

重铬酸钾对玉米根尖毒性效应的细胞遗传学研究

李国庆, 赵艳, 易岚, 殷杰, 贺庆芝, 秦志峰, 刘运莲

(南华大学生命科学与技术学院生物科学系, 湖南衡阳 421001)

摘要: 以玉米(*Zea mays* L.)根尖为材料, 研究了重铬酸钾($K_2Cr_2O_7$)对玉米根尖的致畸效应。以不同浓度的重铬酸钾为诱变剂, 测定玉米根尖细胞的微核率、有丝分裂指数和染色体畸变率。结果表明: 重铬酸钾能诱发较高频率的微核率, 即在一定的质量浓度范围内(0~25.0 mg/L)其微核率随重铬酸钾处理浓度的升高而增加, 但高于一定质量浓度(25.0~100.0 mg/L)反而呈下降趋势; 不同质量浓度的重铬酸钾均能使玉米根尖细胞有丝分裂指数增大, 还能诱导玉米根尖细胞产生较高频率的染色体畸变, 在质量浓度为50.0 mg/L时, 玉米根尖细胞的有丝分裂指数最大; 畸变率最高, 且产生多种类型的染色体畸变。因此, 重铬酸钾对玉米根尖细胞具有明显的致畸效应, 在一定范围内可以指示环境中重铬酸钾的污染程度。

关键词: 重铬酸钾($K_2Cr_2O_7$); 玉米(*Zea mays* L.); 微核率; 染色体畸变; 有丝分裂指数

中图分类号: Q343

文献标识码: A

文章编号: 1673-9833(2007)04-0051-04

Cytogenetic Toxic Effects of Potassium Dichromate on Root Tip Cells of *Zea mays* L.

Li Guoqing, Zhao Yan, Yi Lan, Yin Jie, He Qingzhi, Qin Zhifeng, Liu Yunlian

(Department of Biology, College of Life Science and Technology, University of South China, Hengyang Hunan 421001, China)

Abstract: The aberrant effects of different concentrations of potassium dichromate was studied by using *Zea mays* L. root tip cells. The micronucleus and chromosome aberration assay were conducted to determine the micronucleus frequencies and chromosome aberration frequencies of *Zea mays* L. root tip cells which induced by potassium dichromate. The result indicated that potassium dichromate could increase the micronucleus frequencies of *Zea mays* L. root tip cells. With certain range of concentration (0.0-25.0 mg/L) the frequencies of micronucleus was found to be increased with the increase of potassium dichromate concentration but beyond this range (25.0-100.0 mg/L) the frequencies of micronucleus decreased with further increase of potassium dichromate concentration. The potassium dichromate at different concentrations could increase the cell mitosis index. Besides, It also caused various types of chromosome aberration and the frequencies of chromosome aberration were always higher than that of the control group. The conclusion of this study was that potassium dichromate has obvious teratogenic effect on *Zea mays* L. root tip cells. In some degree the micronucleus frequencies of plant cells was able to show the grades of pollution of potassium dichromate in the environment.

Key words: potassium dichromate; maize (*Zea mays* L.); micronucleus frequency; chromosome aberration; mitotic index

