

化学消毒剂对蚕豆根尖细胞的微核效应

祝庆荃 谷云有 王士明

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 北京 102206

摘要 本文用蚕豆根尖细胞微粒技术测定两种化学消毒剂对生物体的潜在遗传毒性，并用小鼠骨髓细胞微核作对比，两种方法测定的结果有一致的剂量效应关系，提示在处理病情施用消毒药物时，应考虑减少对环境的污染。蚕豆根尖细胞微核试验具有周期短、经济、简便且方法易于标准化等优点，是评价环境污染物的较好方法。

关键词 微核率；蚕豆根尖细胞；化学消毒剂

本文用蚕豆根尖细胞微核技术测定化学消毒剂的剂量效应关系，探明化学消毒剂的毒性程度，以期广泛应用于筛选和评价化学消毒剂对机体的潜在遗传危害，为合理使用化学消毒剂提供实验依据。

材料和方法

1. 化学药物

- 1.1 戊二醛：化学纯，含量25%，中国医药采购供应站出售，批号900448。
1.2 二氯异氰尿酸钠：河北省国营冀衡化工厂生产，含有效氯61%。
1.3 环磷酰胺：上海第十二制药厂生产，批号901101。

两种消毒剂在配制前用标准溶液滴定有效成份含量。

2. 实验动物投药方式

供实验用昆明小鼠由流研所实验动物饲养室繁殖（实验动物饲养合格单位），体重18-20克，共分6组。第1—4组为实验组，分别按200.0、20.0、2.0及0.2mg/kg药物灌胃，第5组以100mg/kg环磷酰胺以同样方式灌喂小鼠为阳性对照。第6组以相同体积的蒸馏水代替药物为阴性对照。间隔24h分两次灌喂口服，于次日灌喂后6h将小鼠处死，取胸骨加少许小牛血清推片，甲醇固定

后用Giemsa染色，在显微镜油浸镜下计数嗜多染红细胞中微核出现的频率。

3. 蚕豆根尖药物浸种及制片

选大小均匀的蚕豆用自来水浸胀后，置湿纱布盘内于室温(23-25℃)下经常以清洁自来水冲洗催芽，待初生根长约2cm左右时，分别在每组溶液中放置数粒初生蚕豆芽，于23-25℃培育2h，然后用蒸馏水冲洗，移至用蒸馏水润湿的纱布中修复24h，阴性对照仅用蒸馏水培育与修复。切取修复后蚕豆根尖0.5cm左右，用醋酸酒精固定4h，又用盐酸水解30min，然后Feugen染色2h，用两张载玻片将根尖压碎使成单层细胞，经脱水透明后在显微镜下观察。

4. 观察与微核计数

用显微镜油浸镜观察动物骨髓片里嗜多染红细胞中所占微核细胞数的比例。用高倍镜观察蚕豆根尖细胞中微核细胞数。微核游离于细胞浆内，圆形成椭圆形、与主核受色一致，在一个细胞中出现一个或一个以上微核的细胞均按一个计算，每一浓度组观察间期细胞1000-2000个，并分别统计微核细胞数计算微核率。

结果和讨论

本试验所采用豆种系兰州产蚕豆，经小

鼠骨髓细胞微核试验与蚕豆根尖细胞微核试验测定，其自发微核率为2.50%和2.62%。

用相同浓度的戊二醛经上述两种方法测定的结果见表1。剂量在0.2mg/L以下，两种方

表1 戊二醛诱发动物骨髓嗜多染红细胞和蚕豆根尖细胞微核率的比较

骨髓嗜多染红细胞			蚕豆根尖细胞			
剂量 mg/kg	微核率 %	变量分析	剂量 mg/l	微核率 %	变量分析	二者 方差分析
0.0	1.44		0.0	2.62		
0.2	1.82	$y = 4.1775$	0.2	3.73	$y = 5.6978$	F 值 = 0.41
2.0	5.89	$+ 1.08701gx$	2.0	6.54	$+ 1.09091gx$	
20.0	7.34	$P < 0.05$	20.0	9.43	$P < 0.05$	$P > 0.05$
200.0	9.68		200.0	11.14		
环磷酰胺			环磷酰胺			
100.0	25.32		100.0	42.40		

