

云南红豆杉内生菌的分离及拮抗植物病害菌的筛选

郑法新¹, 程璐¹, 李侠¹, 房保海² (1. 日照职业技术学院, 山东日照 276826; 2. 山东出入境检验检疫局, 山东青岛 266200)

摘要 [目的]为从与红豆杉共生的内生菌或其代谢物中寻找其他新型防治植物病虫害药物提供基础依据。[方法]以云南红豆杉为试验材料, 从其根、茎、叶中分离内生菌; 以棉花枯萎病、小麦赤霉病、番茄叶霉病等 11 种病原真菌作为供试菌株, 研究红豆杉内生菌的抗菌活性, 从中筛选出有较高抗菌活性的内生菌。[结果]从云南红豆杉根、茎、叶中分离出内生菌 152 株, 其中细菌 80 株, 真菌 48 株, 放线菌 24 株; 从中筛选出了有较高抗菌活性的 11 株内生细菌、5 株内生放线菌和 3 株内生真菌, 分别占分离得到的内生细菌、内生放线菌和内生真菌总数的 13.75%、37.50% 和 20.83%。[结论]云南红豆杉组织内存在丰富的内生菌, 不同组织内生菌的数量、种类有一定差异, 在具有抑菌活性的菌物中, 放线菌占的比例最高。

关键词 云南红豆杉; 内生菌; 分离; 拮抗; 植物病害菌; 筛选

中图分类号 S791.49 **文献标识码** A **文章编号** 0517 - 6611(2009)24 - 11601 - 04

Isolation of Endogenous Bacteria from *Taxus yunnanensis* and Selection of Antagonism Plant Disease Bacteria

ZHENG Fa-xin et al (Rizhao Vocational & Technical College, Rizhao, Shandong 276826)

Abstract [Objective] The foundation of new type of agro-chemicals controlling plant disease and pest from the symbiotic endogenous bacteria with *Taxus yunnanensis* or their metabolites was provided. [Method] The *Taxus yunnanensis* being taken as experimental material, the endogenous bacteria was isolated from the root, stem and leaf. 11 species of fungus pathogen strains such as wilt in cotton, wheat scab, tomato leaf mold, etc. were inoculated with endogenous bacteria to study its antimicrobial activity and the endophytic bacteria with high antibacterial activity was selected. [Results] 152 endophytic fungi were isolated from *Taxus yunnanensis* root, stem and leaf, respectively, of which, 80 species belonged to bacteria; 48, fungus and 24, actinomycetes. And 11 endogenous bacterium, five endogenous actinomycetes and three endogenous fungi with higher antibacterial activity were filtered out, accounting for 13.75%, 37.50% and 20.83% of total endogenous bacteria, actinomycetes and fungi, respectively. [Conclusion] The rich endogenous bacterium were existed in *Taxus yunnanensis* organization, there was the difference in the number and species of endogenous bacteria among the different organizations. The proportion of actinomycetes with antibacterial activity accounted for the highest compared with two others.

Key words *Taxus yunnanensis*; Endophyte; Isolation; Antagonist; Plant disease bacteria; Screening

