

经香蕉皮粉末处理的硫酸铜溶液对蚕豆根尖微核率的影响

林鹤丹, 吴爱爱, 张连娣, 郭巧茹, 吴若菁

(福建师范大学 生命科学学院, 福建 福州 350108)

摘要:利用香蕉皮粉末处理硫酸铜溶液, 研究其对蚕豆根尖微核率的影响。结果表明:随着硫酸铜浓度的增加会导致蚕豆根尖细胞微核率增加, 当硫酸铜浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 与对照相比微核率达到极显著水平。而加入香蕉皮粉末进行吸附可以显著降低硫酸铜诱发的蚕豆根尖细胞微核率, LSD 分析的结果表明, 当加入香蕉皮粉末 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 与对照组相比微核率已无显著差异。说明香蕉皮有吸附铜离子的功能, 可以抑制铜离子对蚕豆的遗传毒理作用。

关键词:硫酸铜; 蚕豆; 微核; 香蕉皮; 抗突变性

中图分类号: S643.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2010)12-0028-03

铜(Cu)作为一种重金属元素对人体健康有很大的影响。人体摄入过量的Cu会引起一系列的病变^[1], 如肾功能障碍、心血管疾病、高血压、肺气肿及癌症等。随着矿业开采的迅速发展, 一些废矿石、尾矿因为处理不当, 导致 Cu^{2+} 被雨水冲刷后释出, 污染水源和土壤, 从而对人类的健康造成严重的危害。前人的研究发现, 香蕉皮具有吸附的作用, 在含有 Cu、Co、Mn、Zn 和 Pb 的污水中, 其金属离子的浓度在 $5 \sim 25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 可在 30°C 的条件下进行吸附^[2]。经干燥粉碎后的香蕉皮与铜离子模拟废水振荡吸附 7 h 后, 其吸附率可达 95% 以上^[3], 并证实随吸附时间的延长, 香蕉皮粉末的吸附效果加强。世界香蕉年产量达 7 000 多万 t, 大量香蕉皮遭废弃, 给环境造成严重污染。因此, 该文以蚕豆根尖微核为监测材料, 研究经香蕉皮粉末处理后硫酸铜溶液对蚕豆根尖微核率的影响。

1 材料与方 法

1.1 材 料

蚕豆(*Vicia faba* Linn.) 购买于福州市上渡农贸市场, 选择大小一致、没有病虫害、比较饱满的蚕豆作为试验材料。香蕉(*Musa nana* Lour.)

购买于福建师范大学学生街。试验所用的所有试剂药品均为国产分析纯。

1.2 方 法

1.2.1 蚕豆的催芽 蚕豆种子浸种 48 h, 每 12 h 换 1 次水, 充分吸胀后, 置于内有湿沙的塑料盆内, 在 28°C 培养箱中催芽。待蚕豆主根长到约 2.0 cm 时将其切掉, 再培养至须根长约 0.5 cm 时, 用于染毒试验。

1.2.2 试验溶液的制备 用去离子水将硫酸铜配制成浓度为 $100, 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液, 待用。香蕉皮粉末溶液制备: 将香蕉皮用水洗净, 于 60°C 烘箱干燥至恒重, 用粉碎机粉碎, 而后置于干燥器中保存备用。分别称取粉碎干燥好的香蕉皮粉末, 在配制好的硫酸铜溶液中按照 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的量添加。而后将配好的溶液分装于锥形瓶中, 在 ZHWY 摇床上按照恒温 30°C , $110 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡 7 h 后澄清过滤, 再置于 Xiang Yi H-1650 型离心机上按照恒温 4°C , $4\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min, 取上清液, 待用。

1.2.3 染毒试验 先对蚕豆根尖进行不同硫酸铜浓度的染毒试验, 根据试验结果选出达到显著性水平的浓度, 进行经香蕉皮粉末处理后的硫酸铜溶液对蚕豆根尖微核率的影响研究。

硫酸铜对蚕豆的染毒试验: 分别挑选长势良好、根长约 0.5 cm 的蚕豆置于浓度为 $100, 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硫酸铜溶液中水培, 染毒时间段分别为 24, 48 h, 每隔 24 h 换 1 次溶液。每个处理 3 次重复。分别用试验组 I、试验组 II 表示 2 种不同浓度的处理。用去离子水作阴性对照组。

香蕉皮粉末处理硫酸铜溶液对蚕豆根尖微核

收稿日期: 2010-09-20

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(2008J0065); 福建师范大学生物学国家级实验教学示范中心本科生创新实验资助项目(200911)

第一作者简介: 林鹤丹(1987-), 女, 福建省诏安县人, 在读学士, 从事生物科学研究。E-mail: 776240062@qq.com。

通讯作者: 吴若菁(1955-), 女, 福建省古田县人, 学士, 副教授, 硕士生导师, 从事林木遗传育种及遗传学研究。E-mail: genetic@fjnu.edu.cn。

率影响试验:挑选长势良好的蚕豆置于用香蕉皮粉末吸附处理过的硫酸铜溶液中水培,染毒时间分别为 24、48 h,每隔 24 h 换 1 次溶液。每个处理 3 次重复。用试验组 III 表示 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 香蕉皮粉末处理 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸铜溶液对蚕豆根尖微核率的影响试验。

