

大豆微核技术在环境监测中的应用

李蕊¹,郭长虹¹,丁海燕¹,秦智伟²,郭东林¹

(1. 哈尔滨师范大学生命与环境科学学院生物学系, 哈尔滨 150025; 2. 东北农业大学园艺学院, 哈尔滨 150030)

摘要:植物微核技术是根据遗传学染色体畸变的原理而建立的一种环境污染的生物监测方法。大豆对污染物比较敏感,容易获得间期细胞,以大豆为材料的微核实验是进行环境监测一条行之有效的途径。本文简要介绍了植物微核技术,并对大豆微核实验在环境监测中的应用进行了综述。

关键词:微核技术;大豆;环境监测

中图分类号:S 565.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2007)03-0081-02

Application of Soybean Micronucleus Technology on Environment Detecting

LI Rui¹, GUO Chang-hong¹, DING Hai-yan¹, QIN Zhi-wei², GUO Dong-lin¹

(1. Biology and Environment College, Harbin Normal University, Harbin 150025; 2. Horticulture College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

Abstract: Plant micronucleus technology based on the chromosomal deformation is widely applied to detect the environment. Soybean is sensitive to environment pollutants and easy to obtain interphasal cell. It was known that soybean micronucleus technology was useful in this field. The micronucleus technology and the application of soybean micronucleus technology in environment detecting were summarized.

Key words: micronucleus technology; soybean; environment detect

染色体受到致畸物质损伤断裂后,在细胞分裂后期残留在细胞质中的一些无着丝粒断片会脱离主核而形成微核。微核的直径为主核的 1/3 或更小,形态为圆形或椭圆形,嗜色性与主核一致,微核百分率可以作为检测某些物质是否是致畸或致癌剂,以及致畸性强弱的指标,目前这种检测指标已被国际公认^[1]。

1 植物微核技术

1.1 微核技术的建立与发展

生物体在正常情况下也会出现较低频率的微核。由于生物体的染色体(染色质)在复制过程中,常会发生损伤、断裂导致产生一些碎片。这些碎片大多数能自动与原来的染色体愈合恢复原状,细胞的染色体畸变率也就较低,微核也少,细胞自己能进行正常的生命

活动。使用化学诱变剂处理可以使微核率上升数倍,环境中诱变因子的作用,或细胞内有污染物,往往就会加剧染色体的断裂,或阻碍染色体碎片的愈合,在有丝分裂或减数分裂中不能恢复愈合的染色体片段由于缺少着丝点,不能够移到细胞两极而停留在细胞质中,当新的细胞核形成时,就在细胞质中形成大小不等,着色与主核相同且具有微小胞膜的球体,即微核。微核的数量一般与细胞的损伤程度有关,与处理的剂量呈现明显的线性关系,所以统计细胞分裂后微核的数量,可以测定环境污染的严重程度。

在光学显微镜下观察分生组织分散均匀的细胞就可以进行微核的计数。识别微核的标准如下:大小是主核 1/3 以下的核,着色可深或浅,形状为圆形、椭圆

收稿日期:2006-12-19

基金项目:哈尔滨师范大学大学生创新基金资助项目(2006012)

第一作者简介:李蕊(1983-),女,黑龙江省呼兰人,学士,从事遗传学研究。Tel:13936284476; E-mail:shuijing_sy@163.com。

通讯作者:郭东林(1973-),女,吉林省白城人,博士,副教授,从事遗传学研究。E-mail:gdl1225@163.com。



形或不规则形;与主核分离或有丝或蒂相连、相依,但各自轮廓清楚的都可计作微核。统计微核细胞的千分率(MCN‰)可以作为环境污染的可靠指标。

20世纪70年代初 Matter 和 Schmid 等在研究人类和哺乳动物细胞损伤时,初步建立了间期细胞的微核测定技术。1978年马德修先生以美国产紫露草(*Tradescantia paludosa*)为材料,通过花粉母细胞四分体微核数量作为测定环境污染技术,取得了良好效果。1979年山东海洋学院与中科院海洋研究所和 Te-Hsiu Ma 教授三方合作,成立了中美合作研究用植物细胞 MCN 监测污染研究组,并取得初步结果。1980年 Degrassi 和 Rizzoni 建立了蚕豆次生根尖微核监测系统^[2]。1982年 Degrassi 提出利用微核千分率技术作为诱变剂的监测系统。此后越来越多的人采用各种植物微核技术进行不同领域的监测研究。利用植物微核监测技术监测水质污染、大气污染和土壤污染,是一种行之有效的方法。

