

灌溉区工业废水对大蒜根尖细胞的毒性研究

周爱灵, 谢宗平, 王晓琴

(张掖师范高等专科学校生物系, 甘肃 张掖 734000)

摘 要: 用流经灌溉区的张掖地区造纸厂、化肥厂两厂不同采集点的废水处理大蒜根尖 24 h 后, 根尖细胞有丝分裂指数下降, 异常细胞数目明显增多, 间期细胞主要表现为核突出物、微核、核解体等; 分裂期细胞主要表现为 C – 有丝分裂、多极分裂、染色体桥、染色体断裂、滞后染色体、染色体粘连等畸变类型。

关键词: 工业废水; 大蒜; 有丝分裂指数; 染色体畸变; 微核; 核解体

中图分类号 X503. 23 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000 – 0267(2002)01 – 0074 – 03

The Toxic Effects on the Root – Tip Cells of *Allium satvium* L.

Caused by Industrial Wastewater in Irrigation Areas

ZHOU Ai-ling, XIE Zong-ping, WANG Xiao-qin

(Biology Department, Zhangye Teacher’s College, Gansu Province, Zhangye 734000, P. R. China)

Abstract: The industrial wastewater from Zhangye Paper – make Factory and Zhangye Chemical Fertilizer Factory has been drained into irrigation water for many years. The study proved that these kinds of wastewater are harmful to the plant’s growth. After 24 hours treatment to *Allium satvium* L. by such wastewater, the mitotic index of root – tips descended and malformed cells increased greatly. For interphase cells, the prominence and micronucleus were observed around nucleus, or the nucleus was disintegrated. The wastewater also caused abnormal mitotic activities, such as C – mitosis, poly – pole division, chromosomal bridges, laggard chromosomes and chromosomal conglutination.

Keywords: industrial wastewater; *Allium satvium* L. ; mitotic index; chromosome aberration; micronucleus; nucleus disintegration

张掖地区造纸厂年排放废水 420 万 t, 废水经斜网过滤后入 16. 6 hm² 芦苇塘, 出塘后用于农田灌溉; 张掖地区化肥厂年排放废水 297 万 t, 出厂后经沉淀与造纸厂废水混合。两厂废水流经两乡两村六社, 灌溉面积达 200 余公顷, 多余废水最终流入黑河。谢宗平等人的调查表明, 用废水灌溉的农作物产量大幅度减少^[1]。为了进一步揭示灌溉区工业废水对植物细胞的毒害作用, 为保护农作物和人类自身健康提供实验依据, 我们以流经农田灌溉区的张掖地区造纸厂、化肥厂的废水为测试物, 以大蒜 (*Allium satvium* L.) 为材料进行了研究。

1 材料和方法

1. 1 实验材料

大蒜 (*Allium satvium* L.): 选用大小均匀一致的民乐县当年产大蒜为实验材料。

1. 2 实验方法

1. 2. 1 废水采集 选择造纸厂出口、化肥厂沉淀池出口、两厂废水混合处及灌溉区末端 4 个采样点采集废水。

1. 2. 2 染毒处理 选取大小均匀无损伤的大蒜鳞茎, 置于盛有自来水的小烧杯上, 在 25 ℃ 温箱中培养至长出新根 1—2 cm 时移至处理水样中继续培养 24 h, 并用自来水作对照处理。

1. 2. 3 固定 对照及处理的根尖水洗后用卡诺氏固定液固定 24 h, 若不立即压片, 移入 70% 酒精中保存备用。

1. 2. 4 制片 根尖水洗后在 1 mol · L⁻¹ HCl 60 ℃ ± 0. 5 ℃ 的恒温水浴中水解 10 min, 水洗后切取分生区约 1 mm, 用改良石碳酸品红染色, 常规压片^[2]。

1. 2. 5 镜检 在 Olympus 显微镜下, 对每个待测水样随机检查 3 个根尖, 每个根尖至少观察 1 000 个分生区细胞, 统计有丝分裂指数、染色体畸变率, 并对出现的异常细胞进行显微照相。

