

DOI: 10.3969/j.issn.1004-6933.2011.04.014

海菜花花粉母细胞微核技术监测滇池水质污染状况

翟书华, 樊传章, 侯思名, 郭丽红, 王全坤

(昆明学院生命科学与技术系, 云南 昆明 650214)

摘要:以海菜花生长环境水(路南长湖水)处理作阴性对照,以滇池 5 个样点的水样处理作阳性对照,利用海菜花花粉母细胞微核技术监测评价滇池水质污染物致突变的情况,测定各采样点水样的海菜花花粉母细胞微核千分率及污染指数。结果表明:滇池 5 个样点的水样均使海菜花花粉母细胞微核千分率急剧增加,用海菜花水生植物建立的水体环境污染检验系统,可避免用陆生植物监测水体时因改变生长环境而造成的误差。

关键词:海菜花;花粉母细胞;微核技术;水体污染指数;滇池

中图分类号:X832 文献标识码:A 文章编号:1004-6933(2011)04-0055-03

Micronucleus technology of microspore mother cells of *Ottelia acuminata* for monitoring water pollution of Dianchi Lake

ZHAI Shu-hua, FAN Chuan-zhang, HOU Si-ming, GUO Li-hong, WANG Quan-kun

(Life Science and Technology Department, Kunming University, Yunnan 650214, China)

Abstract: The micronucleus techniques of microspore mother cells of *Ottelia acuminata* was used to monitor the water pollution of Dianchi Lake when *Ottelia acuminata* was grown in the water samples of five sampling sites in the Dianchi Lake. The micronucleus permillage and pollution index of the microspore mother cells of *Ottelia acuminata* in the water samples were determined. The results show that the water samples of the five sampling sites in the Dianchi Lake cause a sharp increase in the micronucleus of microspore mother cells of *Ottelia acuminata*. The monitoring system of water environmental pollution established by *Ottelia acuminata* can avoid the error caused by the change of growth environment of land plants.

Key words: *Ottelia acuminata*; microspore mother cell; micronucleus technology; water pollution index; Dianchi Lake

滇池是我国著名的高原淡水湖泊,位于昆明市西南,南北长约 40 km,东西宽约 13.5 km,平均宽度约 8 km,湖岸线长约 130 km,平均水位(黄海高程) 1 886.5 m,平均水深 4.4 m,全湖面积约 300 km²,湖容为 12.9 亿 m³,是一个具有工农业供水、养殖、防洪、旅游、疗养、航运和调节径流等多种功能的湖泊。滇池流域面积 2 920 km²,属金沙江水系,是一个半封闭湖泊^[1]。进入 20 世纪 90 年代,滇池水质迅速恶化为劣 V 类,经过 10 多年的治理,主要污染物指标有所下降。但是 2002 年以来,滇池的富营养化及有机污染更为严重,主要污染为富营养化和重金属污染,主要污染物有 N、P、As、Pb、Cd 等^[2]。如何科学监测滇池水质变化情况,一直是人们不断探索的问题。

有关学者曾做过大量的常规化学监测,生物监测方法主要是利用蚕豆根尖细胞微核技术^[3]和紫露草微核技术^[4],均取得了较好的效果,但未见利用水生植物监测水体污染的研究报道。海菜花作为一种常见的湖泊大型水生植物,不断受到人们的关注。笔者用滇池水对海菜花的雄性生殖细胞进行微核监测试验,目的在于用该水生植物建立新的水体环境污染检验系统,从而排除用陆生植物监测水体时因改变生长环境而带来的干扰。

1 试验概况

1.1 材料

试验材料采集生长于云南石林长湖中花期全年

的海菜花(*Ottelia acuminata* var. *lunanensis* H. Li), 选用具有幼嫩雄花序的路南海菜花花萼。

1.2 采样点的布设和水样采集

根据《环境监测技术规范》^[5]中布点、采样要求, 在滇池水域布设了 5 个有代表性的点, 分别为大观河(A)、大观楼(B)、草海(C)、观音山(D)、白鱼口(E)(图 1)。对照水样为试验材料采集地石林长湖水。当水深大于 1 m 时, 在表层下 1/4 深度处采水; 当水深小于或等于 1 m 时, 在水深的 1/2 处采水。每采样点采水样 5000 mL 于塑料瓶内, 放于 4℃ 冰箱中避光保存备用。采样及监测时间为 2009 年 7 月。