1.2 植物微核技术的分类

根据操作技术,可以把目前采用的植物微核技术分为利用花粉母细胞减数分裂形成微核的四分体微核技术和利用根尖分生组织细胞有丝分裂形成微核的根尖微核技术两大类。前者常用的植物材料有美国紫露草、毛萼紫露草、紫竹梅等,后者常用的植物材料有蚕豆、大花凤眼莲、大米草、玉米、大蒜、洋葱等^[3]。这两类方法各有其特点,一般来说,花粉母细胞对环境污染更为敏感,而且分裂的同步性强,分裂指数高,产生的四分体是单个细胞,染色制片容易,便于进行观察和统计分析,可被用来监测大气、水体、土壤、放射性核素等污染。但是能够用于花粉母细胞观察的植物材料不够普遍,且植物开花受本身生长发育规律的控制,季节性很强,使这一技术在环境监测领域的应用受到一定限制。利用植物根尖分生组织细胞有丝分裂进行植物微核技术操作更为简便,植物材料易得,不受时间、空间和设备的限制,便于规范化推广应用。

2 大豆微核技术研究进展及其应用

微核监测的关键是材料的选择,一般来说应选择染色体条数少、个体大、便于统计、对污染物反应比较敏感的材料,这种材料还宜于在当地生长。大豆微核技术是近年来发展起来的一项检测技术,由于大豆具有栽培面广、染色制片易于观察等特征,作为微核实验的材料进行环境检测方面得到了广泛的应用。采用大豆为材料,培养的方法有水培法和沙培法,经过处理后进行细胞学观察,在间期细胞中可以明显地检测到微核现象,在一定范围内大豆根尖微核率随着诱变剂浓

度的增加而增加,剂量效应十分明显。由此可见,大豆对污染物比较敏感,大豆栽培既经济又简便,所以大豆能与蚕豆、紫露草一样被用于定量检测各种环境污染的程度,可以作为环境监测的指示植物^[4]。

大豆是我国主要的栽培作物,栽培经济简便,种植广泛,对大豆的研究一直比较深入,早期的大豆染色体及核型研究为大豆微核实验技术奠定了实验基础,近年来陆续有使用大豆为材料进行环境监测的报道。刘宛等(2002)研究氯苯胁迫对大豆种子萌发的伤害^[5];张永等(2004)采用盆栽试验方法,研究了表面活性剂 LAS(十二烷基苯磺酸钠)与重金属 Cd 单一及复合污染对黄豆生长和生理生化指标的影响。结果表明,在单一 LAS 污染条件下,较低浓度的 LAS(≤ 15 mg/L)能促进黄豆的生长,较高浓度的 LAS(≥ 50 mg/L)对黄豆有毒害作用^[6]。齐刚等测试分析了大庆油田废钻井液的有害成分,进行了废钻井液蚕豆根尖细胞微核试验、玉米和大豆种子发芽实验及大豆生长发育盆栽试验。结果表明,大庆油田应用的两种主要钻井液——聚合物体系和三钾聚合物体系遗传毒性较低。不同含量的废钻井液对大豆和玉米种子的发芽率没有产生显著的影响。在试验条件下,废钻井液对大豆的生长发育有促进作用,但其有害成分能残留在大豆种子中,而且大豆种子中的 Cu、Pb、Cd、As、石油总烃和酚类物质等的含量与其在废钻井液中的含量之间存在着显著的线性回归关系^[7]。

以大豆为材料进行环境监测是一条可行的途径,随着细胞遗传学的发展、实验技术手段的成熟,以大豆为材料进行环境监测的细胞学研究也成为可能,大豆的微核技术因其简便、快捷而在环境监测中也得到了一定的应用。原亚萍等(1993)研究了平阳霉素对大豆的诱变效应,平阳霉素的处理浓度为 10、20、30 $\mu\text{g/mL}$,以 0.3%EMS 处理为对照。大豆种子经平阳霉素处理后,根尖细胞染色体发生了明显的变化,出现了各种染色体畸变,特别是在有丝分裂后、末期观察到的畸变类型有染色体桥、落后染色体、断片、微核以及三极分裂等^[8]。田秋元等(2005)进行甲醛诱变大豆根尖细胞的微核效应研究。试验设置了 4 种不同浓度的甲醛 HCHO 溶液和 1 个对照组,对大豆品种特早 50 种子进行处理,每个处理设 3 次重复,统计不同处理的发芽率和根尖细胞的微核率,并进行方差分析和 F 检验,结果表明大豆根尖细胞微核技术能作为甲醛遗传毒性的检测方法^[9]。胡振东等(2006)以黄豆为实验材料利用微核

(下转 87 页)



500 m的水稻样方,随机选取便于采样的地块作为目标样方。以耕地自然边界(水渠、公路、田间小径等)为样方边界。各种现状地物的宽度不是很宽,大部分都在10 m以内,在TM图像(分辨率为30 m)不能形成单独的象元,为此在解译过程中难以扣除。因此,在实际研究和工作中应对其进行扣除。

质精度:对主要种植区域沿公路方向采用带状或条状验证的方法进行,如达不到精度要求查找出解译中错误原因,重新解译,重新计算精度,直到合格为止。通过几年的工作经验和验证,三江水稻解译精度达到97.3%。

