

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20140709002

边高鹏, 刘瑞祥. 漳泽水库水体污染对黑斑蛙蝌蚪遗传毒性的野外调查研究[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(6): 1126-1132

Bian G P, Liu R X. The study of in vivo DNA methylation levels of *Rana Chensinensis* in gold mining area [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(6): 1126-1132 (in Chinese)

漳泽水库水体污染对黑斑蛙蝌蚪遗传毒性的野外调查研究

边高鹏^{*}, 刘瑞祥

长治学院生物科学与技术系, 长治 046011

收稿日期: 2014-07-09 录用日期: 2014-09-12

摘要: 通过野外采集漳泽水库不同采样点的黑斑蛙蝌蚪, 采用微核、核异常、彗星试验 3 种方法, 研究了水体污染对蝌蚪红细胞微核率、核异常率和 DNA 断裂 3 种遗传毒性指标的影响。微核试验结果显示: 各采样点红细胞微核率除泽头采样点外, 均明显高于阴性对照 ($P < 0.01$), 其中水库入口店上采样点的微核率最高, 为 6.87%, 位于水库上、中、下游 3 个采样点的微核率逐渐下降, 从大到小依次为: 下韩 (5.45%)、台上 (3.71%)、泽头 (2.33%)。核异常试验结果显示: 各采样点核异常率均明显高于阴性对照 ($P < 0.01$), 核异常率与微核率二者变化趋势趋于一致。彗星试验结果显示: 各采样点红细胞尾长、尾矩与阴性对照相比差异均极显著 ($P < 0.01$), 尾长、尾矩的变化趋势与微核试验结果一致。对同样位于水库中游的采样点司徒和台上的 4 个指标进行多重比较分析发现: 微核率、核异常率和彗星尾长差异均不显著 ($P > 0.05$), 而尾矩差异显著 ($P < 0.05$)。综上所述, 漳泽水库各采样点水体具有较高的遗传毒性, 主要毒性作用为引起染色体 (DNA) 断裂; 各采样点遗传毒性指标变化规律与水体污染物变化规律趋于一致, 因此应用这 3 种方法可以有效地对水体遗传毒性进行检测。

关键词: 微核试验; 核异常试验; 彗星试验; 漳泽水库; 蝌蚪; 遗传毒性

文章编号: 1673-5897(2014)6-1126-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Field Investigation on Genotoxicities of Zhangze Reservoir Water Body to *Rana nigromaculata* Tadpoles

Bian Gaopeng^{*}, Liu Ruixiang

Department of Biological Sciences and Technology, Changzhi College, Changzhi 046011, China

Received 9 July 2014 accepted 12 September 2014

Abstract: Micronucleus test, nucleus abnormality test and comet test were applied to explore the effects of the water pollutant on three genetic toxicity indexes, namely, micronucleus frequency, nuclear anomalies frequency, DNA fracture of *Rana nigromaculata* sampled from five sampling points of Zhangze Reservoir. The results of micronucleus test showed that the erythrocyte micronucleus frequency of all sampling points was significantly higher than that of the negative control ($P < 0.01$), except for that of Zetou. The highest micronucleus frequency was 6.87% at Dianshang located in the entrance of the reservoir, and the micronucleus frequency decreased gradually at three sampling points located in the upstream, midstream and downstream, i. e., Xiahan (5.45%), Taishang (3.

基金项目: 山西省高校科技研究开发基金资助项目 (No. 20081043); 长治学院科研项目 (No. 2010112)

作者简介: 边高鹏 (1970 -), 男, 动物学硕士, 讲师, 研究方向为环境毒理学, E-mail: biangaopeng@163.com

71%) and Zetou (2.33%) . The results of nucleus abnormality showed that nuclear abnormality frequency of the erythrocytes at all sampling points was significantly higher than that of the negative control ($P < 0.01$) . The change trend of nuclear abnormality of all sampling points was consistent with that of the micronucleus test. The results of comet test showed that both the tail length and the tail moment of the erythrocytes were significantly higher than that of the negative control ($P < 0.01$) at all sampling points , and the change trend of both the tail length and the tail moment was consistent with that of the micronucleus test. By comparing and analyzing four indexes of Situ and Tais-hang both located in the midstream , it is found that no significant difference ($P > 0.05$) was observed in the micronucleus frequency , nuclear abnormality and comet tail length , but there was significant difference ($P < 0.05$) in the comet tail moment. In conclusion , the water from different sampling points in Zhangze Reservoir showed high genetic toxicity , which mainly caused chromosome (DNA) fracture. The genetic toxicity indexes of all sampling points varied consistently with the pollutant change of the water body , so the genetic toxicity of the water body can be detected effectively through the three methods mentioned above.