1.2.4 制片镜检 切取经染毒处理的蚕豆根尖,用新配的卡诺氏固定液固定 24 h,转移至 70% 乙醇中保存,用时取出根尖漂洗数次,再用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 水解 8~12 min,水洗数次后,用改良石碳酸品红溶液染色 5~10 min 后,压片观察。

微核计数采用吴若菁等的方法^[4],即每次随机观察计数 2 000 个以上根尖细胞,统计微核细胞数,每个处理 3 次重复。

微核千分率/% = 微核细胞数/观察的细胞总数 $\times 1000$

蚕豆根尖细胞微核的识别标准参照陈光荣等所使用的方法^[5-6]。

1.2.5 数据分析 对试验所得数据采用 SPSS13.0 软件进行方差分析和 LSD 分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度硫酸铜对蚕豆根尖微核的影响

在试验中,用硫酸铜处理的蚕豆根尖会产生染色体断片(见图 1)和微核现象(见图 2)。从图 3 可见,当用硫酸铜浓度为 100 和 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理 24 h 时,微核率分别达到 0.67% 和 4.67%;当时间延长到 48 h 时,微核率升高到 1.33% 和 6.00%。因此,与对照组相比,试验各处理组均能诱发蚕豆根尖微核率的提高;不同浓度的硫酸铜溶液处理,随着浓度的加大,处理时间的延长,蚕豆根尖微核率出现上升趋势。

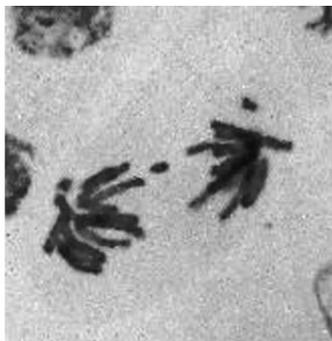


图 1 后期染色体断片

对 48 h 数据进行 LSD 检验发现,当硫酸铜溶液浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (试验组 I) 时,与对照相比,微核率有上升,但没有达到显著差异;当硫酸铜浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (试验组 II) 时,与对照相比,微核率上升



图 2 处理后出现的微核

明显,达到极显著差异($P < 0.01$) (见表 1)。

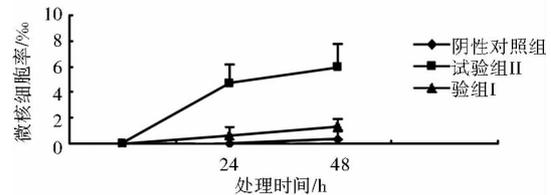


图 3 不同浓度硫酸铜溶液对蚕豆根尖微核率的影响

表 1 不同浓度硫酸铜溶液处理 48 h 微核率的 LSD 检验

处理	试验组 II	试验组 I
阴性对照组	5.667 **	1.000
试验组 I	4.667 **	

注: * 表示在 0.05 水平差异显著; ** 表示在 0.01 水平差异极显著。

2.2 香蕉皮粉末处理硫酸铜溶液对蚕豆根尖微核率的影响试验

从图 4 可以看出,处理 24 h 时,阴性对照的微核率为 0,未加入香蕉皮粉末的 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硫酸铜溶液处理组(试验组 II)的微核率为 4.67%,而在 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硫酸铜溶液中加入 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 香蕉皮粉末的处理组(试验组 III)微核率为 2%。处理 48 h 时,试验组 III 的微核率降至 0.67%,与阴性对照组的(0.33%)接近,而试验组 II 的微核率(6.00%)仍以上升的趋势在增加。可见,香蕉皮粉末对硫酸铜的抗突变性在 48 h 时的效果比 24 h 的显著。

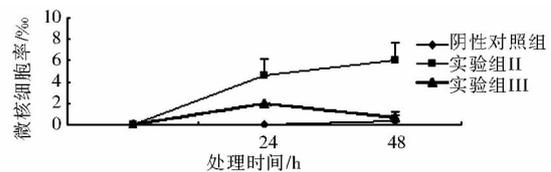


图 4 经香蕉皮粉末处理的硫酸铜溶液对蚕豆根尖微核率的影响

对 48 h 的数据进行 LSD 检验可以发现,在 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硫酸铜溶液中加入 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 香蕉皮粉末(试验组 III)与未加入香蕉皮粉末(试验组 II)相比,其微核率下降水平已达到极显著差异($P < 0.01$) (见表 2);与对照组相比,其微核率已无差异(见表 2)。说明:一定浓度的香蕉皮粉末具有显著抑制硫酸铜致突变的作用。

