

石油采出水诱发蚕豆根尖细胞染色体畸变的研究

徐长君¹, 周 雪², 张国发¹, 袁改霞¹, 史典义¹

(1. 大庆师范学院 生命科学学院, 黑龙江 大庆 163712; 2. 黑龙江八一农垦大学 生命科学学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘要:应用蚕豆根尖细胞微核技术,对大庆市4个采油厂聚驱的石油采出水遗传毒性进行分析研究。结果表明:经聚合物驱油的石油采出水处理过的蚕豆根尖细胞,其染色体均发生异常,出现断片、桥以及滞后染色体等现象,有明显的微核效应和遗传毒性,加水稀释对于减轻其毒性的作用甚小,如果不加处理地排放将会给生态环境造成危害。

关键词:石油采出水;聚合物驱油;蚕豆根尖;微核技术

中图分类号:X52

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2010)01-0005-03

水是人类生存和发展不可或缺的物质,也是地球上最普遍的和不可替代的自然资源。近年来,作为生物圈的污染源之一——水污染已成为民众关注的热点^[1-2]。石油采出水又称采油废水或采油水(Oil Produced Waste Water),是油田在采油的过程中随原油一同采出的地层水,经过油气分离和脱水处理后脱出的污水^[3]。由于地层不同、采油过程不同,大庆地区的石油采出水成份十分复杂,主要污染物包括原油、驱油聚合物、悬浮物、硫化物、氨态氮以及大量的盐类等^[4]。石油采出水的遗传毒性和对环境的影响受到广泛关注。

微核(Micronuclei)是细胞经遗传毒性物质诱变后,在有丝分裂后期染色体片断形成的颗粒物质,是染色体发生畸变行为的一种表现^[5]。微核多见于间期细胞,大小差别很大,其大小一般为主核1/4~1/3,细胞中微核按数量可分为单微核、双微核、多微核3类,实验中单微核的情况比较常见。微核与染色体畸变及患癌率有很高的相关性^[6-7]。用蚕豆根尖细胞微核技术监测水质污染的测试系统,已被国家环保局编入《生物监测技术规范》。所以微核技术可测定细胞染色体受损伤的程度,可以直接反映污染物对生物体遗传物质的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

蚕豆购自华中师范大学生物系培植的松滋青皮豆(*Vicia faba*),当年成熟的饱满种子。采油污水水样由油田水处理联合站提供。阳性对照水样采用浓

度为0.5%的甲基磺酸乙酯(ethyl methane sulfonate, EMS)溶液^[8]。阴性对照水样采用去离子水。

1.2 试验设计

根据文献^[9]采出100%浓度的水原液,用去离子水稀释为75%、50%、25%浓度的待测液备用。甲基磺酸乙酯(EMS)阳性对照水样使用浓度为0.5%,用去离子水配置。阴性对照为去离子水^[10]。卡诺固定液:纯酒精3份+冰醋酸1份。Schiff氏试剂:蒸馏水加温、去火、加入碱性品红不断摇荡,待溶液冷却至50℃时过滤,加1 mol·L⁻¹盐酸,冷却至25℃时再加亚硫酸氢钠摇荡后置于暗处静止12~24 h,再加入活性炭,搅拌过滤,待溶液成为无色透明状态后,储存于4℃冰箱内备用。

1.2.1 试验材料的预处理 选择适量蚕豆种子,经清洗后在58℃的温水浸泡10 min消毒。

1.2.2 蚕豆种子的浸种催芽 将消毒后的蚕豆放入盛有蒸馏水的烧杯中,把该烧杯置于23℃恒温箱中浸种24 h。待种子充分膨胀后,将种子转入搪瓷托盘中,用脱脂棉保持湿度后将其放入温箱中催芽培养。

1.2.3 染毒处理及取材 待根尖长至2~3 cm,分别用去离子水、0.5%的EMS溶液及100%、75%、50%、25%5种浓度的石油采出水待测液染毒培养15 h^[11],经3次水洗后用蒸馏水恢复生长24 h。

1.2.4 根尖的固定及保存 剪取蚕豆根尖,用新配制的卡诺固定液固定24 h。若不立即压片,将固定后的材料水洗后转入70%酒精中,放于4℃的冰箱保存备用^[12]。

1.2.5 制片与镜检 将固定后的材料置于已预热至60℃的1 mol·L⁻¹ HCl中^[12],恒温水浴中解离8~14 min。用蒸馏水洗净,然后放入Schiff氏试剂中置于黑暗中染色1~2 h,待根尖呈深紫色,即可制片