内生菌(Plant endophyte)是指那些在其生活史的一定阶段或全部阶段生活于健康植物的各种组织和器官内部的微生物, 被感染的宿主植物不表现出外在病症, 可通过组织学方法或从严格表面消毒的植物组织中分离出来。它不仅包括互惠共利的和中性的内共生微生物, 也包括那些潜伏在宿主体内的病原微生物, 这些微生物有细菌、真菌、放线菌等。自 1898 年 Vogl 从黑麦草种子内分离出第一株内生真菌以来^[1], 植物内生菌作为一种新的微生物资源受到了广泛的关注, 从内生菌中寻找和发现新的活性化合物已成为国内外研究的又一热点。近年来, 该领域的研究已取得一定进展, 发现了一些有医用、农用价值的菌株和化合物。研究显示, 目前从植物内生菌中分离出的生物活性物质, 约 51% 属于未报道过的新化合物^[2]。因此, 植物内生菌相关领域的研究工作愈来愈受到国内外同行的关注。近年关于传统药用植物以及特殊生境中植物的内生菌研究是一个新兴的研究热点^[3]。云南红豆杉(*Taxus yunnanensis* Cheng et L. K. Fu)是能产生著名抗癌药物紫杉醇的药用植物, 属红豆杉科乔木, 高可达 30 m, 胸径可达 1 m, 产于云南西部至西北部、四川西南部和西藏东部, 生于海拔 2 000 ~ 3 500 m 高山地带, 国外缅甸、锡金、不丹也有分布^[4-5]。为从与红豆杉共生的内生菌或其代谢物中寻找其他新型防治植物病虫害药物, 笔者从红豆杉中分离细菌及真菌, 以棉花枯萎、番茄叶霉等植物病害微生物为筛选模型来筛选红豆杉内生菌产生的抗病活性物质。

基金项目 山东省青年科学家科研奖励基金(2007BS02010)。

作者简介 郑法新(1975 -), 男, 山东即墨人, 博士, 讲师, 从事微生物技术研究。

收稿日期 2009-04-20

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料。于 2008 年 9 月选择云南省维西县塔城乡天然长成的成熟健康云南红豆杉植株, 采集没有腐烂发霉及病斑、病虫害的健康新鲜植物组织备用。

1.1.2 病原菌。棉花枯萎病菌(*Fusarium oxysporium* sp. Vas-infectum), 西瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporium* f. *niveum* Snyder et Heansen), 苹果树腐烂病菌(*Valsa mali* Miyabe et Yamada), 玉米弯孢病菌(*Curvularia lunata*), 苹果炭疽病菌(*Glomerella cingulata*), 小麦纹枯病菌(*Rhizoctonia cerealis*), 番茄早疫病菌(*Alternaria solani*), 小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum* Schw), 葡萄炭疽病菌(*Glomerella cingulata* Spauld), 马铃薯干腐病菌(*Pythium solani*), 番茄叶霉病菌(*Fulria fulva*), 以上菌株由山东出入境检验检疫局房保海工程师馈赠。

1.1.3 培养基。分离细菌所用培养基为牛肉膏蛋白胨培养基: 琼脂 20 g, 牛肉膏 3 g, 蛋白胨 10 g, NaCl 5 g, 水 1 000 ml, pH 值 7.0 ~ 7.2。

分离真菌以及靶标菌的培养基为马铃薯葡萄糖培养基: 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 ml。

分离放线菌培养基为高氏 I 号培养基: 可溶性淀粉 20 g, KNO₃ 1 g, NaCl 0.5 g, MgSO₄ 0.5 g, FeSO₄ 0.01 g, K₂HPO₄ 0.5 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 ml, pH 值 7.2 ~ 7.4。培养基在高压灭菌后备用, 纯化培养基与分离培养基组成成分相同。

1.2 方法

1.2.1 内生真菌的分离。先用自来水将所采集的红豆杉植物组织表面冲洗干净, 晾干水分后分别切取根、茎和叶, 采用

下述方法进行表面消毒^[6]: 浓度 0.1% 升汞漂洗 (10 ~ 30 s) → 无菌水冲洗数次 → 浓度 75% 酒精漂洗 (30 ~ 60 s) → 无菌水冲洗数次。在无菌操作条件下取根、茎和叶, 切成 0.2 cm × 0.2 cm 长段 (片), 接种于加青霉素的 PDA 培养基中, 在 (28 ± 1) °C 条件下置于温箱静置培养 3 ~ 7 d。同时将上述经表面灭菌的材料不经任何处理直接接种于加青霉素的 PDA 培养基中, 在 (28 ± 1) °C 条件下置于温箱培养, 检查表面消毒是否彻底。

