

低温胁迫对辣子草水浸提液化感作用的影响

马丹炜, 范雪涛, 葛方兰, 张红

(四川师范大学生命科学学院, 成都 610066)

摘要:采用蚕豆根尖细胞微核技术,研究了低温胁迫下辣子草(*Galinsoga parviflora* Cav.)水浸提液的化感作用。结果表明:常温条件下,辣子草水浸提液使蚕豆根尖细胞有丝分裂指数下降,微核率和畸变率增大;低温处理后辣子草水浸提液对有丝分裂指数表现为“低浓度促进,高浓度抑制”效应,但显著提高了微核率和畸变率。这说明低温胁迫改变了辣子草的化感作用。

关键词:辣子草;化感作用;低温胁迫;遗传毒性

中图分类号:Q946.91

文献标识码:A

文章编号:1005-3395(2008)06-0526-05

The Allelopathy of Aqueous Extracts from *Galinsoga parviflora* Cav. under Low Temperature Stress

MA Dan-wei, FAN Xue-tao, GE Fang-lan, ZHANG Hong

(Life Science College, Sichuan Normal University, Chengdu 610066, China)

Abstract: The effect of low temperature on the allelopathy of aqueous extraction from *Galinsoga parviflora* Cav. was studied by using micronucleus assay in *Vicia faba* root tip cells. The results showed that the mitotic index of *V. faba* root tip cells treated with the aqueous extraction decreased and micronucleus and aberration rates increased under normal temperature. However, after *G. parviflora* was treated at low temperature, the mitotic index of *V. faba* root tip cells soaking in low concentration of aqueous extraction enhanced and it decreased in high concentration of aqueous extraction, but micronucleus and aberration rates increased significantly. These suggested that low temperature stress could change the allelopathic effect of *G. parviflora*.

Key words: *Galinsoga parviflora* Cav.; Allelopathy; Low temperature stress; Genetic toxicity

辣子草(*Galinsoga parviflora* Cav.)又名牛膝菊、向阳花、铜锤草,为菊科(Compositae)牛膝菊属(*Galinsoga*)的1a生草本植物,原产南美洲,是一种世界分布的恶性杂草,能持续开拓新的分布区,成为许多农作物的有力竞争者^[1]。1915年在我国云南、四川等地首次采集到辣子草的标本,目前这种植物广泛分布于我国吉林、辽宁、内蒙古、河北、山西、陕西、河南、山东、安徽、江苏、浙江、江西、湖北、湖南、福建、贵州、四川、云南、西藏等地^[2]。当受到逆境胁迫时,有些植物会采用释放次生代谢物质的方式来抑制邻近植物的生长,以增强自身的生存竞争能力(即化感作用)^[3]。以前作者曾报道辣子草水浸提液对农作物的种子萌发、幼苗生长以及幼苗的抗氧化系统均有明显的化感效应^[4-5]。本文研究不

同低温胁迫下辣子草水浸提液对蚕豆根尖细胞的遗传毒性,旨在从细胞水平上探讨低温胁迫下辣子草水浸提液的化感机制,为研究辣子草种群扩张机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试植物辣子草(*Galinsoga parviflora* Cav.)采自四川师范大学附近的荒坡。选取生长良好、长势基本一致的植株,移栽到装有混合土(黄土:沙子:园艺土=1:1:1)的花盆中(花盆直径19 cm,高度16 cm),在温室中(温度为24℃,相对湿度为70%,白天/黑夜交替时间为12 h/12 h)培养1个月左右,定期浇水施肥,以保证适宜的水分和养分条件,待生长状况

稳定后,进行胁迫处理。受体植物蚕豆(*Vicia faba* L.)(成胡 14[#])购于四川省简阳市良种场。

1.2 低温胁迫

将供试植株随机分为3组(I、II、III)进行低温处理。I组为对照,在24℃下培养24 h; II组为适应性胁迫,从24℃依21℃、18℃、15℃、12℃、9℃和5℃降温,每一温度处理24 h; III组为非适应性胁迫,直接将辣子草植株放入5℃处理24 h。整个处理过程均在光照培养箱(相对湿度为70%,昼夜交替为12 h/12 h,白天的光照强度为250 μmol m⁻² s⁻¹)中进行,处理过程中土壤水分维持在田间持水量水平。

1.3 水浸提液的制备

胁迫处理完成以后,分别剪取I、II、III组辣子草的地上部分,洗净晾干后,分别剪成2 cm左右的小段,按1:10的比例加入蒸馏水,混匀后在23℃下摇床振荡48 h,2层纱布过滤2次后,得0.100 g ml⁻¹的母液,放入4℃冰箱备用。

