

甲醛对洋葱根尖细胞的遗传毒性效应

龚莉*, 许建军

安庆师范学院生命科学学院, 安庆 246011

摘要: 将不同浓度(0.1%、1.0%、1.5%和3%)的甲醛溶液作为诱变剂, 分别处理洋葱根尖24、36和48 h。通过常规染色体压片技术, 观察洋葱根尖细胞有丝分裂现象。研究甲醛对洋葱根尖细胞有丝分裂指数(MI)和染色体畸变的影响, 探讨甲醛的遗传毒性和洋葱作为甲醛污染指示植物的可行性。结果表明: 不同浓度的甲醛溶液均能使洋葱根尖细胞有丝分裂指数明显下降; 且有丝分裂指数与甲醛浓度呈负相关($R = -0.93$), 回归方程为 $Y = -1.061X + 7.034$ 。同时还发现, 不同浓度的甲醛均能导致多种类型的染色体畸变。结论为甲醛对洋葱根尖细胞有明显的细胞毒性和遗传毒性; 有丝分裂指数与甲醛浓度呈负相关; 根尖有丝分裂指数可以作为监测环境中甲醛含量的参考指标, 应用于甲醛污染的监测。

关键词: 甲醛; 洋葱; 有丝分裂指数; 染色体畸变

文章编号: 1673-5897(2011)6-215-04 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Ecotoxicological Effects of Formaldehyde on Root Tip Cells of Onion

Gong Li*, Xu Jianjun

Life Sciences Department of Anqing Teachers College, Anqing 246011, China

Received 21 February 2011 accepted 14 March 2011

Abstract: Using different concentrations(0.1%, 1.0%, 1.5% and 3%) of formaldehyde as a mutagenic substance to treat the onion root tips for 24 h, 36 h and 48 h respectively. Then the phenomenon of its carion jiosis was observed by chromosome abletting technique. The aim of this study is investigate the genotoxicity of formaldehyde and the feasibility of formaldehyde pollution. Additionally, effects of formaldehyde on the mitotic index and the chromosomal aberration in cells of onion root tips was studied. The results show that formaldehyde with all concentrations significantly decreased the chromosome index. Mitotic index was negatively correlated to formaldehyde concentration ($R = -0.93$), the regression equation was $Y = -1.061X + 7.034$. Simultaneously, formaldehyde with all concentrations could induce various chromosome aberrations. It can be concluded that formaldehyde has cytotoxicity and inherent toxicity to the cells of onion root tip. Formaldehyde concentration is negatively related to mitotic index of root tip. Therefore, Mitotic index can be used as a reference for monitoring the formaldehyde content in the environment. Onions can be applied to formaldehyde pollution monitoring.

Keywords: formaldehyde; onion; mitotic index; chromosome aberration

1 引言 (Introduction)

甲醛 (formaldehyde, FA), 俗名蚁醛, 是一种无色、强臭的刺激性气体。它具有来源广泛、污染时间

长、相对污染水平高和生物毒性大等特点。甲醛可以导致各组织器官氧化损伤、DNA链断裂、DNA-DNA的交联及 DNA蛋白质交联、呼吸道和眼部刺

收稿日期: 2011-02-21 录用日期: 2011-03-14

基金项目: 安徽省高校省级自然科学基金项目 (KJ2010B088)

作者简介: 龚莉 (1975-), 女, 安徽泗县人, 讲师, 硕士, 研究方向: 生物化学与分子生物学, Email: gongli005214@163.com

激作用、致敏作用和免疫毒性等^[1-2]。环境生物学研究表明甲醛对动植物都有一定程度的毒害作用^[3-4]。由于室内装饰材料的普遍使用,室内甲醛污染问题越来越严重。2004年,国际癌症研究机构(IARC)把甲醛列为第一类致癌物质^[5-6]。目前对室内环境污染物的监测主要采用的是理化检测方法,这些方法在实际应用中表现出明显的局限性。主要表现为灵敏度低或者设备昂贵,受影响因素多,不能反映污染物实际所产生的生物效应,更不能对各种污染物的实际毒效应和多种污染物的综合效应进行评价。洋葱是一种无害的、廉价易得的和易于在室内培养的植物,也是观察有丝分裂的较佳材料。而目前,有关甲醛对洋葱根尖有丝分裂影响的研究鲜见报道。

本研究采用不同浓度的甲醛溶液对洋葱根尖细胞进行处理,观察甲醛对细胞有丝分裂的影响,对甲醛诱导洋葱根尖细胞产生的染色体畸变现象进行分析,了解洋葱对甲醛毒性处理的敏感程度,探讨甲醛的遗传毒性和洋葱作为甲醛污染指示植物的可行性。

