菌亚门(*Basidiomycotina*), 离褶伞属(*Lyophyllum*)的一种名贵食用菌, 同时有很高的药用价值<sup>[1]</sup>。国内对荷叶离褶伞的研究总体上还处于起步阶段, 其分离驯化和生物学特性已有相关研究<sup>[2]</sup>, 但荷叶离褶伞代谢产物的再利用至今尚未见报道。

盐渍土在我国分布面积相当广, 范围涉及到我国 23 个省、市、自治区<sup>[3]</sup>。因此, 灌溉水含盐的多少不仅对土壤能否盐碱化有直接影响, 而且

影响作物的生长发育<sup>[4-5]</sup>。虽然 NaCl 是植物生长发育必需的离子化合物, 但当 NaCl 浓度较高时不仅对植物生长发育具有抑制作用, 而且造成细胞中 DNA 分子的损伤<sup>[6-7]</sup>。人类治理和利用盐渍土有两种途径: 一是基于对盐渍土本性的探索 and 认识, 使其适应更多作物的生长; 二是选择、引种和培育新的抗盐经济作物, 使其适应盐渍土环境<sup>[8]</sup>。重金属及盐胁迫对作物生长发育的毒害作用已有大量报道<sup>[9-12]</sup>。盐胁迫对植物生长的影响

收稿日期: 2016-06-21

作者简介: 王兴珍(1987—), 女, 甘肃白银人, 研究实习员, 硕士, 主要从事高产向日葵育种研究工作。联系电话: (0)18993050235。E-mail: luoluo1668@126.com。

通信作者: 王晓琴(1964—), 女, 甘肃张掖人, 高级实验师, E-mail: gangyuren@126.com。

国内外也有报道<sup>[13-15]</sup>。我们观察了荷叶离褶伞发酵液对 NaCl 胁迫下洋葱根尖细胞有丝分裂的影响, 以期能为植物盐胁迫损伤修复及荷叶离褶伞发酵液的再利用研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

洋葱(*Allium cepa* L.)品种为张掖金红叶 1 号, 荷叶离褶伞发酵液由河西学院食用菌研究所提供, NaCl 为分析纯。

### 1.2 方法

1.2.1 洋葱培养 选取完整无损、大小均匀的洋葱, 去掉老根和干的洋葱鳞茎, 蒸馏水培养培养 3~5 d, 然后挑选根长为 1.5~2.0 cm 的洋葱备用。

设置 4 组试验: I 组(盐胁迫 24 h), II 组(盐胁迫 24 h 后用 12.5% 的发酵液培养 24 h), III 组(盐胁迫 48 h), IV 组(盐胁迫 48 h 后用 12.5% 的发酵液培养 24 h)。每组设 5 个 NaCl 浓度 (0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 mol/L), 以蒸馏水处理作空白对照(CK), 培养温度为 25 ℃, 每个处理设 3 个重复。

1.2.2 制片 处理后的洋葱于根尖细胞分裂高峰期(早上 9:00~10:00 时)取材。用 Carnoy's 固定液(95%乙醇:冰醋酸=3:1)固定, 24 h 后转移到 70%酒精中备用<sup>[16]</sup>。根尖用蒸馏水冲洗 3~4 次, 用 1 mol/L 的 HCl 于(60+1)℃下解离 10 min, 用蒸馏水冲洗。常规压片法制片, 卡宝品红染色 10~15 min<sup>[17]</sup>。

