

文章编号:2095-7386(2023)06-0022-05

DOI:10.3969/j.issn.2095-7386.2023.06.004

汉江武汉市城区段水样对蚕豆根尖细胞的遗传毒性效应

付海飞,张 豪,谢佳燕,詹金波,李金华

(武汉轻工大学 生命科学与技术学院,武汉 430023)

摘 要:为研究汉江武汉市城区段水质变化对蚕豆根尖细胞的遗传毒性效应,于汉江流经武汉市东西湖区至其与长江的入江口之间设置水样采样点,采用蚕豆根尖微核技术,研究在不同水样胁迫下对蚕豆根尖的生长和对基因组 DNA 的遗传毒性效应。结果表明,与对照组蒸馏水相比,不同水样处理后均可显著抑制蚕豆根尖的生长速度,其对蚕豆根尖生长的抑制率范围为 0.37%~0.75%;除样点 C 外,不同水样处理后根尖恢复生长速度与对照组均无显著差异。不同水样处理蚕豆根尖细胞后,在细胞有丝分裂的不同时期发现有染色体畸变和微核的形成。统计分析表明,不同水样可显著诱导蚕豆根尖细胞形成微核,且沿汉江至长江交汇处各样点水样处理组呈现微核率增加的趋势,其微核率范围在 0.85‰~1.81‰。汉江武汉市城区段水体存在一定的遗传毒性效应,其水质呈现轻度污染或轻度转至中度污染,临近人群密集集散地样点水体的污染程度较高,表明人类活动强度可对水体水质产生一定程度的影响。

关键词:汉江;蚕豆根尖微核技术;水质

中图分类号:X 142

文献标识码:A

Genotoxicity effect of water in the Wuhan urban section of Hanjiang river on the root tip cells of *Vicia faba*

FU Hai fei, ZHANG Hao, XIE Jia yan, ZHAN Jin bo, LI Jin hua

(School of Life Science and Technology, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

Abstract: The genotoxicity effect of water on the root tip cells of *Vicia faba* was carried out. Water samplings were collected from Dongxihu district of Wuhan to the entrance into the Yangtze River along Hanjiang river. Genotoxicity effects of water stress on growth and genome DNA of the root tip cells were analyzed by using micronucleus test of *V. faba* root tips. Compared with the control of the distilled water, the results showed that water samplings could significantly inhibit the growth of *V. faba* root tips with the inhibition rate of 0.37% to 0.75%. Except for water C sample, there was no significant difference between the root tip recovery growth rate of different water samples and the control distilled water. Chromosome aberration and micronucleus were found in different cell mitotic phases after water treating. Statistical analysis showed that water samples could significantly induce the micronucleus formation in the root tip cells of *V. faba* with micronucleus ratios ranged from 0.85‰ to 1.80‰. The ratios were increasing along

收稿日期:2023-11-01 回修日期:2023-11-09.

作者简介:付海飞(2002—),男,本科。E-mail:2760113561@qq.com.

通信作者:谢佳燕(1974—),女,教授,博士,E-mail:xjyaphid@163.com.

基金项目:武汉轻工大学教学质量文化建设教改项目(编号:JP2022007)及教研项目(编号:XM2022003);教育部产学研合作协同育人项目(编号:202102102111).

the Hanjiang river to the junction of the Yangtze River. It was suggested that water in the Wuhan urban section of Hanjiang river had some genotoxicity effects. Their pollution degree achieved slight or slight to moderate pollution level. In addition, those samples with higher pollution level mainly sited near population centres. It was suggested that the intensity of human activities could affect water quality.

