

海娜粉对蚕豆根尖微核率的影响

吕亚慈,时丽冉,高汝勇,马 俊

(衡水学院 生命科学系,河北 衡水 053000)

摘要:为了检测海娜粉是否为绿色无毒的染发产品,采用蚕豆根尖细胞微核试验,测试了海娜粉的遗传毒性。结果表明:不同浓度的海娜粉浸提液都能诱发高频率的微核,随着海娜粉浸提液浓度的升高,微核率呈先上升后下降的趋势,表明海娜粉对蚕豆根尖细胞具有遗传毒性,通过环境污染指数的计算表明海娜粉对环境有污染作用。

关键词:海娜粉;蚕豆;微核率;环境污染指数

中图分类号:S643.6;TQ243.1

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)10-0124-02

海娜是一种生长在热带干旱地区的植物,主要分布于印度、巴基斯坦、埃及、北非及中东等国家,我国新疆地区也种植温带海娜。海娜花可以制作香水,最上层叶片被用来作为手与脚彩绘的颜料,其余的部分则磨成粉末用作染头发的颜料。海娜粉被誉为天然无毒染发剂,随着网络购物的兴起,已成为受大众欢迎的染发用品,而对其毒理学安全性评价却报道甚少。

蚕豆根尖细胞微核技术是以检测微核为测试终点的研究方法。微核是真核类生物细胞,由于染色体畸变作用而产生的一种异质结构。研究表明微核率的大小可以表现诱变因子的强弱^[1-3]。同时微核试验具有灵敏、可靠、易操作等许多优点,因此广泛应用于遗传病理学、预防医学、环境科学等学科的研究。根据蚕豆根尖技术诱导微核率的大小,测定海娜粉是否为绿色无毒的染发用品。

1 材料与方法

1.1 材料

2013年9月于衡水万德福超市购买绿色无公害蚕豆种子。海娜粉购自新疆乌鲁木齐。试验于衡水学院生命科学系遗传学实验室内进行。

1.2 方法

1.2.1 浸种催芽 将蚕豆种子按照需要量放入盛有自来水的烧杯中,室温浸泡24 h。种子吸胀后,放入底部铺有湿润纱布的白瓷盘中,摆放整齐,再覆盖两层湿润的纱布。保持湿度,隔天清洗蚕豆种子,防止种子腐烂。待蚕豆主根根尖长到2 cm左右,将蚕豆转移至纱网上培养,待蚕豆主根根尖长到3~4 cm时掐去主根促使侧根生长。

1.2.2 根尖处理与细胞恢复 将100 g海娜粉浸泡在1 000 mL蒸馏水中并间歇摇匀,48 h后过滤得到浸提液作为原液(浸提液中有效成分不

易确定,假定其浓度为10.0%)。加蒸馏水分别稀释成2.5%、5.0%、7.5%四个梯度的处理液,以蒸馏水为对照,每个处理3次重复。取侧根长势良好的蚕豆种子进行处理,将根尖浸没在待测溶液中进行处理,处理3 h后,处理过的种子用自来水冲洗2~3次,放入盛有蒸馏水的烧杯中恢复培养24 h。剪下根尖投入卡诺氏固定液中固定24 h,用自来水冲洗2~3遍,保存于70%乙醇中备用。

1.2.3 制片与观察 用蒸馏水冲洗保存的根尖2次后,将根尖于解离液(95%乙醇与浓盐酸等体积混合)中处理10~15 min,倒掉解离液再用蒸馏水漂洗2次,切取根尖分生区置于载玻片上,加改良品红染色剂,同时用镊子捣碎并染色15 min,进行常规压片,每个处理至少观察10个根尖,每个根尖至少观察约1 000个细胞。

1.2.4 数据统计与分析 统计微核数,计算微核千分率,环境污染指数。

微核千分率(MCNF)%₀=(观察细胞中具有微核的细胞数/间期细胞总数)×1 000

环境污染指数(PI)=样品实测微核千分率的平均值/对照组微核千分率的平均值,(PI介于0~1.5为基本无污染;1.5~2.0为轻度污染;2.0~3.5为中度污染;3.5以上为重度污染^[4])。

所有数据均采用SPSS 18.0统计软件进行单因素方差分析,用LSD法进行多重比较,结果表示为平均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 蚕豆根尖的染毒症状

对照蒸馏水中的蚕豆根颜色形态良好,为白色或乳白色;海娜粉低溶液2.5%和5.0%处理的蚕豆根的颜色逐渐变深,由白色变为浅黄色、黄色;7.5%和10.0%海娜粉溶液处理过的根尖变为了褐色和深褐色。随着处理浓度增加根尖硬度增加。

2.2 海娜粉诱导蚕豆根尖细胞微核的显微观察

由图1可见,海娜粉处理后,蚕豆根尖细胞的主核旁边出现微核,为主核的1/3以下,着色与主核相近,其形态为圆形或椭圆形。

收稿日期:2014-04-16

基金项目:衡水学院大学生科技创新资助项目(2013100)

