

铅诱导蚕豆根尖细胞微核及染色体畸变的研究

张英慧 (西藏民族大学医学部基础医学院, 陕西咸阳 712082)

摘要 [目的]研究铅对蚕豆根尖细胞微核及染色体畸变的影响。[方法]用不同浓度的 $PbCl_2$ 溶液培养蚕豆种子,以蒸馏水培养作为对照,培养4~7 d时,每天随机取根尖固定、染色、压片后镜检,观察微核和染色体畸变,计算微核率和染色体畸变率。[结果]培养第4~7天, $1.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-4}$ mol/L Pb^{2+} 处理组的微核率和染色体畸变率均极显著高于对照组,且 Pb^{2+} 浓度越大,微核率和染色体畸变率越高。[结论] Pb^{2+} 对蚕豆根尖细胞微核率和染色体畸变率有影响,其影响程度与 Pb^{2+} 处理浓度和处理时间有关。

关键词 铅;蚕豆;微核;染色体畸变

中图分类号 S-3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)27-0004-02

Effects of Pb^{2+} on Micronucleus and Chromosomal Aberration of *Vicia faba*

ZHANG Ying-hui (School of Basic Medical Sciences, Xizang Minzu University, Xianyang, Shaanxi 712082)

Abstract [Objective] The purpose was to study the effects of Pb^{2+} on the micronucleus and chromosomal aberration of *Vicia faba*. [Method] *Vicia faba* seeds were cultured with $PbCl_2$ solutions at different concentrations, and distilled water treatment as control. The root tips were fixed, dyed and squashed for microscopic examination, and micronucleus and chromosomal aberration of root tip cells were calculated. [Result] When seeds were treated with $1.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-4}$ mol/L Pb^{2+} from 4 days to 7 days, the micronucleus and chromosomal aberration of *Vicia faba* increased successively with increasing Pb^{2+} concentration and treatment duration. [Conclusion] Pb^{2+} showed effects on the micronucleus and chromosomal aberration *Vicia faba* in a dose-and time-dependent manner.

Key words Pb^{2+} ; *Vicia faba*; Micronucleus; Chromosomal aberration

铅及其化合物都有毒,会造成大气、土壤、水体的污染,是对人类和生物影响较大的重金属元素之一。铅是植物的非必需元素,当它与植物接触后就会对植物产生一定的毒害作用,轻则使植物体内的代谢过程发生紊乱致使生长发育受到抑制,重则导致植物死亡^[1]。当铅进入植物体时,由于质膜是有机体与外界环境的界面,所以首先受到铅的毒害^[2]。铅离子还可以通过质膜进入细胞,影响细胞内一系列生理生化过程,使新陈代谢紊乱^[3]。例如,在铅胁迫下,光合系统和一些光合酶的活性以及叶绿素的合成受到影响,甚至叶绿体的结构遭到破坏,导致植物的光合作用降低^[4-5];铅又能损伤线粒体的结构,抑制根系多种脱氢酶等其他呼吸酶的活性,干扰植物的呼吸作用^[1,6];通过与蛋白质上-SH基团结合而破坏蛋白质结构,影响蛋白质活性,干扰N素代谢^[7];铅能造成植物体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢(CAT)3种酶活性比的不平衡,引起生理生化过程紊乱,并最终导致植物的伤害^[8];铅与带负电荷的核酸结合引起染色体畸变、降低DNA和RNA活性,干扰核酸代谢^[9];铅还能通过拮抗作用导致植物体内元素失调,造成营养胁迫,间接地影响植物的生长发育^[10]。笔者以蚕豆为试验材料,研究了铅对蚕豆根尖细胞微核率和染色体畸变率的影响,以期更好地探讨铅对植物的毒害机理。

1 材料与方

1.1 材料 供试蚕豆品种为“成胡15”(*Vicia faba*, $2n = 12$)。0.5%次氯酸钠(分析纯),北京北化精细化学品有限责任公司; $PbCl_2$ (分析纯),温州市化学用料厂。

