

丙酯草醚对植物细胞有丝分裂的影响

兰大伟¹, 刘永立^{2*} (1. 浙江工商大学东方语言文化学院, 浙江杭州 310058; 2. 浙江大学农业与生物技术学院, 浙江杭州 310058)

摘要 [目的]探讨丙酯草醚的除草机理。[方法]以洋葱根尖为试材,探讨不同时间和不同浓度丙酯草醚对根尖分生细胞有丝分裂的影响。[结果]随着丙酯草醚处理浓度的增加,洋葱根尖有丝分裂指数逐渐下降;在同一浓度下,随着处理时间的延长,有丝分裂指数也呈下降趋势。对不同处理下的洋葱根尖细胞形态观察发现,在低浓度(0.012 5%)丙酯草醚短时间(2 h)处理下,洋葱根尖分生区中仍可见中、后、末期3种分裂状态的细胞。但在超过8 h的高浓度(0.100 0%)丙酯草醚处理下,分裂态细胞明显减少,分生区有明显较多分裂中期的细胞。[结论]丙酯草醚对根尖细胞的分裂有明显抑制作用,并使根尖细胞停滞于有丝分裂中期。

关键词 丙酯草醚;根尖;有丝分裂

中图分类号 S482.4 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)36-0005-02

Effect of 2-pyrimidinyl-N-arylbenzylamine Derivatives on Plant Mitosis

LAN Da-wei¹, LIU Yong-li^{2*} (1. School of Oriental Language & Culture, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou, Zhejiang 310018; 2. College of Agriculture & Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310058)

Abstract [Objective] The aim was explore the herbicidal mechanism of 2-pyrimidinyl-N-arylbenzylamine derivatives (ZJ0273). [Method] We studied the effect of ZJ0273 on meristematic zone cells and mitosis of onion root tips. [Result] The onion root tip mitotic index gradually decreased with ZJ0273 concentration increasing, and the mitotic index also showed a decline trend with the extension of treatment time at the same concentration. The cellular morphology of onion root tip was observed at low concentrations (0.012 5%) and in short time (2 h), and three stages of division mitotic cells could be seen. But the division state cells significantly reduced in high concentration (0.100 0%) treatment after more than 8 h, and meristematic zone had more metaphase cells. [Conclusion] The mitotic index of root tips is decreased under the treatment by ZJ0273, and mitosis cells stagnate at the interphase.

Key words 2-pyrimidinyl-N-arylbenzylamine derivatives; Root tip; Mitosis

有丝分裂是高等植物形态建成中细胞增殖的主要方式,通过它可以承载有遗传信息的DNA精确地分配到2个子细胞中,维持遗传的稳定性,因而对生长发育有重要意义。真核细胞由间期进入有丝分裂期后,伴随着一系列变化发生,包括细胞形状改变、细胞骨架重排、核膜崩解、核仁分解消失、染色体凝聚、纺锤体的形成、染色体的移动、细胞壁的产生以及基因转录和翻译暂时抑制等^[1]。与此同时,细胞内蛋白质磷酸化的水平显著上升。进一步研究表明,上述各种变化的发生可能是由某些特定的蛋白质磷酸化引起的,导致这些蛋白质磷酸化的是一些特定的蛋白激酶,而影响这些酶活性及其调控因子的因素如Ca²⁺/CaM、有丝分裂因子(MF)、促成熟因子(MPF)均影响有丝分裂的启动。而有丝分裂过程必需的细胞物质与结构^[2]的合成易受除草剂及其他因素的干扰或抑制。

据报道,在现有的300多种除草剂中,约25%的除草剂品种是通过抑制、破坏有丝分裂来干扰杂草生长发育^[3]。在这些以影响有丝分裂为作用方式的除草剂中,大多直接或间接地作用于微管并最终导致有丝分裂受抑制。但也有少数是通过限制有丝分裂过程中所需的营养物质来抑制细胞进入或完成有丝分裂的,如磺酰脲类除草剂就是以ALS为作用点,阻止一些氨基酸(Val、Ile、Leu)合成,从而抑制细胞分裂^[4]。破坏植物细胞有丝分裂的除草剂对有丝分裂的破坏形式表现不同,有的除草剂使有丝分裂停滞于中期,有的停滞于间期或早期