Keywords: micronucleus test; nuclear anomalies; comet test; Zhangze reservoir; tadpoles; genotoxicity

漳泽水库位于山西省长治市以北 20 km 处 , 地处浊漳河南源的中游 , 是长治市工农业生产的主要水源 , 同时也是长治市重要的饮用水备用水源。但是近年来 , 随着库区周边工农业生产的快速发展和人口增长 , 工农业生产废水、生活污水的排放 , 越来越多的污染物进入水体 , 出现大量鱼类和贝类死亡 , 甚至有畸形青蛙出现 , 引发人们对漳泽水库水体污染物遗传毒性的关注。水体中污染物种类繁多、含量极低 , 难以对其逐个进行分析 , 而应用生物检测可以对水体遗传毒性进行有效的、全面的评价^[1]。

两栖动物蝌蚪在变态前皮肤由单层细胞组成 , 水体环境中的污染物易于在其体内富集; 另外 , 其红细胞具有细胞核且体积较大 , 容易观察 , 并具有较旺盛的细胞分化增殖能力 , 水体环境中诱变物引起的遗传毒性能够通过细胞分裂很快体现出来^[2]。因此 , 两栖类的蝌蚪是对水体环境进行生物检测较理想的指示生物。微核试验和核异常试验是以染色体损伤和细胞核内遗传物质的变化等为测试终点的生物检测方法 , 具有简便、可靠等优点 , 因此在水体污染的遗传毒性的检测中 , 以两栖类动物为研究对象的微核及核异常试验得到了广泛的应用^[2-4]。彗星试验(单细胞凝胶电泳)是一种较为敏感的 DNA 损伤检测手段 , 只需 2 ~ 3 h 即可完成试验; 同时彗星图像可采用 CASP 软件分析 , 使实验结果更加的客观准确^[5]; 目前国内外应用彗星试验对水体环境遗传毒性的检测大多以鱼类、软体动物等作为指示生物 , 也有以人体淋巴细胞作为受试对象的报道^[5-9] , 但以两栖类蝌蚪进行的研究仅见 Ralph 等^[10]关于

绿蛙、豹蛙等的报道。

黑斑蛙(*Rana nigromaculata*)属于两栖类动物 , 是中国北方的广布种。本研究以漳泽水库各采样点野外现场采集的黑斑蛙蝌蚪为指示生物 , 以其外周血红细胞为研究对象 , 采用微核、核异常以及彗星试验 3 种不同的测试方法 , 从细胞水平和分子水平 2 个平台 , 研究漳泽水库水体环境中的各种复杂混合物潜在的生物遗传毒性效应 , 为建立水环境污染监测方法和指标体系提供参考依据。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 仪器与试剂

仪器: Nikon Eclipse E600W 荧光显微镜(日本尼康公司)、DYY-6C 型电泳仪(北京六一仪器厂)、XW-80A 旋涡混合器(江苏海门市麒麟医用仪器厂);

试剂: 正常熔点琼脂糖、低熔点琼脂糖、肌氨酸钠、溴化乙啶、TritonX-100、二甲基亚砷、台盼蓝等均购自美国 Sigma 公司 , 其他试剂如甲醇、吡啶橙等均为国产分析纯。

1.2 实验动物与采样方法

南漳河、岚水河、绛河、石子河是漳泽水库 4 条主要入库河流 , 南漳河和岚水河汇合后与石子河从南面入口、绛河则从西面入口汇入水库。由于黑斑蛙蝌蚪喜集群生活 , 不善迁移 , 生活在岸边水流缓慢的区域 , 2014 年 5 月沿 4 条入库河流和水库上、中和下游东岸采集蝌蚪 , 共选取 5 个采样点(图 1): 店上(S1 南漳河、岚水河汇合处 , 距水库南入口 3.6 km)、下韩(S2 水库东岸的上游 , 距水库南入口 3.8 km)、台



图1 采样点示意图

(S1: 店上; S2: 下韩; S3: 台上; S4: 泽头; S5: 司徒)