1.2.2 内生放线菌和细菌的分离。将无菌处理的红豆杉根、茎、叶样品各 3 g, 每样品加 10 ml 无菌水碾碎静置 15 min 后, 用无菌移液枪各取 70 μl 涂在牛肉膏蛋白胨培养基、高氏 I 号培养基平板上, 28 °C 黑暗培养, 分离细菌培养 3 ~ 5 d, 分离放线菌培养 5 ~ 8 d。

1.2.3 内生菌的纯化。对内生真菌, 取切口处新长出的菌丝, 及时转接至新鲜 PDA 培养基上, 对内生细菌和内生放线菌, 待菌落出现后, 根据菌落形态、颜色的差异以及长出时间的不同, 分别挑取各平板上菌落边缘的细胞接于新的牛肉膏蛋白胨培养基和高氏 I 号培养基上进行划线分离培养。培养数日后, 观察菌落的形态及其菌落边缘的整齐情况, 并作相应的记录。

对菌株编号后, 转至新鲜箱斜面培养基上, 于 28 °C 培养箱中培养 5 ~ 7 d, 然后放入 4 °C 冰箱保存^[7]。

1.2.4 拮抗菌活性的测定。拮抗菌活性测定采用对峙培养法。在超净工作台上进行无菌操作: 将直径 6 mm 的供试病原真菌的菌块接种于 PDA 培养基的培养皿中央, 再用直径 6 mm 的打孔器在生长 7 d 左右的内生真菌菌落边缘制备菌饼, 并接种于 PDA 平板上距中心 2 cm 处同一直线的 2 点上, 对照不接筛选菌, 28 °C 下培养 72 h, 测量各筛选菌菌落边缘和病原菌菌落边缘之间的抑菌距离, 选择拮抗作用明显的菌进行复筛或鉴定^[8-10]。试验重复 2 次, 每次设 3 个重复。

细菌和放线菌的抗病原真菌活性筛选采用混浊平板法。用 PDA 液体培养基 28 °C 下振荡培养 12 h, 发酵液 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 重复 3 次。将 1.5 ml 滤液和 15 ml PDA 培养基于 60 °C 左右混合均匀倒入培养皿, 冷却凝固后, 在每个培养皿中接入直径为 6 mm 的供试病原真菌菌块, 28 °C 下培养 4 d。以直接培养的病原菌作为对照^[11-12], 发酵液活性高的菌株将会抑制病原菌的生长。

2 结果与分析

2.1 红豆杉不同组织部位内生菌数量 试验结果表明, 红豆杉不同组织部位的内生菌种类和数量存有较大的差异, 总体来说, 内生菌数量在红豆杉根中的分布最多, 叶子中的内生菌数量最少; 同时, 无论是在根还是在茎和叶中大致的规律是内生细菌数量最多, 其次是真菌, 放线菌数量最少, 即细菌、真菌和放线菌依次呈递减的趋势 (表 1)。

2.2 内生真菌对病原真菌的拮抗作用 从红豆杉的各种组织中分离得到内生真菌 48 个菌株, 通过对峙生长法测定了内生真菌各菌株对其中 11 种病原真菌的皿内拮抗作用, 结果表明, 其中 5 株内生真菌对 7 种病原真菌有较强的拮抗作用 (表 2)。

由表 2 可知, 分离得到的内生真菌都有不同程度的抑菌

作用, 其中根和茎中分离的 TFR3、TFR5、TFR14、TFS1、TFS14 的抑菌作用最强, 最为显著的是 TFR5 对苹果炭疽病菌的拮抗作用。

表 1 红豆杉植物内生菌的组成

Table 1 The constitution of endophytes in *Taxus yunnanensis* 株

内生菌类别 Endophyte category	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf
细菌 Bacterium	39	28	13
真菌 Fungus	22	21	5
放线菌 Actinomycete	17	7	0
总计 Total	78	56	18

表 2 红豆杉部分内生真菌对常见植物病原菌的拮抗作用

Table 2 The antagonism of some fungus in *Taxus yunnanensis* to common plant pathogens

