

海水污染监测新方法——紫露草微核技术

陈 登 勤

(山东海洋学院)

国内外环境科学工作者均在致力于经济、简单、有效的环境污染监测方法。紫露草微核监测法 (*Tradescantia* MCN Test) 就是比较好的生物监测方法之一。

本文重点介绍紫露草微核技术, 及其在监测海水污染上的应用。

一、微核技术的研究和进展

微核技术是根据遗传学上染色体畸变的原理, 在本世纪七十年代初开始建立的。由早期动物微核的研究, 发展到植物微核的研究。据文献记载, Schwarg (1886) 就曾对微核进行过描述, Deig (1962) 对微核的形成过程和生化性质有比较详细的研究。Rugh (1964) 曾报道了小鼠外周血淋巴细胞的微核出现率。中国科学院云南动物研究所 (1967) 也在猕猴受 X 射线照射后, 发现骨髓细胞有微核变化。Matter 和 Schmid (1971) 利用啮齿类骨髓细胞出现的微核率, 测定烷化剂对哺乳动物体的诱变活性, 由此建立了微核测定技术。Heddle 高度评价并推荐这一方法, 认为这项新技术方法简便、可靠, 较染色体畸变分析法为快为好^[3]。

紫露草微核技术是用敏感植物紫露草 (*Tradescantia*) 在研究 1,2-二溴乙烷对染色体的破坏作用的基础上, 为美国西伊利诺大学马德修教授所创立的 (Ma, et al., 1978), 并建立了 X 射线剂量与效应的直线关系。同时又为几种有名的化学诱变剂, 如甲基磺酸乙脂 (EMS), 叠氮化钠 (NaN_3), 叠氮酸 (Hydrazoic acid) 及马来酰肼 (Maleic hydrzi) 等的微核效应所证实 (Ma and Anderson, 1978)。马来酰肼能损伤人体淋巴细胞的染色体, 从它对紫露草染色体损伤的比较研究

(Abmed and Ma, 1980), 可以建立人体细胞及植物细胞染色体损伤的关系, 从而使这种监测方法得以广泛应用 (Ma, et al., 1980)。目前, 所有植物微核方面的研究, 都是应用在环境污染监测上。

二、紫露草微核技术原理

紫露草微核监测法, 也叫紫露草四分体 (Tetrad) 微核监测法。它是用花粉母细胞在减数分裂过程中的染色体, 作为被攻击和破坏的目标, 并以四分体中形成的微核 (Micro-nucleus, MCN) 作为监测终点。在花粉母细胞减数分裂的早前期, 如果受到有害理化因子的攻击, 可能会发生染色体断裂, 产生染色体片段, 或干扰染色体正常交换的效应。染色体片段, 有的可能重新愈合, 恢复正常, 有的则由于缺乏着丝点, 不能移向细胞的极部, 变成圆球体, 这便是微核。由于染色体片段的大小和数量不一, 因此, 四分体中微核的大小和数量, 也不尽相同。

不难看出, 微核的性质是染色体畸变的一种形式, 同主核一样, 由 DNA 物质组成。能形成微核的因子, 是那些对染色体起破坏作用的物质, 例如 X, γ 射线和化学诱变剂, 才有明显的微核效应。环境中所含的诱变物质越多, 形成的微核也越多, 这样就以微核增加的多少, 来表示环境污染的程度。

紫露草微核技术用来监测环境污染, 有许多优点。(1) 紫露草是现在所知道的对辐射和诱变剂反应最敏感的植物。处在减数分裂过程中的花粉母细胞, 尤为明显。(2) 紫露草花粉母细胞在减数分裂过程中, 有高度同步性, 能同时形成大量四分体, 供作计数。(3) 紫露草本身的自然本底微核率比较低 (一般为

5—9%)，为观察微核数量的变化，提供了方便。(4)微核形成的过程较短，一般在四十多小时之内，就可完成实验全过程，得到结果。(5)紫露草栽培方便，取材容易，这种多年生草花植物，如果温度适宜，可全年开花现蕾，提供实验材料。

总之，紫露草微核技术是目前监测环境污染的一种方法简单、使用经济、效果可靠、便于推广的生物手段。无论是大气、陆地和海洋的化学污染还是放射污染，均可使用。这里仅介绍监测海水污染的方法。

三、紫露草微核技术在监测海水污染上的应用

用紫露草微核技术监测大气、废水和辐射等的污染，国外已有许多报告^[9-12]，但该技术用于海水污染监测，尚未见报道。1980年，我们在研究监测大气、工业废水、农药及辐射等污染的基础上^[1,2,5,8]，又进行了海水污染监测实验。经过两年来的多次实验，证明效果良好，这为该项污染监测新技术的应用，开辟了一个新方向^[4,6,7]。其方法大致如下。

1. 实验处理：把取回实验室的欲测海水，先调试pH值在7±1.5之间。为使陆生的紫露草能在海水中在实验室要求的时间内成活，需要把海水稀释。根据我们的实验，以清洁自来水把海水稀释至50%为好。这样既能保证紫露草不至死亡，又能产生最高的微核效应。把稀释海水盛入500—600毫升的烧杯中，蒙上带孔的塑料布。