Fig. 1 Map for sampling sites

S1: Dianshang; S2: Xiahan; S3: Taishang; S4: Zetou; S5: Situ)

上(S3, 水库东岸的中游, 距水库南入口7.4 km)、泽头(S4, 水库东岸的下游, 距水库南入口9.6 km)、司徒(S5, 水库西岸绛河的入口处, 距水库南入口7.6 km)、石子河未采集到蝌蚪。通过齿式鉴定为黑斑蛙蝌蚪^[11], 选取其中长度为 (2.5 ± 0.20) cm 和体重为 (0.2 ± 0.03) g 大体一致的蝌蚪作为实验材料, 同时在绛河上游选取水流清澈的河流中采集黑斑蛙蝌蚪作为阴性对照(CK)。

1.3 微核与核异常实验

用质量分数为1%柠檬酸钠清洗蝌蚪体表, 放入盛有50 μ L 质量分数为1%柠檬酸钠的培养皿中迅速断头取血, 制得蝌蚪红细胞悬液。用移液枪取20 μ L 细胞悬液滴在载玻片一端, 采用推片法制成血涂片, 风干后放入固定缸中甲醇固定15 min 后取出, 倒扣在玻璃板上(有细胞的一面朝下), 染色方法参照 Ossana 等^[3]的吖啶橙荧光染色法进行, 用吖啶橙应用液染色25 min, 冲洗风干后中性树胶封片, NikonE600W 荧光显微镜观察、照相。每个采样点观察10只蝌蚪, 每只蝌蚪至少观察1000个细胞, 参照王懿等^[12]对蝌蚪红细胞微核和核异常判断标准进行计数, 测定其千分率。计算公式如下:

微核率(‰) = 具有微核的细胞数 / 观察细胞总数 $\times 1000\%$

核异常率(‰) = 各种类型的核异常数 / 观察细

胞总数 $\times 1000\%$

1.4 彗星实验

参照罗明志等^[13]的方法, 结合本实验室条件加以改进。在普通载玻片上镀膜、烤膜、构槽后, 取25 μ L 细胞悬液和75 μ L 低熔点琼脂糖旋涡混合器混匀后, 取10 μ L 混合液滴加于载玻片上。细胞裂解1 h, 碱性电泳缓冲液(pH = 13.0)解旋30 min, 23 V、300 mA 电泳25 min, 经中和后, 用 $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 溴化乙啶染色1~2 min, 荧光显微镜下观察, 每个采样点观察10只蝌蚪, 每只蝌蚪至少观察100个细胞, 蔡司显微数码成像系统进行图像采集, CASP 软件分析测量, 选用尾长(TL)和尾矩(TM)2个指标评价DNA损伤程度。

1.5 数据处理

所有数据采用平均数 \pm 标准差表示, 利用 DPS7.05 软件进行处理和分析各采样点之间以及其与对照组之间的差异, 差异显著性采用邓肯氏极差测验进行多重比较分析。

2 结果(Results)

2.1 不同采样点蝌蚪红细胞微核率的变化

黑斑蛙蝌蚪正常的成熟红细胞一般为圆形或椭圆形, 具有1个细胞核, 位于细胞的中央, 经吖啶橙荧光染色后红细胞核为橘红色, 细胞质为浅绿色(图2A)。观察结果显示, 各采样点蝌蚪红细胞细胞质中, 均呈现有大小不等的微核, 其染色特点与主核一致, 直径大约相当于主核的1/10~1/3(图2B、2C), 位置多与主核相近。各采样点微核率变化见表1, 5个采样点蝌蚪红细胞微核率均高于阴性对照, 除泽头外, 差异均极显著($P < 0.01$); 位于水库南入口附近的S1蝌蚪红细胞微核率最高(6.87‰), 水库沿岸上、中、下游3个采样点蝌蚪红细胞微核率依次降低, 其微核率从大到小依次为: S2 > S3 > S4, 各采样点之间微核率差异极显著($P < 0.01$); 此外, 由表1可知, 同样位于水库中游的S3和S52个采样点蝌蚪红细胞微核率差异不显著($P > 0.05$)。

2.2 不同采样点蝌蚪红细胞核异常率的变化

黑斑蛙蝌蚪正常红细胞核多为椭圆形(图2A)。核异常实验显示, 各采样点蝌蚪红细胞核均出现多种不规则形态, 称为核异常, 其类型主要有双核、三核、无核、核空泡、核外凸、核内凹、核固缩等(见图2D~2J)。各采样点蝌蚪红细胞核异常率与阴性对照相比差异均极显著($P < 0.01$)(表2); 水库沿岸上、

