

生活用品对蚕豆根尖细胞的诱变作用

邵爱华, 叶亚新, 陈豪, 姚雪梅 (苏州科技学院化学与生物工程学院, 江苏苏州 215009)

摘要 [目的] 研究常见市售生活用品对蚕豆根尖细胞的诱变作用。[方法] 选取不同浓度的3种市售生活用品(花露水、洗洁精、牙膏)为诱变剂, 分别处理松滋青皮蚕豆根尖细胞, 用微核检测法确定蚕豆根尖细胞的微核率。[结果] 蚕豆根尖经过不同浓度的花露水、牙膏和洗洁精处理液处理后, 根尖细胞形态受到不同程度的损伤, 根尖长度明显变短, 颜色发黄、变黑。微核诱变试验显示, 不同浓度的生活用品处理蚕豆根尖细胞可诱发不同频率的微核率, 在一定浓度范围内, 其微核率随处理浓度的升高而呈现增加的趋势。当洗洁精处理组浓度达到原液浓度时, 微核率却呈现下降趋势, 但仍然高于蒸馏水为阴性对照组所得到的微核率。[结论] 日常生活用品对蚕豆根尖细胞有一定的诱导作用。

关键词 蚕豆; 生活用品; 遗传毒性; 微核

中图分类号 S643.6 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)02-00560-03

Mutagenic Effect of Daily Articles on Root Tip Cells of *Vicia faba*

SHAO Ai-hua et al (Institute of Chemistry and Biological Engineering, Suzhou College of Science and Technology, Suzhou, Jiangsu 215009)

Abstract [Objective] The aim was to research the mutagenic effect of common daily articles on market on root tip cells of *Vicia faba* L. [Method] Three kinds of daily articles (Floral water, detergent and toothpaste) with different concn. were selected as mutagen to treat the root tip cells of Songzi black *V. faba* resp. and the micronucleus rate of *V. faba* root tip cells was determined by micronucleus test. [Result] After *V. faba* root tip cells were treated by treatment liquor of Floral water, detergent and toothpaste with different concn., the shape of *V. faba* root tip cells was damaged to different extent, the root tip length was shortened obviously, and changed to yellow and black. The micronucleus mutation test showed that the *V. faba* root tip cells treated by daily articles with different concn. could induce micronucleus rate with different frequency, which presented increasing tendency with the raise of treatment concn. in a certain range. When the concn. of detergent treatment group reached to the stock solution one, the micronucleus rate showed decline trend, but was still higher than that obtained from the negative control group with distilled water. [Conclusion] The daily articles had some certain inducing effect on *V. faba* root tip cells.

Key words *Vicia faba* L.; Daily articles; Genotoxicity; Micronucleus

随着生产技术和生活水平的日益提高, 由化工原料合成的生活日用品日益成为人类日常生活中必不可少的一部分, 但是这些生活日用品在改善人类生活质量, 提高人类生活水平的同时也给人们赖以生存的自然环境和生活环境造成了严重的污染。目前, 世界各国和国际组织对有毒化合物的遗传毒性已经制定出规范的、统一的评价程序规定。突变是癌变、畸变的基础, 在有毒化合物遗传毒性试验中, 致突变检测非常重要。而检测染色体损伤最常用而有效的方法之一就是微核试验。微核试验自20世纪70年代初产生以来, 在环境物质遗传毒理检测方面发挥了重要的作用^[1-2]。蚕豆根尖细胞微核技术是目前研究运用得较多的用来检测环境中“致癌、致畸、致突变”物质的高等植物细胞检测体系, 具有取材方便、技术简单、容易掌握等优点, 目前已经被广泛地应用在环境中大气、土壤、水体等受污染情况的监测上^[3-7]。笔者运用蚕豆根尖微核技术这一广泛应用的检测遗传毒性方法, 直观、有效地对花露水、洗洁精和牙膏3种日常生活用品对植物细胞的遗传毒性进行评价, 旨在为指导人们在生活中健康科学地使用日常生活用品提供一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料 松滋青皮蚕豆(*Vicia faba*)由苏州市种子公司提供。市售某品牌洗洁精(南京某有限公司)、某品牌花露水(上海某股份有限公司)、某品牌健齿白牙膏(广州某有限公司)等购于苏州某大型超市。