期状态,有的形成多细胞,还有的形成多极分裂构象。丙酯草醚是否通过破坏植物细胞有丝分裂而杀除杂草,如果破坏细胞有丝分裂,又表现为哪种形式,丙酯草醚胁迫下的根尖有哪些细胞变异等尚不明确。为了进一步探讨丙酯草醚的除草机理,为其使用技术的确定提供参考,笔者首次以观察根尖有丝分裂经典材料洋葱为试材,用不同浓度丙酯草醚分别处理洋葱根尖,探讨了不同时间丙酯草醚处理后对植物根尖分生组织细胞有丝分裂的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 材料选用食用洋葱(*Allium cepa* Linn);除草剂用丙酯草醚的商品药剂——油力。

1.2 方法 当保湿培养的洋葱不定根长到1~2 cm时,依次转入到含有不同浓度(0.012 5%、0.025 0%、0.050 0%、0.100 0%)丙酯草醚溶液中继续培养,在丙酯草醚药液中分别培养1、2、4、8、12 h,于22:00切取根尖端2~3 mm。对照为蒸馏水培养的根尖,用卡诺氏固定液(无水乙醇:冰醋酸=3:1)固定24 h,置于70%乙醇中,于4℃冰箱保存。

将固定的根尖用蒸馏水冲洗干净,置于1 mol/L HCl中,60℃水浴解离6 min,再用蒸馏水冲净。取根尖的分生组织,常规制片,用改良石炭酸品红染液染色。压片镜检,观察统计细胞有丝分裂指数率, Olympus光学显微镜下观察,每处理至少观察3个切片,共计100个以上的细胞基数。记录分生区各分裂时期的细胞数,统计出不同处理下的分生区有丝分裂指数以及各处理下的相对有丝分裂指数,同时观察根尖分生区细胞形态有无异常并进行显微摄影。

有丝分裂指数 = 分裂细胞数 / 观察细胞总数 × 100%

相对有丝分裂指数 = 处理的有丝分裂指数 / 对照有丝分裂指数 × 100%

基金项目 浙江省科技厅科技攻关重大农业项目(J31334)。

作者简介 兰大伟(1979-),男,陕西大荔人,硕士,从事园艺植物生物技术研究。*通讯作者,教授,博士,硕士生导师,从事园艺植物生物技术研究。

收稿日期 2016-11-23

2 结果与分析

2.1 丙酯草醚对细胞有丝分裂指数的影响 由表1可知,在同一处理时间下随着丙酯草醚浓度的增加,有丝分裂指数逐渐下降,如用0.012 5%、0.025 0%、0.050 0%、0.100 0%丙酯草醚均处理4 h,其有丝分裂指数分别为9.2%、7.0%、4.7%、4.3%。但在同一浓度下有丝分裂指数却以处理2 h较

高,4个丙酯草醚浓度处理下的有丝分裂指数分别为12.7%、10.9%、6.4%和5.5%,这可能是由于丙酯草醚的抑制作用还未发挥出来。而2 h后,丙酯草醚作用发挥逐渐增强,故各处理下有丝分裂指数在2 h后有所下降。在同一浓度下,随着处理时间延长,相对有丝分裂指数也呈下降趋势。

表1 丙酯草醚对细胞有丝分裂指数的影响

丙酯草醚浓度 Concentration of 2-pyrimidinyloxy-N- arylbenzylamine derivatives // %	有丝分裂指数 Mitotic index					相对有丝分裂指数 Relative mitotic index				
	1 h	2 h	4 h	8 h	12 h	1 h	2 h	4 h	8 h	12 h
	0	13.5	16.7	19.5	18.3	20.6				
0.012 5	11.5	12.7	9.2	8.5	5.4	85.1	76.0	47.1	46.4	26.2
0.025 0	9.0	10.9	7.0	6.2	5.1	66.7	65.2	35.9	33.8	24.7
0.050 0	6.1	6.4	4.7	4.2	3.3	45.1	38.3	24.1	22.5	16.0
0.100 0	4.6	5.5	4.3	3.9	2.5	34.0	32.9	22.0	21.3	12.1

