

生活污水对蚕豆根尖细胞致畸效应的研究

李亚青¹, 李屹²

(1. 太原理工大学 环境科学与工程学院, 山西 太原 030024; 2. 国家水专项管理办公室, 北京 100029)

摘要:以蚕豆根尖为材料,采用蚕豆根尖细胞的微核试验和染色体畸变试验方法,研究不同取样点生活污水对蚕豆根尖细胞的致畸效应。结果表明:生活污水能诱发微核率升高,而且在一定范围内,其微核率随污染物浓度升高而增加,但高于一定浓度后有下降趋势;不同取样点的污水均使蚕豆根尖细胞有丝分裂指数下降;生活污水还能诱导蚕豆根尖细胞产生较高频率的染色体畸变。所以生活污水蚕豆根尖细胞具有明显的致畸效应。

关键词:生活污水;蚕豆;微核率;染色体畸变率

中图分类号:X703 文献标识码:A 文章编号:1672-643X(2013)03-0201-03

Study on genotoxicity effect of domestic sewage on cell of broad bean root tip

LI Yaqing¹, LI Yi²

(1. College of Environmental Science and Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China; 2. National Major Science and Technology Program Management Office for Water Pollution Control and Treatment, Beijing 100029, China)

Abstract: The paper investigated the genotoxicity effect of domestic sewage from different treatment processes on the cell of broad bean root tip. The micronucleus and chromosome aberration assay were conducted to determine the micronucleus rate and chromosome aberration rate of broad bean root tip cells induced by domestic sewage. The result indicated that domestic sewage could increase the micronucleus rate of the cells of broad bean root tip. Within certain concentration range of pollutant, the micronucleus rate increased with the increase of the concentration of pollutants, but beyond certain range, the micronucleus rate decreased with further increase of the concentration of pollutants. Domestic sewage could decrease the cell mitosis index. Furthermore, it also caused the increase of chromosome aberration rate. The conclusion is that domestic sewage has obvious genotoxicity effect on the cell of broad bean root tip.

Key words: domestic sewage; broad bean; micronucleus rate; chromosome aberration rate

按化学性质可将生活污水中的污染物质分为无机物和有机物,其中的重金属、持久性有机污染物(POPs)等尽管含量少,但是毒性巨大,基本上都具有致癌、致畸和致突变的特性^[1]。然而城市污水的常规水质指标和对微量有毒物质的检测并不能直接反映和控制各种有毒物质的综合毒性。

目前,污水毒性的测定主要有理化方法和生物学方法。传统的理化分析方法只能定量分析污水中有限污染物种类的含量,而不能直接反映各种有毒物质的综合毒性^[2]。近年来,国内外研究者们已经建立了多种生物毒性检测方法和评价技术来反映污染物对生态系统的影响。植物生物检测技术是国际上常用的环境化学物质毒性检测技术,具有灵敏、快捷而且与动物试验结果高度一致的特点,在国内外被广泛运用^[3-4]。蚕豆微核实验是常用的遗传毒

性检测系统^[5-6]。本文以蚕豆为材料,研究污水厂各处理单元进出水诱发的根尖和叶尖细胞微核效应。这对污水处理与回用过程中,生物毒性的准确判断具有重要的实际意义。

1 材料与方法

1.1 取样点的选取及水样的预处理

污水来源于以A2O为主要处理工艺的某污水厂各处理单元的进出水。选取的5个取样点分别为进水,A沉池,B曝气池,B沉池,出水池。污水处理工艺流程及取样点如图1所示。各取样点污水的COD_{Cr}值见表1。取回的水样经滤纸、0.22 μm微滤膜过滤后4℃保存。

1.2 材料

将蚕豆(*Vicia faba*)用5%次氯酸钠清洗消毒并

用蒸馏水反复冲洗后,在 25℃ 下蒸馏水浸种 24 h,湿纱布包裹催芽 24 h。选萌发的蚕豆放入垫有湿脱脂棉的培养皿中,于 25℃ 下培养培养 36 h。期间每 12 h 用水冲洗 1 次。选择根长整齐一致,根长约 1.5~2.0 cm 的蚕豆随机分组。