Key words: Hanjiang river; Micronucleus test of *Vicia faba* root tip; Water quality

1 引言

水资源是人类生存和发展不可或缺的重要物质资源,是实现可持续发展的重要保障。目前,在气候变化、人口剧增、城市化快速建设等非生物和生物环境因子的作用下,人类社会所面临的水资源短缺、水污染等水资源与环境问题与日俱增^[1-4]。城市大量的工业废水、生活污水的排放和降雨导致喷洒的农药、消毒剂形成的地表径流均会导致水体污染,这些污染物的集聚和放大将会对水生态环境的平衡产生显著的影响^[1,2]。

汉江是长江中游最长的一级支流,发源于陕西省宁强县,经湖北省,于武汉市汉口龙王庙汇入长江^[3]。汉江中下游流域是湖北省乃至全国的重要粮仓,是汉江生态经济带的重要组成部分^[5]。武汉汉江水源是全国重要的饮用水水源地之一,在引汉济渭、南水北调中线和鄂北调水等大型水利工程建设运行后,其水质安全对沿江居民生活及生产用水安全更具有重要的作用和意义^[3,6]。水环境水质的变化,通常采用理化指标和生物指标进行评价^[3,7]。其中,生物检测可有效反映地表水生态系统对生物健康状况的影响。微核技术是以染色体断裂及纺锤体损伤等为测试终点的检测环境中致癌、致突变性的生物检测方法^[7]。因此,微核数量在一定程度上反映了细胞中染色体的受损伤程度,微核率大小可反映环境中污染物致突变性的程度^[8-10]。近年来,已报道汉江中下游发生多次硅藻水华和水体富营养化污染事件,严重影响了沿江两岸的生产和生活用水安全^[11]。因此,及时掌握水质的动态变化,进而有效地进行污染控制已迫在眉睫^[12]。目前,对汉江中下游水质的研究主要涉及年间污染物时空分布、水质理化指标及浮游植物群落特征指标的变化等,但采用生物检测方法进行水质监测的研究较少^[3,13]。本研究通过采集汉江武汉市城区段不同水样,应用蚕豆根尖微核检测技术,研究不同水样胁迫下对蚕豆根尖的生长和基因组 DNA 的损伤效应,综合评价汉江武汉市城区段水体对蚕豆根尖细胞的生长和遗传毒性效应,旨在为汉江水体保护和水污染防治提供理论依据。

2 材料与方法

2.1 水样采集

于汉江流域武汉市城区段,从东西湖区到汉口汉江与长江交汇口分别设置 5 个采样点,标记为 A—E,采样点分布见图 1 和表 1。其中,样点 A 位于武汉市东西湖区,为郊野公园,植被覆盖度较高;样点 B 到样点 D 之间沿岸多分布有住宅区和江滩公园;样点 D 与样点 E 之间沿岸商业街区林立,住宅区高度密集,并有多所医院和印染厂。于 10 月进行水样采集,每个样点采集 1 500 mL 水样,于 4 ℃ 避光保存。