1.2 试验方法 蚕豆种子经0.5%次氯酸钠表面消毒,蒸馏

水洗净,分别在 1.0×10^{-4} 、 2.5×10^{-4} 、 5.0×10^{-4} mol/L $PbCl_2$ 溶液中进行水培,蒸馏水培养作为对照。每组培养200粒蚕豆,每组用8个培养皿,每皿25粒,培养时间为7 d。培养4~7 d,每天定时从每组中随机取出两培养皿蚕豆,逐一测量根长,然后切取根尖,改良 Carnoy's 固定液室温固定,0.1 mol/L 盐酸解离,改良苯酚品红染色,压片, Nikon FX-35WA 光学显微镜下观察蚕豆根尖分生组织区细胞有丝分裂,每组观察8个根尖,每个根尖观察500个以上细胞(每组共观察4000个以上细胞),观察微核和染色体畸变,并计算微核率和染色体畸变率。用 Origin 软件分别对微核率和染色体畸变率进行 *t* 检验。

2 结果与分析

2.1 铅对蚕豆根尖细胞微核率的影响 微核存在于间期细胞中,有关研究表明,它是由于上一个细胞分裂周期产生的染色单体片段、落后染色体等类型的染色体畸变引起的。鉴别微核应遵循以下原则:①凡是主核大小的1/3以下,并与主核分离的小核即是微核;②微核着色与主核相同或稍深,并具有染色质颗粒;③微核形态可以是圆形、椭圆形或不规则形。

不同浓度铅处理对蚕豆根尖细胞微核率的影响如表1所示。培养第4天, $1.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-4}$ mol/L Pb^{2+} 处理组的微核率均极显著高于对照组,且 Pb^{2+} 浓度越大,微核率越高,对照组的微核率为6.02%, 1.0×10^{-4} 、 2.5×10^{-4} 、 5.0×10^{-4} mol/L Pb^{2+} 处理组的微核率分别为14.40%、20.43%和24.73%。

培养第5天, $1.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-4}$ mol/L Pb^{2+} 处理组的微核率均极显著高于对照组,且 Pb^{2+} 浓度越大,微核率越高,对照组的微核率为8.06%, 1.0×10^{-4} 、 2.5×10^{-4} 、 5.0×10^{-4} mol/L Pb^{2+} 处理组的微核率分别为16.18%、21.43%和31.44%。

培养第 6 天, $1.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-4}$ mol/L Pb^{2+} 处理组的微核率均极显著高于对照组, 且 Pb^{2+} 浓度越大, 微核率越高, 对照组的微核率为 9.21‰, 1.0×10^{-4} 、 2.5×10^{-4} 、 5.0×10^{-4} mol/L Pb^{2+} 处理组的微核率分别为 22.61‰、28.68‰ 和 53.31‰。

培养第 7 天, $1.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-4}$ mol/L Pb^{2+} 处理组

的微核率均极显著高于对照组, 且 Pb^{2+} 浓度越大, 微核率越高, 对照组的微核率为 8.89‰, 1.0×10^{-4} 、 2.5×10^{-4} 、 5.0×10^{-4} mol/L Pb^{2+} 处理组的微核率分别为 17.02‰、18.77‰ 和 46.89‰。

由此可见, 铅对蚕豆根尖细胞微核率的影响具有明显的浓度效应。

表 1 不同浓度铅处理对蚕豆根尖细胞微核率的影响

Table 1 Effects of different concentration of Pb^{2+} on frequency of micronucleus of root tip cells of *Vicia faba* %

Pb^{2+} 浓度 Pb^{2+} Concentration // $\times 10^{-4}$ mol/L	处理时间 Treatment time // d			
	4	5	6	7
0	6.02 ± 2.03	8.06 ± 1.43	9.21 ± 2.31	8.89 ± 2.79
1.0	14.40 ± 4.08**	16.18 ± 3.62**	22.61 ± 9.90**	17.02 ± 4.00**
2.5	20.43 ± 7.29**	21.43 ± 5.75**	28.68 ± 13.70**	18.77 ± 6.87**
5.0	24.73 ± 8.28**	31.44 ± 16.54**	53.31 ± 23.84**	46.89 ± 18.93**

注: ** 表示 $P < 0.01$ (t 检验)

Note: ** indicated $P < 0.01$ (t -test)

2.2 铅对蚕豆根尖细胞染色体畸变率的影响 染色体畸变是指生物细胞中染色体在数目和结构上发生的变化, 包括染色体数目变异和染色体结构变异: ①对有丝分裂极化的影响, 无极、二极、三极、多极等; ②对染色体数目的影响, 单倍体、二倍体、三倍体、多倍体, 整倍体、非整倍体等; ③对染色体形态的影响, 染色体断片、落后染色体、染色体环、染色体桥、染色体黏连和液化等。