有丝分裂指数 (%) = 分裂细胞数 / 观察细胞数 × 100%

分裂细胞包括前期、中期、后期、末期的所有细胞。

染色体畸变率 (%) = 染色体畸变细胞数 / 分裂细胞数 × 100%

2 结果与分析

2.1 废水成分

据两厂资料,造纸厂芦苇塘出口、化肥厂沉淀池出口废水中主要物质含量见表 1。

表 1 两厂废水各种物质含量								
Table 1 Various constituents in wastewater from two factories								
项目	悬浮物	挥发酚	硫化物	氨氮	石油类	氰化物	COD	pH
造纸厂	709.1	0.144	4.245	16.98	4.6	—	888.9	7.5
化肥厂	-200	0.064	0.29	15	5.0	0.046	100	8.5

注:该数据来自两厂资料,除 pH 外所有项目单位均为 mg · L⁻¹。

2.2 工业废水对大蒜根形态的影响

经各采集点废水 24 h 处理后的根表现出不同程度的异常。造纸废水处理后的根呈红褐色,根尖稍显褐色;化肥厂废水处理后的根弯曲,发粘变软,生长停滞;混合废水处理后的根灰暗,根尖发黑;灌溉区末端废水处理后的根形态与对照无明显差异。

2.3 工业废水对大蒜根尖分裂期细胞的毒害效应

4 个采样点的工业废水处理大蒜根尖 24 h 后,对大蒜根尖分裂期细胞的有丝分裂指数和染色体畸变率有明显影响(表 2)。

表 2 工业废水对大蒜根尖分裂期细胞有丝分裂指数和染色体畸变率的影响					
Table2 Effects of industrial wastewater on mitotic index and chromosomal aberrations in root – tip cell of <i>Allium sativum</i> L.					
项 目	对照	造纸厂废水	化肥厂废水	混合处废水	灌溉区末端废水
有丝分裂指数 / %	13.35	7.37	1.70	2.18	7.28
染色体畸变率 / %	2.21	31.33	15.79	16.00	18.30

从表 2 中可看出,经不同采样点的废水 24 h 处理后,大蒜根尖细胞有丝分裂指数明显下降,染色体畸变率显著增高。其中,化肥厂废水染毒后,有丝分裂指数最低,其次为混合废水,造纸厂废水和灌溉区末端废水主要诱发较高的染色体畸变率。从表 2 中还可看出,有丝分裂指数和染色体畸变率没有很好的相关关系,有丝分裂指数低的不一定染色体畸变率高。经分析统计,染色体畸变的主要类型有:

(1) C – 有丝分裂 由于纺锤丝微管的组装受阻,处于分裂中期的染色体不能进入后期,因而出现

类似秋水仙素处理后的染色体多倍化现象(图 1a, b)。

(2) 染色体桥 这是染色体断裂 – 融合导致产生双着丝点的染色体桥,在分裂后期常见(图 1c)。

(3) 多极分裂 后期染色体不均匀分向两极,而向多个方向分裂(图 1g)。

(4) 滞后染色体 出现于后期,表现为染色体不同步行动,个别染色体行为落后于其它染色体(图 1f)。

(5) 染色体粘连和液化 这是出现最多的染色体畸变类型,在各分裂期都可看到,表现为染色体的个体性模糊,染色体粘连在一起,部分染色体开始发生液化并相互融合(图 1i, j)。

除上述 5 种比较常见的染色体畸变外,还有几种畸变类型(见图 1d, e, k)。

2.4 工业废水对大蒜根尖间期细胞的毒害效应

大蒜根尖经染毒后,间期细胞受到不同程度的毒害,4 种废水中以化肥厂废水和混合处废水的毒害最为严重。化肥厂废水处理,根尖间期细胞的细胞核出现不同程度的异常,主要表现为三种类型:第一种类型为主核上突出大小不等的颗粒状突起物但未与主核脱离,这种细胞约占观察细胞数的 18.6%;第二种类型为微核的出现,表现为一个主核周围出现一至多个小核,大小在主核的 1/3 以下,与主核完全分开,微核细胞数约占观察细胞数的 11.9%;第三种类型为核解体,有两种表现:一为核解体成若干大小不等的圆球状小核,二为核完全解体成颗粒状,核解体的细胞约占观察细胞数的 6.3%。混合处废水处理的间期细胞表现为核高度浓缩,似不能进入分裂状态。造纸厂废水和灌溉区末端废水对间期细胞的毒害不太明显。