铬(Cr)是一种银灰色、坚硬而耐腐蚀的金属, 有二价、三价和六价3种化合物。它是机体所需的一种微量元素, 能影响机体的整体和细胞水平的免疫功能^[1]。

当铬缺乏时会对生物体的生长发育起抑制作用, 而当铬水平过高时又会对生物机体产生毒害作用, 引起机体病变, 影响生物机体发育^[2-5]。六价铬化合物是强氧

收稿日期: 2007-05-22

作者简介: 李国庆(1976-), 男, 湖南华容人, 南华大学讲师, 硕士, 主要研究方向为细胞遗传学。

化剂,对生物和人体有毒性作用,且其毒性大于三价铬,对机体健康的不良影响国内外已有报道^[1,5]。重铬酸钾($K_2Cr_2O_7$)是1种六价铬化合物,呈粉末状晶体。研究表明,重铬酸钾可引起细胞的遗传性损伤,影响小鼠胚胎的发育^[5];还可引起藻类的遗传性损伤,诱导DNA突变^[6]。重铬酸钾对鲤鱼(*Cyprinus carpio* L.)胚胎毒性的研究表明,鲤鱼卵细胞和胚胎中的死亡率及畸变率与重铬酸钾的浓度呈一定的剂量关系^[7]。植物细胞微核、染色体畸变、有丝分裂指数等细胞遗传学指标被公认为是评价环境化学物质遗传性的有效方法之一,近年广泛应用于水生环境、工业排放物等的检测中^[8,9]。为此,本文研究了不同浓度的 $K_2Cr_2O_7$ 对玉米根尖细胞微核率、有丝分裂指数、染色体畸变率的影响,以期探明 $K_2Cr_2O_7$ 对植物的致畸作用,为玉米根尖细胞可以作为重金属铬污染地区指示性生物指标打下基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

玉米(*Zea mays* L.)品种为特选黄糯玉米,为南昌市沿江种苗生产。

$K_2Cr_2O_7$ 为分析纯,由武汉市中南化工厂生产。并将 $K_2Cr_2O_7$ 配制成12.5 mg/L、25.0 mg/L、50.0 mg/L、100.0 mg/L 4种不同质量浓度的溶液。

1.2 实验方法

植物染色体压片和微核制作方法参考文献^[10],并结合实际实验情况进行了改进。

选取饱满、大小均匀的蚕豆干种子于蒸馏水中浸泡1d,使其吸胀,然后置于垫有湿纱布的培养皿中,于26℃的恒温箱中培养,使其发芽。每隔12h换水1次,待根尖长至1~2cm左右时,选取生长良好的根尖备用。将备用的根尖(不要将其从种子上剪下)分成5组,分别用蒸馏水及12.5 mg/L、25 mg/L、50 mg/L、100 mg/L 4种质量浓度的 $K_2Cr_2O_7$ 溶液处理6h,用蒸馏水恢复培养24h,切取根尖,放入新配制的卡诺氏固定液(无水乙醇与冰醋酸的体积比为3:1)中固定24h,置于70%酒精中,并放置于设置温度为4℃的冰箱中保存。将蚕豆根尖从4℃的70%酒精中取出,用蒸馏水漂洗数次后晾干,加入1 mol/L的盐酸,于62℃的恒温水浴中解离,至根尖呈乳白半透明时取出(大约12 min),将解离后的根尖用蒸馏水漂洗后晾干,放在染色皿内,滴上适量的改良的石炭酸染色液,染色2~3h,待染色充分后,切取根尖前端约2mm的根尖,压片、镜检观察,并统计细胞有丝分裂指数、微核千分率、染色体畸变百分率。然后运用统计学,采用Duncan检测进行方差分析。

1.3 重铬酸钾废液的处理

重铬酸钾废液的处理方法为铁氧体法,具体参见文献^[11]。

2 实验结果

2.1 $K_2Cr_2O_7$ 对玉米根尖细胞的微核率的影响

实验所得 $K_2Cr_2O_7$ 对玉米根尖细胞的微核率的影响数据见表1。

表1 $K_2Cr_2O_7$ 对玉米根尖细胞微核率的影响

Table 1 Influence of micronucleus induced by potassium dichromate solutions in *Zea mays* L. root tips

组别	$K_2Cr_2O_7$ 质量浓度/(mg·L ⁻¹)	根尖数 <i>n</i>	每条根尖中, 1 000 个间期细胞中的微核数	微核率/% ($\bar{x} \pm s$)
1	0	10	2、1、0、0、2、2、2、0、1、1	1.10 ± 0.88
2	12.5	10	4、5、5、6、4、7、5、6、6、7	5.50 ± 1.088***
3	25	10	15、14、11、15、14、14、13、13、17、15	11.70 ± 1.26***
4	50	10	10、13、12、11、9、12、9、11、10、13	11.0 ± 1.49***
5	100	10	9、8、11、10、8、8、11、10、9、8	9.20 ± 1.16***