病原菌 - 内生菌 Pathogen-Endophyte	处理菌落半径 // mm Radius of the treated colony	对照菌落半径 // mm Radius of the CK colony	抑菌效果 // % Antibacterial effect
西瓜枯萎病菌-TFR3 <i>F. oxysporium</i> Sch	11.5	20	42.5
西瓜枯萎病菌-TFR3 <i>F. oxysporium</i> Sch	7.0	41	82.9
苹果炭疽病菌-TFR5 <i>G. cingulata</i>	6.5	49	86.7
苹果树腐烂病菌-TFR12 <i>Valsa mali</i> Miyabe et Yamada	13.0	47	72.3
小麦纹枯病菌-TFR14 <i>R. cerealis</i>	11.5	44	73.8
西瓜枯萎病菌-TFR14 <i>F. oxysporium</i>	11.0	19	42.1
马铃薯干腐病菌-TFR18 <i>Pythium solani</i>	17.0	37	54.0
番茄早疫病病菌-TFS7 <i>A. solani</i>	7.0	37	81.0
番茄早疫病病菌-TFS9 <i>A. solani</i>	14.0	20	30.0
小麦赤霉病菌-TFS14 <i>F. graminearum</i>	15.0	16	6.2
棉花枯萎病菌-TFS14 <i>F. oxysporium</i>	11.0	42	75.6
小麦赤霉病菌-TFS14 <i>F. graminearum</i>	9.0	39	76.9
玉米弯孢病菌-TFS16 <i>C. lunata</i>	12.0	39	69.2
葡萄炭疽病菌-TFS21 <i>G. cingulata</i>	17.0	44	61.3

2.3 内生细菌、放线菌对病原真菌的拮抗作用 经过混浊平板法培养 4 d, 观察并记录结果, 发现 4 株放线菌、8 株细菌的发酵液都有很高的抑菌活性 (表 3 ~ 4)。

有抑菌作用的细菌占分离得到的内生细菌总数的 13.75%, 有抑菌作用的真菌占分离得到的内生真菌总数的 20.83%, 有抑菌作用的放线菌占分离得到的内生放线菌总数的 37.5%。其中 TAR1 对小麦纹枯病菌、苹果树腐烂病菌、马铃薯干腐病菌, TAR11 对小麦纹枯病菌、番茄叶霉病菌、苹果树腐烂病菌, TAR13 对小麦纹枯病菌、苹果树腐烂病菌, TAS1 对马铃薯干腐病菌、葡萄炭疽病菌、番茄早疫病病菌, TAS2 对番茄叶霉病菌、西瓜枯萎病菌、苹果树腐烂病菌、葡萄炭疽病菌、番茄早疫病病菌, TAS5 对番茄早疫病病菌, TAS6 对西瓜枯萎病菌、小麦赤霉病菌, TBR1 对玉米弯孢病菌、马铃

薯干腐病菌, TBR5 对小麦纹枯病菌、番茄叶霉病菌、苹果树腐烂病菌, TBR13 对番茄叶霉病菌、苹果树腐烂病菌, 玉米弯孢病菌、马铃薯干腐病菌、番茄早疫病菌, TBR14 对番茄叶霉病菌、西瓜枯萎病菌、苹果树腐烂病菌, TBR17 对小麦纹枯病菌、番茄叶霉病菌、苹果树腐烂病菌, TBR21 对西瓜枯萎病

菌、小麦赤霉病菌, TBR25 对西瓜枯萎病菌, TBR27 对玉米弯孢病菌、马铃薯干腐病菌、葡萄炭疽病菌、番茄早疫病菌, TBR36 对番茄叶霉病菌, TBS3 对西瓜枯萎病菌、小麦赤霉病菌都有很强的抑制作用, 基本限制了病原体菌丝的生长与繁殖。

表 3 部分内生放线菌和细菌对 6 种病原菌的抑菌活性

Table 3 The antibacterial activities of actinomycete and bacterium to six kinds of pathogens