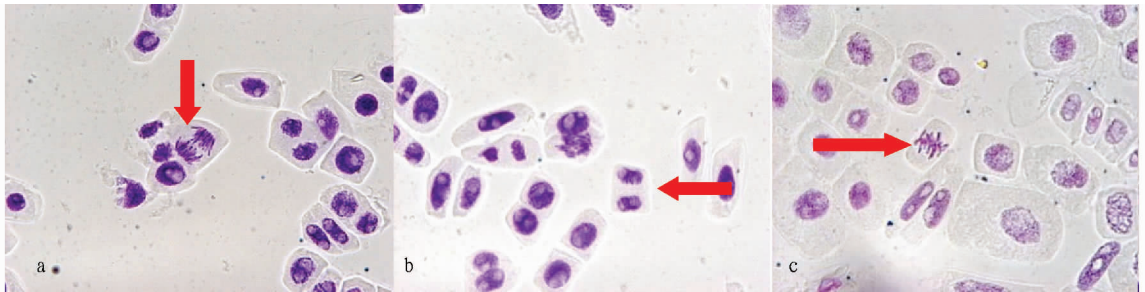
2.2 丙酯草醚对根尖细胞形态的影响 对不同处理下的洋葱根尖细胞形态观察发现,在低浓度(0.012 5%)丙酯草醚短时间(2 h)处理下,洋葱根尖分生区细胞分裂指数虽比对照有所下降,但分生区中仍可看到中、后、末3种分裂状态的细胞(图1a、b)。但在超过8 h的高浓度(0.100 0%)丙酯草醚处理下,分裂态细胞明显减少,分生区有明显较多分裂中期的细胞(图1c),表明丙酯草醚对根尖细胞的分裂有明显抑制作用,并使根尖细胞停滞于有丝分裂中期。

3 结论与讨论

该研究表明,丙酯草醚对洋葱根尖有丝分裂有明显的抑制作用,并使有丝分裂细胞停滞处于中期状态。Bartels等^[5]研究发现,有丝分裂毒剂如氯苯胺灵或苯胺灵可以抑制细胞分裂各期的细胞活性,促使染色体收缩,分生细胞畸形。慕小倩等^[6]研究发现,双酯灵对洋葱根尖分生区细胞分裂的抑制形式表现为分生区细胞停滞积累于间期或早前期状态。

张宗俭等^[7]研究除草通的毒性效应时发现,除草通能阻止玉米根尖分生组织细胞从前期向中、后、末期过渡,并引起染色体凝集、缩短以及微核、多核等一系列畸形与异常变化。Ramulu等^[8]用甲基草胺磷(APM)处理悬浮细胞能获得大量有丝分裂中期细胞,染色体可以散落地分布在整个细胞中,诱导产生微核频率受物种差异、细胞生长和有丝分裂活动的影响,生长旺盛的细胞比生长迟缓的细胞产生微核的频率高。苏少泉^[9]认为乙基氨基甲酸类除草剂破坏大麦根尖细胞的有丝分裂,使根内细胞体积增大,形成许多多倍体核,染色体不同程度地收缩,产生多核细胞,细胞分裂中期的核大大增多。Gömürgen^[10]利用2,4-D处理洋葱时产生一系列异常有丝分裂细胞,并导致中期染色体细胞积累。

丙酯草醚也属于ALS抑制剂,也是以ALS为作用点阻止Val、Ile、Leu的生物合成,从而抑制细胞有丝分裂。



注:a.丙酯草醚(0.100 0%)处理洋葱根尖8 h后处于有丝分裂中期的细胞(600×);b.丙酯草醚(0.012 5%)处理洋葱根尖2 h后处于有丝分裂后期的细胞(600×);c.丙酯草醚(0.012 5%)处理洋葱根尖2 h后处于有丝分裂末期的细胞(600×)。