4 监测结果

以三江平原地区其中一景TM影像为例,2003~2006年,该景水稻种植面积监测和变化率见表。该监测方法不仅可以应用到水稻面积的动态监测,也可以应用到其它作物的动态监测。

表 2003~2006年三江平原部分地区水稻种植面积监测和变化率

年 份	2003	2004	2005	2006
面积(hm ²)	294186	307140	319353	344510
较上年变化率(%)	—	4.4	3.98	7.88

5 结束语

利用遥感技术分析水稻种植面积,是我们近几

年一直在执行的项目,通过实践,摸索了一套利用“3S”技术对水稻种植面积监测的方法。

由于水稻在生长期受多种自然灾害及人为因素的影响,特别是近年来,随着我国改革开放的深入,农业种植结构的调整,使得水稻在种植面积和产量上经常出现波动现象,加之传统的统计预报方法难以避免的出现诸如错报、漏报、空报等问题,所以常规方法已经很难得到精确的水稻种植面积和产量。遥感技术和地理信息系统的引入,为解决上述问题提供了有效手段。它不仅可以通过遥感图像及时地获取水稻分布信息,同时还可以同往年的种植情况作比较,达到动态监测水稻面积的目的。

参考文献:

- [1] 刘海启. 卫星遥感技术在农业上的应用与发展[J]. 1991, 11, (3), 36-41
- [2] 刘述彬, 张秀茵, 马彦友, 等. 遥感在三江平原土地资源开发、管理及保护中的应用潜力[C]. 2004, 66-71
- [3] 黄敬峰, 王人潮, 蒋亨显, 等. 基于GIS的浙江省水稻遥感估产最佳时相选择[J]. 2002, (3), 290-294
- [4] 王延颢. 南方稻区遥感水稻长势监测与估产研究[J]. 遥感技术与应用, 1991, 6(3), 1-6
- [5] 刘刚, 张漫, 汪慧华. 基于DGPS和GIS的农田空间信息管理系统研制[A], 第四届ArcInfo暨ERDAS中国用户大会论文集[C]. 北京: 地震出版社, 2000.

(上接82页)

监测技术对淮北煤矿塌陷区不同水体水质污染进行监测,同时通过对水体周围污染源的监测与调查,分析引起污染的原因,进一步探讨防治污染的对策。结果表明黄豆作为微核监测技术的实验材料是敏感和可靠的^[10]。

3 展望

微核技术在细胞水平上的遗传毒性研究和环境监测方面都得到了广泛的应用,如利用人淋巴细胞和小鼠骨髓红细胞进行的药物检测,水体污染、大气污染、重金属污染、放射性污染、农药污染、土壤污染以及矿尘、真菌提取物等方面的监测。微核技术具有操作简单、快速、灵敏、方便、经济等特点,而且综合性强,同时还具有化学监测和物理监测所不能达到的效果,更接近于污染物对生物和人类的危害情况,植物的微核检验应用面广,取材方便,是一种行之有效的办法。大豆与蚕豆、紫露草一样能够作为环境监测的指示植物定量检测各种环境污染的程度,大豆微核技术在近年来得到发展,并将在环境监测方面得到更为广泛的应用。

参考文献:

- [1] 韩恒芬, 翟丽莉, 刘援朝, 等. 植物细胞微核技术与环境污染监测[J]. 河南科技, 1998, (10), 10.
- [2] Degrassi F, Rizzoni M. Micronucleus test in vicia faba root tips to detect mutagen in fresh water pollution[J]. Mutation Res, 1982, 97, 19.
- [3] 左男. 微核技术监测环境污染研究[J]. 生物学杂志, 1994, (5), 37.
- [4] Cordova Rosa EV, Simionatto EL, de Souza Sierra MM, et al. Toxicity-based criteria for the evaluation of textile waste water treatment efficiency[J]. 2001, 20(4), 839-845.
- [5] 刘宛, 孙铁珩, 周启星, 等. 氯苯胁迫对大豆种子萌发的伤害[J]. 应用生态学报, 2002, 13(2), 141-144.
- [6] 张水, 廖柏寒, 曾敏, 等. 表面活性剂LAS与重金属Cd复合污染对黄豆生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(6), 1070-1072.
- [7] 宋文玲, 齐刚, 王尚军. 废弃泥浆对大豆有机物含量的影响[J]. 黑龙江环境通报, 2004, 28(2), 59-61.
- [8] 原亚萍, 许耀奎. 平阳霉素(pingmycin)对大豆诱变效应的研究[J]. 作物学报, 1993, 19(1), 7-16.
- [9] 田秋元, 高鹏修. 甲醛诱变大豆根尖细胞的微核效应研究[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(9), 1688-1689.
- [10] 胡振东, 宋效刚, 耿翠丽, 等. 用黄豆微核技术监测煤矿塌陷区水体污染的研究[J]. 淮北煤炭师范学院学报, 2006, 27(1), 59-61.