

3种维生素对亚硝酸钠致蚕豆根尖细胞微核效应的影响

赵 昕, 胡英考, 蔡民华, 胡晓菊, 李雅轩 *
(首都师范大学生命科学学院, 北京 100048)

摘 要: 利用蚕豆根尖微核技术研究3种维生素对细胞分裂的影响以及对亚硝酸钠致微核效应的拮抗作用。统计分析表明, 适当质量分数的VC、核黄素、烟酸都能显著降低NaNO₂引起的蚕豆根尖细胞微核率, 能够很好地对NaNO₂的致畸效应起到拮抗作用。同时也发现当维生素质量分数过高时也会提高细胞的微核率, 对细胞有损伤作用。结论: 适量维生素可拮抗有毒物质亚硝酸钠对蚕豆根尖正常细胞的破坏作用。

关键词: 蚕豆; 微核率; 维生素; NaNO₂; SPSS

Effect of Vitamin on Nitrite-induced Micronucleus of *Vicia faba* Root Tip Cells

ZHAO Xin, HU Ying-kao, CAI Min-hua, HU Xiao-ju, LI Ya-xuan*
(College of Life Science, Capital Normal University, Beijing 100048, China)

Abstract: Nitrite has been widely used as the preservative at the low dosage in foods. However, it also exhibits obvious teratogenic and carcinogenic effects. In this study, the micronucleus technique of *Vicia faba* root tips was used to investigate the effects of three kinds of vitamin on cell division and nitrite-induced micronucleus appearing. Results indicated that vitamin C, riboflavin and niacin at the appropriate amount could all obviously reduce the micronucleus rate and exhibited an excellent antagonistic effect on nitrite-induced carcinogenesis. Meanwhile, excessive vitamin concentration could also result in the improvement of micronucleus frequency and destroy root tip cells. Therefore, vitamin at appropriate amount can inhibit the damage of cells due to nitrite, which suggests that it is necessary for us paying attention to the dosage during the intake of vitamin supplements.

Key words: *Vicia faba*; micronucleus rate; vitamin; nitrite; SPSS

中图分类号: Q319.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)05-0240-04

亚硝酸钠作为一种防腐剂和腌制剂, 广泛存在于多种食品中, 与人们的生活息息相关。但是亚硝酸钠又是一种对人体极其有害的物质, 可引起高铁血红蛋白症, 同时亚硝酸钠还是一种很强的致癌物质——亚硝胺合成的前体, 且具有剂量效应, 长期少量接触亦可诱导癌症的发生。

遗传毒理学研究中经常采用微核技术进行化合物致突变性检测、环境污染监测、新药实验及癌症前期诊断等^[1], 它是一种遗传毒理方面的短期致突变的实验方法, 具有敏感度高, 快速经济, 不需要精尖设备等优点^[2-4]。在研究中发现植物细胞同动物细胞一样能反映环境因素对真核生物细胞遗传效应的影响, 植物微核检测

方法与动物学检测方法具有高度一致性, 可以达到99%以上^[5]。因此, 蚕豆根尖微核技术对研究某些物质对人体的影响作用有一定的指导意义。

维生素在生物体正常的生理生化机能中具有重要的作用, 本实验选用3种维生素: VC、VB₂或称为核黄素(riboflavin, RBF)以及V_{pp}即烟酸(niacin), 研究这3种水溶性维生素对植物细胞分裂的影响及以及对亚硝酸钠致畸效应的拮抗作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蚕豆(*Vicia faba*)购自中国农业科学院品种资源所;

收稿日期: 2009-05-31

作者简介: 赵昕(1975—), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为遗传学。E-mail: zhaox0521@126.com

* 通信作者: 李雅轩(1965—), 女, 副教授, 硕士, 研究方向为细胞分子遗传学。E-mail: lyx1006@sohu.com

NaNO₂、VC、VB₂、V_{PP}均为分析纯。

1.2 方法

蚕豆选取籽粒饱满均匀者,置烧杯中,23℃蒸馏水浸泡24h,吸胀后置铺有纱布的搪瓷盘中,经常换水,23℃培养至侧根长出0.5cm时,对照组进行固定。处理组分别用3种不同质量分数的维生素溶液处理根尖6h,再换蒸馏水修复培养24h。常规固定,制片,观察。每个处理因素及相关对照各选取6个根尖,观察计数6000个细胞,观察并记录其中所含微核及分裂相的数量。同时以不同质量分数(10%、1%、0.1%)的亚硝酸钠溶液对蚕豆根尖细胞进行处理,经比较选取0.1% NaNO₂作为阳性对照(CK₂),观察加入不同质量分数的VC、VB₂或V_{PP}溶液与0.1%NaNO₂共同作用后的细胞微核数目,分析3种维生素的拮抗作用,观察统计方法如前所述。

