

雷 忻, 卢利梅, 王文强, 等. 双酚 A 胁迫对蚕豆根尖细胞微核的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(8): 375–376.

双酚 A 胁迫对蚕豆根尖细胞微核的影响

雷 忻, 卢利梅, 王文强, 延志莲, 董腊梅

(延安大学生命科学学院, 陕西延安 716000)

摘要:采用蚕豆根尖微核检测法, 研究 5 种不同浓度 (60、80、100、120、140 mg/L) 双酚 A (bisphenol A, BPA) 对蚕豆根尖细胞微核的诱导作用。结果显示, BPA 处理蚕豆根尖细胞出现明显的微核现象; 在较低浓度处理组 (60、80、100 mg/L), 根尖细胞微核率随 BPA 处理浓度的增大而逐渐升高, 在 100 mg/L BPA 处理时达到最高; 而在较高浓度处理组 (120、140 mg/L), 微核率则逐渐下降。说明 BPA 对蚕豆根尖细胞具有显著的遗传毒性, 在一定浓度范围内, 毒性随 BPA 浓度的增大呈先增强后减弱的变化规律。

关键词:双酚 A; 蚕豆; 根尖细胞; 微核

中图分类号: X52 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2013)08–0375–02

双酚 A (bisphenol A, BPA) 作为重要的化工原料, 广泛用于生产增塑剂、抗氧化剂、农药、染料、涂料等精细化工产品, 具有易富集和难降解等特点, 毒性可以通过食物链传递和放大, 对动植物体和人类的健康产生影响, 是目前环境中最常见的酚类环境内分泌干扰物^[1–2]。

蚕豆 (*Vicia faba*) 隶属豆目 (Fabales) 豆科 (Leguminosae) 野豌豆属 (*Vicia*)^[3], 系一年生或二年生草本植物, 根系较发达, 具有较强的耐寒性, 对土壤的适应性较广, 是一种较理想的试验材料。蚕豆根尖细胞的染色体体积大而数目少, 对诱变因子极为敏感, 是一种良好的环境监测物^[4]。钱晓薇曾报道了乙酸铜、重铬酸钾对蚕豆根尖细胞致畸效应^[5–6]。对于 BPA 毒性作用的研究多见于水生动物^[7–9], 迄今尚未见其对蚕豆根尖微核影响的报道。本研究以蚕豆根尖为材料, 检测 BPA 对细胞微核率的诱导规律, 了解其致突变作用, 为环境保护和 BPA 监测工作提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料与试剂

蚕豆, 购于西安市北郊胡家庙菜市场; 双酚 A (bisphenol A, BPA), 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 蚕豆浸种、催芽 选择生长饱满的蚕豆, 放入盛有温水的大烧杯内, 浸种 24 h, 其间换水 1~2 次。待种子吸涨后将其放入铺有薄层湿润脱脂棉的平皿内, 于 25℃ 水浴锅内催芽 36~48 h, 其间换水 2~3 次, 待蚕豆种子初生根长至 1~

1.5 cm, 挑选根尖一致的种子, 置于培养皿中染毒。

1.2.2 毒性试验 根据预备试验所确定的出现微核最小的 BPA 处理浓度和最大出现浓度, 确定对蚕豆根尖进行 BPA 的敏感浓度范围, 将 BPA 设置 5 个浓度处理组 (60、80、100、120、140 mg/L) 进行毒性试验, 同时设置空白对照组。每个处理组设置 2 个平行组, 每组放置 15 粒初生根生长良好、根长基本一致的蚕豆种子, 染毒 4~6 h^[10]。之后弃去 BPA, 用蒸馏水冲洗种子 3 次, 再放入蒸馏水内修复培养 22 h。

1.2.3 根尖制片与观察计数 切取修复后的蚕豆种子根尖 1 cm, 用卡诺氏固定液 (无水乙醇: 冰乙酸 = 3: 1) 固定 6~12 h, 加入 1 mol/L 的盐酸, 60℃ 的恒温水浴, 使根尖水解 8~10 min。切取 1 mm 左右的根尖置于载玻片上, 采用改良品红染色 1 h, 中性树胶封片。显微镜 (OLYMPUS BX51TRF) 下观察并拍照。每张切片随机观察根尖细胞数大于 1 000 个, 统计出现微核的细胞数目。计算方法^[11]如下:

微核细胞率 = 具有微核的细胞总数 / 观察细胞总数 × 100%。

1.2.4 数据处理 所有数据均采用 SPSS 18.0 统计软件进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 用 LSD 法进行多重比较, 结果表示为平均值 ± 标准差。显著性差异以 $P < 0.05$ 表示差异显著; $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 蚕豆根尖的染毒症状

BPA 浓度为 60~100 mg/L 时, 蚕豆根颜色无明显变化, 为白色或乳白色; 当 BPA 浓度大于 100 mg/L 时, 根的颜色逐渐变深, 由白色变为浅黄色、黄色、褐色, 严重者甚至变为黑色。

2.2 BPA 诱导蚕豆根尖细胞微核的显微观察

由图 1 可见, BPA 处理后, 蚕豆根尖细胞的主核旁边出现微核, 为主核的 1/10~1/5 大小, 着色与主核相近或稍浅, 其形态为圆形或椭圆形。

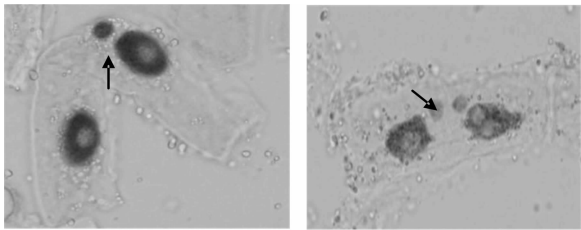
2.3 BPA 对根尖细胞微核的诱导

由表 1 可见, 与对照组相比, 5 个 BPA 浓度处理组的蚕豆根尖细胞微核率均有极显著的升高, 各处理组之间的微核率

收稿日期: 2013–04–09

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 31240076); 陕西省自然科学基金基础研究计划 (编号: 2012JM3012); 陕西省高水平大学建设专项资金 (编号: 2012SXTS03); 陕西省教育厅科学研究项目 (编号: 2013JK0710); 陕西省延安市科学技术研究发展计划 (编号: 2012KS–15); 生态学陕西省重点学科专项。

作者简介: 雷 忻 (1972–), 女, 陕西延安人, 博士, 副教授, 主要从事环境毒理学及生态学研究。Tel: (0911) 2332030; E-mail: leizz66@126.com。



箭头示微核, 400×

图1 BPA诱导蚕豆根尖细胞的微核现象

也有显著差异。在 BPA 较低质量浓度处理组 (60、80、100 mg/L), 蚕豆根尖细胞微核率随 BPA 处理浓度的增大而逐渐升高, 在 BPA 质量浓度为 100 mg/L 时蚕豆根尖细胞微核率达到最大值(13.40 ± 1.14)%, 在 BPA 较高浓度处理组 (120、140 mg/L), 微核率逐渐下降。

表 1 BPA 对蚕豆根尖细胞微核率的影响

BPA 浓度 (mg/L)	微核率 (%)
0(对照)	0.02 ± 0.13
60	1.40 ± 1.14a
80	7.20 ± 0.83b**
100	13.40 ± 1.14c**
120	10.80 ± 0.83d**
140	5.20 ± 0.84e**

注: ** 表示处理组与对照组之间差异极显著 ($P < 0.01$); 不同字母表示不同浓度处理之间差异显著 ($P < 0.05$)。

3 讨论与结论

微核是由于细胞受外界环境因子损伤后, 染色体发生畸变而产生的无着丝粒断片或部分染色体由于纺锤丝断裂而滞留在胞质中形成。因此微核率能快速而有效地反映出机体的染色体损伤和 DNA 复制紊乱等异常情况, 在评价污染物对生物体遗传物质的损害程度和毒理效应方面具有重要的价值^[12]。蚕豆根尖细胞微核率的检测具有经济、快速、准确、简便的特点, 广泛应用于环境有害因子的遗传毒性研究和监测中, 目前已成为公认的筛选致突变物的主要指标之一^[13-15]。