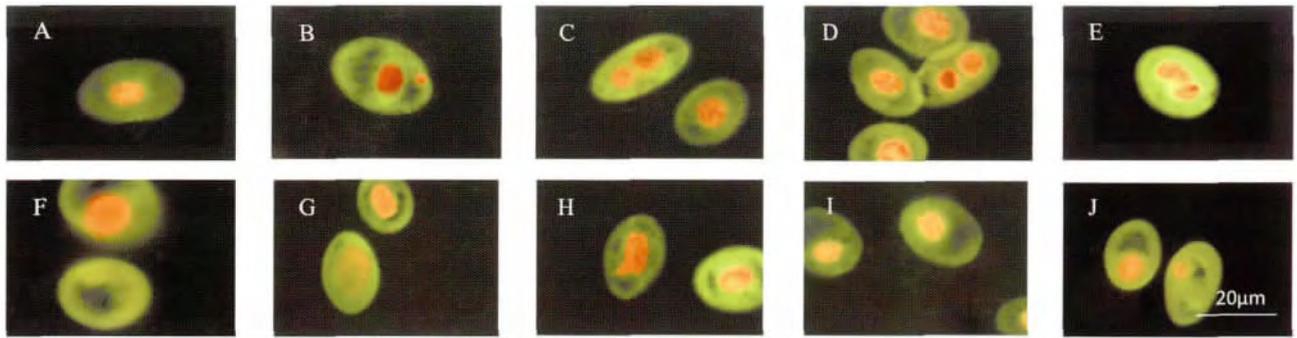


图 2 不同形式的黑斑蛙蝌蚪红细胞微核和核异常

(A: 正常; B~C: 微核; D: 双核; E: 三核; F: 无核; G: 核空泡; H: 核外凸; I: 核内凹; J: 核固缩)

Fig. 2 Photomicrographs in erythrocytes of *Rana nigromaculata* tadpoles with micronucleus and anomalous nuclei

(A: normal nucleus; B-C: micronuclei; D: binucleated; E: trebled; F: seedless; G: nuclear vacuoles; H: blebbed; I: notched; J: pyknosis)

表 1 不同采样点黑斑蛙蝌蚪红细胞微核率

Table 1 Micronucleus frequency in erythrocytes of *Rana nigromaculata* tadpoles from different sampling sites

采样点 Sampling sites	细胞总数 Total number of cells	微核数 Micronucleus number	微核率/% Micronucleus frequency/%
CK	10 656	18	1.66 ± 0.36 ^{AA}
S1	10 321	78	6.87 ± 1.01 ^{BA}
S2	10 513	54	5.45 ± 0.65 ^{CB}
S3	10 412	38	3.71 ± 0.49 ^{DC}
S4	10 343	26	2.33 ± 0.68 ^{ED}
S5	10 301	37	3.37 ± 0.40 ^{DC}

注: a, b, c, d 为 Duncan 检验结果 $P < 0.05$; A, B, C, D 为 Duncan 检验结果 $P < 0.01$; 同列字母不同表示差异显著 相同表示差异不显著。(下同)

Note: a, b, c, d, indicate the results assessed by Duncan test at $P < 0.05$; A, B, C, D indicate the results assessed by Duncan test at $P < 0.01$; different letters in the same row indicate significant differences, otherwise insignificant.

表 2 不同采样点黑斑蛙蝌蚪红细胞核异常率

Table 2 Nucleus anomalies frequency in erythrocytes of *Rana nigromaculata* tadpoles from different sampling sites

采样点 Sampling sites	细胞总数 Total number of cells	微核数 Micronucleus number	微核率/% Micronucleus frequency/%
CK	10 656	45	4.35 ± 0.30 ^{AA}
S1	10 484	83	8.22 ± 0.74 ^{BB}
S2	10 513	94	9.18 ± 1.97 ^{CC}
S3	10 412	68	6.67 ± 0.34 ^{DD}
S4	10 343	54	5.44 ± 0.22 ^{EE}
S5	10 301	63	6.25 ± 0.96 ^{DD}