1.3 数据处理

利用SPSS软件对实验结果进行数据分析。应用Independent-samples T Test分析各处理与对照间的差异性。首先进行等方差检验,当其概率值大于0.05时,表明为齐性方差,否则为非齐性方差。由对应的 t 值及相应的概率值确定差异的显著性。

2 结果与分析

2.1 亚硝酸钠对蚕豆根尖细胞分裂的影响

以不同质量分数(10%、1%、0.1%)的亚硝酸钠溶液对蚕豆根尖细胞进行处理,观察其结果:对照1(CK₁)、

10%、1%、0.1%亚硝酸钠处理的蚕豆根尖细胞微核率分别为(2.67 ± 0.21)%、(47.3 ± 3.5)%、(39.2 ± 6.92)%和(11.0 ± 1.03)%。四者的有丝分裂指数分别为:4.85、1.4、1.95和1.77。

实验结果显示:以不同质量分数NaNO₂处理根尖,表观可见根尖发黑,细胞学观察可见NaNO₂溶液可引起根尖细胞发生不同程度的染色体损伤,而且质量分数越高,引起细胞损伤的程度越高。高质量分数时,许多细胞核内染色质呈分散团块状,引发细胞凋亡。以较高质量分数NaNO₂处理蚕豆根尖可导致细胞有丝分裂指数下降,说明NaNO₂具有抑制蚕豆根尖细胞分裂的作用。

将对照组与3个处理之间的微核数进行 t 检验,其 t 值分别为:31.21、12.91、19.37。说明以3种质量分数进行处理,对照组与处理组之间微核的发生有着极显著的差异,即该质量分数范围内的NaNO₂均可以引起细胞染色体损伤,导致细胞内微核数目增多。对实验结果进行方差分析, F 检验的结果表明,各质量分数的NaNO₂处理组间微核率差异极显著。

结果分析显示:0.1%的NaNO₂就可引起非常显著的致畸效应,因此在后续研究维生素的拮抗作用时以0.1% NaNO₂作为阳性对照(CK₂)分析3种维生素的拮抗作用。

2.2 3种维生素对蚕豆根尖细胞有丝分裂的影响

以不同质量分数的3种维生素溶液处理蚕豆根尖,可引起细胞微核发生率的改变,结果见表1。

表1 3种维生素处理蚕豆根尖细胞所产生微核数及各处理与对照 F 检验和 t 检验结果

Table 1 Micronucleus rates of *Vicia faba* root tip cells individually treated with three kinds of vitamin and corresponding F and t -test results

处理微核数	处理组	质量分数/%	方差齐性检验		t 检验	
			F	P	t	P
67(12、10、13、9、12、11)	VC	1	5.559	0.040	-13.347	0.000 **
46(5、7、7、8、9、10)	VC	0.5	4.923	0.051	-6.708	0.000 **
25(3、4、4、5、4、5)	VC	0.1	0.328	0.580	-4.025	0.002 **
12(2、3、2、2、1、2)	VC	0.05	0.250	0.628	2.000	0.073
12(2、1、1、2、3、3)	VC	0.01	1.000	0.341	1.581	0.145
6(2、1、0、1、0、2)	VC	0.005	1.000	0.341	3.953	0.003 **
50(12、10、8、7、7、6)	VB ₂	1	8.812	0.017	-6.010	0.001 **
21(5、4、4、3、3、2)	VB ₂	0.5	3.063	0.111	-1.746	0.111
20(5、4、3、3、3、2)	VB ₂	0.1	1.800	0.209	-1.414	0.188
12(3、3、2、2、1、1)	VB ₂	0.05	1.000	0.341	1.581	0.145
10(2、2、1、2、1、2)	VB ₂	0.01	0.000	1.000	3.345	0.007 **
105(20、16、17、19、16、17)	V _{PP}	1	7.950	0.018	-21.095	0.000 **
106(19、17、20、18、17、15)	V _{PP}	0.5	4.923	0.051	-20.125	0.000 **
84(14、15、13、14、12、16)	V _{PP}	0.1	2.232	0.166	-18.439	0.000 **
64(12、11、10、9、9、13)	V _{PP}	0.05	8.421	0.016	-11.442	0.000 **
24(5、3、4、5、4、3)	V _{PP}	0.01	1.000	0.341	-3.162	0.010 *
6(1、2、0、0、2、1)	V _{PP}	0.005	1.000	0.341	3.953	0.003 **
5(1、2、0、0、0、2)	V _{PP}	0.001	5.568	0.040	4.044	0.004 **
5(0、2、0、1、1、1)	V _{PP}	0.0005	0.328	0.058	4.919	0.001 **