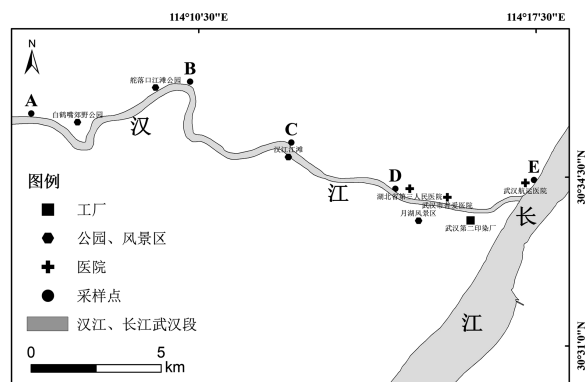


图 1 汉江武汉市城区段水样采样点分布

Fig. 1 Sampling sites in the Wuhan urban section of the Hanjiang river

2.2 蚕豆根尖微核检测

蚕豆根尖微核检测法参考王建波所述方法^[7]。每个处理组选取 6~7 粒颗粒饱满的蚕豆种子,经蒸馏水浸种催芽后,不定根长至 0.5 cm~1 cm 时,以蒸馏水为对照组,每组处理水样染毒 5 粒初生根生长良好的已萌发蚕豆种子,记为 5 个重复,对不同处理组蚕豆种子进行标记,游标卡尺测量并记录蚕豆根尖的长度(记为染毒前根尖长度);不同水样染毒处理根尖 48 h 后,测量并记录蚕豆的根尖长度(记为染毒后根尖长度);3 次蒸馏水冲洗蚕豆后,蒸馏水恢复培养 24 h,再次测量并记录根尖长度(记为恢复培养后根尖长度)。距根尖顶端取长约 1 cm 的幼根,卡诺氏固定液(乙醇:冰醋酸=3:1)固定 24 h 后用蒸馏水清洗,转移至 70%乙醇 4 ℃ 保存。计数

根尖微核时,取保存于 70%乙醇的根尖,蒸馏水冲洗 3 次,60 ℃ 1 mol/L 盐酸酸解 12 min,改良苯酚品红染液染色 8 min,压片、镜检,于高倍镜(10x40)下观察并拍照计数微核。

2.3 数据统计及分析

测量不同水样处理的蚕豆根尖长度后,计算根尖长度抑制率,其公式为:抑制率 = $(1 - x/y) \times 100\%$,其中 x 为各处理组蚕豆根尖的平均长度, y 为对照组根尖平均长度^[14]。

每组水样处理后统计 3 条根尖,每张玻片至少观察 1 500 个分散良好、质核清晰的间期细胞,统计微核数,计算不同水样处理组的微核率(Micronucleus rate, MCN‰)和污染指数(Pollution index, PI)^[7]。依据 PI 的大小划分水质污染程度,其中,PI 值在 0~1.5 为基本无污染;1.5~2.0 为轻度污染;2.0~3.5 为中度污染;3.5 以上为严重污染^[7]。

微核率(MCN‰) = (测试样点观察到的 MCN 数量/测试样点观察到的细胞数) × 1000‰;

污染指数(PI) = 样品组 MCN‰/对照组 MCN‰。

统计分析采用 SPSS 20.0 软件,对不同处理组间微核率和根尖长度变化数据进行单因素方差分析

(One-way ANOVA),Duncan's Test 多重比较检验法进行多重比较。

3 结果与分析

3.1 汉江武汉市城区段不同水样对蚕豆根尖长度的影响

蚕豆经过不同水样处理后,其染毒后根尖长度变化见表 1、图 2 和图 3。结果表明,不同水样处理可显著抑制蚕豆根尖的生长($F = 3.994, P = 0.009$)。除样点 B 外,不同水样染毒前后根尖生长速度均显著小于对照组($P < 0.05$,图 2),不同水样染毒后对蚕豆根尖生长的抑制率范围为 0.37%~0.75%(图 3)。

染毒处理后根尖经蒸馏水恢复培养,其恢复培养后根尖长度变化见表 1、图 2 和图 3。结果表明,不同处理组根尖恢复培养后的生长速度仍存在显著性差异($F = 5.992, P = 0.001$),但除样点 C 外,不同水样处理后根尖恢复生长速度与对照组无显著性差异($P > 0.05$)。此外,不同水样染毒处理前至恢复培养后根尖长度变化与对照组无显著性差异($F = 1.882, P = 0.137$),不同处理组蚕豆根尖长度相对于对照组的抑制率均小于 0.39%。

表 1 汉江武汉市城区段不同水样对蚕豆根尖长度的影响

Table 1 Effects of water samples on the root length of *Vicia faba* in the Wuhan urban section of the Hanjiang river