1.4 方法

参照 Kanaya 等^[6]的方法,选取籽粒饱满、大小均一的蚕豆种子,在24℃蒸馏水中浸泡36 h,湿纱布包裹催芽36 h,选择根长约1.0~1.5 cm的蚕豆随机分组,放入垫有湿脱脂棉的培养皿中,分别加入一定量(以淹没种子1/3为准)的辣子草水浸提液(分别为0.001 g ml⁻¹, 0.010 g ml⁻¹, 0.025 g ml⁻¹, 0.050 g ml⁻¹, 0.075 g ml⁻¹, 0.100 g ml⁻¹,以蒸馏水为对照),每处理重复3次,在25℃、70%相对湿度下暗培养19.3 h后,用蒸馏水洗净,将蚕豆转入蒸馏水中恢复培养19.3 h;取不同处理组的蚕豆,迅速剪取根尖,用卡

诺氏固定液(甲醇:冰乙酸=3:1)固定24 h。转入70%的乙醇中4℃保存。常规制片,改良石炭酸品红染液染色,压片镜检,每处理观察6 000个细胞,记录分生区细胞总数和分裂期的细胞数以及带有微核的细胞数。Nicon E200 摄影显微镜拍照;计算细胞有丝分裂指数(MI%)、微核率(FMN%)及染色体畸变率(%)。化感效应敏感指数(RI)的计算参照 Williamson 等^[7]的方法: $RI = 1 - \frac{C}{T}$

式中,C分别为有丝分裂指数、微核率、染色体畸变率对照值,T分别为有丝分裂指数、微核率、染色体畸变率的值,RI为化感作用效应。化感作用综合效应以各参数的化感效应敏感指数绝对值的算术平均值表示。

1.4 数据处理

用 SPSS13.0 软件进行单因素方差分析。

2 结果和分析

2.1 低温胁迫下辣子草水浸提液对蚕豆根尖有丝分裂的影响

没有经低温处理的辣子草水浸提液对蚕豆根尖有丝分裂有抑制效应(表1,图1),且随着浓度的增大而增强,除0.001 g ml⁻¹和0.010 g ml⁻¹外,其余处理与对照相比,对有丝分裂的抑制效应均达到极显著水平($P < 0.01$);经低温胁迫处理的辣子草水浸提液对蚕豆根尖有丝分裂的影响整体表现为“低浓度促进,高浓度抑制”的效应(表1),但适应性胁迫(II组)和非适应性胁迫(III组)效应不同。适应性胁迫(II组)的0.010~0.075 g ml⁻¹处理与对照相比,有丝分裂指数极显著增大($P < 0.01$),0.100 g ml⁻¹处理的有丝分裂指数有所下降,但未达到显著水平(图1)。

表1 低温胁迫下辣子草水浸提液对蚕豆根尖细胞的化感作用

Table 1 Sensitive indexes of allelopathy of aqueous extracts from *Galinsoa parviflora* on *Vicia faba* root tip cells under low temperature stress

浓度 Concentration (g ml ⁻¹)	有丝分裂指数 Mitotic index			微核率 Micronucleus rate			畸变率 Aberration rate		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
0.001	0.040	0.126	0.126	0.27	0.574**	0.606**	0.167	0.312	0.286
0.010	-0.080	0.126**	0.045**	0.261	0.728**	0.594*	0.154	0.428	0.397
0.025	-0.240	0.124**	0.071**	0.326	0.708**	0.532*	0.413	0.555	0.359
0.050	-0.270	0.123**	0.022	0.65	0.788**	0.659	0.545	0.635	0.658
0.075	-0.310	0.066**	-0.128*	0.673	0.811**	0.853	0.714	0.742*	0.730
0.100	-0.670	-0.023**	-0.326*	0.713	0.832**	0.870**	0.706	0.768	0.761

* 和 ** 分别表示与对照相比在5%和1%水平上差异显著。* and ** present the significant difference at 5% and 1% levels, respectively, compared with control (I group).