表 2 经香蕉皮粉末处理的硫酸铜溶液 48 h 微核率的 LSD 检验

处理	试验组 III	试验组 II
阴性对照组	3.333	5.667**
试验组 II	5.333**	

注: * 表示在 0.05 水平差异显著; ** 表示在 0.01 水平差异极显著。

3 结论与讨论

3.1 Cu²⁺ 对细胞染色体的损伤机理

研究表明, Cu 的可交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态稳定性差, 容易被植物吸收利用, 是 Cu 有效或较为有效的形态^[7-8], 对植物的潜在危害较大。其机理可能是: 重金属离子可以催化过氧化物产生高度活性的 ·OH 自由基, 这些活性自由基对糖残基的攻击引起 DNA 的碎裂、碱基丢失和有末端糖残基片段的链断裂, 导致产生染色体断片。此外, 若断裂的 DNA 链不能及时修复, 则会影响 DNA 的功能, 从而引发基因毒性, 影响微管蛋白合成、微管组装以及着丝粒的结构, 使染色体和纺锤体连接发生障碍, 结果则出现染色体分离异常, 产生落后染色体, 最终这些断片和落后染色体形成了微核^[9-10]。该试验的结果也证明 Cu²⁺ 胁迫处理下, 蚕豆根尖细胞产生的微核是来自于染色体断片。

3.2 香蕉皮粉末的抗突变机理

试验结果表明, 经过香蕉皮粉末处理过的硫酸铜溶液, 其蚕豆根尖细胞的微核率水平明显下降, 且与对照相比, 已无差异。表明一定浓度的香蕉皮粉末具有显著抑制硫酸铜致突变的作用。其机理可能是: 香蕉皮中的多糖、酚类、黄酮类、几丁质类、没食子儿茶酸和多巴胺也具有较强的抗氧化性^[11-12]。这些抗氧化功能的物质, 可以清除

DPPH· 自由基和 ·OH 自由基。因此具有抑制突变的作用。

香蕉皮粉末具有显著抑制硫酸铜致突变作用的发现, 不仅有助于进一步解决铜离子对植物造成的危害, 而且充分利用了废弃的香蕉皮, 防止香蕉皮造成的环境污染, 如果进一步开发将拥有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] 吴求量, 杨玉爱, 谢正苗, 等. 微量元素与生物健康[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2000.
- [2] Annadurai G, Juang R S, Lee D J. Adsorption of heavy metals from water using banana and orange peels[J]. Water Science and Technology, 2002, 47(1): 185-190.
- [3] 韩香云, 单学凯. 香蕉皮吸附废水中铜锌的研究[J]. 污染防治技术, 2008, 22(4): 13-14, 24.
- [4] 吴若菁, 庄捷, 黄婧, 等. 马尾松幼苗对模拟酸雨与铝胁迫的响应及其抗性机制[J]. 林业科学, 2009, 45(12): 22-29.
- [5] 陈光荣, 金波, 李明, 等. 利用蚕豆(*Vicia faba*)根尖的微核试验检测农药和诱变剂损伤[J]. 华中师学报, 1983(4): 69-75.
- [6] 陈光荣, 李明, 金波, 等. 利用蚕豆(*Vicia faba*)根尖的微核技术检测青山湖污染的研究[J]. 中国环境科学, 1985, 5(4): 2-7.
- [7] 马运宏, 范瑜, 胡维佳, 等. 重金属在土壤——作物系统中迁移分布规律的分析[J]. 江苏环境科技, 1995(1): 8-10.
- [8] 张维碟, 林琦, 陈英. 不同 Cu 形态在土壤-植物系统中的可利用性及其活性诱导[J]. 环境科学学报, 2003, 23(3): 376-381.
- [9] 吴若菁, 林子都, 文家友, 等. Cu²⁺ 对马尾松根尖细胞的染色体损伤研究[J]. 亚热带资源与环境学报, 2007, 2(3): 49-54.
- [10] 李仁茂, 陈蓉, 萧志成. 粤西地区四种香蕉皮的成份分析[J]. 湛江师范学院学报, 2001, 22(6): 42-45.
- [11] 冯尚坤. 香蕉皮中抗氧化物质的研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(5): 72-75.
- [12] Shinichi S, Yumiko Y, Kazuyoshi O. Antioxidant compounds from bananas(*Musa Cavendish*)[J]. Food Chemistry, 2002, 79(3): 351-354.

Effect of Copper Sulfate Solution Treated by Banana Peel Powder on Micronucleus Rate of *Vicia faba* Root Tip Cells

LIN He-dan, WU Ai-ai, ZHANG Lian-di, GUO Qiao-ru, WU Ruo-jing

(Life Sciences College of Fujian Normal University, Fuzhou, Fujian 350108)

Abstract: Using banana peel powder processing copper sulphate solution to study the effect on micronucleus rate of *Vicia faba* root tip cells. The results showed that; the increasing concentration of copper sulfate could result in micronucleus rate of *Vicia faba* root tip cells increased, when the copper sulfate concentration of 200 mg·L⁻¹, micronucleus rate difference achieved extremely significant compared with the control. To join the banana peel powder copper sulfate adsorption could significantly reduce the broad bean root tip cells induced micronuclei, LSD analysis showed that when adding banana peel powder 15 g·L⁻¹, micronucleus rate had no significant difference compared with the control. It described that banana peel had the function of copper ion adsorption and could inhibit copper ion bean genetic toxicological effects.

Key words: copper sulfate; broad bean; micronucleus; banana peel; antimutagenicity