2 材料和方法 (Materials and methods)

2.1 材料

甲醛(上海溶剂厂生产);洋葱(2ⁿ=16),购自农贸市场。

2.2 实验方法

设4个处理,浓度分别为:0.1%、1%、1.5%和3%的甲醛溶液^[7];对照组使用蒸馏水。3个处理时间,分别为:24、36和48 h。各处理均设3次重复。

材料培养:挑选完整无损、大小均匀的洋葱5颗,除去老根,放在大小相等的小烧杯中用蒸馏水培养,每天换水,当洋葱根长至1-2 cm时,移入盛有不同浓度的甲醛溶液的小烧杯中,分别染毒24、36和48 h。对照组仍用蒸馏水培养。固定:剪取根尖,用卡诺固定液固定24 h。保存:用蒸馏水将固定过的洋葱根尖冲洗3-6次后,置于70%乙醇中于冰箱内保存备用。解离:用1 mol/L的盐酸60℃水浴解离细胞10 min左右,用蒸馏水多次冲洗。染色:用干净刀片将洋葱根尖和延长区切去,将余下根尖切碎,用1%龙胆紫溶液染色2-3 min。镜检:常规压片,在40×10倍显微镜下识别各项指标,测定洋葱根细胞有丝分裂指数。每组观察10个根尖,每个根尖观察1000个细胞,统计分裂指数(MI)。用Nikon 80荧光显微镜对发生染色体畸变的细胞进行显微摄影及拍照。

2.3 统计方法

采用SPSS 11.5软件包进行统计分析,不同处理方式有丝分裂指数组间差异采用ANOVA的Post Hoc检验,并对有丝分裂指数和不同处理方式进行相关和回归分析。所有数值为 $\bar{X} \pm SD$,检验显著性水平定为 $P < 0.05$ 。

3 结果 (Results)

3.1 甲醛对洋葱根尖细胞有丝分裂指数的影响

表1是经过不同浓度的甲醛、不同时间处理的洋葱根尖总数、观察到的实际分裂数及各组的有丝分裂指数。经方差分析结果发现不同浓度组 $F = 29.28$, $P = 0.00$ 。进一步分析发现,不同浓度组间有丝分裂指数均有显著性差异($P < 0.05$),且随着浓度的升高,有丝分裂指数均显著性降低($P < 0.05$,图1),这说明浓度越高甲醛对有丝分裂的有害影响可能越大。

表1 染毒24、36和48 h不同浓度甲醛溶液对洋葱根尖细胞有丝分裂指数

Table 1 Mitotic index of root tip cells of onion treated by formaldehyde with different concentrations for 24, 36 and 48 hours

甲醛浓度/%	细胞总数/个			细胞分裂数/个			有丝分裂指数/%		
	24 h	36 h	48 h	24 h	36 h	48 h	24 h	36 h	48 h
0	651	650	651	42	41	43	6.45	6.45	6.45
0.1	601	336	651	30	15	23	4.99	4.46	3.53
1.0	580	558	329	25	20	10	4.31	3.58	3.04
1.5	653	590	589	22	19	15	3.37	3.22	2.55
3.0	598	628	625	14	12	7	2.34	1.91	1.12

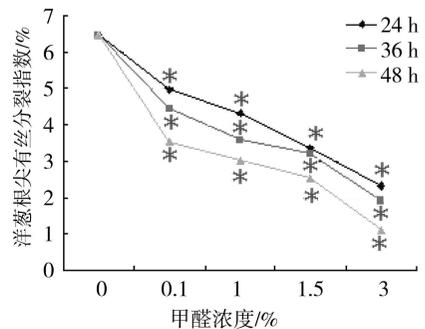


图1 不同浓度的甲醛溶液对洋葱根尖细胞有丝分裂指数的影响

(注: * 表示与对照组相比,其他各组具有显著性差异)

Fig 1 Effect of different concentration formaldehyde on mitotic index of onion root tip cells

随着处理时间的延长, 有丝分裂指数虽有减小的趋势, 但各组间没有显著性 ($P > 0.05$), 说明时间对洋葱根尖细胞有丝分裂指数可能影响不大。对洋葱根尖细胞有丝分裂指数和甲醛浓度进行相关和回归分析发现有丝分裂指数和甲醛浓度的相关系数为 $R = -0.93$ 这说明二者之间呈高度负相关, 线性回归分析决定系数 (R^2) 为 0.869 , 说明有丝分裂指数 (Y) 的变异有 86.9% 可由甲醛浓度 (X) 的变化来解释, 方程经显著性检验 $F = 86.12$, $P = 0.00$, 说明回归方程有意义, 回归系数为 -1.061 , 常数项为 7.034