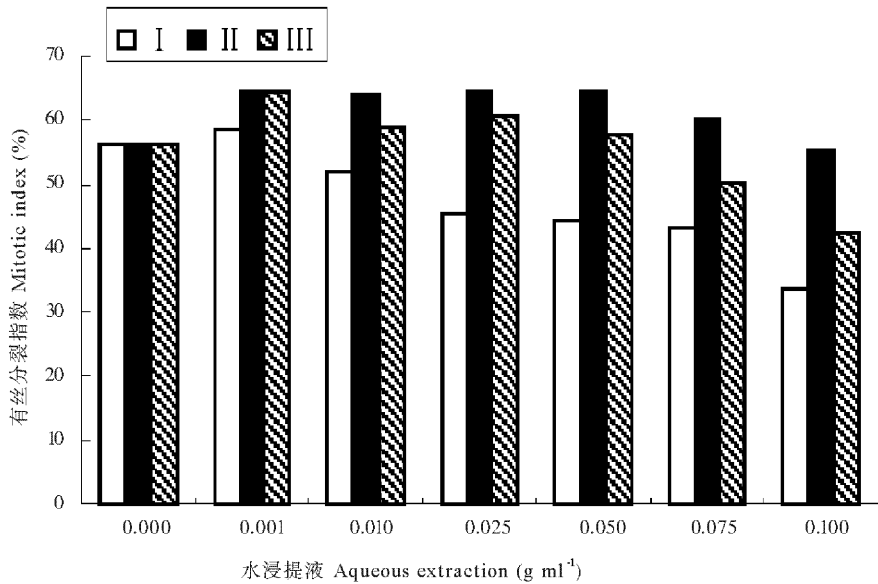


图 1 辣子草水浸提液对蚕豆根尖细胞有丝分裂的影响

Fig. 1 Effect of aqueous extracts from *Galinsoga parviflora* on mitosis of *Vicia faba* root tip cells

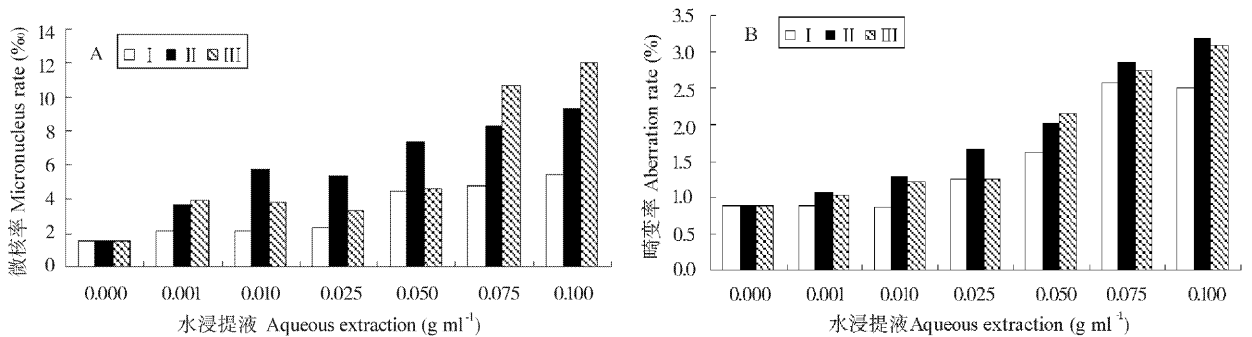


图 2 辣子草水浸提液对蚕豆根尖细胞微核(A)和染色体畸变(B)的诱导

Fig. 2 The micronucleus and chromosomal aberration of *Vicia faba* root tip cells induced by aqueous extracts from *Galinsoga parviflora*

比较 I 组与 II 组的辣子草水浸提液对有丝分裂的影响发现,除 0.001 g ml⁻¹ 处理外,其余处理与 I 组的差异达到极显著水平($P < 0.01$)(表 1);与对照相比,非适应性胁迫(III 组)的 0.001 ~ 0.050 g ml⁻¹ 处理使蚕豆根尖细胞的有丝分裂指数升高,其中 0.001 g ml⁻¹ 处理的促进效应达到显著水平($P < 0.05$),而 0.075 g ml⁻¹ 和 0.100 g ml⁻¹ 处理极显著抑制了蚕豆根尖细胞的有丝分裂($P < 0.01$)(图 1)。除 0.001 g ml⁻¹ 和 0.050 g ml⁻¹ 处理外,其余处理均与 I 组的差异达到显著或极显著水平。通过单因素方差分析发现,II 组和 III 组的有丝分裂指数无显著差异,但这 2 组与 I 组之间存在着显著差异($P < 0.05$)。

2.2 对微核的诱导

辣子草水浸提液均能诱导蚕豆根尖细胞产生微核,随着浓度的升高,3 个处理的微核率均显著增大

(图 2a)。经低温胁迫后,辣子草水浸提液(II 组和 III 组)对微核诱导的化感效应明显大于胁迫前的化感效应(I 组)(表 1),其诱导微核的化感作用综合效应为:II 组 > III 组 > I 组。