Note:a. The root tip cells in middle mitosis of onion treated by 0.100 0% 2-pyrimidinyloxy-N-arylbenzylamine derivatives for 8 h(600×); b. The root tip cells in late mitosis of onion treated by 0.012 5% 2-pyrimidinyloxy-N-arylbenzylamine derivatives for 2 h(600×); c. The root tip cells in end mitosis of onion treated by 0.012 5% 2-pyrimidinyloxy-N-arylbenzylamine derivatives for 2 h(600×).

图1 丙酯草醚对根尖细胞形态的影响

Fig.1 Effect of 2-pyrimidinyloxy-N-arylbenzylamine derivatives on root tip cells form

参考文献

[1] 汪坤仁,薛绍白,柳惠图.细胞生物学[M].北京:北京师范大学出版社,

1998.
[2] 慕小倩.杂草学[M].杨凌:西北农业大学出版社,1999.

(下转第20页)

236; 锤度超过20%的组合有5个,其中桂糖00-122×粤农73-204锤度最高(20.98%)。按照蔗茎产量理论值=茎径²×株高×0.785×有效茎数/10⁶,糖产量=蔗茎产量×锤度×0.69/100(0.69为经验数据)可知,粤农73-204×CP72-

2086蔗茎产量和糖产量最高,其次为桂糖00-122×粤农73-204,从这2个组合后代中选出高产高糖的概率比较高。试验结果表明,GA₃处理能显著提高甘蔗实生苗产量,但对提高甘蔗糖分无显著作用。

表1 不同浓度GA₃对甘蔗实生苗产量性状的影响

Table 1 Effects of different concentration GA₃ treatment on yield traits of sugarcane seeding

处理浓度 Treatment concentration//mol/L	丛有效茎数 Effective stem number per clump//条	株高 Plant height cm	茎径 Stem diameter cm	锤度 Brix %
0(CK)	9.10±0.42 b	145.41±1.76 a	2.64±0.03 b	20.18±0.16 a
100	10.84±0.66 a	143.75±2.77 ab	2.76±0.05 ab	19.97±0.25 a
500	9.22±0.71 b	149.41±2.96 a	2.66±0.06 b	19.75±0.27 a
1 000	10.99±0.63 a	138.35±2.66 b	2.78±0.05 a	20.13±0.24 a

注:同列数据后小写字母不同表示在0.05水平差异显著。

Note: Different lowercase letters following the data within the same column showed significant difference at 0.05 level.

表2 8个甘蔗实生苗组合产量性状

Table 2 Yield traits of eight sugarcane seeding combinations

序号 No.	组合 Combinations	丛有效茎数 Effective stem number per clump//条	株高 Plant height cm	茎径 Stem diameter cm	锤度 Brix %
1	ROC10×粤糖93-159	8.56±5.16 cd	127.04±22.36 c	2.62±0.43 bc	20.35±1.99 a
2	桂糖00-122×粤农73-204	10.68±4.73 abc	155.79±31.52 a	2.77±0.39 ab	20.98±1.51 a
3	云端05-283×云端10-736	10.04±9.64 bc	139.66±31.22 b	2.54±0.66 c	19.47±2.05 b
4	粤农73-204×CP72-2086	11.30±4.63 ab	157.51±30.95 a	2.75±0.32 ab	20.62±6.19 a
5	ROC28×粤糖00-236	9.03±10.25 bcd	150.36±29.95 a	2.88±0.89 a	19.45±1.62 b
6	ROC25×粤糖00-236	9.52±4.86 bc	149.33±29.10 a	2.87±0.39 a	20.95±1.73 a
7	ROC25×粤糖89-240	7.02±3.44 d	149.92±24.22 a	2.76±0.44 ab	20.50±1.38 a
8	粤糖99-66×ROC10	12.65±5.21 a	123.44±26.24 c	2.46±0.35 c	18.92±1.70 b

注:同列数据后小写字母不同表示在0.05水平差异显著。

Note: Different lowercase letters following the data within the same column showed significant difference at 0.05 level.