中、下游这 3 个采样点蝌蚪红细胞核异常率逐渐降低; 核异常率变化趋势与微核率变化趋于一致, 但位于水库南入口附近的 S1 蝌蚪红细胞核异常率并不是最高, 低于水库上游的 S2 点; 由表 2 可知, 同属水库中游的 S3 和 S5 的 2 个采样点蝌蚪红细胞的核异常率差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.3 不同采样点蝌蚪红细胞 DNA 损伤

荧光显微镜下, 细胞核被溴化乙啶试剂染成桔红色。如果细胞未受损伤, 电泳时细胞核 DNA 因其分子量大而停留在细胞核骨架上, 染色后在荧光显微镜下观察为圆形, 没有拖尾现象 (图 3A); 若细胞受到损伤, 断裂的 DNA 断片形成拖尾。细胞 DNA 受损愈严重, 产生的断片亦愈多和愈小, 尾长和尾矩亦愈高 (图 3B ~ 3D)。不同采样点的蝌蚪红细胞 DNA 损伤如表 3 所示, 各采样点的蝌蚪红细胞的尾长和尾矩与阴性对照相比差异均极显著 ($P < 0.01$), 表明 5 个采样点黑斑蛙蝌蚪红细胞均出现不同程度的 DNA 损伤; 尾长和尾矩的变化规律依次

表 3 不同采样点黑斑蛙蝌蚪红细胞 DNA 损伤

Table 3 DNA damage in erythrocytes of *Rana nigromaculata* tadpoles from different sampling sites

采样点 Sampling sites	细胞总数 Total number of cells	尾长/ μm Tail length	尾矩/ μm Tail moment
CK	1140	10.47 ± 1.59 ^{AA}	0.71 ± 0.41 ^{AA}
S1	1040	75.83 ± 12.03 ^{BB}	9.20 ± 1.08 ^{BB}
S2	1100	56.10 ± 6.89 ^{CC}	7.61 ± 0.65 ^{CC}
S3	1020	37.53 ± 4.35 ^{DD}	5.06 ± 0.96 ^{DD}
S4	1150	21.63 ± 4.55 ^{EE}	2.39 ± 0.48 ^{EE}
S5	1070	32.35 ± 4.57 ^{DD}	4.32 ± 0.42 ^{DD}

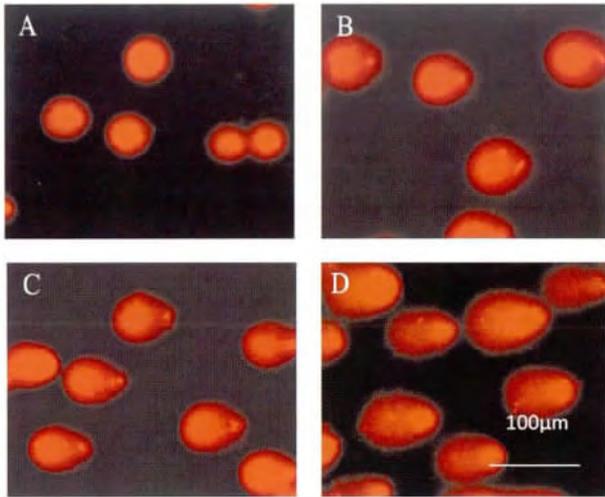


图3 黑斑蛙蝌蚪红细胞彗星电泳荧光图

(A: 正常细胞; B~D: 不同受损程度细胞所形成的“彗星”)

Fig. 3 Fluorescence photographs of comets electrophoresis in erythrocytes of *Rana nigromaculata* tadpoles

(A: normal cells; B-D: comets in damaged cells at different levels)

为: $S1 > S2 > S3 > S5 > S4$; 由表3可知, $S3$ 和 $S5$ 这2个采样点蝌蚪红细胞尾长差异不显著 ($P > 0.05$), 尾矩差异显著 ($P < 0.05$)。

3 讨论 (Discussion)