菌株	小麦纹枯病菌	番茄叶霉病菌	西瓜枯萎病菌	小麦赤霉病菌	苹果炭疽病菌	苹果树腐烂病菌
Strains	<i>R. cerealis</i>	<i>F. fulva</i>	<i>F. oxysporium</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>G. cingulata</i>	<i>V. mali</i>
TAR1	+++	++	+	+	++	+++
TAR7	-	+	-	-	+	+
TAR9	++	+	-	-	-	+
TAR11	+++	+++	+	++	+	+++
TAR13	+++	++	+	+	++	+++
TAS2	-	+++	+++	++	++	+++
TAS4	-	+	-	-	+	+
TAS6	+	+	+++	+++	+	+
TBR1	-	+	-	-	+	+
TBR5	+++	+++	+	++	+	+++
TBR13	-	+++	+	++	+	+++
TBR14	-	+++	+++	++	++	+++
TBR17	+++	+++	+	++	+	+++
TBR18	++	-	+	++	+	-
TBR21	+	+	+++	+++	+	+
TBR25	+	-	+++	+	+	-
TBR36	-	+++	+	++	+	+++
TBS3	+	+	+++	+++	-	+
TBS9	-	++	+	+	+	++
TBL1	++	-	+	++	+	-
TBL3	-	-	++	+	+	-

注: +++ 表示抑菌作用强; ++ 表示抑菌作用较强; + 表示有微弱的作用; - 表示完全无抑菌作用。下同。

Note: + + +. Antibacterial activity is strongest; + +. Antibacterial activity is stronger; +. Antibacterial activity is weaker; -. No antibacterial activity. The same as follows.

表 4 部分内生放线菌和细菌对 5 种病原菌的抑菌活性

Table 4 The antibacterial activities of actinomycete and bacterium to five kinds of pathogens

菌株	玉米弯孢病菌	马铃薯干腐病菌	棉花枯萎病菌	葡萄炭疽病菌	番茄早疫病菌
Strains	<i>C. lunata</i>	<i>P. solani</i>	<i>F. oxysporium</i>	<i>G. cingulata</i>	<i>A. solani</i>
TAR1	+	+++	+	++	+
TAR3	-	-	-	-	-
TAR5	-	+	-	-	+
TAR6	-	+	-	+	+
TAR9	+	++	+	+	++
TAS1	+	+++	+	+++	+++
TAS2	++	++	++	+++	+++
TAS3	-	++	-	-	+
TAS5	++	++	++	++	+++
TAS7	++	++	++	++	++
TBR1	+++	+++	++	++	++
TBR3	-	++	-	-	-
TBR5	-	-	-	+	-
TBR9	-	-	-	-	+
TBR13	+++	+++	++	+++	+++
TBR16	+	+	-	+	+
TBR18	-	+	-	++	+
TBR20	++	+	+	++	++
TBR22	+	+	-	+	+
TBR25	+	++	+	+	++
TBR27	+++	+++	+	+++	+++
TBR35	+	++	+	+	++
TBR36	+	++	+	+	++
TBR38	+	+	-	+	+

3 讨论

(1) 内生菌系统地分布于植物体根、茎、叶、花、果实和种子等器官、组织的细胞或细胞间隙。近年来, 已从宿主植物的根、茎、叶及储藏器官内分离到大量内生细菌。该试验从云南红豆杉植株根、茎中分离出细菌和真菌数量较多, 从叶中分离出少量内生真菌, 与文献报道的叶片内生真菌分布比

较少的结论类似; 从根中分离出较多量内生真菌的结果与文献报道的不同。

(2) 目前植物内生菌分离方法大多数采用常规表面消毒法, 该试验对该方法进行了改进, 先用消毒效果更好的浓度 0.1% 升汞漂洗 10~30 s 进行消毒。为确保所分离到的微生物为植物体内生菌, 采用的表面消毒比一般组织培养消毒更