处理组	采样点	坐标	根尖长度/mm		
			染毒前	染毒后	恢复培养后
A	东西湖区慈惠小学	30°60'N, 114°12'E	9.98 ± 2.44	11.17 ± 2.85	13.10 ± 2.77
B	汉江雅苑	30°61'N, 114°17'E	11.50 ± 1.50	14.54 ± 1.45	16.19 ± 2.35
C	江家墩	30°59'N, 114°21'E	11.90 ± 0.33	13.50 ± 0.36	17.27 ± 0.80
D	银河小区	30°57'N, 114°24'E	10.73 ± 3.03	13.24 ± 2.85	13.94 ± 2.69
E	和平社区	30°58'N, 114°29'E	7.11 ± 0.49	9.80 ± 0.57	10.24 ± 0.55
CK	对照组		8.96 ± 1.13	13.77 ± 1.85	14.09 ± 1.78

注:根尖长度为平均值 ± 标准误

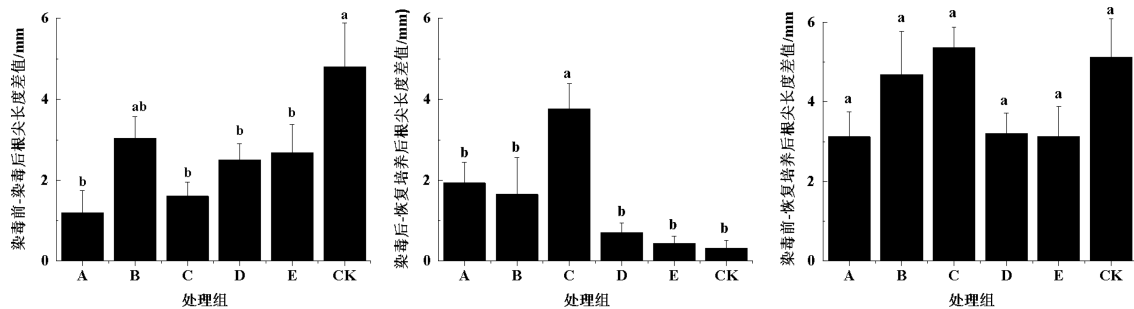


图 2 不同水样处理后蚕豆根尖长度的变化

Fig. 2 Changes of root length of *Vicia faba* after water sample treatments

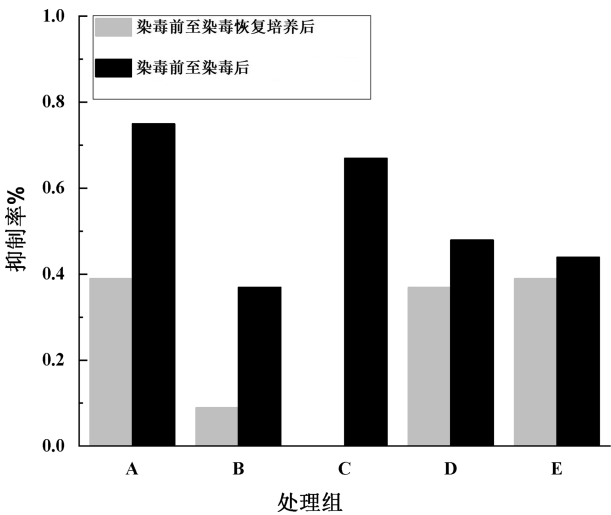


图 3 不同水样处理对蚕豆根尖长度的抑制率

Fig. 3 Inhibition rate of root length of *Vicia faba* after water sample treatments

3.2 不同水样处理对蚕豆根尖分生区细胞有丝分裂的影响

不同组水样处理后均对蚕豆根尖分生区细胞的有丝分裂产生了明显的影响(图 4)。结果表明,不同组水样均可诱导蚕豆根尖细胞产生微核,在细胞间期(a、b)和分裂期(c-h)均发现微核和畸变染色体,微核有单、双微核,染色体畸变包括落后染色体和断裂染色体。