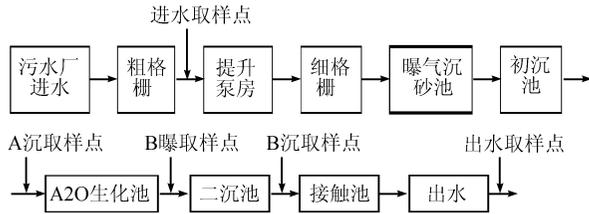


图1 污水厂处理工艺流程图及取样点

表1 各取样点污水的 COD_{Cr} 值 mg/L

水样	COD _{Cr}	水样	COD _{Cr}
空白	0	B 曝	115
出水	48	A 沉	342
B 沉	49	进水	488

1.3 检测计算

染毒:分别用各取样点的污水处理幼苗 24 h,期间换水一次,设蒸馏水为对照组。污水处理之后在蒸馏水中恢复 24 h。

固定和染色:切取蚕豆根尖,卡诺氏固定液(甲醇:冰乙酸 = 3:1)固定 24 h。转入 70% 的乙醇中 4℃ 保存。制片时,用 1 mol/L 的 HCl 于 60℃ 解离根尖 8~10 min,孚尔根(Feulgen)法染色。制片和镜检:切取根尖分生区,常规压片。直接在显微镜下观察记录。每个处理观察 5 棵幼苗的根尖,每个根尖约 1000 个细胞。

统计方法:采用 SPSS 11.5 数据分析系统进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 污水对蚕豆根尖细胞微核率的影响

凡是在主核大小 1/3 以下,着色与主核相当或稍浅并与主核分离的小核,作为细胞中的微核。微核细胞中多数只具有 1 个微核,少数有 2 个微核。对蚕豆根尖细胞的镜检结果见表 2,除了 B 沉池的污水外,其余各取样点污水均诱导蚕豆根尖细胞微核率显著上升,且根尖微核细胞数呈一定的剂量依赖性变化。由表 2 可以看出,高 COD_{Cr} 的进水组的根尖微核率比 A 沉组的有所降低,分析其可能的原因是高浓度的污染物处理抑制根尖细胞分裂、延滞细胞周期,从而使根尖参与分裂的细胞数目减少。

而经氯消毒的出水,其 COD_{Cr} 值与 B 沉的污水相当,但是微核率却相对较高,说明氯能诱导根尖细胞产生微核,有机污染物和氯共同作用时对植物的遗传毒害作用增强。

表2 各取样点污水诱导的蚕豆根尖细胞微核 %

水样	观察细胞数	微核率($\bar{x} \pm s$)
进水	5156	19.4 ± 4.06***
A 沉	5206	21.1 ± 4.18***
B 曝	5106	13.5 ± 2.54**
B 沉	5164	6.9 ± 1.85
出水	5141	14.9 ± 3.27**
空白	5165	3.2 ± 0.06

注:与空白对照组比较, ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

2.2 污水对蚕豆根尖细胞分裂指数的影响

对蚕豆根尖细胞镜检结果(表 3)表明,除了 B 沉池的污水外,其余各取样点污水处理组蚕豆根尖分生区细胞有丝分裂减少,分裂指数明显低于对照组。进水处理组的分裂指数最低,与对照组相比有极显著差异。出水处理组的分裂指数低于 B 沉处理组,甚至比 B 曝处理组的还低,可见加氯后对蚕豆根尖细胞分裂抑制作用要高于相近污染浓度的污水。

表3 各取样点污水对蚕豆根尖细胞分裂指数的影响 %

水样	观察细胞数	分裂细胞数	分裂指数($\bar{x} \pm s$)
进水	5156	128	2.48 ± 0.65**
A 沉	5206	188	3.59 ± 0.98*
B 曝	5106	187	3.66 ± 0.82*
B 沉	5164	200	4.07 ± 0.94
出水	5141	186	3.61 ± 0.88*
空白	5165	294	5.72 ± 1.77

注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

2.3 各取样点污水对蚕豆根尖细胞染色体畸变的影响

从表 4 可以看出,除了 B 沉池污水外,其余各取样点污水有明显的诱发蚕豆根尖细胞染色体畸变的作用。

表4 各取样点污水对蚕豆根尖细胞染色体畸变的影响 %

水样	观察细胞数	染色体畸变细胞数	畸变率($\bar{x} \pm s$)
进水	4050	161	3.98 ± 0.68***
A 沉	4100	156	3.80 ± 0.79***
B 曝	3930	122	3.10 ± 0.93***
B 沉	4300	28	0.65 ± 0.16
出水	4470	113	2.53 ± 0.65***
空白	4620	13	0.28 ± 0.09