2.3 对染色体畸变率的影响

在辣子草水浸提液作用下,蚕豆根尖细胞产生多种染色体异常现象,如微核、染色体桥、染色体断片、多极分裂等(图 3),说明辣子草水浸提液具有明显的诱发蚕豆根尖细胞染色体畸变的作用。3 个处理组的染色体畸变率均高于其相应的对照组,且随着水浸提液浓度的升高而染色体畸变率增加(图 2b)。分析 3 个处理组辣子草水浸提液对蚕豆根尖细胞染色体畸变率的化感效应敏感指数(表 1)表明,经低温胁迫后的辣子草水浸提液所诱导的染色体畸变率大于胁迫前,其综合效应为:II 组 > III 组 > I 组,与微核率

的化感作用综合效应一致。

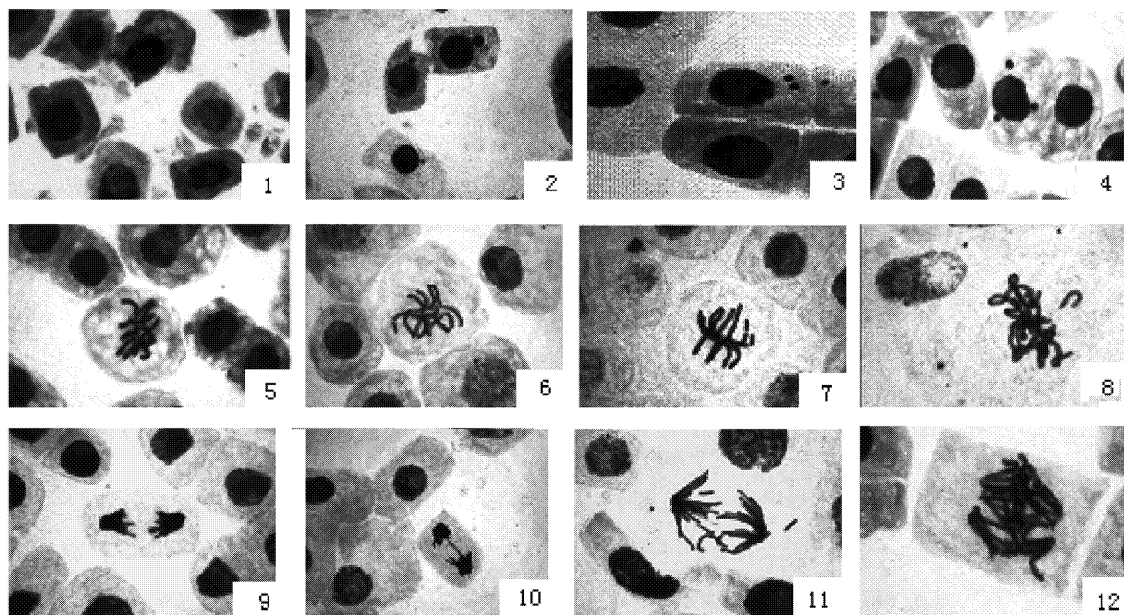


图3 辣子草水浸提液诱导的蚕豆根尖细胞染色体畸变($\times 400$)

Fig. 3 Chromosomal aberrations of *Vicia faba* root tip cells induced by the aqueous extraction from *Galinsoga parviflora* ($\times 400$)

1. 正常间期细胞 Normal interphase cell; 2. 间期单微核 Mono-micronucleus in interphase cell; 3. 间期双微核 Bi-micronucleus in interphase cell; 4. 间期三微核 Tri-micronucleus in interphase cell; 5. 正常中期细胞 Normal metaphase cell; 6. 中期染色体1个断片 Simple chromosome fragment in metaphase cell; 7. 中期染色体2个断片 Two chromosome fragments in metaphase cell; 8. 中期落后染色体 Lagging chromosome in metaphase cell; 9. 正常后期细胞 Normal anaphase cell; 10. 染色体桥 Chromosome bridge; 11. 后期落后染色体 Lagging chromosome in anaphase cell; 12. 多极分裂 Poly-pole division.