注:均与对照组比较,***表示 $P<0.001$ 。

由表1可知, $K_2Cr_2O_7$ 能诱发较高频率的微核。即4个不同浓度的 $K_2Cr_2O_7$ 诱发的微核率明显高于对照组($P<0.001$)。且任意实验组的微核率与其余组差异显著($P<0.05$),其中组3的微核率为最大值。在实验范围内,微核率随着 $K_2Cr_2O_7$ 浓度的升高而增加,在25.0 mg/L时达到最大值(11.7% ± 1.26%)。随着 $K_2Cr_2O_7$ 浓度的进一步升高(25.0 mg/L~100.0 mg/L)微核率反而下降。组4的微核率明显低于组3($P<0.001$)。

2.2 重铬酸钾对玉米根尖细胞有丝分裂指数的影响

$K_2Cr_2O_7$ 对玉米根尖细胞有丝分裂指数的影响数据见表2。4个实验组与组1(对照组)比较,有丝分裂指数差异极为显著($P<0.001$),分裂指数随着 $K_2Cr_2O_7$ 浓度的升高而增加,在50.0 mg/L处达到最大值(10.78% ± 0.94%);随着 $K_2Cr_2O_7$ 浓度的进一步升高(50.0 mg/L~100.0 mg/L)分裂指数反而下降。结果显示,不同浓度的 $K_2Cr_2O_7$ 对玉米根尖细胞有丝分裂指数的影响不同。

表2 重铬酸钾对玉米根尖细胞有丝分裂指数的影响

Table 2 The mitotic influence in *Zea mays* L. root tips exposed to the potassium dichromate solutions

组别	根尖数 n	各根尖分裂指数(x) %	平均分裂指数($\bar{x} \pm s$) %
1	10	4.0、4.0、3.8、4.1、4.4、4.2、4.5、4.3、3.9、4.2	4.14 ± 0.22
2	10	6.1、5.8、6.6、6.9、6.8、6.0、7.1、6.9、6.6、6.7	6.55 ± 0.44***
3	10	8.1、8.3、9.0、9.1、8.5、7.8、9.2、8.5、8.7、7.9	8.51 ± 0.49***
4	10	10.1、10.5、11.3、9.8、9.7、12.8、10.3、11.2、10.6、11.5	10.78 ± 0.94***
5	10	8.9、9.4、9.2、9.0、8.8、8.7、9.5、9.3、8.9、9.1	9.08 ± 0.27***

注: 均与对照组比较, ***表示 $P < 0.001$ 。

2.3 重铬酸钾对玉米根尖细胞染色体畸变的影响

判断染色体畸变的类型参考钱晓薇的 $K_2Cr_2O_7$ 对蚕豆根尖细胞致畸效应的研究^[12]。从压片的结果可知, $K_2Cr_2O_7$ 对玉米根尖细胞分生组织细胞有丝分裂的影响在细胞周期中的前期、中期、后期、末期均发现异常现象。从表3可见, $K_2Cr_2O_7$ 明显有诱发玉米根

尖细胞染色体畸变的作用。4个实验组的染色体畸变数明显高于对照组 ($P < 0.001$), 染色体畸变数随着重铬酸钾浓度的升高而增加, 在 50.0 mg/L 达到最大值 (6.08 % ± 0.40 %); 随着 $K_2Cr_2O_7$ 浓度的进一步升高 (50.0 mg/L ~ 100.0 mg/L) 染色体畸变数反而下降, 具体结果见表3。

表3 重铬酸钾对玉米根尖细胞染色体畸变率的影响

Table 3 Chromosome aberrations induced by potassium dichromate solutions in *Zea mays* L. root tips

组别	根尖数 n	每条根尖中 1 000 个间期细胞中染色体畸变数	总染色体畸变率 ($\bar{x} \pm s$) %
1	10	6、5、8、7、8、6、5、7、7、9	0.68 ± 0.13
2	10	25、23、25、27、22、26、24、25、24、28	2.49 ± 0.32***
3	10	34、30、32、38、33、32、34、35、36、37	3.41 ± 0.25***
4	10	62、64、68、60、58、65、58、55、57、61	6.08 ± 0.40***
5	10	48、51、54、47、55、53、48、49、51、50	5.06 ± 0.27***