1.2 方法 参照国家环保局编《环境监测技术规范》(1986)

生物检测部分^[8]。试验设3次重复。选取大小均一、籽粒饱满的蚕豆种子用清水浸泡在烧杯中24h, 换水2~3次, 待蚕豆吸水膨大, 用洁净的白瓷盘, 铺上干净、浸湿的脱脂棉, 将吸水膨大的蚕豆种子置于脱脂棉上, 盖上浸湿的干净纱布于27℃恒温箱中催芽2~3d后, 根长至2~3cm后待用。试验设计每种诱变剂分别为原液用蒸馏水稀释10、20、40倍共4个浓度组, 分别记为I、II、III、IV。阳性对照组(CP)为浓度200mg/L硝酸铅溶液; 蒸馏水作为阴性对照组(CK)。将发好根的蚕豆置于相应浓度的诱变液中培养, 水洗恢复培养24h, 卡诺氏固定液固定24h, 60℃浓度1mol/L HCl 酸解10~15min。希夫(Schiff)试剂染色, 制片镜检。每个样品至少观察3个根尖, 每个根尖至少观察1000个细胞, 显微拍照。微核率以每1000个细胞中含微核的细胞数的微核细胞千分率来表示。微核判定标准参考张自立等^[9]标准, 镜检时将观察到细胞质中有独立于主核, 直径小于主核1/20~1/3, 完全与主核分开的圆形或椭圆形的微小核判断为微核。它可以是整条染色体, 也可以是染色体断片, 染色性与主核保持一致。该试验将未与主核完全分开但有分开趋势的微小核, 以及细胞处在分裂期时未形成微核的染色体断片也按微核计算, 具有双微核和多个微核的细胞则按单微核细胞计算(图1)。

细胞分裂指数 = 分裂细胞数 / 观察细胞总数 × 100%

微核千分率(MCN) = (具有微核的细胞数 / 所观察细胞总数) × 1000‰。

MCN < 10‰ 基本没有污染; 10‰ < MCN ≤ 18‰ 为轻度污染; 18‰ < MCN ≤ 30‰ 为中度污染; MCN > 30‰ 为重度污染。

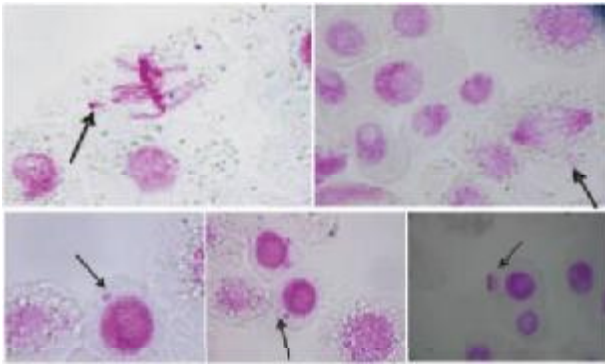
2 结果与分析

2.1 生活用品对蚕豆根尖形态的影响 诱变处理过程中, 蚕豆在不同的浓度处理液中培养时, 根尖会受到不同程度的

基金项目 苏州科技学院2007年度教学质量工程建设重点项目(2007YA-13)资助。

作者简介 邵爱华(1968-), 女, 江苏南通人, 副教授, 从事遗传学研究。

收稿日期 2008-10-29



注:箭头所指部分为细胞微核。

Note: Arrowhead stands for partial cell micronucleus.