注:*.差异显著;**.差异极显著;处理微核数一栏括号内为每1000个细胞观察到的微核数。下同。对照CK₁微核数16(2、3、3、3、3、2)。

从表 1 可以看出,以不同质量分数的 VC 处理蚕豆根尖,当质量分数为 1%~0.1% 时, P 值分别为 0.000、0.000、0.002,均小于 0.01,说明各处理与对照间差异极显著;当质量分数为 0.05%~0.01% 时, P 值分别为 0.073、0.145,均大于 0.05,说明各处理与对照间无显著差异;当质量分数为 0.005% 时, P 值为 0.003,小于 0.01,说明该处理与对照间差异极显著。以上结果显示:VC 在较高质量分数(1%~0.1%)时,对遗传物质有损伤作用,可以显著增大微核发生的比率;而在低质量分数(0.005%)时,对遗传物质有保护作用,可以显著降低微核的发生率。

以不同质量分数 VB₂ 处理实验材料,结果显示当质量分数为 1% 时, P 值为 0.001,小于 0.01,说明处理与对照间差异极显著;当质量分数为 0.5%~0.05% 时, P 值分别为 0.111、0.188、0.145,均大于 0.05,说明各处理与对照间无显著差异,当质量分数为 0.01% 时, P 值为 0.007,小于 0.01,说明该处理与对照间差异极显著。以上结果显示:VB₂ 在较高质量分数(1%)时,对遗传物质有损伤作用,可以显著增大微核发生的比率;而在低质量分数(0.01%)时,处理结果与对照间有明显差异。

以不同质量分数 V_{PP} 处理实验材料结果显示:当质量分数为 1%~0.05% 时, P 值均为 0.000,小于 0.01,说明各处理与对照间差异极显著;当质量分数为 0.01% 时, P 值为 0.010,小于 0.05,说明各处理与对照间差异显著;当质量分数为 0.005%~0.0005% 时, P 值分别

为 0.003、0.004、0.001,均小于 0.01,说明各处理与对照间差异极显著。以上结果显示:V_{PP} 在较高质量分数(1%~0.01%)时,对遗传物质有损伤作用,可以显著增大微核发生的比率;而在低质量分数(0.005%~0.0005%)时,对遗传物质有保护作用,可以显著降低微核的发生率。

2.3 3 种维生素对亚硝酸钠致畸效应的拮抗作用

以质量分数为 0.1% 的 NaNO₂ 作为阳性对照组(CK₂),观察加入不同质量分数的 VC、VB₂ 或 V_{PP} 溶液与 0.1% NaNO₂ 共同作用后的细胞微核数目,结果见表 2。

从表 2 可以看出,以 VC 与 NaNO₂ 处理蚕豆根尖细胞时,当质量分数为 1% 时, P 值为 0.026,小于 0.05,说明处理与对照间差异显著;当质量分数为 0.5% 时, P 值为 0.808,大于 0.05,说明该处理与对照间无显著差异;当质量分数为 0.1%~0.005% 时, P 值分别为 0.013、0.001、0.000、0.000,均小于 0.05,说明各处理与对照间差异显著或差异极显著。以上结果显示:VC 在较高质量分数(1%)时,对遗传物质有损伤作用,可以显著增大微核发生的比率;而在低质量分数(0.1%~0.005%)时,对遗传物质有保护作用,可拮抗由 NaNO₂ 引起的遗传物质损伤,显著降低微核的发生率。

以 VB₂ 与 NaNO₂ 处理蚕豆根尖细胞,当质量分数为 1% 时, P 值为 0.000,小于 0.01,说明处理与对照间差异极显著;当质量分数为 0.5%~0.1% 时, P 值分别为 0.122,0.544,均大于 0.05,说明各处理与对照间无

表 2 3 种维生素与 NaNO₂ 联合处理蚕豆根尖细胞所产生微核数及各处理与对照 F 检验和 t 检验结果
Table 2 Micronucleus rates of *Vicia faba* root tip cells treated with one of three kinds of vitamin combined with nitrite and corresponding F and t -test results