1.2.3 镜检, 显微拍照与计数 采用普通光学显微镜观察, Olympus 显微镜对正常有丝分裂及典型染色体畸变拍照。每处理组观察 5~10 个根尖,

每个根尖随机观察 8~10 个视野, 约 3 000 个细胞。统计并分别计算出有丝分裂指数、微核率和染色体畸变率, 计算公式如下。

$$MI = \sum t / N \times 100\%$$

式中 MI 为细胞有丝分裂指数;  $\sum t$  为观察到的有丝分裂细胞数; N 为观察到的细胞总数。

$$CD = \sum c / N \times 100\%$$

式中 CD 为染色体畸变率;  $\sum c$  为观察到的畸变染色体数。

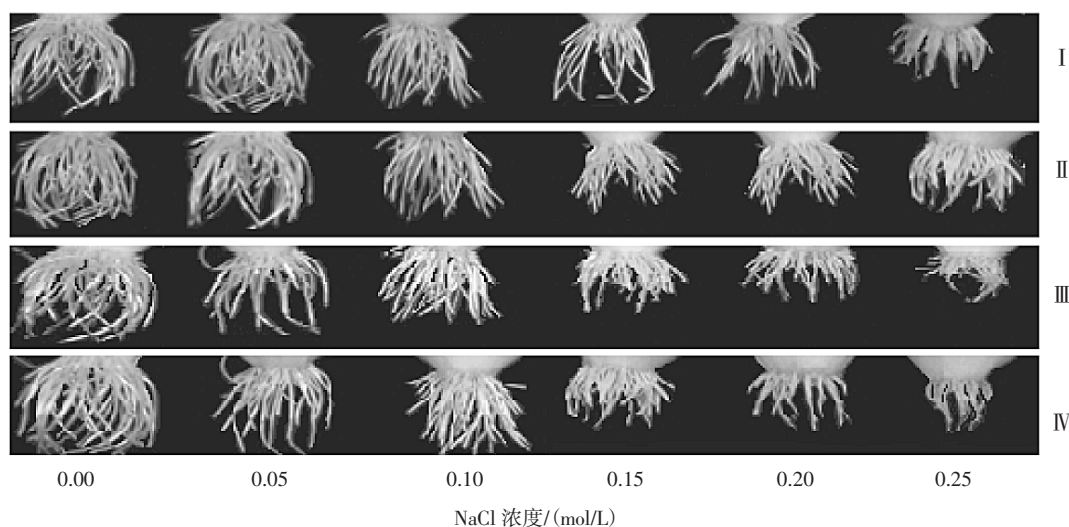
$$MN = \sum m / N \times 100\%$$

式中 MN 为微核率;  $\sum m$  为观察到的微核细胞数。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理对洋葱生长发育的形态学分析

由图 1 可知, 低浓度 NaCl ( $\leq 0.05$  mol/L) 对洋葱根的生长有促进作用, 表现根呈伸展和半透明状; 高浓度 NaCl ( $\geq 0.10$  mol/L) 对洋葱根的生长表现出抑制作用, 表现根短而蜷卷, 不透明且呈乳白色。对图 1 中, I 组与 III 组结果相比可知, 随着时间的延长, NaCl 的胁迫作用越明显。III 组中洋葱根的生长缓慢, 并且高浓度 NaCl (0.25 mol/L) 处理的洋葱根部蜷卷更加明显且伴有根尖膨大的现象。对 I 组与 II 组的结果相比可知, 12.5% 荷叶离褶伞发酵液对短时间(24 h)处理的洋葱根的生长有修复与促进作用; 低浓度 ( $\leq 0.15$  mol/L) 处理下根的生长速度加快, 原来的蜷卷状态减轻, 根尖有所伸展, 但随着 NaCl 处理浓度增高 ( $\geq 0.20$  mol/L), 洋葱根部出现轻微萎蔫现象, 初步认为高浓度盐胁迫导致根失去生命力而无法恢复。对 III 组



图中 I 为盐胁迫 24 h; II 为盐胁迫 24 h 后用 12.5% 的发酵液培养 24 h; III 为盐胁迫 48 h; IV 为盐胁迫 48 h 后用 12.5% 的发酵液培养 24 h。

图 1 不同处理下洋葱根的生长

与IV组的结果比较可知,由于盐胁迫加重,并且由于NaCl的累积效应,导致荷叶离褶发酵液对高浓度( $\geq 0.20$  mol/L)处理造成的损伤无修复作用,表现为根尖萎蔫(图1)。