收稿日期:2009-09-12

基金项目:黑龙江省教育厅科技指导资助项目(11523002)

第一作者简介:徐长君(1962-),男,黑龙江省哈尔滨市人,硕士,教授,主要从事生态学研究。E-mail:changjunxu@126.com。

镜检。

染色后的材料按常规方法压片,并按细胞遗传学制片法制片,每一组取较好的6张制片进行镜检,每张压片统计1 000个细胞,选取好的分裂相进行分析。

微核位于细胞内的细胞质中,与主核分开并且距离不等,其着色与主核相当或比主核稍浅一些,形态多为圆形、椭圆形或不规则形态,结构比较完整,还会见到双核、多核、染色体桥等情况,根据微核的判定标准来统计微核数^[13]并照相。

2 结果与分析

分别按照公式计算微核千分率及PI指数,做为评价水质的标准(见表1)。其公式为:微核率(MCN)=(微核数/观察的细胞数)×1000‰

根据陈光荣提出的污染指数计算方法,即污染指数(PI)=样品微核率平均值/对照核率均值。

表1 污染指数PI值评价水质标准

污染指数PI值	水质污染等级
0~1.5	基本无污染
1.5~2.0	轻污染
2.0~3.5	中污染
3.5以上	重污染

按文献的方法进行统计、数据处理和相关分析^[14-17]。运用SPSS软件及Excel软件对试验数据进行统计分析。

由表2可以看出,供试的各石油采出水样本,无论原液(100%)还是经过稀释以后的待测液,污染指数均在3.5以上,污染等级均为重污染。

表2 不同浓度采出水的蚕豆根尖细胞微核千分率

样本	100%	75%	50%	25%	EMS	蒸馏水
1 四厂二矿聚北Ⅱ一沉	3.2	3.1	2.7	3.0	2.2	0.2
PI值	16.0	15.5	13.5	15.0	11.0	
2 一厂聚中312站杀菌剂	3.4	3.3	1.8	2.4	2.2	0.2
PI值	17.0	16.5	9.0	12.0	11.0	
3 三厂一矿聚北16一沉	1.8	6.7	7.8	2.4	2.2	0.2
PI值	9.0	33.5	39.0	12.0	11.0	
4 三厂二矿聚北15一沉	2.4	3.2	5.9	2.9	2.2	0.2
PI值	12.0	16.0	29.5	14.5	11.0	

样本1、2以采出水原液污染最重,稀释后降低浓度可以使其污染指数下降,试验中由原液、75%浓度、50%浓度3个处理随浓度降低污染指数下降,但如果继续降低浓度(25%)其污染指数又回升;样本3、4的污染指数与样本1、2正相反,即4个浓度中采出水原液污染最轻,随浓度降低污染指数增大,采出水原液50%浓度污染最重,继续降低浓度(25%)其污染指数又下降;4组供试样本的这种变化规律原因

尚不清楚,但是可以认为以加水稀释的办法处理石油采出水,起不到降低其污染的效果。

表3 统计结果分析

变异来源	自由度	平方和	均方	F值	F _{0.05}	F _{0.01}
区组	17	85.29	5.02	0.68	1.73	2.16
处理间	23	1737.72	75.55	10.23	1.64	2.00
A处理	3	182.73	60.91	8.25	2.70	3.98
B处理	5	969.82	193.96	26.27	2.31	3.21
A×B	15	585.17	39.01	5.28	1.77	2.22
误差	391	2887.32	7.38			
总变异	431	4710.33				

3 结论与讨论

F测验结果表明(见表3),石油采出水处理浓度间的F值大于0.01,即原液组和各稀释组对豌豆根尖细胞诱变微核均与阴性对照组存在极显著差别,而且,聚合物采出水的水样不经稀释处理,会抑制蚕豆的出芽和生长。石油采出水具有一定的遗传毒性,加水稀释的办法对于减缓其毒性的作用甚小,如果将原液或稀释液任意排放会造成环境污染,导致生物体致癌、致突变、致畸作用,并且随着食物链的能量流动及富集作用,很可能对整个生态系统造成危害。因此对采出水的处理是十分迫切也是十分必要的,从目前来看,大庆地区石油采出水要以回注为主,杜绝或减少外排,对石油企业的采出水排放问题要引起相关部门的重视,要做到先预防、后治理、再排放,把污染程度降到最低。

参考文献:

- [1] 狄少杰,刘凌云,黄鳍,等.染色体外SCE检测系统的建立及对两种洗涤剂的检测[J].环境科学学报,1982(2):249-252.
- [2] 沙亦凝,周耀红,周围镐,等.蚕豆根尖微核技术在环境监测中的应用[J].生物学教学,2005,30(4):74-75.
- [3] 韩文涛,邹丽芳.利用人工湿地处理石油采出水技术的可行性[J].吉林水利,2006(11):1-3.
- [4] 刘杰,王学惠,刘影,等.丙烯酰胺类聚合物在油田中的应用[J].化学工程师,2006(8):22-23.
- [5] 杨正亮,吴普特.杨凌地表水对蚕豆根尖细胞微核的影响[J].环境与健康杂志,2007,24(5):344-345.
- [6] 南晓光.蚕豆根尖细胞微核试验[J].内蒙古民族大学学报(自然科学版),2003,18(5):15-17.
- [7] 王爽,诸葛坚,余应年,等.微核与微核试验在遗传毒理学中的应用[J].癌变·畸变·突变,2000,12(4):253-256.
- [8] 丁恬,王福琳,刘曙光,等.合成洗涤剂潜在危害的研究[J].山东医学院学报,1982(2):7-12.
- [9] 仪慧兰,李新锋,孟紫强,等.SO₂衍生物诱发蚕豆根尖细胞微核和后期异常的研究[J].植物研究,2003,23(3):308-311.
- [10] 陈光荣,金波,李明,等.污染指数在微核技术监测水质污染中的应用[J].中国环境科学,1986,6(2):60-63.
- [11] 冯花,冯江,朱建华,等.蚕豆根尖微核技术检验赣江南昌段水质污染的研究[J].实用临床医学,2007,8(2):126-130.
- [12] 陶佳喜.利用蚕豆根尖微核试验监测遭受湖水体遗传毒性的

- 研究[J]. 水生生物学报, 2004, 28(4): 454-457.
- [13] 李淑梅. 利用蚕豆根尖微核技术检测颍河水质污染的研究[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2001, 29(2): 112-114.
- [14] 胡振东. 蚕豆微核测定技术及其应用[J]. 淮北煤师院学报, 2000, 21(4): 65-68.
- [15] 王渤. 线虫 *Caenorhabditis elegans* 在甲基磺酸乙酯(EMS)中的毒性实验[J]. 中国动物检疫, 2004(12): 24-26.
- [16] 秦华明, 莫测辉. 聚丙烯酰胺微生物降解研究进展[J]. 生物学报, 2004, 28(4): 454-457.
- [17] 崔宝臣, 崔福义, 刘淑芝. UV—H₂O₂ 协同降解水中聚丙烯酰胺研究[J]. 工业用水与废水, 2007, 38(6): 21-24.

Research on Chromosome Aberration of Horsebean Root Tips Induced by Oil Produced Waste Water

XU Chang-jun¹, ZHOU Xue², ZHANG Guo-fa¹, YUAN Gai-xia¹, SHI Dian-yi¹

(1. Life Science Department of Daqing Normal College, Daqing, Heilongjiang 163712; 2. Life Science and Biotechnology College of Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing, Heilongjiang 163319)

Abstract: Horsebean root tips were selected as materials to detect micronucleus causing by polymer-flooding waste water sampled from four oil production plants in Daqing city. The results showed that at certain concentration, the four samples all could incite *Vicia faba* root tip cells to produce chromosomal abnormalities such as fragments, bridge and lagging chromosomes. All these results proved that there was great genotoxicity to organisms caused by oil produced water, and therefore could not discharge it to ecological environment arbitrarily in order to avoid causing great harm.

Key words: oil produced waste water; polymer flooding; root tip cell; micromuclear technology

(上接第 4 页)

Restraining Effect of Biological Controlling Strain R13 on Rice Sheath Blight

YU Yan-min¹, ZHAO Bei-ping¹, GAO Hong-ru¹, WU Hong-tao¹, YU Miao²

(1. Wuchang Rice Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Wuchang, Heilongjiang 150229; 2. Liaoning Academy of Microbiology, Chaoyang, Liaoning 122000)

Abstract: Restraining ratio, mycelium inhibitory action and sclerotium sprout were determined, the results indicated that R13 possessed certain suppressing function with 67.8% restraining ratio, it could make normal *Rhizoctonia solani* mycelium distorted and bioplasm overflow, mycelium sprout index was 34.6 after treated by R13, and the forming time of sclerotium was obviously delayed.

Key words: biological controlling strain; rice sheath blight; inhibitory action

✱ 祝作者朋友们新年快乐 ✱