微核是由滞后染色体形成的椭圆形异常结构, 位于细胞核之外, 是染色体畸变在细胞间期的一种表现形式, 因此微核率可以反映染色体的受损程度。李红梅等^[3]在分析抚仙湖不同入湖河流的水质污染因素和 Ossana 等^[4]评价阿根廷布宜诺斯艾利斯卢汉河水质时都发现两栖类蝌蚪微核率可以很好地反映水体污染物的变化, 污染越严重的河流, 蝌蚪外周血红细胞微核率越高。本研究中, 漳泽水库5个采样点蝌蚪红细胞微核率与阴性对照相比均呈差异显著, 表明蝌蚪在采样点附近的活动区域内通过皮肤、鳃及摄食富集了水体中的致突变活性物质, 造成明显的染色体断裂或者纺锤丝损伤, 使得染色体在有丝分裂后期不能进入子细胞的主核而形成微核。微核率的变化与水体污染物的变化规律趋于一致, 本研究中也发现有同样的规律。漳泽水库各采样点中 $S1$ 水体诱导蝌蚪红细胞微核率最高, 提示该采样点水体中存在较高浓度致突变物质。经现场调查, 该采样点位于漳泽水库入库河流南漳河、岚水河交汇处, 流域内分布有多个工业园区, 化学污染物的超标排放是造成水质恶化的主要原因; 另一入库支流石子河, 多年来接纳长治市区和壶关县工业和生活污水, 水体浑浊, 散发浓烈恶臭, 现场没有采集到

蝌蚪, 表明水体已严重污染, 蝌蚪无法生存。从水库上游 $S2$ 到下游 $S4$ 沿线蝌蚪红细胞微核率逐次下降, 下降率为 57.24%, 提示入库污染物经过库区入库南口长治国家城市湿地公园(图1)净化后, 再经沿途水体的自净作用, 水体的致突变作用逐渐下降, 然而 $S4$ 微核百分率与阴性对照组相比, 差异依然显著 ($P < 0.05$), 表明库区水体的致突变性依然较强, 如若作为饮用水仍具有潜在的遗传毒性。 $S5$ 位于水库西岸的绛河入口处, 该流域内多为农业耕作区, 支流多为以农业非点源污染为主的山区河流, 水质较好。

核异常是由于核膜变化或细胞核遗传物质的不正常分裂所导致的细胞核外形变化。工业废水中可能含有大量可诱导细胞产生自由基的物质, 致使核膜核纤层蛋白结构的局部改变, 核膜变薄、穿孔, 致使过度扩增的染色体从受损膜部位向外突出或者收缩形成外凸和内凹^[14]。生活废水中含有大量的洗涤剂, 其中的阴离子表面活性剂是具有亲水和亲脂的双亲膜性基团, 通过溶解膜脂使细胞的通透性增加, 有害物质透过生物膜, 致使细胞核内的遗传物质受损。农田中施用的除草剂会沿着径流汇入水体, 可能会导致黑斑蛙蝌蚪红细胞的染色体不能聚集在赤道板上, 出现分散排布, 继而形成双核或核分叶^[15]。本研究结果表明: 漳泽水库5个采样点蝌蚪的红细胞均发现有外凸和内凹、双核、核分叶、无核和核固缩等核异常类型, 且核异常率与阴性对照相比均差异显著, 可能是由于蝌蚪吸收各采样点附近复杂的水体污染物所造成的, 有关水体污染物导致核异常形成的机制还有待于进一步研究。各采样点除 $S1$ 外, 核异常率与微核率的变化规律趋于一致; $S1$ 核异常率较 $S2$ 低, 推测可能是 $S1$ 水体污染物的致突变作用较强, 使核异常的一些形态如外突或者核碎裂进一步变化形成一个或多个微核, 使核异常率减小, 这与 Malick 等^[16]在评价印度 Hooghly Matlah 河和龙静等^[17]在评价黄河兰州段水质的遗传毒性作用的研究结果相似。

DNA 链断裂形成的机制是有机物的亲电体或在生物体内经代谢活化成亲电中间体与 DNA 的亲核基团发生相互作用^[7], 导致 DNA 加合物的形成, 而加合的碱基往往发生丢失, 最后导致与之相连的磷酸与脱氧核糖键断裂。洛昊等^[7]在以虾虎鱼检测渤海区主要入海河流遗传毒性时, 发现彗星试验结果与5种有机污染物单体呈显著的相关性。张建超等^[18]研究沙颍河的遗传毒性时也发现河水中含