不同浓度铅处理对蚕豆根尖细胞染色体畸变率的影响如表 2 所示。培养第 4 天, 1.0×10^{-4} mol/L Pb^{2+} 处理组的染色体畸变率显著高于对照组, 2.5×10^{-4} 、 5.0×10^{-4} mol/L Pb^{2+} 处理组的染色体畸变率极显著高于对照组, Pb^{2+} 浓度越大, 染色体畸变率越高, 对照组的染色体畸变率为 8.54%, 1.0×10^{-4} 、 2.5×10^{-4} 、 5.0×10^{-4} mol/L Pb^{2+} 处理组的染色体畸变率分别为 13.84%、14.58% 和 17.51%。

表 2 不同浓度铅处理对蚕豆根尖细胞染色体畸变率的影响

Table 2 Effects of different concentration of Pb^{2+} on frequency of chromosomal aberrations of root tip cells of *Vicia faba* %

Pb^{2+} 浓度 Pb^{2+} Concentration // $\times 10^{-4}$ mol/L	处理时间 Treatment time // d			
	4	5	6	7
0	8.54 ± 2.83	8.44 ± 2.29	5.82 ± 2.09	5.02 ± 1.49
1.0	13.84 ± 4.18*	14.99 ± 3.73**	17.50 ± 5.10**	15.63 ± 4.19**
2.5	14.58 ± 4.04**	18.75 ± 4.91**	27.96 ± 17.26**	21.88 ± 8.56**
5.0	17.51 ± 6.08**	20.32 ± 6.90**	34.67 ± 11.46**	32.03 ± 11.17**

注: * 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$ (T 检验)

Note: * indicated $P < 0.05$; ** indicated $P < 0.01$ (T -test)

培养第 5 天, $1.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-4}$ mol/L Pb^{2+} 处理组的染色体畸变率均极显著高于对照组, Pb^{2+} 浓度越大, 染色体畸变率越高, 对照组的染色体畸变率为 8.44%, 1.0×10^{-4} 、 2.5×10^{-4} 、 5.0×10^{-4} mol/L Pb^{2+} 处理组的染色体畸变率分别为 14.99%、18.75% 和 20.32%。

培养第 6 天, $1.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-4}$ mol/L Pb^{2+} 处理组的染色体畸变率均极显著高于对照组, Pb^{2+} 浓度越大, 染色体畸变率越高, 对照组的染色体畸变率为 5.82%, 1.0×10^{-4} 、 2.5×10^{-4} 、 5.0×10^{-4} mol/L Pb^{2+} 处理组的染色体畸变率分别为 17.50%、27.96% 和 34.67%。

培养第 7 天, $1.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-4}$ mol/L Pb^{2+} 处理组的染色体畸变率均极显著高于对照组, Pb^{2+} 浓度越大, 染色体畸变率越高, 对照组的染色体畸变率为 5.02%, 1.0×10^{-4} 、 2.5×10^{-4} 、 5.0×10^{-4} mol/L Pb^{2+} 处理组的染色体畸变率分别为 15.63%、21.88% 和 32.03%。

由此可见, 铅对蚕豆根尖细胞染色体畸变率的影响具有明显的浓度效应。

3 讨论

已有的研究表明, 重金属进入植物体后主要积累在根部^[11], 产生遗传毒害的时间主要是在细胞分裂间期的 DNA 和染色体复制过程中。 Pb^{2+} 是生物的非必需元素, 也是毒性较强的诱变剂。 Pb^{2+} 以一种可交换的形式取代或置换 Ca^{2+} , 并与细胞膜表面的一SH 基结合, 阻止 Ca^{2+} 的跨膜内流, 使钙调素 (CaM) 和 Ca-ATP 酶不能被激活^[12]。进入细胞的 Pb^{2+} 还能与带负电的核酸结合, 降低 RNA 和 DNA 的活性, 引起核酸裂解并影响到细胞有丝分裂过程^[13-14]。在该试验中, 微核率和染色体畸变率都随着 Pb^{2+} 浓度的增大而升高, 具有非常显著的浓度效应, 染色体畸变有断片、染色体桥、落后染色体、染色体多极分裂和染色体环等多种形式, 其中染色体断裂是不可逆的重度毒害作用, 进而可诱导细胞凋亡^[15-16]。微核的形成途径有 2 条: 一条途径是由于前一分裂周期 G2 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, 在进入间期时, 即被排斥于核外形成的; 另