## 2.2 不同处理对洋葱根尖细胞的影响

**2.2.1 有丝分裂** 由图2可知,有丝分裂指数随着处理浓度的增高呈下降趋势,说明NaCl浓度越高胁迫作用越明显。在0.10 mol/L NaCl处理,胁迫时间为24 h、48 h时,洋葱根尖细胞有丝分裂指数分别为2.84%、1.63%。另外,II组中的低浓度NaCl( $\leq 0.10$  mol/L)处理的根尖细胞有丝分裂指数高于其它处理组,表明荷叶离褶伞发酵液对低浓度短时间NaCl胁迫的洋葱根尖有修复作用。

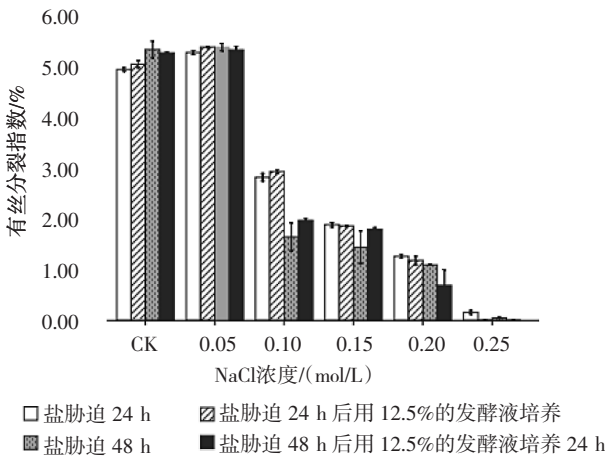


图2 不同处理对洋葱根尖细胞有丝分裂指数的影响

**2.2.2 微核** 如图3所示,浓度较低( $\leq 0.05$  mol/L)时,洋葱根尖细胞几乎没有微核,但随着浓度的升高,微核率逐渐上升。III组的微核率明显高于I组,当处理浓度为0.25 mol/L时,其微核率是I组的1.87倍。这说明随着处理时间的延长,NaCl的累积效应逐渐增加,对洋葱的胁迫增强。经过

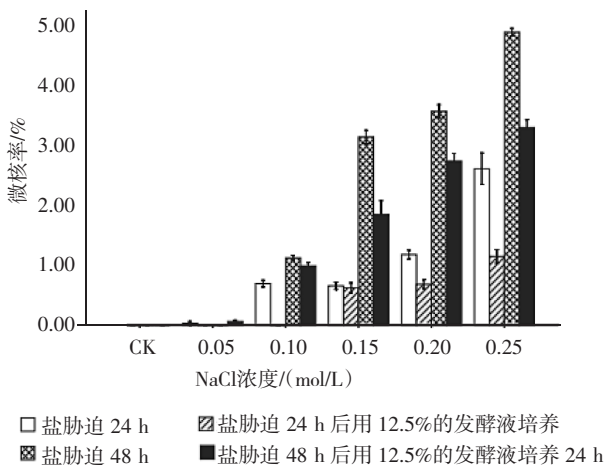
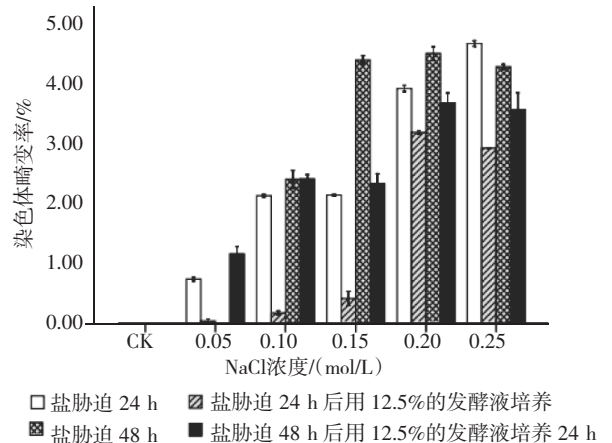