高雪等研究发现 EDTA 可诱发蚕豆根尖细胞出现微核, 且随着 EDTA 浓度的增加, 微核率呈现先上升后下降的变化规律^[16]。张本延等用锰处理蚕豆根尖, 观察到氯化锰可诱导蚕豆根尖细胞产生微核, 且微核率随氯化锰浓度的增加呈先上升后下降的趋势^[17]。仪慧兰等检测 SO₂ 对蚕豆根尖细胞的影响时, 观察到不同的处理时间及 SO₂ 剂量对蚕豆根尖细胞微核率具有不同程度的影响^[18]。本研究观察到一定浓度 BPA 处理, 可诱导蚕豆根尖细胞出现微核现象, 且随着 BPA 处理浓度的增大, 蚕豆根尖细胞微核率呈现先上升后下降的变化趋势。说明 BPA 对蚕豆根尖细胞具有明显的遗传毒性,

这种毒性效应在一定浓度范围内, 随 BPA 浓度的升高而逐渐增强, 但是当 BPA 胁迫浓度过高时 (120、140 mg/L), 毒性作用反而受到抑制。微核率的下降, 可能是由于高剂量的 BPA 对蚕豆根尖细胞的有丝分裂过程产生了抑制或终止作用所致。上述结果提示 BPA 对于生态环境与人类健康的影响应引起高度重视。

参考文献:

[1] 杜克久, 徐晓白. 环境雌激素研究进展[J]. 科学通报, 2000, 45 (21): 2241 - 2251.

[2] 李瑞霞. 环境雌激素对动物的影响与对策[J]. 四川动物, 2006, 25(3): 673 - 676.

[3] 罗丽娟. 植物分类学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2007.

[4] 王英彦. 蚕豆根尖细胞微核技术现状[J]. 环境科学, 1988, 10 (4): 66 - 70.

[5] 钱晓薇. 乙酸铜对蚕豆根尖细胞致畸效应[J]. 细胞生物学杂志, 2005, 27(3): 351 - 357.

[6] 钱晓薇. 重铬酸钾对蚕豆根尖细胞致畸效应的研究[J]. 遗传, 2004, 26(3): 337 - 342.

[7] 曹娜, 魏华, 吴陵广, 等. 双酚 A 对斑马鱼肝脏和性腺的作用[J]. 生态学杂志, 2010, 29(11): 2192 - 2198.

[8] 雷忻, 李宗强, 廉振民. 双酚 A 和对硝基酚对泥鳅的急性毒性效应[J]. 生态学杂志, 2009, 28(11): 2257 - 2261.

[9] 雷忻, 苑彩霞, 延志莲. 双酚 A 胁迫对泥鳅外周血红细胞微核及核异常的影响[J]. 四川动物, 2013, 32(2): 232 - 236.

[10] 祝庆蕃, 常福聚, 赵庆夏. 蚕豆根尖细胞微核试验[J]. 遗传, 1989, 11(2): 7 - 8.

[11] 耿德贵, 张大生, 程伟, 等. 四种除草剂对中华大蟾蜍蝌蚪红细胞微核及核异常的影响[J]. 动物学杂志, 2000, 35(1): 12 - 16.

[12] Zaval - Aguirre J L, Torres - Bugarin O, Zamora - Perez A L. Aquatic ecotoxicology approaches in Western Mexico[J]. Journal of Environmental Science and Health Part A: Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering, 2007, 42(10): 1503 - 1511.

[13] 臧宇. 蚕豆根尖细胞微核试验的应用与发展[J]. 癌变, 畸变, 突变, 1999, 11(3): 159 - 160.

[14] Grant W F. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations - a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals[J]. Mutation Research, 1999, 426(2): 107 - 112.

[15] 王玉鹏, 朱惠刚. 微核试验方法及在环境监测中应用的发展趋势[J]. 环境与健康杂志, 1999, 16(6): 378 - 380.

[16] 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.

[17] 张本延, 张合喜, 龚太平. 锰诱导蚕豆根尖细胞微核的研究[J]. 武汉科技大学学报: 自然科学版, 2001, 24(2): 199 - 201.

[18] 仪慧兰, 孟紫强. SO₂ 对蚕豆根尖细胞微核的诱导作用[J]. 生态学报, 2003, 23(2): 292 - 296.