3 结论与讨论

试验结果是根据不同浓度GA₃处理8个甘蔗实生苗组合整体变化得出的,对甘蔗实生苗叶片喷施不同浓度GA₃后,丛有效茎数、株高和茎径差异显著,锤度没有明显变化。分析认为GA₃处理能显著提高甘蔗实生苗产量,但对提高甘蔗糖分无显著作用。这与吴建明等^[8]利用GA₃处理甘蔗,得出不同生长阶段株高均高于对照的研究结果一致,但与绍廷富^[7]的赤霉素可以提高甘蔗糖分的研究结果有所不同。甘蔗属于异源多倍体,杂交后代分离广泛,有些后代糖分表现优良,而对于株高、产量不理想的后代可以尝试利用外源激素GA₃等来改善,以获得性状优异的个体。

参考文献

- [1] 潘瑞炽,王小菁,李娘辉.植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2008:179.
- [2] 江雪,楼崇,袁娜,等.外源GA₃对毛竹实生苗新分蘖竹株秆形与竹材纤维质量的影响[J].南京林业大学学报(自然科学版),2016,40(2):121-126.
- [3] 邓惠惠,白龙强,于贤昌,等.日光温室早春黄瓜叶片喷施赤霉素对生长和生理及产量的影响[J].园艺学报,2016,43(5):983-990.
- [4] 吴建明,李杨瑞,王爱勤,等.赤霉素处理对甘蔗节间伸长及产质量的影响[J].中国糖料,2010(4):24-26.
- [5] 梁闽,罗亚伟,黄杏,等.不同浓度赤霉素对甘蔗产量和品质的影响[J].中国糖料,2015,37(2):43-44.
- [6] 吴建明,李杨瑞,王爱勤,等.利用cDNA-SRAP分析赤霉素诱导甘蔗节间伸长的差异表达[J].中国农业科学,2010,43(19):3937-3944.
- [7] 邵廷富.赤霉素对甘蔗生长的影响[J].植物生理学通讯,1965(4):8-10.
- [8] 吴建明,李杨瑞,杨柳,等.赤霉素诱导甘蔗节间伸长与内源激素变化的关系[J].热带作物学报,2009,30(10):1452-1457.

(上接第6页)

- [3] VAUGHN K C, LEHNEN L P JR. Mitotic disrupter herbicides[J]. Weed Science, 1991, 39(3): 450-457.
- [4] 曹幼程. 乙酰乳酸合成酶抑制剂开发中的问题及对策[J]. 植物保护, 1997, 23(5): 38-41.
- [5] BARTELS P G, HILTON J L. Comparison of trifluralin, oryzatin, pron-amide, prophan, and colchicine treatments on microtubules[J]. Pesti Biochem Physiol, 1973, 3(4): 462-472.
- [6] 慕小倩,赵毓,丁秀丽,等.新除草化合物WD对洋葱根尖细胞形态的影响[J].西北植物学报,2001,21(2):297-300.

- [7] 张宗俭,李扬汉,张智敏.除草通对玉米幼苗根尖细胞有丝分裂的影响[J].西北植物学报,1995,15(6):32-35.
- [8] RAMULU K S, VERHOEVEN H A, DIJKHUIS P, et al. Chromosome behavior and formation of micronuclei after treatment of cell suspension cultures with amiprofos-methyl in various plant species[J]. Plant science, 1988, 56(3): 227-237.
- [9] 苏少泉. 除草剂概论[M]. 北京: 科学出版社, 1989.
- [10] GÖMÜRGEN A N. Cytological effect of the herbicide 2,4-D isooctylester 48% on root mitosis of *Allium cepa*[J]. Cytologia, 2000, 65(4): 383-388.