所以回归方程为 $Y = -1.061X + 7.034$

3.2 甲醛对洋葱根尖细胞染色体畸变的影响

甲醛处理洋葱根尖细胞后, 可导致多种染色体畸变现象的发生。如有丝分裂过程中染色体受损或染色体活动异常而形成的微核; 染色体损伤或纺锤丝的破坏而造成后期两组子染色体不能正常分开, 部分子染色体间发生融合而出现染色体断片、单桥、双桥和多桥以及染色体丢失现象; 分裂极的不确定造成多极现象等 (见图 2), 其中染色体断片出现的几率最高, 其次是染色体桥。

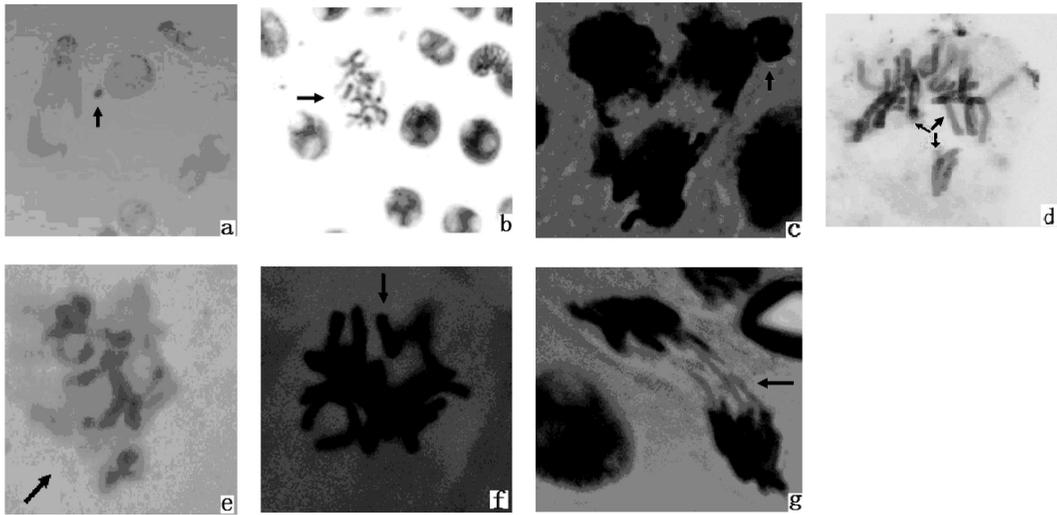


图 2 染色体畸变类型

(注: a微核; b纺锤丝被打断; c落后的染色体; d多极化; e染色体丢失; f染色体断片; g染色体多桥)

FIG. 2. Types of chromosome aberrations

4 讨论 (Discussion)

4.1 不同的染毒时间对洋葱根尖细胞有丝分裂指数的影响

有学者研究证明硒和铅降低植物的有丝分裂指数是通过抑制细胞 DNA 的复制及蛋白质的合成, 使细胞不能进入下一次的分裂期, 从而降低有丝分裂指数^[8-11]。本实验中, 有丝分裂指数随着处理液浓度的增高而降低, 随着处理时间的延长而降低。由此推断, 处理液浓度越大, 处理时间越长, 甲醛在生物体内积累就越多, 毒性就越强, 抑制作用也越明显。可能由于甲醛抑制了与细胞有丝分裂有关的蛋白质合成, 从而阻碍了细胞周期的运行, 导致了有丝分裂下降。

4.2 甲醛对洋葱根尖细胞染色体畸变的影响

本研究发现不同的甲醛浓度均能引起染色体畸

变。田秋元等^[7]和韦立秀等^[12]的研究都表明, 甲醛能够诱变蚕豆和大豆的根尖细胞产生微核效应, 产生了染色体畸变。本实验中, 甲醛处理洋葱根尖细胞后, 可导致多种染色体畸变现象的发生。一条或多条染色体滞留及染色体多极的现象, 可能是甲醛对与有丝分裂相关的分裂器, 如纺锤丝和一些与细胞分裂有关的蛋白如微管蛋白进行破坏, 造成了细胞分裂中染色体行为的不同步化。另外, 还出现染色体断片和染色体桥等类型, 这说明甲醛除了有作用于纺锤体这种不以 DNA 为靶的间接诱变外, 同时具有以 DNA 为靶的直接诱变, 它们直接作用于遗传物质, 影响了洋葱根尖细胞的正常分裂, 致使染色体畸变的发生。其作用的靶分子不仅是有丝分裂器或其他细胞结构中的蛋白质, 还可以是遗传物质, 但它们的遗传效应均相同, 即导致遗传物质的损伤并从主核中丢失。