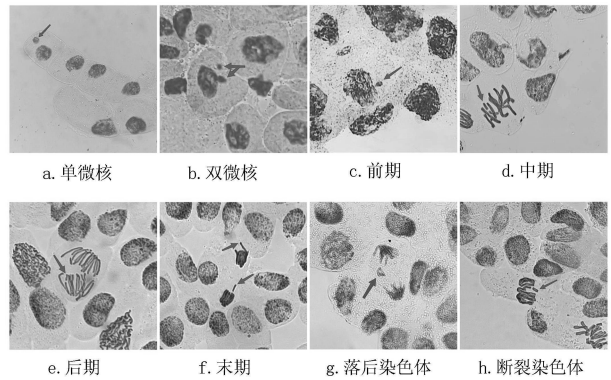


图 4 不同水样处理下蚕豆根尖细胞有丝分裂异常图

Fig. 4 Mitotic abnormalities on root tip cells of *Vicia faba* treated by water samples

3.3 不同处理水样对蚕豆根尖细胞微核形成的诱导效应

不同水样处理后可显著诱导蚕豆根尖细胞形成微核($F=17.785, P=0.000$, 表 2),不同处理组微核率范围在 $0.85\% \sim 1.81\%$ 。与对照组相比,除处理组 A 外,其余水样处理组均可显著诱导蚕豆根尖细胞形成微核,且各样点水样处理组沿汉江至长江

交汇口呈现微核率增加的趋势。

表 2 汉江武汉市城区段不同水体的微核率及污染指数

Table 2 Micronucleus rate and pollution index of water samplings in the Wuhan urban section of the Hanjiang river

处理组	微核率/%	污染指数	污染程度
A	0.85 ± 0.04 a	0.99	无
B	1.37 ± 0.12 b	1.61	轻
C	1.41 ± 0.09 b	1.66	轻
D	1.33 ± 0.12 b	1.56	轻
E	1.81 ± 0.07 c	2.13	中
CK	0.85 ± 0.06 a	1	

注:微核率为平均值±标准误差;不同小写字母表示 0.05 水平上差异显著

3.4 汉江武汉城区段不同采样点水体的污染程度

以污染指数(PI)对不同采样点水体的污染程度进行评估(表 2)。结果表明,样点 A 的 PI 为 0.99,属于基本无污染,样点 B—D 的 PI 范围在 1.5~2.0,属于轻度污染;样点 E 的 PI 大于 2.0,属于中度污染。

4 讨论

随着工农业的快速发展,环境污染问题日趋严重,尤其是水环境,环境中有毒污染物的日益积累,可对水体生物产生遗传毒性效应,不仅破坏了原有水生态系统的平衡,还可对人类的生存造成极大的威胁^[1-3]。汉江是长江中游的最长支流,其武汉汉江水源地被列入全国重要饮用水水源地名录^[15]。因此,严格监控沿江水质的动态变化,对于保证居民生产生活用水安全具有重要的现实意义^[3]。

然而,汉江中下游自 1992 年以来已发生多次水华现象^[6,11]。城市水质理化指标长期持续监测结果也显示,汉江武汉市段中一些水源地一级保护区内部分月份存在水质评价结果超Ⅲ类的现象^[16]。经汉江武汉市城区段水样处理根尖后发现,不同水样处理后根尖生长速度均显著小于对照组,且无论染毒前、染毒后还是染毒前至恢复培养后,各样点蚕豆根尖的长度变化与抑制率趋势一致。结果说明这些水体可对蚕豆的根系生长具有不同程度的抑制作用。研究发现重金属、抗生素等均可抑制植物根尖生长,甚至诱导根尖细胞发生凋亡^[14,17-19]。此外,不同水样处理组对染毒前、染毒后蚕豆根尖长度的抑制率均高于染毒前至恢复培养后的抑制率,这可能