有芳香胺类或硝基芳烃类物质。本研究各采样点蝌蚪红细胞彗星尾长和尾矩与对照组相比差异均极显著 ($P < 0.01$),提示各采样点水体引起蝌蚪红细胞明显 DNA 损伤,推测可能是由于水体中的有机污染物造成的。同属水库中游的 S3 和 S5,微核率差异不显著 ($P > 0.05$),彗星的尾矩却差异显著 ($P < 0.05$),充分表明在遗传毒性的检测中,彗星试验比微核试验更为敏感,这一点在许多研究中也得到了证实^[9,17,19]。另外,从微核形成的 2 个原因(染色体断片或由纺锤丝损伤导致滞后的整条、整组染色体)分析,染色体断片在彗星试验中,其上的蛋白质被裂解液除去,剩余的 DNA 断片在电场力作用下形成彗尾,而整条或整组染色体由于 DNA 分子量太大依附在核骨架上,不会形成彗尾。本研究中,各采样点彗星尾长和尾矩的变化趋势与微核率基本一致。由此推测,各采样点蝌蚪红细胞微核的形成主要是由于染色体断裂所致,而受纺锤丝断裂的影响较小,同时也表明各采样点水体中的导致遗传毒性的主要是 DNA 损伤类物质。

微核试验的测试终点是染色体和纺锤体的损伤, DNA 的碱基对应该大于 10^4 以上,光镜下才可见,已经修复的染色体断片无法检测得到,而且必须经历至少一个有丝分裂周期才能形成;彗星试验检测的是 DNA 损伤,分辨率可达 0.2 ~ 6 Mb,相比微核试验更为敏感,而且不需要等到有丝分裂之后便可以观测;核异常显示的是细胞核的损伤,但不能反映 DNA 和染色体断裂,更不能反映纺锤体的损伤。本研究将这 3 种方法结合起来,可以从不同的遗传损伤角度综合地反映水体污染遗传毒性。

综上所述,漳泽水库各采样点黑斑蛙蝌蚪的微核率、核异常率和 DNA 断裂 3 种遗传毒性指标都显著高于阴性对照,表明各采样点污染物具有较高的遗传毒性;微核率与 DNA 断裂变化趋势基本一致,提示各采样点水体中的污染物主要引起 DNA 损伤,如若作为饮用水可能有较高致癌风险。

从漳泽水库各采样点 3 种遗传毒性指标与水体污染物变化规律分析,水库入口附近店上,由于接纳了入库河流的污染物,水体的遗传毒性最高;从水库上游到下游,经过入库口湿地公园和沿途水体的净化作用,水体的遗传毒性逐渐下降,表明水体的遗传毒性空间分布规律与水体的污染程度变化规律趋于一致,因此这 3 种指标可以作为进行水体环境污染生物监测的可行性指标。

参考文献:

- [1] 厉以强,胡冠九,李兆利,等. 彗星试验检测区域水源有机污染致突变量[J]. 生态毒理学报,2010,5(4): 563-568
- Li Y Q, Hu G J, Li Z L, et al. Study on mutagenic threshold of organic pollutants in typical water area by comet assay [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, 5(4): 563-568 (in Chinese)
- [2] 徐士霞,王跃招,李旭东,等. 两栖动物在环境污染生物监测中的应用前景[J]. 应用与环境生物学报,2004,10(6): 816-820
- Xu S X, Wang Y Z, Li X D, et al. Application and prospects of amphibian for environmental pollution biomonitoring [J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2004, 10(6): 816-820 (in Chinese)
- [3] 李红梅,陈艳,刘家忠,等. 抚仙湖不同区域入湖河流水质对牛蛙蝌蚪红细胞微核的影响[J]. 环境与健康杂志,2010,27(7): 624-625
- Li H M, Chen Y, Liu J Z, et al. Impact of water quality of different areas of Fuxian Lake on *Rana catesbeiana* tadpole erythrocyte micronucleus [J]. Journal of Environment and Health, 2010, 27(7): 624-625 (in Chinese)
- [4] Ossana N A, Salibian A. Micronucleus test for monitoring the genotoxic potential of the surface water of Lujan River (Argentina) using erythrocytes of *Lithobates catesbeianus* tadpoles [J]. Ecotoxicology Environmental and Contamination, 2013, 8(1): 67-74
- [5] 洛昊,梁斌,马明辉,等. 彗星实验检测渤海主要入海河流遗传毒性[J]. 中国环境科学,2013,33(1): 161-165
- Luo H, Liang B, Ma M H, et al. Evaluation and detection of genotoxicity in main estuaries of Bohai Rim by comet assay [J]. China Environmental Science, 2013, 33(1): 161-165 (in Chinese)
- [6] Wirz M V, Saldiva P H, Freire-Maia D V. Micronucleus test for monitoring genotoxicity of polluted river water in *Rana catesbeiana* tadpoles [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2005, 75(6): 1220-1227
- [7] Pavlica M, Stambuk A, Malovic L, et al. DNA integrity of chub erythrocytes (*Squalius cephalus* L.) as an indicator of pollution-related genotoxicity in the River Sava [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2011, 177(1-4): 85-94
- [8] Klobucar G I, Pavlica M, Erben R, et al. Application of the micronucleus and comet assays to mussel *Dreissena polymorpha* haemocytes for genotoxicity monitoring of freshwater environments [J]. Aquatic Toxicology, 2003, 64(1): 15-23