3 个坡位黄柳的净光合速率均与 PAR 呈显著正相关关系,中、上坡位光合速率、蒸腾速率与叶温、气温呈负相关关系。下坡位黄柳光合速率与气温和叶温呈正相关关系,其光合速率最高值与 PAR 最高值出现时间一致。

以上结论说明上坡位以其较小的蒸腾获得最大的水分利用效率,而下坡位恰好相反,是与其较强的光合速率获得较大的水分利用效率,说明上坡位黄柳受到干旱胁迫,抑制了光合和蒸腾作用。但由于植物光合、蒸腾作用受植物体内外诸多因子的影响,坡位即可导致光照、温湿度等环境因子出现空间分布的异质性,因而对植物光合、蒸腾的影响也是一个复杂的过程,对此还需深入研究。但就该研究结果而言,不同坡位黄柳光合、蒸腾作用不尽相同,但总体差异不是很明显,因此,在该地区建立黄柳活沙障还是行之有效的防风固沙技术之一,可以大力推广。

参考文献

- [1] 宋西德,张永,周锋利,等. 臭柏的特性研究进展[J]. 西北林学院学报, 2003,18(4):63-66.
- [2] 王康富. 辽宁省章古台主要固沙植物的习性[M]//林业集刊(3). 北京:科学出版社,1959:182-197.
- [3] 刘中民. 几种沙生植物的特性及其栽培的研究[M]//治沙研究(5). 北京:科学出版社,1963.
- [4] 常学礼,李胜功,赵学勇. 黄柳灌丛地上生物量特征及生长的研究[M]//科尔沁沙地生态环境综合整治研究. 兰州:甘肃科学技术出版社,1993:201-208.
- [5] 常学礼,赵学勇,李胜功,等. 水分胁迫对冷蒿和差不嘎蒿体内水分状

况的影响[J]. 中国沙漠,1996,16(1):27-31.

- [6] 周海燕,赵爱芬. 科尔沁沙地黄柳气孔导度和水分状况随季节和地形的变化特征[J]. 植物学报,2000,17(6):543-547.
- [7] 张淑兰,张海军,徐成立,等. 河北木兰围场自然保护区现状及发展对策研究[J]. 河北林果研究,2006,21(4):460-464.
- [8] 冯建灿,张玉洁. 喜树光合速率日变化及其影响因子的研究[J]. 林业科学,2002,38(4):34-39.
- [9] 满为群,杜维广,张桂茹,等. 高光效大豆品种光合作用的日变化[J]. 中国农业科学,2002,35(7):860-862.
- [10] 廖建雄,王根轩. 谷子叶片光合速率日变化及水分利用效率[J]. 植物生理学报,1999,25(4):362-368.
- [11] 蒋德安,陆庆,翁晓燕,等. 水稻光合关键酶类在光合日变化中的作用[J]. 作物学报,2001,27(3):301-307.
- [12] 徐克章,张美善. 恒定环境条件下西洋参叶片光合作用的日变化[J]. 吉林农业大学学报,2003,25(2):134-138.
- [13] 董贯和. 不同供钾水平对小麦旗叶光合速率日变化的影响[J]. 植物生态学报,2004,28(4):547-553.
- [14] YANG J D, LIU Z M. Study on field-grown maize introduced into Tibetan plateau: Some characteristics of diurnal variation of photosynthesis[J]. Acta agronomica sinica, 2002, 28(4):475-479.
- [15] 李萍萍,胡永光,赵玉国,等. 叶用莴苣温室栽培单株光合作用日变化规律[J]. 园艺学报,2001,28(3):240-245.
- [16] 王岩春,干友民,陈立坤,等. 高寒地区川草 1 号老芒麦夏季光合生理生态特性的初步研究[J]. 草业科学,2007,24(11):42-46.
- [17] 杜菁韵,杜占池,崔晓勇. 内蒙古典型草原地区常见植物光合、蒸腾速率和水分利用效率的比较研究[J]. 草业科学,2003,20(6):11-15.
- [18] 张希明,斯蒂堪 W,龙格 M. 自然条件下幼龄欧洲山毛榉的光合速率与气候因子的关系[J]. 植物学报,1993,35(8):611-618.
- [19] 朱万泽,王金锡,薛建辉,等. 四川桉木光合生理特性研究[J]. 西南林学院学报,2001,21(4):196-204.
- [20] 李春鸣,蒲小朋,马姝雯,等. 高寒地区地膜覆盖栽培饲用甜菜光合日变化初探[J]. 西北民族大学学报(自然科学版),2005,26(1):46-48.