法检测微核率分别为1.82%和3.73%，均在5%正常值以下，随着药物剂量的加大微核率亦逐渐升高，在反映药物剂量与效应关系上两种方法表现一致，将两组数据作统计学处理，骨髓细胞和蚕豆根尖细胞所产生的微核效应显示直线相关(变异分析结果前者 $\hat{y} = 4.1775 + 1.08701gx P < 0.05$ ；后者 $\hat{y} = 5.6978 + 1.09091gx P < 0.05$)。用方差分

析进行比较， F 值 = 0.41 $P > 0.05$ 二者没有

显著差异，检查消毒药物遗传毒性的常规方法是骨髓细胞微核测定，本试验首次提出了用简单的蚕豆根尖细胞数取代复杂的骨髓细胞进行遗传毒性测定的可能性。用蚕豆根尖细胞微核技术测定二氯异氰尿酸钠及戊二醛两种化学消毒剂传毒性的结果见表2。应用变异分析统计处理二者 P 值均 < 0.05 ，呈现显著的剂量与效应关系。

表2. 二种化学消毒剂的蚕豆根尖细胞微核效应

消 毒 剂 名 称	剂 量 mg/l	微核率 %	变 量 分 析
二氯异氰尿酸钠	0.0	2.50	
	0.2	3.70	$y = 1.5674$
	2.0	4.82	$+ 0.15541gx$
	20.0	8.54	$P < 0.05$
	200.0	10.08	
戊二醛	0.0	2.62	
	0.2	3.73	$y = 1.6699$
	2.0	6.54	$+ 0.15841gx$
	20.0	9.43	$P < 0.05$
	200.0	11.14	

蚕豆细胞染色体大而数量少，它的根尖

分生组织细胞增殖周期较短，而且其中大部

份时间又是对诱变剂敏感的间期。诱变剂进入植物体后可能切断DNA分子或干扰DNA合成与修复而损伤间期细胞染色体，使之发生断裂或畸变从而导致微核的形成。根据国内外资料和我们实验结果认为：蚕豆根尖细胞微核试验可以确切地反映出污染物对遗传物质损伤的效应，同时该实验又具备周期短、经济、简便、方法易于标准化等优点，是评价或筛选污染物的一个较理想方法。

从以上实验结果来看，化学消毒剂对生

物体都有或多或少的毒性作用，为了切断传染源，消灭病源地使消毒工作做得合理又有效，在处理外环境时必须恰当地确定消毒范围，选择合适的消毒对象和消毒方法，在保护人群免受疾病侵害的同时还要考虑化学消毒剂对生物体的潜在毒性作用，因此在使用化学消毒药物时应尽量减少对环境的污染。

本试验中数据由中国预防医学科学院统计室富振英同志统计处理。特此致谢。

(上接第55页)

