

太湖主要入出湖河道非挥发性 有机提取物致突变性分析*

吴庆龙 孔志明[†] 陈开宁

(中国科学院南京地理与湖泊研究所 南京 210008)

[†](南京大学环境科学与工程系 南京 210093)

提要 1994 年 10 月,应用国产大网膜 402 无极性树脂作吸附剂,提取环太湖 5 个主要入出湖河道中非挥发性有机物进行 Ames 试验和人体外周血淋巴细胞微核试验,以分析其致突变性。结果表明,4 个人湖河道水中有机提取物均显示程度不同的致突变性,而出湖水未显示致突变性。4 个样点的有机致突变物组成差异较大。梅梁湖承纳梁溪河和直湖港污水,作为主要饮用水源地,加强其治理刻不容缓。

关键词 太湖 有机提取物 致突变

学科分类号 X522

随着工农业迅速发展,进入环境的有机物急剧增加,水体有机污染特别是饮用水源的有机污染成为人们十分关注的问题,因为饮用水和肿瘤间存在一定关系(Kool *et al.*, 1981)。如对水中致突变物进行监测和分析,水中有机致突变物质含量往往很低,因而监测的关键是如何浓缩微量有机致突变物。近十年来,应用无极性大网膜树脂作吸附剂浓缩水中有机致突变物获得良好结果(朱惠刚等,1985)。

太湖是我国重要的淡水湖泊,污染较严重,开展的环境质量研究多限于常规化学指标,有关致突变污染的研究很少。本文应用国产大网膜 402 无极性树脂作吸附剂,浓缩太湖 5 个样点有机化合物进行 Ames 和人体外周血淋巴细胞微核试验,以了解太湖入出湖河道的致突变污染,为太湖的环境治理提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 样品的采集与处理

1994 年 10 月在太湖环湖河道口选择 5 个样点(图 1),分别采集水样 25L,室内静置 24h,30—40 层脱脂纱布过滤去除大悬浮颗粒,再经布氏漏斗过滤,备上柱用。富集树脂为国产大网状 402(上海试剂一厂生产)中性树脂,颗粒度为 40—60 目(> 80%),使用前分别用乙腈、二氯甲烷、丙酮浸泡,于脂肪提取器内连续洗脱 12h,甲醇中保存。将洗净树脂用湿法装于直径为 2.0 × 30cm 的玻璃管柱内,上下端放置适量洗净玻璃棉,装柱高度为

* 国家自然科学基金资助项目,49171017 号和水利部“八五”重点研究课题“太湖水环境生态与富营养化监测研究”部分内容。吴庆龙,男,出生于 1967 年 7 月,助理研究员,Fax: 0086-025-7714759

收稿日期:1996-07-08,收修改稿日期:1998-05-12

25cm,然后将预处理水样置于2m左右高度,硅胶管接至树脂管,排气并控制流速为15ml/min。富集好的树脂先尽量排尽水分,然后加入丙酮洗脱,平衡20—30min后再排出,控制流速为10ml/min,丙酮用量为50ml,洗脱液置于无菌试剂瓶中。洗脱液于40℃水浴锅上浓缩,经氮气吹干,再用12.5ml二甲基亚砜(DMSO)溶解,然后避光保存于-18℃冰箱内。

1.2 Ames 试验

试验菌株TA98和TA100,多氯联苯(PCBs)诱导大鼠肝匀浆微粒体酶系(S_9)为体外活化系统。按Ames试验平板掺入法鉴定待测物致突变性。每个受试浓度做3个平行试样,致变比达2以上并有剂量-反应关系者,判断为阳性。

1.3 人体外周血淋巴细胞微核试验

试验按马国建等(1989)的改进方法进行,每个剂量组3个平行样,镜检观察并计数。微核千分率 = 有微核细胞数 / 观察的细胞总数 \times 1000%。

2 实验结果

2.1 Ames 试验

实验结果见表1。从表1可看出,在5个采样点中,闽江口、小梅口和梁溪河口水中的有机提取物都呈现不同程度的致突变性,尤其是闽江口的200ml水中有机提取物对TA100菌株和TA98菌株无论是在加 S_9 或是不加 S_9 时,致变比均达2以上,致突变性强度明显高于小梅口和梁溪河口。

各样点有机提取物对试验菌株的剂量-反应关系见表2,从表2可看出,闽江口、小梅口和梁溪河口的200ml水中有机提取物对TA100菌株加 S_9 的致变比达2以上,并呈现良好的剂量-反应关系,相关系数分别为0.93,0.94和0.97,统计学上均有显著意义($P < 0.05$),表明3个样点水中有机提取物对TA100菌株加 S_9 时有明显的致突变作用。从致突变强度看,闽江口明显高于梁溪河口和小梅口两点。