图3 不同处理对洋葱根尖细胞微核率的影响

修复培养的II、IV组的微核率上升比较缓慢,并较I、III组的微核率低,表明荷叶离褶伞发酵液对遗传损伤有修复作用。

**2.2.3 染色体畸变** 图4表明,随着NaCl浓度的升高,染色体畸变率呈先升高后降低的趋势,这是由于发生凋亡的细胞数量逐渐增加,只有少数细胞才能正常分裂和分化。III组的染色体畸变率较其它处理低,说明荷叶离褶伞发酵液对低浓度、短时间NaCl胁迫的洋葱根尖细胞活力均有修复作用。



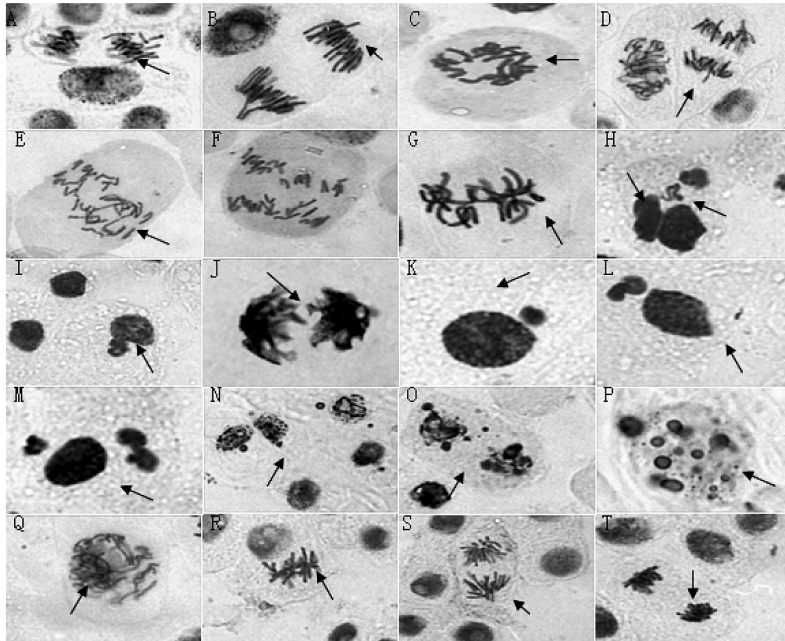
## 2.3 高浓度NaCl胁迫下洋葱根尖细胞的畸变类型

NaCl对洋葱根的生长及细胞分裂影响不同。低浓度的NaCl( $\leq 0.05$  mol/L)对洋葱根、芽的生长有一定的促进作用,这也证实Na<sup>+</sup>和Cl<sup>-</sup>是植物生长的必需元素,且可能是洋葱细胞分裂多需的功能元素。较高浓度的NaCl会抑制洋葱细胞的正常生长。高浓度的NaCl( $\geq 0.10$  mol/L)可使分生区细胞产生多种类型的染色体畸变(图5),包括微核、染色体断片、染色体粘连、染色体桥、双核及染色体丢失等<sup>[18]</sup>。

**2.3.1 前期** 通常表现为微核,这是由于上一周期有丝分裂过程中染色体受损或染色体活动异常引起的。

**2.3.2 中期** 有丝分裂过程中染色体受损或染色体活动异常会造成很多种染色体畸变的现象,如染色体分配不均匀、染色体粘连、染色体丢失等。这些染色体异常的出现是细胞分裂异常和染色体畸变的主要特征之一,是由于染色体断裂再融合形成双着丝粒和无着丝粒的染色体断片的结果。此类细胞在后期将出现多极现象以及导致末期合胞体的形成。

**2.3.3 后期** 由于染色体在中期的出现很多异常,导致在有丝分裂的后期会出现染色体粘连和多极分布的现象,经高浓度NaCl处理的洋葱根尖细胞



图中 AB 为：不同步分裂；C 为成环；D 为三级；E-F 为 C-染色体；G 为染色体排列不均匀；H 为双核及染色体丢失；I 为突起；J 为染色体粘连；K-M 为微核；N-P 为细胞核逐步解体；Q-T 为正常分裂的洋葱根尖细胞。