图 1 处理组蚕豆根尖细胞微核

Fig. 1 Cell micronucleus of *Vicia fata* root tip in treatment group

损害,根尖外形会出现如发黄、发黑、变短、变粗,甚至腐烂死亡等不同现象(表 1)。

表 1 3 种生活用品对蚕豆根尖形态的影响

Table 1 Effects of three daily articles on morphology of *Vicia fata* root tip

组号 Group code	花露水 Floral water	洗洁精 Detergent	牙膏 Toothpaste
CP	根尖长度中等,微黄	根尖长度中等,微黄	根尖长度中等,微黄
I	根尖较短,褐色	根尖发黑	根尖中等,发黄
II	根尖中等,较粗发黄	根尖很短,发黑	根尖中等,发黄
III	中部发黄,根尖较长	中部或尖端发黑	无明显变化,较长
IV	微黄,根尖较长较细	根部发黑,长度中等	无明显变化,较长
CK	根部较长,粗细均匀	根部较长,粗细均匀	根部较长,粗细均匀

由表 1 可知,阴性对照组(蒸馏水)中的蚕豆根尖生长状况良好,根尖颜色为乳白色,长度明显大于其他处理组,根尖粗细均匀。阳性对照组(浓度 200 mg/L 硝酸铅溶液)与阴性对照组比较,可以看出,阳性对照组对根尖生长有一定的抑制作用,根尖长度大约是阴性对照组根尖长度的 1/2 ~ 2/3,阳性对照组中根尖长度与阴性对照组根尖长度比较具有显著差异,所以,浓度 200 mg/L 硝酸铅溶液对蚕豆根尖生长有明显抑制作用。花露水诱变组中,根尖颜色随着处理液浓度的增加而由浅入深,形成褐色,微黄到深黄的颜色梯度,根尖长度之间的区别并不明显,但均小于阴性对照组根尖长度。洗洁精处理组中根尖形态的变化非常明显,根尖发黑是其主要特征。在原液和不同浓度的稀释液中,黑根现象比较严重,个别出现死根现象,说明洗洁精对根尖的遗传毒性影响极其明显,根尖长度差异显著($P < 0.01$)。牙膏诱变组中,根尖变化并不明显,在高浓度的处理液中,根尖有发黄现象,但在低浓度处理液中,根尖几乎没有变化,但宽度全部超过阴性对照组的根尖宽度,经显著性差异检验,差异不显著($P > 0.05$)。在根尖软硬程度上,阴性对照组的根尖较软,而 4 组处理液中的根尖明显较硬。

2.2 3 种生活用品诱变蚕豆根尖微核效应

2.2.1 花露水诱变蚕豆根尖微核作用。由表 2 可知,蚕豆根尖细胞微核率随着花露水处理液浓度的增加而上升,处理液浓度与根尖细胞微核率存在正相关关系。其中,经原液处

理得到的微核率在 18‰ ~ 30‰,根据环境污染判断方法,属于中度污染;稀释 10 倍处理液和稀释 20 倍处理液得到的微核率均在 10‰ ~ 18‰,属于轻度污染;稀释 40 倍处理液得到的微核率在 10‰ 以下,说明基本没有污染。

表 2 不同浓度的花露水对蚕豆根尖细胞微核率的影响

Table 2 Effects of floral water with different concentrations on the micronucleus rate of cells of *Vicia fata* root tip

组号 Group code	观察细胞数//个 Observed cell number	平均微核率//‰ Mean micronucleus rate of cells
CP	5 213	24.17 ± 1.51***
I	5 151	19.80 ± 0.96***
II	5 118	12.51 ± 1.33***
III	5 169	10.06 ± 0.58***
IV	5 101	8.82 ± 1.55**
CK	5 188	4.05 ± 0.40

注:观察的根尖数均为 5 个; * 表示与 CK 比较在 0.05 水平有差异; ** 表示在 0.01 水平有差异; *** 表示在 0.001 水平有差异。下表同。

Note: The observed root-tips are all 5. * and ** stand for differences at 0.05 and 0.01 levels compared with CK, respectively. *** stands for differences at 0.001 level. The same as follows.