是由于不同水样处理根尖时间较短,水体中的物质对根尖生长呈现短期的抑制效应,经根尖快速恢复培养后,其抑制效应被稀释所致。

化学污染物、工业废水和生活污水等均可导致染色体畸变和微核率增高,微核率增高程度可反映水质被污染的程度^[8-10]。在本研究中,通过生物检测方法检测汉江武汉市城区段水样对根尖细胞的遗传毒性时发现,不同水样对蚕豆根尖细胞的有丝分裂产生了影响,在细胞周期的不同时期均发现染色体畸变和微核的形成。除处理组 A 外,沿江的其余水样均可显著诱导蚕豆根尖细胞形成微核,且各样点水样处理组沿汉江至长江交汇处呈现微核率增加的趋势。其中,处理组 A 样点水体诱导蚕豆根尖细胞形成的微核率最低,为基本无污染,这可能与该区域周边住宅区较为分散,为大片的郊野公园,植被丰富,水域开阔,流动性好,水体自净能力较强有关^[20,21]。样点 B—D 的微核率较低,为轻度污染。该流域内沿岸分布大量居民区,同时建有较多公园和江滩风景区,市民、游客集聚活动频繁,较多生活污水和固体垃圾可能对临近水体水质产生一定程度的污染^[10,22]。采样过程中也发现样点 B 附近正进行大量建筑施工,水体颜色较深,施工过程中产生的废水、日常生活用水等若经雨水直接冲刷流入河流均会加重临近水体的污染^[23]。样点 E 的微核率最高,属中度污染。样点 D 到样点 E 段,商业街、住宅区分布密度较高,沿岸密集餐饮、娱乐、学校和医院,均是市民和游客的主要聚集地,大量生活污水、垃圾、洗涤剂、消毒剂等化学物质的产生和使用,均可诱导蚕豆根尖细胞微核率升高,增加对水体的污染程度^[10,22]。

近年来,虽然武汉汉江水源水体中部分污染因子已呈现出积极变化,但水域中“水华”发生频次并无明显降低^[3],通过对汉江武汉市城区段水样的检测也表明,水体仍具有一定的遗传毒性效应,可显著诱导蚕豆根尖细胞微核率上升和导致染色体畸变的产生,表明沿江两岸的水体仍受到不同程度的污染。河流虽具有一定的自净能力^[21],但汉江中下游干流沿岸人口密集,河道水质除受沿岸城镇、企业等污水排放以及支流汇入的影响外,还受到调水工程和上游水库群调度影响。因此,应加强汉江中下游沿岸的减排控制,降低水质污染程度。同时,增强河流水质的理化和生物监测,及时掌握水质变化的动态规律,以有效防范水体中的致突变物对农田生态系统的破坏以及对人类健康造成潜在的威胁。

参考文献:

- [1] Chitsazan M, Aghazadeh N, Mirzaee Y, et al. Hydrochemical characteristics and quality assessment of urban groundwater in Urmia City, NW Iran[J]. Water Science & Technology: Water Supply, 2017, 17(5/6): 1410-1425.
- [2] Nematollahi M J, Ebrahimi P, Razmara M, et al. Hydrogeochemical investigations and groundwater quality assessment of Torbat-Zaveh plain, Khorasan Razavi, Iran[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2016, 188(1): 1-21.
- [3] 卓海华, 姜保锋, 徐杰, 等. 武汉汉江水源地水质变化趋势及风险分析[J]. 环境科学, 2023, 44(4): 2022-2031.
- [4] 郭晗. 黄河流域高质量发展中的可持续发展与生态环境保护[J]. 人文杂志, 2020(1): 17-21.
- [5] 卢金友, 林莉. 汉江生态经济带水生态环境问题及对策[J]. 环境科学研究, 2020, 33(5): 1179-1186.
- [6] 王中敏, 刘金珍, 刘扬扬, 等. 引调水工程对汉江中下游生态环境的累积叠加影响研究[J]. 中国农村水利水电, 2018(3): 29-32, 36.
- [7] 王建波, 方呈祥, 鄢慧民, 等. 遗传学实验教程[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2004: 56-58.
- [8] Iqbal M. *Vicia faba* bioassay for environmental toxicity monitoring: A review[J]. Chemosphere, 2016, 144: 785-802.
- [9] Sylwester S, Iwona B, Marcin K. Micronucleus assay: The state of art, and future directions[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(4): 1-19.
- [10] 刘存歧, 袁雅心, 王孟颖, 等. 城市污水处理厂尾水生物毒性研究[J]. 安全与环境学报, 2018, 18(6): 2383-2389.
- [11] 李建, 尹炜, 贾海燕, 等. 汉江中下游水华防控生态调度研究[J]. 湖泊科学, 2022, 34(3): 740-751.
- [12] 高荣伟. 我国水资源污染现状及对策分析[J]. 资源与人居环境, 2018, 239(11): 44-51.