注:与空白对照组比较, *** $P < 0.001$ 。

COD_{Cr}较低的出水同样使得蚕豆根尖细胞染色体畸变率极显著升高。与其COD_{Cr}相当的B沉池水样虽然引起染色体畸变率增高,但是与对照组比较变化不显著。

2.4 讨论

微核是真核生物细胞中的一种异常结构,主要由落后的染色体和无着丝粒的染色体片段所形成。微核的数量反映了染色体损伤的程度。故微核已成为检测环境诱变剂毒害效应的一个重要指标^[7]。当蚕豆根尖细胞受到有害理化因子攻击时,其染色体受干扰甚至发生断裂,产生的染色体片段和滞留染色体可能发生畸变,并在主核的周围形成微核^[8]。微核率的高低可反映有害物质对蚕豆根尖的危害程度。实验结果表明,生活污水可以引起蚕豆根尖染色体畸变率和微核率增高,具有明显的致突变效应。生活污水处理能阻滞蚕豆幼苗根尖细胞进入分裂状态,延滞细胞周期,并使细胞分裂过程延滞,细胞分裂指数降低。生活污水中的有机物及各种毒害成分诱发蚕豆根尖细胞产生微核,使其微核率显著增加。由于出水水样中含有大量的氯,使蚕豆根尖细胞的微核率明显高于B沉组。此外,由于蚕豆根尖分裂细胞数目减少,细胞周期延滞,从而使染色体断片和滞后染色体无法通过分裂形成微核,部分细胞中的DNA损伤因细胞不分裂而无法看到,导致高污染物浓度组的根尖微核细胞比率降低。因此,蚕豆根尖微核试验监测环境污染物时,应考虑细胞遗传损伤对污染物的反应剂量范围。

综上所述,污水处理后虽有所改善,但对蚕豆根尖的危害程度仍然存在,尤其是加氯消毒后的污水,如直接将其排放到周边的河流或湖泊里,仍会使生态环境造成严重污染。

3 结语

污水处理后虽然对目前的主要控制指标是COD、氨氮、总磷、总氮、pH、粪大肠菌群及无机物有

有较好的改善,但对污水中的非控制指标重金属还未达到不污染环境的程度,因而对蚕豆根尖的危害程度仍然存在,加氯消毒后的污水蚕豆根尖的危害程度更大。

近几年来,重金属污染水环境的事件频发,本研究将对其污染程度可以起到定性的作用。为了保护水环境,在今后实验中将致力于重金属在水中污染浓度及加氯消毒量的研究,使污水经过处理后排放到周边的河流或湖泊里,不对生态环境造成污染。

参考文献:

- [1] 马晓妍,闫志刚,刘永军,等. 污水的青海弧菌 Q67 生物毒性检测及影响因素分析[J]. 环境科学,2011,32(6): 1632 - 1637.
- [2] 赵红宁,王学江,夏四清. 水生生态毒理学方法在废水毒性评价中的应用[J]. 净水技术,2008,27(5): 18 - 24.
- [3] Grant W F. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations - a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals[J]. Mutation on Research-reviews in Mutation Research, 1999,426:107 - 112.
- [4] Ma T H. The international program on plant bioassays and the report of the follow - up study after the hands - on workshop in China[J]. Mutation on Research-reviews in Mutation Research, 1999,426:103 - 106.
- [5] Yi H L, Meng Z Q. Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide in root tips of *Vicia faba* and *Allium sativum*[J]. Mutation on Research-reviews in Mutation Research, 2003,537(1): 109 - 114.
- [6] 仪慧兰,李新峰,孟紫强. SO₂ 衍生物诱发蚕豆根尖细胞微核和后期异常的研究[J]. 植物研究,2003,23(3): 308 - 311.
- [7] 张小冰,张义贤,刘桂兰. 化工厂、化肥厂废水对蚕豆微核的影响[J]. 山西农业大学学报,1999,19(1): 65 - 66.
- [8] 钱晓薇,陈荣莉,黄南平,等. 电镀厂废水对蚕豆根尖细胞遗传学毒性的研究[J]. 中国公共卫生,2003,19(11): 1335 - 1337.