- [9] 钟远,封少龙,苏庆,等. 应用蚕豆根尖微核技术和彗星试验检测扬中地表水遗传毒物污染的研究[J]. 癌变·畸变·突变,2000,12(1): 18-22
Zhong Y, Feng S L, Su Q, et al. Study on monitoring genotoxicant pollution in surface water of Yangzhong city using micronucleus test and comet assay [J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis and Mutagenesis*, 2000, 12(1): 18-22 (in Chinese)
- [10] Ralph S, Petras M. Genotoxicity monitoring of small bodies of water using two species of tadpoles and the alkaline single cell gel (comet) assay [J]. *Mutation Research*, 1997, 29(4): 418-430
- [11] 李丕鹏. 蝌蚪唇齿式的表述[J]. *四川动物*, 2006, 25(2): 414-416
Li P P. The labial tooth row formula of tadpole [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2006, 25(2): 414-416
- [12] 王懿,李丕鹏,陆宇燕,等. 复合肥对花背蟾蝌蚪红细胞微核及核异常的影响[J]. *生态学杂志*, 2011, 30(12): 2843-2848
Wang Y, Li P P, Lu Y Y, et al. Toxicity effects of compound fertilizer on erythrocytes micronuclei and nuclear anomalies of *Bufo raddei* tadpoles [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2011, 30(12): 2843-2848 (in Chinese)
- [13] 罗明志,齐浩. 单细胞凝胶电泳—彗星实验方法的改良与运用[D]. 西安: 陕西师范大学, 2005: 14-22
Luo M Z, Qi H. Single cell gel electrophoresis modification and application of the comet assay [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2005: 14-22 (in Chinese)
- [14] 任晓丹,刘新光,周中军. 核纤层蛋白在细胞衰老机制作用中的研究进展[J]. *中国病理生理杂志*, 2009, 25(7): 1441-1446
Ren X D, Liu X G, Zhou Z J. Function of lamins in the mechanism of cell aging [J]. *Chinese Journal of Patho-*
- physiology*, 2009, 25(7): 1441-1446 (in Chinese)
- [15] 吴美仙,邵晨. 除草通对黑斑蛙红细胞核异常的诱导效应[J]. *浙江海洋学院学报: 自然科学版*, 2004, 23(3): 258-260
Wu M X, Shao C. Inducement effect of erythrocytes of abnormal nucleus of *Rana nigronaculata* by pendimethalin [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University: Natural Science*, 2004, 23(3): 258-260 (in Chinese)
- [16] Mallick P, Khuda-Bukhsa A R. Nucleus anomalies and blood protein variations in fish of the Hooghly-Matlah River system, India, as an indicator of genotoxicity in water [J]. *Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, 70(6): 1071-1082
- [17] 龙静,张迎梅,朱丽娜,等. 利用微核试验和彗星电泳试验评价黄河兰州段水质致遗传毒性作用[J]. *应用与环境生物学报*, 2006, 12(1): 59-63
Long J, Zhang Y M, Zhu L N, et al. Evaluating genotoxicity of water quality in Lanzhou section of the Yellow River using micronucleus test and comet assay [J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2006, 12(1): 59-63 (in Chinese)
- [18] 张建超,马福俊,胡建英. 利用 SOS/umu 测试方法鉴定沙颍河河水中的遗传毒性物质[J]. *生态毒理学报*, 2013, 8(3): 344-349
Zhang J C, Ma F J, Hu J Y. SOS/umu test for detection of genotoxins in water of Shaying River [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2013, 8(3): 344-349 (in Chinese)
- [19] Hartmann A, Elhajouji A, Kiskinis E, et al. Use of the alkaline comet assay for industrial genotoxicity screening: Comparative investigation with the micronucleus test [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2001, 39(8): 843-858

◆