(上接第 5 页)

外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的。染色体畸变的产生可能有以下 3 条途径:一是由于药物直接作用于 DNA 分子,造成 DNA 断裂损伤,从而引起染色体畸变;二是由于药物干扰了 DNA、蛋白质合成或者 RNA 转录,结果使与染色体运动有关的物质不能形成,由此形成染色体畸变;三是药物通过干扰某些损伤的正常修复过程,阻止染色体在正常情况下的重建从而形成新的重接,出现染色体桥、环、断片之类的重排。

4 结论

Pb^{2+} 对蚕豆根尖细胞微核率和染色体畸变率有影响,其影响程度与 Pb^{2+} 处理浓度以及处理时间有关,随着处理浓度的增大和处理时间的增长,微核率和染色体畸变率都有非常显著的提高。

参考文献

- [1] YANG S H, QU Z X, WANG H X. The migration and accumulation of lead in rice and its influence on the growth[J]. Acta Ecol Sin, 1986, 6(4):312-322.
- [2] REN A Z, GAO Y B, LUI S. Effects of Cr, Cd and Pb on free proline content etc in leaves of *Brassica chinensis* L. [J]. Chin J Appl Environ Biol, 2000, 6(2):112-116.
- [3] QIN T C, WU Y S, WANG H X. Effects of cadmium, lead and their interactions on the physiological and biochemical characteristics of *Brassica chinensis*[J]. Acta Ecol Sin, 1994, 14(1):46-50.

- [4] PENG M, WANG H X, WU Y S. Ultrastructural changes induced by cadmium and lead in corn seeding cell[J]. China Environ Sci, 1991, 11(6):426-431.
- [5] YANG D H. The effects of heavy metal on the structure and function of photosynthetic membranes in higher plants[J]. Chin Bull Bot, 1991, 8(3):26-29.
- [6] ZHOU H, QU Z X, WANG H X. The migration and accumulation of lead in several crops and its influence on their growth[J]. Acta Sci Circum, 1983, 3(3):222-233.
- [7] VAN ASSCHE F, CLIJSTERS H. Effects of metal on enzyme activity in plants[J]. Plant Cell Environ, 1990, 13:195-206.
- [8] 任安芝,高玉葆,刘爽. 青菜幼苗体内几种保护酶的活性对 Pb、Cd、Cr 胁迫的反应研究[J]. 应用生态学报,2002,13(4):510-512.
- [9] ZHANG Y X. Toxicity of heavy metals to *Hordeum vulgare*[J]. Acta Sci Circum, 1997, 17(2):199-211.
- [10] KOEPE D E. Lead: Understanding the minimal toxic of lead in plants [M]//LEPP N W. Effect of heavy metal pollution on plants. New Jersey: Applied Science, 1981:55-57.
- [11] CHAKRAVARTY B, SRIVASTAVA S. Toxicity of some heavy metals in vivo and in vitro in *Helianthus annuus*[J]. Mutation Res, 1992, 283(3):287-294.
- [12] 文充溢. 钙与钙调素[M]. 北京:化学工业出版社,1989:63-164.
- [13] DEGRAEVE N. Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of cadmium[J]. Mutation Res, 1981, 86(2):115-135.
- [14] KAZANTZIS G. Mutagenic and carcinogenic effects of cadmium[J]. Toxicol Environ Chem, 1984, 8(2):267-278.
- [15] HARTWELL L H, WEINERT T A. Checkpoints: Controls that ensure the order of cell cycle events[J]. Science, 1989, 246:629-633.
- [16] PAULOVICH A G, HARTWELL L H. A checkpoint regulates the rate of progression through S phase in *S. cerevisiae* in response to DNA damage [J]. Cell, 1995, 82(5):841-847.