3 讨论

微核是检测细胞遗传损伤的一个非常有用的指标。微核的形成途径有两条:一是由于前一分裂周期 G_2 期后产生的染色体断片在分裂过程中不能与正常染色体协调活动,进入间期时被排斥于核外形成;另一条途径是由于各种形式的落后染色体、未及中板集合染色体以及染色体分组造成,即微核主要是由于染色体断片和滞后染色体形成的^[9]。本研究结果表明,辣子草水浸提液一方面诱发了多种类型的染色体畸变,如染色体断片、染色体桥、落后染色体等和较高频率的微核,所有处理组的微核率和畸变率均显著高于对照组,并具有明显的剂量效应,表明辣子草水溶性化感物质对蚕豆根尖细胞具有遗传损伤,破坏了纺锤体的结构和功能,造成滞后染色体的形成,干扰了DNA损伤的正常修复,以致染色体损伤不能有效修复,断片在分裂后期无法向两极运动,故而微核率和畸变率增大。经低温处理以后,辣子草的这种遗传毒性具有增大的趋

势。另一方面,低温胁迫前后,辣子草水浸提液对蚕豆根尖细胞有丝分裂的影响有所不同。在正常状况下,蚕豆根尖细胞的有丝分裂指数随着水浸提液浓度的升高而下降,而经低温胁迫后,辣子草水浸提液对蚕豆根尖细胞有丝分裂指数的影响表现为“低浓度促进,高浓度抑制”效应,表明低温胁迫在一定程度上改变了辣子草的代谢过程,代谢变化导致辣子草体内化感物质的组成和浓度发生相应变化。

非生物因子都会对植物的生长产生各种各样的影响甚至胁迫, 0°C 以上的低温对植物的影响主要表现在干扰代谢的协调性,生理过程受到影响。植物对这些环境条件的适应可以发生在生理代谢上,很多次生代谢产物都会因环境的影响而变化^[1]。一方面,植物可以通过释放化感物质的方式抑制周围其他植物的生长,从而增加其对养分、水分等的相对竞争能力;另一方面,有些化感物质(如酚类、酸类物质)有助于植物吸收N、P以及金属离子等营养元素,提高抗逆性等生理作用,从而增加

了植物在逆境条件下的相对竞争能力,对其他植物产生间接的抑制作用。而后者更可能是环境胁迫下,植物化感物质增多、化感作用增强的主要原因^[1]。当辣子草受到低温胁迫时,其水浸提液对蚕豆根尖细胞化感效应发生变化。原因可能是低温胁迫下,辣子草通过增加次生代谢物质来提高其抗寒性,抵御低温带来的永久性伤害;本研究表明,适应性低温处理辣子草水浸提液的化感效应大于非适应性低温处理。在适应性低温处理过程中,逐渐变化的温度刺激辣子草的信号系统发生反应,积累了较多的化感物质。而在非适应性低温处理中,突然的低温打破了代谢的协调性,植物体的代谢过程受阻,化感物质产生量较少。也可能是处理时间较短,植物体产生次生代谢物质的反应存在着时滞效应,确切原因尚待进一步深入研究。

参考文献

- [1] Espinosa-García F J, Vázquez-bravo R, Martínez-ramos M. Survival, germinability and fungal colonization of dimorphic achenes of the annual weed *Galinoga parviflora* buried in the soil [J]. *Weed Res*, 2003, 43: 269–275.
- [2] Xu H G(徐海根), Qiang S(强胜). Inventory Invasive Alien Species in China [M]. Beijing: Chinese Environmental Science Press, 2004: 112–113. (in Chinese)
- [3] Kong C H(孔垂华), Xu T(徐涛), Hu F(胡飞), et al. Allelopathy under environmental stress and its induced mechanism [J]. *Acta Ecol Sin(生态学报)*, 2000, 20(5): 849–854.(in Chinese)
- [4] Fan X T(范雪涛), Ma D W(马丹炜), Yu S H(于树华), et al. Allelopathic effects of *Galinoga parviflora* on crops [J]. *Environ Sci Techn(环境科学与技术)*, 2007, 30(10): 7–9.(in Chinese)
- [5] Chen L P(陈丽萍), Fan X T(范雪涛), Ma D W(马丹炜). Allelopathic effects of *Galinoga parviflora* Cav. on antioxidant enzyme systems in rape seedlings [J]. *SW China J Agri Sci(西南农业学报)*, 2008, 21(2): 332–334.(in Chinese)
- [6] Kanaya N, Gill B S, Grover I S, et al. *Vicia faba* chromosomal aberration assays [J]. *Mutat Res*, 1994, 310: 231–243.
- [7] Williamson G B, Richardson D. Bioassays for allelopathy: Measuring treatment responses with independent controls [J]. *J Chem Ecol*, 1988, 14(1): 181–187.
- [8] Hierro J L, Callaway R M. Allelopathy and exotic plant invasion [J]. *Plant Soil*, 2003, 256: 29–39.
- [9] Qian X W(钱晓薇). Teratogenic effect of copper acetic acid on *Vicia faba* root tip cells [J]. *Chin J Cell Biol(细胞生物学杂志)*, 2005, 27: 351–357.(in Chinese)