2.2.2 洗洁精诱变蚕豆根尖微核作用。由表 3 可知,洗洁精处理液浓度与细胞微核率不存在正相关关系,原液处理根尖得到的微核率低于稀释 10 倍液处理根尖得到的微核率。经原液处理和稀释 10 倍处理液得到的微核率在 10‰ ~ 18‰,根据环境污染判断方法,属于轻度污染;稀释 20 倍处理液得到的微核率和稀释 40 倍处理液得到的微核率均在 10‰ 以下,基本没有污染。

表 3 不同浓度的洗洁精对蚕豆根尖细胞微核率的影响

Table 3 Effects of detergent with different concentrations on the micronucleus rate of cells of *Vicia fata* root tip

组号 Group code	观察细胞数//个 Observed cell number	平均微核率//‰ Mean micronucleus rate of cells
CP	5 632	22.36 ± 1.98***
I	5 631	11.57 ± 2.55***
II	5 628	13.53 ± 1.90***
III	5 636	8.52 ± 1.34**
IV	5 695	5.45 ± 1.16*
CK	5 650	3.54 ± 0.88

2.2.3 牙膏诱导蚕豆根尖微核作用。由表 4 可知,蚕豆根尖细胞微核率也随着牙膏处理液浓度的增加而增加,处理液浓度与根尖细胞微核率也存在正相关关系。其中,经原液处

表 4 不同浓度的牙膏对蚕豆根尖细胞微核率的影响

Table 4 Effects of toothpaste with different concentrations on the micronucleus rate of cells of *Vicia fata* root tip

组号 Group code	观察细胞数//个 Observed cell number	平均微核率//‰ Mean micronucleus rate of cells
CP	5 061	25.49 ± 2.68***
I	5 073	17.75 ± 1.60***
II	5 050	11.88 ± 1.54***
III	5 104	6.86 ± 1.56**
IV	5 075	4.73 ± 0.82*
CK	5 076	2.95 ± 0.66

理和稀释 10 倍处理得到的微核率在 10%~18%, 根据环境污染判断方法, 属于轻度污染; 稀释 20 倍处理液得到的微核率和稀释 40 倍处理液得到的微核率均在 10% 以下, 说明基本没有污染。

3 结论与讨论

(1) 试验结果表明, 蚕豆根尖经过不同浓度的花露水、牙膏和洗洁精处理液分别处理后, 根尖细胞形态受到不同程度的损伤, 具体表现有根尖长度明显变短, 根尖颜色发黄、变黑等。同时, 3 类不同生活用品处理蚕豆根尖结果显示, 在一定浓度范围内, 根尖细胞微核率与阴性对照组对比明显增加, 存在较好的剂量-效应关系。日常生活用品中的花露水、洗洁精和牙膏不同诱变浓度对诱变效果均有显著影响, 研究结论与其他研究报道^[10-11]相符。由此可见, 日用品对植物细胞普遍存在遗传毒性。其中, 花露水和牙膏极少被作为微核检测的对象, 国内对其相关的报道并不多见。选择花露水和牙膏作为试验对象, 能更好地了解生活中各种日用品对植物遗传毒性的影响, 补充和完善生活用品的遗传毒性研究体系。试验结果提示, 与洗洁精相比, 花露水和牙膏的潜在危害更严重。在日常生活中人们使用花露水和牙膏等需要考虑其潜在的遗传毒性。

(2) 笔者是按照单因素影响进行试验设计分析的, 生活中的实际环境并不是单因素的, 而是多因素、多条件共同作用的结果。多诱导因素同时作用于植物细胞, 可能会产生协同作用或拮抗作用。如关于微波辐射和三氧化铬对蚕豆根尖细胞联合作用的报道^[12-13]。但多种生活用品同时作用引起的遗传毒性是协同作用还是拮抗作用, 还需要进一步研究。

(3) 蚕豆根尖细胞微核技术在实际应用中有诸多优点, 但在试验过程中, 发现蚕豆根尖细胞微核技术也存在一定的局限性。首先, 微核的判定、计数在不同的实验室与观察者之间有一定的差异, 数据难以进行比较, 这就要求有标准的计数程序。同时, 微核的人工计数是一项耗时费力的工作, 因此发展相对快速和不太昂贵的图像自动计数分析系统是今后发展的一个努力方向。其次, 它无法根据结果直接指示受试样品中致突变物的类型和诱变机制。另外, 在利用该方法进行检测时, 必须满足被检测对象不会严重地阻碍细胞分裂, 否则过低的细胞分裂水平会导致漏检或不能确保被检测对象在合理的剂量效应范围内。染色过程中, 染色剂的使用对试验结果也有不同的影响。希夫试剂是微核试验中的常用染色剂, 有染色快、区分度好、特异性强、不易褪色等优点, 但解离时间过长, 根尖分生组织游离将导致染色失败无法镜