处理微核数	处理组	质量分数/%	方差齐性检验		t 检验	
			F	P	t	P
87(16、11、14、17、15、14)	VC	1	0.469	0.509	-2.621	0.026 *
64(12、13、11、10、7、11)	VC	0.5	0.551	0.475	0.250	0.808
43(5、6、6、8、8、10)	VC	0.1	0.662	0.435	3.005	0.013 *
30(4、5、5、6、6、4)	VC	0.05	5.714	0.038	5.477	0.001 **
24(3、3、4、6、5、3)	VC	0.01	3.000	0.114	6.062	0.000 **
17(2、3、3、3、4、2)	VC	0.005	6.969	0.025	7.579	0.000 **
142(30、28、23、22、21、19)	VB ₂	1	2.264	0.163	-6.342	0.000 **
80(16、15、15、12、11、11)	VB ₂	0.5	0.000	1.000	-1.688	0.122
61(12、13、10、10、8、8)	VB ₂	0.1	0.414	0.534	0.628	0.544
46(10、8、8、7、7、6)	VB ₂	0.05	2.647	0.135	2.840	0.018 *
40(8、6、7、7、8、4)	VB ₂	0.01	1.988	0.189	3.606	0.005 **
113(19、18、20、17、21、18)	V _{PP}	1	1.953	0.192	-6.556	0.000 **
102(15、17、18、19、17、16)	V _{PP}	0.5	2.500	0.145	-5.071	0.000 **
87(14、13、15、12、17、16)	V _{PP}	0.1	0.625	0.448	-2.725	0.021 *
80(14、13、12、15、12、14)	V _{PP}	0.05	3.214	0.103	-2.038	0.069
61(12、11、9、10、9、10)	V _{PP}	0.01	3.670	0.084	0.732	0.481
50(8、9、7、10、9、7)	V _{PP}	0.005	3.214	0.103	2.329	0.042 *
32(5、4、6、5、5、7)	V _{PP}	0.001	4.618	0.057	5.080	0.000 **
30(6、5、5、5、5、4)	V _{PP}	0.0005	8.929	0.014	5.636	0.002 **

注:对照(0.1%NaNO₂)CK₂微核数:66(12、15、9、8、12、10)。

显著差异;当质量分数为0.05%~0.01%时, P 值分别为0.018和0.005,均小于0.05,说明该处理与对照间差异显著。以上结果显示:VB₂在较高质量分数(1%)时,对遗传物质有损伤作用,可以显著增大微核发生的比率;而在低质量分数(0.05%~0.01%)时,对遗传物质有保护作用,可拮抗由NaNO₂引起的遗传物质损伤,显著降低微核的发生率。

以V_{pp}与NaNO₂处理蚕豆根尖细胞,当质量分数为1%~0.1%时, P 值分别为0.000、0.000、0.021,均小于0.05,说明各处理与对照间差异显著;当质量分数为0.05%~0.01%时, P 值分别为0.069、0.481,均大于0.05,说明各处理与对照间差异不显著。当质量分数为0.005%~0.0005%时, P 值分别为0.042、0.000、0.002,均小于0.05,说明各处理与对照间差异显著。以上结果显示:V_{pp}在较高质量分数(1%~0.1%)时,对遗传物质有损伤作用,可以显著增大微核的发生率;而在低质量分数(0.005%~0.0005%)时,对遗传物质显示出保护作用,显著降低微核的发生率。

3 结 论

本实验研究了VC, VB₂和V_{pp}这3种维生素对植物细胞分裂的影响以及它们对亚硝酸钠致畸效应的拮抗作用,3种维生素处理结果均表现为在高浓度时可以导致

遗传物质发生损伤,使微核发生千分率增高。而低浓度的维生素可以起到抑制染色体损伤或修复染色体损伤的作用,表现为微核率显著降低。实验结果与前人的研究结果具有一致性,同时对前人的工作进行了进一步的补充,尤其在不同维生素的质量分数效应方面进行了详细的研究,与前人在维生素作用原理方面的研究起到相互印证的作用^[6-8]。结果提示:在补充维生素的时候,一定要注意适量的原则。

参考文献:

- [1] 邢卫平,赵恒奎,姜宗荣.微核及微核试验在遗传毒理学中的应用[J].安徽预防医学杂志,2002,8(5):317-320.
- [2] 金波,陈光荣.遗传毒理与环境检测[M].武汉:华中师范大学出版社,1998.
- [3] 曹佳,林真,余争平.微核试验原理、方法及其在人群监测和毒性评价中的应用[M].北京:军事医学科学出版社,2000.
- [4] 钱晓薇,朱小春,陈哲晓,等.三氧化二砷(As₂O₃)对蚕豆根尖毒性效应的细胞遗传学研究[J].遗传,2002,24(3):305-309.
- [5] 王映雪.微核技术在环境监测中的应用概况[J].云南环境科学,2000,12(19):53-55.
- [6] 陈坤明,宫海军,王锁民.植物抗坏血酸的生物合成、转运及其生物学功能[J].西北植物学报,2004,24(2):329-336.
- [7] 张连文,林维真,潘景喜,等.核黄素光敏损伤DNA的凝胶电泳[J].中国科学C辑:生命科学,2001,31(2):178-184.
- [8] 刘官树,陆长元,姚思德,等.核黄素体外辐射增敏机理研究[J].中国科学C辑:生命科学,2001,31(6):544-549.