图 5 NaCl 诱导洋葱根尖细胞遗传畸变类型

有丝分裂后期出现了不均等的多极分布、染色体丢失等现象。

2.3.4 末期 末期的异常情况主要有微核、滞留染色体、染色体解螺旋异常以及合胞体等。原因分别是：①末期的微核可能是上次有丝分裂过程中形成，也可能是本次有丝分裂过程中由于染色体解螺旋不同步而造成的；②由于后期出现了不均等的多极异常分布，以及个别染色体受损或染色体活动异常，从而导致合胞体的形成，出现多核现象，甚至出现染色体解体成染色体碎片的现象。

### 3 小结与讨论

低浓度 NaCl ( $\leq 0.05$  mol/L) 对洋葱根的生长有促进作用，高浓度 NaCl ( $\geq 0.10$  mol/L) 对洋葱根的生长有抑制作用，并且处理浓度越高、时间越长抑制作用越明显，这与仪慧兰等<sup>[19]</sup>的研究结果相同。洋葱根尖细胞 ( $2n=16$ ) 受到盐胁迫之后，产生遗传损伤的机率增加，浓度越高、时间越长遗传损伤程度越重，如发生染色体断片和丢失、分裂多极化、不对称分裂、C-有丝分裂、微核等畸变类型。

12.5% 的荷叶离褶伞发酵液对低浓度 ( $\leq 0.10$  mol/L)、短时间处理 (24 h) 的洋葱根尖细胞的遗传损伤和生长起修复与促进作用。荷叶离褶伞发酵液含丰富的蛋白质、维生素、多糖、酶、核酸及锌、铜、硒等微量元素<sup>[20]</sup>。其中蛋白质是一切细

胞生命活动的物质基础，是细胞的重要组成部分；锌、铜、硒是植物生长必需的矿质元素；多糖是细胞生命活动的能量来源。这些物质缓解了轻度盐胁迫引起的洋葱根尖细胞遗传损伤，起到了一定的修复作用<sup>[21]</sup>，使细胞有丝分裂指数升高，微核率与染色体畸变率降低，其作用机理还需进一步研究。

本研究之所以采用稀释浓度为 12.5% 的荷叶离褶伞发酵液进行修复培养，是因为考虑到荷叶离褶伞发酵液原液浓度过大，可能对洋葱生长会产生抑制作用。经梯度培养发现，稀释浓度为 12.5% 时对洋葱生长的促进效果较好，故采用用此浓度对 NaCl 胁迫的洋葱作修复培养。

### 参考文献：

- [1] 戚淑威, 徐中志, 袁理春, 等. 荷叶离褶伞菌研究进展[J]. 现代农业科技, 2007(9): 58-59.
- [2] 魏生龙, 王治江, 于海萍. 荷叶离褶伞生物学特性研究[J]. 菌物学报, 2006, 25(1): 101-108.
- [3] 李彬, 王志春, 孙志高. 中国盐碱地资源与可持续利用研究[J]. 干旱地区农业研究, 2005, 23(2): 154-158.
- [4] 景艳霞, 袁庆华. 不同钠盐胁迫对苜蓿种子萌发的影响[J]. 种子, 2009, 29(2): 69-72.
- [5] GOTHAM J. K/Na discrimination in synthetic hexaploid wheats[J]. Salt tolerance in the Triticeae Exp Bot, 1990, 41: 623-627.

# 静宁县高海拔区玉米引种试验初报

李秉强, 常喜玲

(甘肃省静宁县农业技术推广中心, 甘肃 静宁 743400)

**摘要:** 在静宁县高海拔区(1 960 m)对引进的7个玉米品种进行了比较试验, 结果表明: 田旺 TW20 折合产量最高, 为 19 909.1 kg/hm<sup>2</sup>, 较对照品种先玉 335 增产 28.86%, 综合性状表现优良, 适宜在静宁县较高海拔区示范推广。五谷 568、玉源 7879、强盛 51 折合产量较高, 较对照品种先玉 335 分别增产 16.90%、8.20%、4.54%, 且综合性状良好, 可作为辅助品种在静宁县较高海拔区种植。