检。在镜检过程中, 发现某些细胞具有双核和多核现象, 而且根越长, 这种现象出现的频率越高。说明细胞微核是可累积的。陶少武认为, 根尖长度对蚕豆微核试验存在正相关关系, 因此在应用微核技术时, 应严格筛选材料, 尽可能保持初生根长度的一致^[14]。这可以同时说明, 诱导时间的长短也会影响遗传毒性的结果。该试验没有采用时间变量讨论某一种生活用品的遗传毒性。毛学文等在研究洗涤剂对蚕豆根尖微核诱导时设计了 24 h 和 48 h 的对照组试验, 发现诱变时间与微核率呈负相关^[15]。所以植物长期处在诱变环境中, 所受到的遗传毒性会随着时间累积, 这种可能会造成其他植物的形态和生理影响, 如人类培育的经济作物的遗传结构改变, 降低了品种特性, 人畜食用这些作物的种子、果实等后, 会损害人畜的遗传素质^[16-18]。

参考文献

- [1] 陈宏伟. 微核及微核实验的应用和发展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2004, 25 (10): 1160-1163.
- [2] 杜峰涛, 李林. 细胞微核形成机理探讨[J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22 (4): 19-22.
- [3] 高雪, 胡婧, 金毅. EDTA 对蚕豆根尖细胞微核的诱变作用[J]. 氨基酸和生物资源, 2004, 26 (1): 35-37.
- [4] 徐鑫成. 污水诱导大蒜细胞微核及异常有丝分裂的研究[J]. 植物研究, 2006, 26 (3): 361-363.
- [5] 林加涵, 魏文铃, 彭宽突, 等. 现代生物学实验(上册)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 19-25.
- [6] 徐海霞, 张霞, 孔庆军. 对植物微核实验的改进[J]. 石河子大学生物科学学院生物学通报, 2005, 40 (6): 48-49.
- [7] 龚慧明. 诱变物质微核测试实验的改进[J]. 生物学教学, 2006, 31 (12): 49-61.
- [8] 国家环保总局. 环境监测技术规范[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1991.
- [9] 张自立, 俞新大. 植物细胞和体细胞遗传学技术与原理[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990: 1-22.
- [10] 叶亚新. 3 种家用化学品的微核效应研究[J]. 农业环境保护, 2000, 19 (5): 315-316.
- [11] 唐正义, 胡蓉, 卿东红, 等. 3 种农药诱发蚕豆根尖细胞微核影响的研究[J]. 西南交通大学学报, 2006, 41 (6): 788-792.
- [12] QIAN X W. Mutagenic effects of chromium trioxide on root tip cells of *Vicia faba* [J]. J Zhejiang Univ SCI, 2004, 51 (2): 1570-1576.
- [13] QIAN X W, LUO W H, ZHENG O X. Joint effects of microwave and chromium trioxide on root tip cells of *Vicia faba* [J]. J Zhejiang Univ SCI, 2006, 7 (3): 221-227.
- [14] 陶少武. 初生根长度对蚕豆根尖细胞微核率影响的研究[J]. 广西植物, 2005, 25 (5): 447-448.
- [15] 毛学文, 王弋博, 陈荃. 洗涤剂对蚕豆根和叶片的作用[J]. 广西植物, 2003, 23 (2): 603-605.
- [16] 李宗芸, 王秀琴, 屈艾, 等. 家用洗洁精对蚕豆根尖的毒性效应[J]. 徐州师范大学学报: 自然科学版, 1997, 15 (4): 58-60.
- [17] 曹德菊, 黄祥明, 张浩. 汞对蚕豆根尖细胞的诱变效应[J]. 安徽农业科学, 2003, 31 (3): 383-397.
- [18] 陈瑞娇, 李均祥. 蚕豆根尖微核实验在环境致突变物检测中的应用[J]. 韶关学院学报: 自然科学版, 2006, 27 (9): 87-91.