综上所述,甲醛对洋葱根尖细胞有明显的细胞毒性和遗传毒性,有丝分裂指数与甲醛浓度呈负相关,根尖有丝分裂指数可以作为监测环境中甲醛含量的参考指标;洋葱可以作为甲醛毒性的检测植物,用于环境监测及各种诱变剂的遗传毒理学效应的研究。

通讯作者简介: 龚莉 (1975—), 女, 硕士, 讲师, 主要研究方向为生物化学与分子生物学。

参考文献:

- [1] 徐钱, 杨旭, 杨光涛, 等. 不同浓度甲醛致小鼠肾细胞 DNA 损伤效应研究 [J]. 环境科学学报, 2007, 27 (2): 276—281
Xu Q, Yang X, Yang G T, et al. Study on DNA damage of the kidney cells of mice induced by formaldehyde at different doses [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2007, 27(2): 276—281 (in Chinese)
- [2] 王丽, 乔永康, 姚得松, 等. 甲醛对三种真核细胞 DNA 的损伤作用 [J]. 中华预防医学杂志, 2006, 40 (1): 57—59
- [3] 袭著革, 晁福寰, 杨丹凤, 等. 甲醛致核酸损伤作用的实验研究 [J]. 环境科学学报, 2004, 24(4): 719—722
Xi Z G, Chao F H, Yang D F, et al. Experimental study of the DNA damage induced by formaldehyde [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2004, 24(4): 719—722 (in Chinese)
- [4] 甘仲霖, 叶运莉, 张青碧, 等. 不同浓度的甲醛空气污染对桂花叶芽细胞的 DNA 损伤作用 [J]. 现代预防医学, 2009, 36(3): 418—420
Gan Z S, Ye Y L, Zhang Q B, et al. DNA damages of osmanthus fragrans leaf bud cells induced by different levels of formaldehyde air pollution [J]. Modern Preventive Medicine, 2009, 36(3): 418—420 (in Chinese)
- [5] 石碧清, 刘湘, 阎振华. 室内甲醛污染现状及其防治对策 [J]. 环境科学与技术, 2007, 30(6): 49—55
Shi B Q, Liu X, Yan Z H. Indoor pollution of formaldehyde and its control measures [J]. Environmental Science & Technology, 2007, 30(6): 49—55 (in Chinese)
- [6] 王利英, 杨振德. 建筑装修材料有毒物质的危害效应及防治对策 [J]. 环境科学与技术, 2007, 30(2): 61—64
Wang L Y, Yang Z D. Toxic substance in decoration materials. Pollution and control [J]. Environmental Science & Technology, 2007, 30(2): 61—64 (in Chinese)
- [7] 田秋元, 高鹏修. 甲醛诱变大豆根尖细胞的微核效应研究 [J]. 安徽农业科学, 2005, 33(9): 1688—1689
Tian Q Y, Gao P X. Cytological research on the soybean root tips treated with formaldehyde [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2005, 33(9): 1688—1689 (in Chinese)
- [8] Grant F W. The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens [J]. Mutation Research, 1994, 310(2): 175—195
- [9] Tomsett A B, Thumán D A. Molecular biology of metal tolerances of plants [J]. Plant Cell & Environment, 1988, 11(5): 383—394
- [10] Woolhouse H W. Ibxidiv and tolerance in the responses of plant tomatoes. In: Yong G T. Physiological Plant Ecology Response to the Chemical and Biol Environment [C]. Berlin: Springer-Verlag, 1983, 246—360
- [11] For C D, Whirs M C. The physiology of metal toxicity in plants [J]. Plant Physiology, 1978, 29: 511—566
- [12] 韦立秀, 孙艳娟, 杨振德, 等. 甲醛污染对蚕豆根尖细胞微核的诱导作用 [J]. 环境科学与技术, 2009, 32(4): 33—36
Wei L X, Sun Y J, Yang Z D, et al. Inducement effect of formaldehyde on micronuclei formation in vicia faba root tips [J]. Environmental Science & Technology, 2009, 32(4): 33—36 (in Chinese)