注: 均与对照组比较, ***表示 $P < 0.001$ 。

3 分析与讨论

本实验发现, 重铬酸钾能诱发玉米根尖细胞较高频率的微核率, 并且在用质量浓度为 25.0 mg/L 的 $K_2Cr_2O_7$ 处理时其微核率最高。质量浓度在 0 ~ 25.0 mg/L 的范围内, 微核率随 $K_2Cr_2O_7$ 浓度的升高而增加。这可能是因为, 随着处理浓度的升高, $K_2Cr_2O_7$ 对玉米根尖细胞的遗传物质损害作用加强, 染色体畸变率升高, 微核率也随之增加。在 $K_2Cr_2O_7$ 质量浓度达到 25.0 mg/L 时微核出现高峰, 明显高于对照组和其他浓度处理组, 但是当 $K_2Cr_2O_7$ 浓度继续升高后, 微核率反而呈下降趋势。这可能是因为较高浓度的 $K_2Cr_2O_7$ 可以导致玉米根尖内染色体畸变的产生, 还可以有效阻止细胞内有丝分裂器的微管蛋白的聚合作用而使细胞停留在分裂期, 进而使间期的微核率下降, 所以质量浓度在 25.0 ~ 100.0 mg/L 范围内微核率出现下降趋势。这种 $K_2Cr_2O_7$ 诱发玉米根尖细胞微核率的变化与 $K_2Cr_2O_7$ 诱发蚕豆根尖细胞微核率的变化基本一致, 只是浓度有差异, 诱发蚕豆根尖细胞微核率最高时 $K_2Cr_2O_7$ 的质量浓度为 50.0 mg/L^[12]。

$K_2Cr_2O_7$ 还能引起玉米分生组织细胞的分裂指数上

升。但在4个实验浓度中, 质量浓度为 50.0 mg/L 所诱发的分裂指数最高 (10.78 ± 0.94 %)。随着浓度的升高, 分裂指数反而有所下降, 这可能是由于 $K_2Cr_2O_7$ 在某一浓度以下时, 会延长细胞分裂时间, 缩短分裂间期的间隔, 且分裂水平高于正常水平; 但随着浓度的不断上升, 情况同低浓度下的刚好相反。高浓度的诱变剂对细胞毒害远远大于细胞的适应性, 会强烈抑制细胞分裂。 $K_2Cr_2O_7$ 引起玉米分生组织细胞的分裂指数变化与 $K_2Cr_2O_7$ 引起蚕豆分生组织细胞的分裂指数变化有相似之处^[12]。

实验表明, 不同浓度的 $K_2Cr_2O_7$ 均能导致多种类型的畸变, 染色体畸变数随 $K_2Cr_2O_7$ 浓度的升高而呈上升趋势, 质量浓度在 50 mg/L 时染色体的畸变率最大 (6.08 % ± 0.40 %) 明显高于对照组 ($P < 0.001$)。但当浓度继续上升时, 畸变率反而呈下降趋势。染色体畸变可能有以下途径: 一是药物直接作用于 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、蛋白质的合成或 RNA 的转录, 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; 三是药物还可以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, 而形

成新的重接,出现染色体桥、片段的重排。落后染色体及未及赤道的染色体可能是由于 $K_2Cr_2O_7$ 破坏了纺锤丝的功能或形成,也可能是干扰了染色体某些自身的运动规律而使染色体不能及时到达赤道面^[12]。

陈霆发现, NaN_3 对玉米根尖有明显的诱变效应,崔文峰等用不同梯度质量浓度的硫酸高铈对玉米根尖细胞进行染毒处理,结果表明,当 Ce^{4+} 的质量浓度大于或等于 10 mg/L 时,玉米根尖细胞的微核率上升显著,当 Ce^{4+} 质量浓度达到 $1\ 000\text{ mg/L}$ 时,玉米根尖细胞的有丝分裂指数具有显著性下降。本实验的结果说明,环境污染物对玉米根尖细胞具有一定的遗传毒性和细胞毒性,玉米根尖细胞将会成为监测环境污染的好材料。^[13, 14]