紫露草是用开花盛期的幼期花序。把带有两片叶子的花序枝条，连同6—8厘米长的茎取下，插入烧杯内。每个实验组至少插15个花序，置于光下处理培养6小时，再换上清洁的自来水作24小时的恢复培养。如条件许可，最好能向水中通气，以保证氧气供应。

对照实验一般采用标准海水或外海的清洁海水，同样需经稀释至50%。

2. 制片观察：将恢复培养完毕的花序，

放入新配制的卡诺固定液固定24小时，再移入70%的酒精中，即可制片观察。如果不能及时制片，可将材料放入冰箱长期保存。

制片方法采用压片法。先切下一个花蕾放在载玻片上，用解剖针剥掉苞片，露出花药，滴上醋酸洋红，将花药刺破，释放出四分体，盖上盖玻片，在酒精灯上微热，趁热轻压即成。如果取材合适，压片得法，可在显微镜(400倍)下看到一个完整的四分体。有的四分体在大而明显的主核外围，含有一个或几个微核，有的则没有微核。

制片好坏的关键是选择适龄花蕾。因为整个花序上的花蕾成熟有早有晚，早的在镜下可看到二细胞(二分体)时期，尚未形成四分体，或能看到减数分裂中的前期染色体，这表示花蕾太嫩；如果看到四分体已经散开，出现小孢子(花粉粒)，这表示花蕾太老。太嫩太老都不能正确计算出微核数量，以早期四分体为最好，这样的花蕾一般是从花序顶端往下数的第七或第八对。

3. 微核的统计和比较：根据统计学需要，每个处理组至少要做五张片子，一个花序一般只能做一张最好的片子，这要从15个花序中选取五个最好时期的花蕾。微核的统计是在镜下每一个视野中，把全部含有不同微核数目的四分体和不含微核的四分体分别统计。每张片子至少统计300个四分体，这样每个处理组都有1,500个以上的四分体，把这1,500个四分体中的微核数全部加起来，求出微核率。

$$\text{微核率} = \frac{\text{微核总数}}{\text{四分体总数}} \times 100\%$$

因为未经处理的对照组，也有自身的本底微核率，如果处理组微核有增加，但是否达到显著差异，要做统计学分析。方法是，分别求出每实验组和对照组的平均值、标准偏差和标准误差。用下列公式进行比较：

$$S_d = (SE_t)^2 + (SE_c)^2$$

式中， S_d 是平均值差的标准误差值； SE_t 是处理组的标准误差值； SE_c 是对照组的标准误差值。

当平均值差等于或大于平均值差的标准误差值的两倍时,表示差异显著。

四、结 束 语

1980年,紫露草微核技术的创立者马德修教授,来我院与方宗熙教授合作,共同开展此项研究,在我国第一次引进了这项植物监测新技术。我们对青岛的大气、自来水、几条市区河流、农药DDV、X射线,以及农药厂和汽车站的废气等进行了微核监测。实验结果表明,青岛的空气、自来水还比较清洁,污染不严重,而市区几条河流微核率变化明显。

两年来,我们对十几种农药,十几家工厂的废水也做了监测,并做了Cd, Cr, Hg和Pb等重金属离子的微核实验,效果都较明显。为了结合我院海洋研究的特点,我们把紫露草用于监测海上石油污染和几个工业废水污染较严重的海区,也取得成功。在探讨药物防治污染的研究中,我们发现维生素C,亚硒酸钠(NaSeO_3)有降低紫露草微核率的作用。在做工业废水的紫露草微核监测同COD(化学耗氧量)监测比较实验中,发现两者之间并无相关性。因此,如能在环境污染监测上补充以紫露草微核方法,会更有利于全面评价环境质量。目前,紫露草微核监测技术已被美国国家环境保护部门定为环境污染监测的常规方法之一。

综上所述,微核技术的研究,近几年来发展比较迅速,它已逐步广泛地应用于评价物理

化学因子诱变活力的测定上。随着我国四个现代化建设的迅速发展,环境科学的研究必然会越来越受到重视,尤其海洋污染的监测。因此,加强微核技术的研究和应用,使之不断完善和发展,对于建立我国完整的环境监测系统,有其重要意义。

主要参考文献

- [1] 方宗熙, 1981. 山东海洋学院学报11(1): 1—11.
- [2] 马德修, 1981. 山东海洋学院学报11(2): 65—73.
- [3] 朱炳富等, 1979. 生物科学动态6: 26—36.
- [4] 陈登勤、方宗熙, 1981. 山东海洋学院学报11(2): 81—85.
- [5] 马德修、方宗熙等, 1982. 山东海洋学院学报12(2): 51—54.
- [6] 陈登勤, 1982. 山东海洋学院学报12(2): 55—56.
- [7] 陈登勤、张硕慧, 1982. 环境科学3(3): 35—37.
- [8] 陈登勤、项东, 1983. 环境科学4(4): 45—47.
- [9] Ma, T. H., et al., 1978. *Mutation Research* 104: 101—103.
- [10] Ma, T. H., et al., 1978. *Mutation Research* 58: 251—258.
- [11] Ma, T. H., 1979. *Mutation Research* 64: 307—318.
- [12] Ma, T. H., 1981. *Environmental Health Perceptives* 37: 85—90.