(下转第 56 页)

- [25] Li W, Wang K, Liu Y, et al. A Novel Drug Combination of Mangiferin and Cinnamic Acid Alleviates Rheumatoid Arthritis by Inhibiting TLR4/NF κ B/NLRP3 Activation-Induced Pyroptosis [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 912933.
- [26] Kelley N, Jeltema D, Duan Y H, et al. The NLRP3 inflammasome: An overview of mechanisms of activation and regulation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 3328.
- [27] Paik S, Kim J K, Silwal P, et al. An update on the regulatory mechanisms of NLRP3 inflammasome activation [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18: 1141-1160.
- [28] Wang L, Hauenstein A V. The NLRP3 inflammasome: Mechanism of action, role in disease and therapies [J]. *Mol Aspects Med*, 2020, 76: 100889.
- [29] Zhang Y, Pu W, Bousquenaud M, et al. Emodin inhibits inflammation, carcinogenesis, and cancer progression in the AOM/DSS model of colitis-associated intestinal tumorigenesis [J]. *Front Onco*, 2021, 10: 564674.

(上接第 26 页)

- [13] 余业鑫, 李艳, 向罗京, 等. 汉江下游干支流浮游植物群落特征及其对水质的指示评价 [J]. *中国环境监测*, 2022, 38(1): 124-135.
- [14] 苟本富. 铜胁迫对蚕豆幼苗基因组 DNA 损伤效应的研究 [J]. *北方园艺*, 2011(4): 158-160.
- [15] 水利部. 水利部关于印发全国重要饮用水水源地名录(2016 年)的通知 [EB]. 2016-09-29.
- [16] 武汉市水务局. 武汉市饮用水水源地水质状况年度报告(2004—2021 年) [R]. 武汉: 武汉市水务局.
- [17] Mukhtar A, Manzoor M, Gul I, et al. Phytotoxicity of different antibiotics to rice and stress alleviation upon application of organic amendments [J]. *Chemosphere*, 2020, 258: 127353.
- [18] 仲昭朝, 邹婷, 唐惠炜, 等. 铜胁迫对蚕豆根尖细胞凋亡及线粒体功能的影响 [J]. *南京大学学报(自然科学)*, 2019, 55(1): 154-160.
- [19] Li N, Wang K, Lv Y, et al. Silicon enhanced the resistance of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) to ofloxacin on the growth, photosynthetic characteristics and antioxidant system [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2022, 175: 44-57.
- [20] 范亚宁, 袁家根, 耿盼, 等. 秦岭北麓及周边生态系统水质净化功能评估 [J]. *环境科学与技术*, 2022, 45(3): 64-72.
- [21] Zubaidah T, Karnaningroem N, Slamet A. The self-purification ability in the rivers of Banjarmasin, Indonesia [J]. *Journal of Ecological Engineering*, 2019, 20(2): 177-182.
- [22] Cheng K Y, Sheng By, Zhao Y Y, et al. An urban water pollution model for Wuhu city [J]. *Water*, 2022, 14(3): 386-402.
- [23] 周芬, 申月红. 基于绿色施工的环境保护技术 [J]. *工程质量*, 2011, 29(1): 61-64.