**关键词:** 玉米; 引种试验; 较高海拔区; 静宁县

**中图分类号:** S513

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1463(2016)11-0042-03

doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2016.11.014

玉米是静宁县三大种植粮食作物之一, 常年种植面积 3 万 hm<sup>2</sup> [1]。但近几年来, 玉米品种多、滥、杂的问题越来越严重, 且种植区域有向较高海拔地区发展的趋势 [2]。为了科学地鉴定新引进玉米品种的丰产性、适应性, 筛选出高产、优质、综合性状好, 适宜静宁县较高海拔地区种植的玉米新品种, 静宁县农业技术推广中心科技人员于 2014—2015 年对引进的 7 个玉米新品种进行了引

种试验, 以期筛选出适合静宁县高海拔地区种植的优良品种。现将试验结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

参试玉米品种为五谷 568、富友 968、高玉 818、强盛 51、正德 305、田旺 TW20、玉源 7879, 先玉 335(CK), 均由静宁县种子管理站提供。

收稿日期: 2016-06-01; 修订日期: 2016-08-20

作者简介: 李秉强(1975—), 男, 甘肃静宁人, 农艺师, 主要从事农业技术推广工作。联系电话: (0)13830367919。E-mail: 351379336@qq.com。

- [6] 高扬, 李淑梅, 辛树权, 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.
- [7] 李然红, 金志民, 宗宪春, 等. NaCl 单盐胁迫对大白菜种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 甘肃农业科技, 2015(12): 31-34.
- [8] GUNES A, LNAL A, ALPASAN M, *et al.* Effect of salinity on P induced Zn deficiency in peper plants[J]. Agriculture and Forestry, 1999, 23(4): 459-464.
- [9] 卢龙斗, 常重杰. 遗传学实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 1-29.
- [10] 沈宗根, 王立新, 张海芸, 等. Se 对 Hg 胁迫下豌豆幼苗生长状况和生理特性的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(32): 18021-18023.
- [11] 田秋元, 杨约田. 洋葱核型分析及有关制片方法探讨. 安徽农业科学[J]. 2009, 37(25): 12341-12343.
- [12] 王晓琴, 曾秀存, 樊旭红. Ni<sup>2+</sup>对大蒜根尖细胞有丝分裂的影响[J]. 作物杂志, 2007(1): 37-40.
- [13] 魏生龙, 王治江, 于海萍. 荷叶离褶伞生物学特性研究[J]. 菌物学报, 2006, 25(1): 101-108.
- [14] 席亚丽, 王志江, 王晓琴, 等. 荷叶离褶伞子实体、菌丝体和发酵液营养成分比较分析[J]. 食品科学, 2010, 31(6): 155-157.
- [15] RAVIKOVITCH S, PORATH A. The effect of nutrients on the salt tolerance of crops[J]. Plant and Soil, 1967, 26: 49-71.
- [16] CHRISTIANSEN M N. World environmental limitations to food and fiber culture[M]. New York: John Willy & Sons, 1982.
- [17] 王晓琴, 张芬琴, 魏生龙, 等. 荷叶离褶伞菌丝体深层发酵及胞内外多糖含量的变化[J]. 中国酿造, 2011(5): 56-58.
- [18] 仪慧兰. NaCl 对大麦的毒性实验. 应用与环境生物学报[J]. 1998, 4(1): 92-94.
- [19] 仪慧兰, 张自立. 非诱变剂对姊妹染色单体交换的影响[J]. 遗传, 1996, 17(3): 27-30.
- [20] 张汉焱, 张芬琴, 王小明, 等. 荷叶离褶伞子实体营养成分分析与评价[J]. 菌物学报, 2008, 27(5): 696-700.
- [21] POKHREL C P, HGA. Submerged culture conditions for mycelia yield and polysaccharides production by *Lyophyllum dedecastes* [J]. Food Chem., 2007, 105(2): 641-646.

(本文责编: 陈 珩)