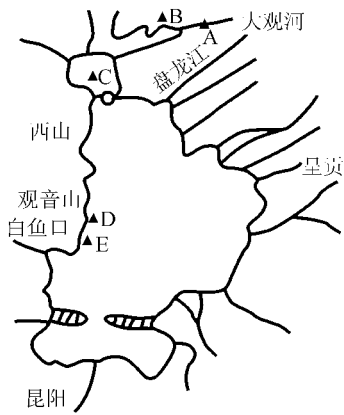


图 1 滇池采样分布点示意图

1.3 滇池采样分布点水质理化指标测定

总磷(TP)、总氮(TN)、生物耗氧量(BOD)、化学耗氧量(COD)标准参照文献[6], 滇池采样分布点水质理化检测结果见表 1。

表 1 滇池采样分布点水质理化检测结果

采样地点	$\rho(\text{TP})$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$\rho(\text{TN})$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$\rho(\text{BOD})$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$\rho(\text{COD})$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
大观河	5.56	16.8	7.82	58.3
大观楼	5.23	17.6	7.68	60.1
草海	5.10	15.3	7.53	56.3
观音山	0.15	4.38	3.42	51.2
白鱼口	0.12	5.21	4.16	52.6

2 试验方法

2.1 诱变处理

将幼嫩雄花序分别投入到滇池大观河、大观楼、草海、观音山、白鱼口所采水样用对照液稀释 5 倍的液体中和对照液中, 所观察的花蕾要完全浸没在液体之中以诱变处理雄花, 光照 48 h。诱变处理的雄花如图 2 所示。

2.2 固定

2 d 后于上午 8 :00—11 :00 选取长度为 1.5 ~ 2.0 mm 的花蕾, 用 Carnoy 氏液固定 24 h 后分别用 95%、80%、70% 的乙醇次第漂洗, 最后置入 70% 的乙醇中放冰箱内低温保存。

2.3 解离与染色

随机选取材料于解剖镜下剥出雄蕊, 切开花药, 使生殖细胞暴露, 用 1 mol/L HCl 40℃ 解离 10 min, 蒸馏水冲洗。去除花丝等杂质后, 用改良苯酚品红染色 5—10 min。

2.4 观察

制片后置显微镜下观察并统计微核率 (micronucleus frequencies MCN)。微核以每 1000 个细胞中所含微核数即微核千分率来表示。每组至少观察 3 个花花蕾, 每组至少观察 3000 个细胞。凭证玻片 (Vouche) 藏昆明学院生命科学与技术系标本室, 见图 3~5。



图 2 诱变处理的雄花

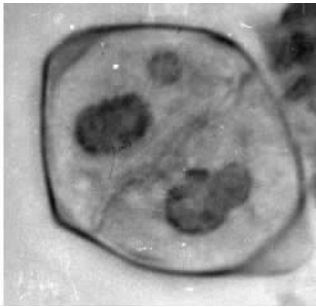


图 3 二分体微核

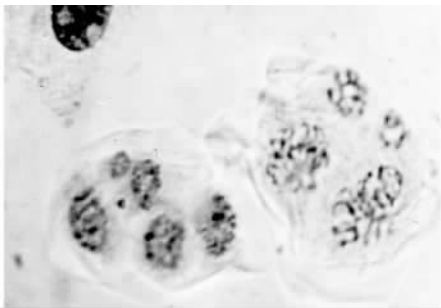


图 4 四分体微核

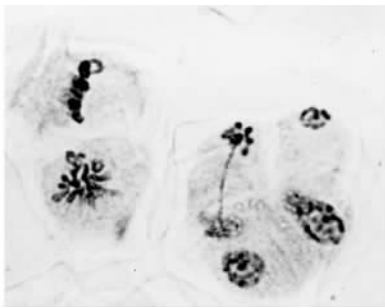


图 5 染色体搭桥

3 试验结果及分析

3.1 试验结果

试验结果如表 2 所示。

表 2 海菜花花粉母细胞微核在滇池水环境
污染中的试验结果

采样地点	总细胞数	总微核数	微核千分率	微核千分率均值与对照差异	污染指数	污染程度
大观河	3 011	107	35.5			
	3 006	127	42.2	39.1 **	6.86	重度污染
	3 038	121	39.8			
大观楼	3 007	138	45.9			
	3 006	126	41.8	42.9 **	7.53	重度污染
	3 003	124	41.3			
草海	3 025	85	28.1			
	3 026	103	34	30.7 **	5.39	重度污染
	3 018	92	30.5			
观音山	3 031	79	26.1			
	3 038	83	27.3	27.3 **	4.79	重度污染
	3 058	88	28.8			
白鱼口	3 115	86	27.6			
	3 127	93	29.7	29.1 **	5.11	重度污染
	3 137	95	30.3			
阴性对照	3 001	14	4.6			
	3 006	16	5.3	5.7		基本无污染
	3 001	20	6.7			