De Lemos CT等把黑头软口鲮(*Pimephales promelas*)饲养于一定浓度的 $K_2Cr_2O_7$ 水环境中,发现能够引起黑头软口鲮红细胞高的微核率。^[15] de la Sierra E等发现, $K_2Cr_2O_7$ 能够引起克氏原螯虾(*Procambarus clarkia*)血细胞微核率明显提高。^[16]原福胜等发现 $K_2Cr_2O_7$ 可导致人双核淋巴细胞微核增加。^[17]这些表明, $K_2Cr_2O_7$ 在一定剂量时可对动物及人的细胞遗传物质具有一定致突变作用。本实验过程中发现,分裂细胞中有大量的染色体片段、染色体桥的出现,说明 $K_2Cr_2O_7$ 对玉米根尖细胞染色体的主要组成物质DNA的结构组成可能有一定影响。钱晓薇的相关研究^[12]结果说明, $K_2Cr_2O_7$ 对植物根尖分生组织具有明显的致畸作用,其致畸作用的详细机制有待于进一步的研究和探讨。

参考文献:

- [1] Shrivastava R, Upretir K, Sethp K, et al. Effects of chromium on the immune system[J]. FEMS Immunol Med Microbial, 2002, 34 (1): 1-7.
- [2] Fatima S, Arivarasu NA, Banday A A, et al. Effect of potassium dichromate on renal brush border membrane enzymes and phosphate transport in rats[J]. Hum Exp Toxicol, 2005, 24 (12): 631-638.
- [3] Mcc baggett J, Berndt WO. Renal function in the rat after treatment with mercuric chloride plus potassium dichromate [J]. Toxicol. Sci, 1986, 6 (1): 98-104.
- [4] Choi J, Roche H. Effect of Potassium Dichromate and Fenitrothion on Hemoglobins of *Chironomus Riparius* Mg. (*Diptera, Chironomidae*) Larvae: Potential Biomarker of Environmental Monitoring[J]. Environ Monit Assess, 2004, 92 (1-3): 229-239.
- [5] Iijima S, Spindle A, Pedersen DR A. Developmental and cytogenetic effects of potassium dichromate on mouse embryos in vitro[J]. Teratology, 2005, 27 (1): 109-115.
- [6] Labra M, Bernasconi M, Grassi F, et al. Toxic and genotoxic effects of potassium dichromate in *Pseudokirchneriella subcapitata* detected by microscopy and AFLP marker analysis [J]. Aquatic Botany, 2007, 86 (3): 229-235.
- [7] Krejčí R, Palíková M. Potassium dichromate as a reference substance for embryonic tests of toxicity in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Acat Vet Brno, 2006, 75: 259-263.
- [8] Abdel Migid HM, Azab YA, Ibrahim WM. Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2007, 66(1): 57-59.
- [9] Majer BJ, Grummt T, Uhi M, et al. Use of plant bioassays for the detection of genotoxins in the aquatic environment[J]. Acta hydrochim. hydrobiol, 2005, 33 (1): 45-55.
- [10] 刘祖洞, 江绍慧. 遗传学实验[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 1987.
- [11] 关淑霞, 朱建喜, 于凯. 铁氧体法处理含铬废水[J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 2006, 22 (6): 75-78.
- [12] 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.
- [13] 陈霆. 谈用玉米根尖微核技术监测环境污染的研究[J]. 呼伦贝尔学院学报, 2003, 11 (5): 85-87.
- [14] 崔文峰, 立宗芸, 薄军, 等. Ce^{4+} 对玉米根尖细胞微核及有丝分裂的影响[J]. 徐州师范大学学报, 2005, 23 (1): 64-67.
- [15] De Lemos CT, Rödel PM, Terra NR, et al. Evaluation of basal micronucleus frequency and hexavalent chromium effects in fish erythrocytes[J]. Environ Toxicol Chem, 2001, 20 (6): 1320-1324.
- [16] De la Sierra E, Armienta MA, Gonsebatt ME. Potassium dichromate increases the micronucleus frequency in the crayfish *Procambarus clarkia*[J]. Environ pollut, 2003, 126 (3): 367-370.
- [17] 原福胜, 马亚萍. 双核淋巴细胞微核试验检测4种重金属的诱变性[J]. 中国公共卫生, 1999, 15 (6): 467-468.