为严格,并对所消毒材料冲洗后的第4次无菌水进行涂板培养,如在2~3d内没有菌落产生,则认为该材料消毒彻底,证明所分离到的为内生菌。但用该消毒方法也易于杀死植物体内微生物,因而所分离到的内生菌种类与数量可能比植物体内所含的要少些。在进行内生菌分离的过程中,掌握适宜的材料消毒时间对最终分离到的内生菌的数量和种类都具有极其重要的作用。再次,在内生菌的分离过程中,所用培养基均为常规分离用的培养基,因而不能保证所有生活在红豆杉组织内的微生物能够全被分离出来,可能有的稀有微生物不能在人工培养基上生长^[13-15]。

(3)所选用的材料为天然生长70年左右的红豆杉树,所以不能确定生长期更长的红豆杉材料中内生菌数量和种类是否更多,产出的活性物质是否更强,这有待进一步的探索和研究。试验选用的测试菌种也是从天然产物研究与利用实验室随机选取的,不能测出内生菌对所有病原菌的抑制作用,只是进行了初筛,为进一步复筛奠定了基础。

(4)该研究显示,云南红豆杉组织内存在丰富的内生菌,不同组织内生菌的数量、种类有一定差异,在具有抑菌活性的菌物中,放线菌占的比例最高。另外,由以上试验得知,细菌也能产生丰富的次级代谢产物,因此可作为对多种病原菌具有抑菌活性物质筛选的资源。

参考文献

- [1] VOGL A E. Mehl und die anderen mehlprodukte der cerealien und leguminosen[J]. Nahrungsm Unters Hyg Warenk, 1898, 12: 25-29.
- [2] STROBEL G A. Endophytes as sources of bioactive products[J]. Microbes and Infection, 2003, 5: 535-544.
- [3] FRÖHLICH J, HYDE K D. Palm microfungi, fungal diversity research se-

- ries: 3[M]. Hong Kong: Fungal Diversity Press, 2000.
- [4] WANI M C, TAYLOR H I, WALL M E, et al. Plant antitumor agents IV The isolation and structure of taxol, a novel anti-leukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*[J]. J Am Chem Soc, 1971, 93(9): 23-25.
- [5] SCHIFF P B, FANT J, HORWITZ S B. Promotion of microtubule assembly *in vitro* by taxol[J]. Nature, 1979, 277(5698): 665-667.
- [6] 邵士成, 吴少华, 陈有为, 等. 云南元江印楝植物内生真菌的种类组成[J]. 生物多样性, 2008, 16(1): 63-67.
- [7] 郭建新, 孙广宇, 张荣, 等. 银杏内生真菌抗真菌活性菌株的分离和筛选[J]. 西北农业学报, 2005, 14(40): 14-17.
- [8] 田小曼, 吴云锋, 张珏. 青蒿内生菌的分离及抗病活性物质的筛选[J]. 西北农业学报, 2008, 17(4): 186-190.
- [9] 王美琴, 陈俊美, 薛丽, 等. 番茄内生细菌的分离及拮抗菌的筛选[J]. 山西农业科学, 2007, 35(2): 55-58.
- [10] 袁秀英, 白红霞, 白玉明, 等. 杨树内生真菌的分离和拮抗生防菌的筛选[J]. 林业科学研究, 2006, 19(6): 713-717.
- [11] 李萌, 张海涛, 虞星炬, 等. 蔬菜内生菌的分离及其生防功能初探[J]. 江苏农业科学, 2003(5): 60-65.
- [12] 陈凤美, 孙勇, 蒋继宏, 等. 植物内生真菌抑制细菌活性菌株的筛选[J]. 腐植酸, 2003(6): 15-18.
- [13] 陈晓梅, 郭顺星, 王春兰. 四种内生真菌对金钱莲无茵苗生长及多糖含量的影响[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(1): 13-16.
- [14] 孙力军, 陆兆新, 别小妹, 等. 1株抗菌植物内生菌 EJH22 菌株的分离和鉴定[J]. 中国微生态学杂志, 2006, 18(1): 23-26.
- [15] 戴传超, 余伯阳, 徐增荣, 等. 大戟科4种植物内生真菌分离与抑菌研究[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2006, 30(1): 79-83.
- [16] 郑法新, 程璐, 李侠, 等. 红豆杉内生菌的分离及抗植物病害活性物质的初步筛选[J]. 现代农业科技, 2009(5): 108-109.
- [17] HU X Q, ZHANG H B, SU X F. Screening of soil antagonistic bacteria for watermelon fusarium wilt[J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(6): 132-135.
- [18] 李庚花, 杨民和, 蒋军喜, 等. 茄科植物内生细菌的分离及拮抗菌的筛选[J]. 江西植保, 2005, 28(1): 10-11.
- [19] LIU J F, HAN H B, ZHANG J F, et al. Isolation of endophyte and screening for antagonistic bacteria in solanaceae[J]. Agricultural Science & Technology, 2009, 10(1): 35-38.