注：微核千分率 = 观察细胞中具有微核的细胞数 / 所有观察的细胞数，** 表示新复极差法比较差异性在 0.01 水平上差异显著。

3.2 分析

判断标准采用污染指数来判别(污染指数 = 样品实测微核千分率平均值 / 对照组微核千分率平均值)，可避免因试验条件等因素带来的微核千分率本底的波动，污染指数在 0 ~ 1.5 区间为基本无污染，1.5 ~ 2.0 区间为轻污染，2.0 ~ 3.5 区间为中污染，3.5 以上为重污染。

a. 从表 2 可知，该试验检测的不同采样点的微核千分率均明显高于对照组，经方差分析，为极显著差异，所取 5 个点的滇池水样污染程度仍然相当严重，皆属于重度污染水质，但污染程度仍有区别，即污染指数越大，污染越重。

b. 试验结果反映了海菜花对水体污染的敏感性，证明了海菜花作为水生植物在水环境污染监测中优于陆生植物。建议用海菜花作为监测水体污染的手段，可避免因用陆生植物在监测水体时因改变生长环境而造成的误差，该方法可用于湖泊、河流及生活用水等淡水的污染检测。

c. 微核试验结果得出了污染使染色体断裂是导致滇池海菜花绝灭原因之一的结论，提示对湖泊的水质监测，除了物理和化学指标外，还需要对生物安全性加强监测，这样才有益于从生物的食物链至

人类的健康保护角度进行水体环境的保护。

4 结 语

当前水环境污染监测主要采用物理和化学方法，这些方法可以反映不同污染物质的种类和数量，但不能综合反映环境质量状况和阐明多种污染物并存对生物体的危害和损伤机制。微核技术创建于 20 世纪 70 年代，由 Heddle 和 Schmid 利用啮齿类骨髓细胞建立了微核测定方法^[7-8]。染色体在复制过程中经常会发生一些断裂，在正常情况下，这些断裂会自然愈合，但当外界环境中存在一定浓度的致突变物时，可使细胞发生损伤^[9]，阻碍染色体断裂的愈合，甚至增加断裂，导致有微核细胞数量的增加。微核试验是监测致变性污染的一种经济快速方法^[10]。深入研究植物微核技术在水质监测中的应用，对于指导和完善水和废水的生物危害性测定及评价，进而深入保护我国水资源及水质安全性评价均具有重要的意义^[11]。笔者采用的水生植物海菜花雄性生殖细胞微核监测技术不仅有取材简单、试验时间短、灵敏度高、可靠性强、条件易控制、监测费用低等优点，还可直接反映多种污染物对生物遗传物质的综合影响，是一种值得推广的环境监测方法。

参考文献：

[1] 彭张兴, 张征, 李坚. 滇池污染状况及对策建议[J]. 环境科学与管理, 2009, 34(8): 29.

[2] 吕利军, 王嘉学, 袁花, 等. 滇池水体环境污染的综合研究[J]. 云南化工, 2009, 36(3): 57.

[3] 王焕校, 祖艳群, 彭庆元. 利用蚕豆根尖细胞微核监测滇池水质污染的初步研究[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 1993, 15(2): 138-145.

[4] 王宏镔, 王映雪, 孟珍贵, 等. 利用紫露草微核技术监测滇池水质污染[J]. 城市环境与城市生态, 1998(9): 12-14.

[5] 国家环保总局. 环境监测技术规范[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1991: 281-284.

[6] 水和废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 56-58.

[7] HEDGE J A. A rapid in vivo test for chromosomal damage[J]. Mutat Res, 1973, 18: 187-190.

[8] SCHMID W. The micronucleus test[J]. Mutat Res, 1975, 31: 9-15.

[9] 陈瑞娇, 邹佩贞, 马丽霞, 等. 利用蚕豆根尖细胞微核监测韶关市区河段水质的研究[J]. 生态科学, 2006, 25(2): 167.

[10] 周立人, 魏晓飞, 唐晓敏. 南淝河水体诱变物污染的植物微核监测[J]. 安徽农业科学, 2002, 30(5): 658.

[11] 刘振宇, 史存芳, 杨廷, 等. 植物微核技术及其在水质监测研究中的应用[J]. 长治学院学报, 2009, 26(2): 23.

(收稿日期: 2010-12-17 编辑: 胡新宇)