第一作者简介:吕亚慈(1982-),女,河北省安平县人,硕士,讲师,从事植物抗性生理及遗传育种研究。E-mail:lyc1982_zy@163.com。

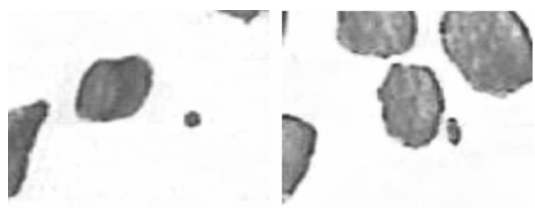


图1 海娜粉浸提液诱导蚕豆根尖细胞的微核现象
Fig.1 Micronucleus of *Vicia faba* root tip cells induced by Henna

2.3 对蚕豆根尖细胞微核率的统计

由表1可见,与对照相比,最低浓度海娜粉处理的蚕豆根尖细胞微核率为 $(6.89 \pm 0.82)\%$,7.5%的海娜粉浸提液处理过的根尖微核率最高,达到了 $(23.66 \pm 0.53)\%$,处理浓度最高的10.0%,海娜粉浸提液微核率为 $(19.52 \pm 0.75)\%$,各处理组之间的微核率也有显著差异。蚕豆根尖细胞微核率随海娜粉浓度的增大呈现先升高后下降的趋势。各浓度海娜粉浸提液的污染

表1 海娜粉浸提液对蚕豆根尖微核率的影响

Table 1 Effect of Henna extracts on micronucleus frequency of *Vicia faba* root tip cells

浸提液含量/% Content of leaching solution	微核率/% Micronucleus rate	污染指数 Pollution index
对照(CK)	2.98 ± 1.02	1.00
2.5	6.89 ± 0.82 a	2.31
5.0	13.66 ± 0.73 b**	4.58
7.5	23.66 ± 0.53 d**	7.94
10.0	19.52 ± 0.75 c**	6.55

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

Note: Different lowercases mean significant difference at 0.05 level, ** mean extremely significant difference between treatments and control at 0.01 level.

指数为2.31、4.58、7.94和6.55,2.5%的浸提液为中度污染,5.0%、7.5%和10.0%浓度的海娜粉浸提液为重度污染。

3 结论与讨论

从该试验的结果来看,海娜粉作为一种化学诱变剂,其中的有毒成分会攻击DNA残基,破坏其结构,打断染色体并形成断片,断片会随着细胞的有丝分裂最终形成微核;有毒因子也可能影响微管蛋白的合成及组装,抑制纺锤体的形成,或者打断已经形成的纺锤丝,从而使整条或多条染色体游离,这种情况下产生的微核体积较大。王虹^[5]等用洗涤剂对蚕豆根尖的毒性分析,随着洗涤剂浓度升高,微核率呈现先升高后降低的趋势。该试验观察到随着海娜粉浸提液浓度的升高,蚕豆微核率呈现先升高后降低的变化趋势,分析可能高浓度的海娜粉浸提液浓度会抑制细胞的正常生长,降低细胞有丝分裂。

目前关于海娜粉毒性的研究,田薇对^[6]海娜粉的急性毒性研究结果认为较少海娜粉无急性毒性、无刺激性,为天然染发剂,而该研究则认为海娜粉虽然没有急性毒性,但是它会对生物体造成慢性损伤,因此不能被认为是天然无毒的染发剂。综合分析海娜粉对蚕豆根尖细胞染色体的分裂和运动的影响是相当显著的,因此海娜粉染发剂对生物细胞造成慢性损伤,同时环境污染指数显示海娜粉也会对水环境造成一定的污染,应当注意生活污水的任意排放,提高环保意识。

参考文献:

- [1] Duann C Q, Wang H X. Cytogenetical toxic effects of heavy metal on *Vicia faba* and inquires into the *Vicia*-micronucleus[J]. Acta Bot Sin, 1995, 37(1): 14-24.
- [2] 王爽, 诸葛坚, 余应年. 微核与微核试验在遗传毒理学中的应用[J]. 癌变·畸变·突变, 2000(4): 253-255.
- [3] 王瑗珺, 王立平. 利用洋葱根尖微核技术对洗涤剂诱变效应的研究[J]. 河北北方学院学报, 2007, 23(2): 23-27.
- [4] 胡晓菊, 刘燕, 李杰, 等. 微核检测技术的应用[J]. 生物学通报, 2005, 40(9): 54-56.
- [5] 王虹, 武敏, 高媛. 三种洗涤剂对蚕豆根尖细胞遗传毒性的研究[J]. 西安文理学院学报, 2010, 13(3): 103-107.
- [6] 田薇, 陈艳. 新疆特有染发剂海娜粉的急性毒性研究[J]. 新疆医科大学学报, 2010, 33(8): 886-888.

Effect of Henna Powder on Micronucleus Rate of *Vicia faba* Root Tip Cell

LYU Ya-ci, SHI Li-ran, GAO Ru-yong, MA Jun

(College of Life Science, Hengshui University, Hengshui, Hebei 053000)

Abstract: In order to detect whether henna powder is the green nontoxic dye hair products, the genotoxicity of henna detergent on *Vicia faba* root tip cells was studied. The results showed that higher frequency of micronucleus could be induced by different concentrations of water extract from henna. With the increasing concentration of henna powder, the micronucleus rate was rising and then falling. It indicated that the *Vicia faba* root tip cell were very sensitive to the genotoxicity of henna, henna powder had pollution effect to the environment through the calculation of environmental pollution index.

Key words: henna; *Vicia faba*; micronucleus rate; environmental pollution indexes