定化学预防研究的结果，提高化学预防研究的速度与效率。

参考文献

1. Peter Greenwald MD, et al. Concepts in cancer chemoprevention research. *Cancer* 1990; 65(7): 1483-1490
2. Winfred F, et al. Chemoprevention and modern cancer prevention. *Preventive Medicine* 1989; 18: 553-561
3. Molone WF, et al. Chemoprevention of bladder cancer. *Cancer* 1987; 60: 650-657
4. 俞顺章. 美国癌症防治教训与我国肿瘤防治道路。 *肿瘤* 1991; 11(2): 69
5. Slaman DJ. Proto-oncogenes and human cancer. *N Eng J Med* 1987; 317: 955-957
6. Friend SH, et al. Oncogenes and Tumor-suppressing genes. *N Engl J Med* 1988; 318: 618-622
7. Sparnins VL, et al. Enhancement of glutathione S-transferase activity of the mouse forestomach. *J Natl Cancer Inst* 1981; 66: 769-771
8. Wattenberry LW, et al. Chemoprevention of Cancer. *Cancer Res* 1985; 45: 1-8
9. Bertram JS, et al. Rationale and strategies for chemoprevention of cancer in human. *Cancer Res* 1987; 47: 3012-3031
10. 谭润生. 大蒜对亚硝胺诱发大鼠肝癌前病变的抑制及生化机理。 *中国医学科学院学报* 1989; 11(6): 406
11. Kimchi A, et al. Absence of TGF-beta receptors and growth inhibitory responses in retinoblastoma cell. *Science* 1988; 240: 196-198
12. Dimitron NV, et al. Bioavailability of Beta-carotene in human. *Am J Clin Nutr* 1988; 48: 298-304
13. 许海修. 大蒜与胃癌关系的五年前瞻性研究。 *肿瘤* 1989; 9(1): 3
14. 顾公望. 肝癌的药物预防。 *癌症* 1989; 9(1): 80
15. 顾公望. 硒与恶性肿瘤流行病学研究进展。 *国外医学肿瘤学分册* 1989; 5: 276-278
16. 高国栋. 绿茶防癌的初步研究。 *肿瘤* 1990; 1: 42-43
17. 俞顺章. 饮水类型与恶性肿瘤死亡率的关系。 *肿瘤* 1989;
18. Kraemer KH, et al. Prevention of skin cancer in xeroderma pigmentosum. *N Engl J Med* 1988; 318: 1633-1637
19. Albanes D, et al. The U. S-Finland Lung cancer prevention trial. *J Nutr Growth Cancer* 1986; 3: 207-214
20. Shah JP, et al. Effect of retinoids on oral leukoplakia. *Am J Surg* 1983; 146: 466-0
21. Misset JL, et al. Regression of bronchial epithelial metretinate treatment. *Cancer Detect Prev* 1986; 9: 167-170
22. Lipkin M, et al. Effect of added dietary calcium on colonic epithelial cell proliferation in subjects at high risk for familial colonic cancer. *N Engl J Med* 1985; 313: 1381-1384

and embryotoxicity, as measured by percentage of dead and absorbed fetuses, mean fetal weight, length of body and of tail compared to negative control group (5mg/kg) showed major increased of teratogenicity and embryotoxicity effects. The results concluded a statistically significant difference between benzoylmetronidazole and cyclophosphamids group ($P<0.01$).

GENOTOXIC EFFECTS OF CHEMICAL DISINFECTANTS ON MICRONUCLEUS OF Vicia faba SEEDLING ROOT TIPS CELLS

Zhu Qingquan, et al

Institute of Epidemiology and Microbiology, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing 102206

The potential genotoxicity of two chemical disinfectants on bion was detected with micronucleus test of vicia faba root tips cells. The results were compared with those effects on mice bone marrow cells. Results were identical even in doses effectiveness correlation between them.

The results showed that the micronucleus induction of vicia faba root tips cells posses the advantages of short duration, cheaper, simpler and the easiness to standardize.

INVESTIGATION OF CYTOGENETICS EFFECT OF WORKERS EXPOSED TO RADIATION IN A CEASED URANIUM MINE

Yuan Shude, Ma Jiying

Xinjiang Radiomedicine & Radioprotection Institute, Urumqi 830011

The cytogenetics effect on 140 workers ever exposed to radiation in a uranium mine 10 years ago was investigated. As a result, the chromosomal aberration frequencies in radioactive workers were obviously higher than controllers ($P<0.05$). It demonstrated that the effects of internal and external radiation exposure could be shown, although the repair from radiation damage lasted for 10 years. There were no significance statistic difference in chromosomal aberration among two working category groups of 1-5, 6-10 and >10 working-years. But comparing with control group separately, there were significances ($P<0.05$) except 1-5 working-years group, mainly in chromosomal from aberrations. The frequencies of lymphocyte micronucleus of radiation exposed groups was higher than control group, but no