3 讨论

工业废水诱发植物根尖细胞异常是一种错综复杂的作用。污水成分复杂,其中的各种有害成分都可能同其它诱变剂一样进入植物体产生一定的毒害。化肥厂废水有害成分可能直接或间接破坏了间期核结构,诱发核突出物或微核的出现,甚至导致核解体,致使大量细胞在间期就受损,难以进入正常分裂期,因而有丝分裂指数很低,外观表现为生长的停滞。造纸厂废水对间期细胞毒害较小,大多数细胞能进入分裂期但出现较高的染色体畸变率,说明该厂废水主要对正在分裂的细胞产生毒害作用。混合废水则介于上述

a, b, c: 有丝分裂; c: 后期双桥; d: 染色体断片; e: 不等交换; f: 滞后染色体及断片; g: 多极分裂; h: 对照后期; i-j: 染色体粘连及液化; k: 染色体逐渐解体; l: 对照间期及前期; m: 间期核浓缩; n, o, p: 各种类型的核突出物、微核及核解体

图 1 工业废水对大蒜根尖细胞的毒害效应

Figure 1 Toxic effects of industrial wastewater on the root - tip cell of *Allium satvium* L.

两种情况之间,一方面阻止细胞向分裂状态转变,导致有丝分裂指数较低;另一面对正在分裂的细胞产生毒害,导致染色体畸变率较高。灌溉区末端废水相对于其它 3 种废水而言,对细胞的毒害作用大为减弱,可能是由于其在流经灌溉区时所含有害成分经沉淀和植物吸收后大为降低所致。

有毒物质产生的遗传毒害,作用的时间是在细胞分裂间期时的 DNA 和染色体的复制合成过程中^[3,4],这种损害在细胞学上的可见标志是在分裂中检测的,一般来说,没有细胞的分裂活动,毒性物质就没有作用 DNA 等遗传物质的机会,就难以表现这种物质的遗传毒性;也就是说,没有细胞的分裂活动,即使毒性很强的遗传物质,也无法通过染色体畸变等细胞遗传学的手段监测^[5]。Vodynanov 等在利用洋葱试验不同化学诱变剂的性能时,曾指出有丝分裂指数同染色体畸变没有很好的相关关系,但同时发现在很低的细胞分裂水平下也不能正确反映染色体畸变的应有水平^[6]。我们的结果也说明了这一点。所以在利用细胞

遗传毒理学进行监测时,必须保证测试材料具有一定的细胞分裂水平,这是正确检测的必要条件。

我们认为,灌溉区工业废水对农作物细胞的毒害作用十分严重,这种综合性毒害进入食物链,对生物系统是一种很大的潜在性危险,必须引起足够重视。

参考文献:

- [1]谢宗平,马国泰. 张掖造纸厂化肥厂废水污染问题及对策[J]. 甘肃高师学报, 1999, 4(2): 25 - 27.
- [2]李懋学. 植物染色体的常规压片技术[M]. 北京:科学出版社, 1982.
- [3]Shahim S A, El - Amoodi K H. Induction of numerical chromosome aberrations during DNA synthesing using the fungicides nimrod and rubigan - 4 in root typs of *Vicia faba* L. [J]. *Matat Res*, 1991, 261: 169 - 176.
- [4]Frankel D G, Charlien Middleton. Effects of lead acetate on DNA and RNA sythesis intact Hela cells, isolated nuclei and pirified polymerases [J]. *Biochemical Pharmacol*, 1987, 36: 265 - 268.
- [5]段昌群,王焕校. 重金属对蚕豆的细胞遗传学毒理作用和对蚕豆根尖微核技术的探讨[J]. 植物学报, 1995, 37(1): 14 - 24.
- [6]de Serres F J. Chemical. Lodon: Pergmon Press, 1986. 330 - 338.