(上接第11596页)

发染色体的断裂。当断裂不发生重接或重接不在原处,即可出现染色体结构异常。断裂不发生重接可以产生无着丝粒断片。无着丝粒断片在细胞分裂期无纺锤体的牵引,不能被包被在子核中而形成微核。当染色体和纺锤体功能受损导致染色体分离异常,造成非整倍体子代细胞。这种因素统称为非整倍体剂。非整倍体剂在细胞分裂时可以诱发不分离现象或形成滞后染色体,滞后染色体最终形成微核。断裂作用和非整倍体化作用是微核产生的最主要原因。一般认为,所有诱变微核的因素都兼有2种作用^[5]。

该试验以洗发水为诱变剂,当试验浓度范围在0.10%~2.00%内,蚕豆根尖微核率与洗发液浓度呈正相关。随着洗发水处理浓度的增加,其对蚕豆根尖细胞的诱变效力也相应地增强,从而使微核形成率加大。当浓度在0.00%~0.50%范围内,随处理浓度的增加,蚕豆根尖细胞微核率升高且增幅较大,当浓度继续增加,蚕豆根尖微核率仍继续增高,但增幅较小且缓慢。其原因可能为低浓度时,洗发水对根尖细胞的诱变作用占主导,但达到某一浓度限度时,毒性加强,细胞生长受到抑制,延迟细胞分裂周期,减少微核形成的机率,导致突变作用无法表达或表达不全,表现出根尖细胞微核率的增加缓慢;或是在中间代谢过程中生物转化的酶系统受到抑

制所致^[6]。

3种被测洗发水均能诱发蚕豆根尖细胞产生较高的微核率与染色体畸变率,除康王诱变的染色体畸变率表现出随浓度升高而先升高后降低的趋势外,其余各试验组微核率和染色体畸变率均表现出随洗发水浓度升高而升高的剂量-效应关系。说明洗发水对蚕豆根尖细胞具有遗传毒性效应。康王诱变效应相对最强,力士次之,飘柔最弱。可能是由于其为去屑型功效洗发水的原因,其中添加的去屑成分加大了蚕豆根尖细胞的遗传损伤。具体机制尚待继续研究。洗发液作为一种有机污染物,对人体有潜在危险性,应引起高度关注。

参考文献

- [1] 臧宇. 蚕豆根尖微核试验的应用与发展[J]. 癌变·畸变·突变, 1999, 11(3): 158-160.
- [2] 钟晓芝, 钱晓薇. 明矾对蚕豆根尖和大蒜毒性效应的细胞遗传学比较研究[J]. 江西科学, 2003, 21(2): 101-105.
- [3] 张江丽, 陈海峰, 管立峰, 等. 硫酸镁对蚕豆根尖细胞遗传毒性的研究[J]. 环境与健康杂志, 2008, 25(5): 420-422.
- [4] 王新生, 张鸿生. 紫露草微核技术检测化妆品的致突变性[J]. 环境与健康杂志, 1992, 9(1): 15-16.
- [5] 钱晓薇. 硫酸铜对蚕豆根尖细胞有丝分裂的影响[J]. 细胞生物学杂志, 2004, 26(1): 171-176.
- [6] 林小鸣. 蚕豆根尖微核技术在污染源检测中的应用[J]. 福建师范大学学报, 1999, 15(2): 68.