不加 S_9 时,闽江口和梁溪河口的200ml水中有机提取物使TA100突变菌株致变比达2以上(表1),剂量-反应关系明显,其相关系数分别为0.94和0.98,有显著意义($P < 0.05$; $P < 0.01$),提示这两个采样点有机提取物对TA100菌株在不加 S_9 时亦有较明显的致突变作用。二者致突变强度相比,以闽江口略高。

闽江口和梁溪河口的200ml水中有机提取物使TA98菌株加 S_9 时的致变比达2以上,剂量-反应关系明显,相关系数分别为0.99和0.97,统计学上有极显著意义($P < 0.01$),表明有机提取物对TA98菌株加 S_9 时有较强的致突变作用,强度以闽江口为高。此外大浦河口1000ml水中有机提取物对TA98菌株加 S_9 时的致突变比几乎达到2,但无剂量-反应关系(剂量与回变菌落数的相关系数为0.86,不显著),可认为其有可疑的致突变作用。

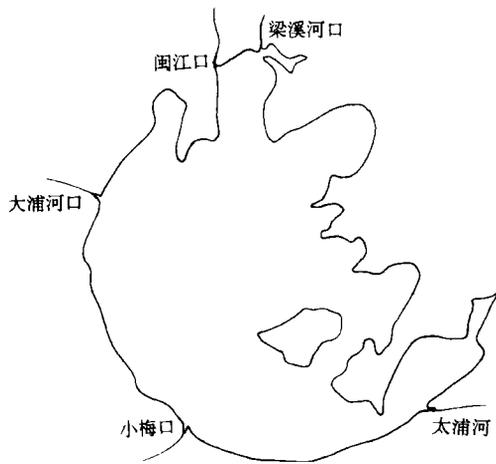


图1 采样点分布

Fig.1 Distribution of sampling sites in Taihu Lake

对 TA98 菌株不加 S_0 呈现致突变阳性结果的只有闾江口的有机提取物, 200ml 水中有有机提取物使致变比达 2.5, 剂量-反应关系良好, 相关系数为 0.95, 有显著意义 ($P < 0.05$)。

表1 5个样点有机提取物的Ames试验结果

Tab.1 Results of Ames test for the abstracted organic compounds at 5 sites in Taihu Lake

受试物	剂量(相当原水量) ml/皿	TA100				TA98			
		+ S_0		- S_0		+ S_0		- S_0	
		回变菌落数/皿	致变比	回变菌落数/皿	致变比	回变菌落数/皿	致变比	回变菌落数/皿	致变比
闾江口水样	200	542.7±39.0	4.1	412.7±13.7	2.8	72±11.5	3.1	55.7±11.8	2.5
小梅口水样	200	423±32	3.2	104.7±50.8	0.7	31.7±13.6	1.4	27±5.3	1.2
大浦河水样	200	132.3±6.1	1.0	135±7.2	0.9	38.7±10.7	1.7	36±11	1.6
梁溪河水样	200	454.7±25.7	3.4	323.7±29.6	2.03	47.3±5.8	2.1	27±8.7	1.2
太浦河水样	200	131.3±14.6	1.0	159±23.1	1.1	28±1	1.2	24.3±8.7	1.0
DMSO	0.1	133.3±6.8		149.9±19.2		23.7±3.1		23.3±5.2	
Bap ¹⁾	0.1	623.3±74.1	4.7	152.3±14.2	1.0	159±10.5	11.3	26.7±3.1	1.2
MNNG ²⁾	0.1	255.7±13.4	1.9	>1000	>6.7	19.3±4.9	0.9	22.3±4.2	1.0
2,7-二氨基芴	0.1	249.3±18.9	1.9	162.7±6.9	1.1	438.3±21.1	19.0	253.3±13.4	11.0

1) 为并苳; 2) 为N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基芴

表2 各样点有机提取物对试验菌株的剂量-反应关系

Tab.2 Dose-response relationship of the strain to the abstracted organic compounds

试验菌株	受试水样	不同剂量下 (ml/皿) 的回变菌落数 (个/皿)			
		0	200	500	1 000
TA100+ S_0	闾江口	133.3±6.8	542.7±39.0	657.7	898.7±189.3
	小梅口	133.3±6.8	423±32.0	726.7±42.7	876.3±17.2
	梁溪河口	133.3±6.8	454.7±25.7	638.7±27.4	901.7±23.0
TA100- S_0	闾江口	149.9±19.2	412.7±13.7	548.3±43.1	704.7±18.0
	梁溪河口	149.9±19.2	323.7±29.6	503.7±23.2	692.7±32.3
TA98+ S_0	闾江口	23.7±3.1	72±11.5	106.7±6.8	163.7±20.1
	梁溪河口	23.7±3.1	47.3±5.8	72.7±4.1	94.0±6.2
	大浦河口	23.7±3.1	38.7±10.7	37.6±7.4	46.2±9.2
TA98- S_0	闾江口	23.3±5.2	55.7±11.8	73.3±10.3	105±9.9

2.2 人体外周血淋巴细胞微核试验

实验结果见表3和表4。

从表3可看出, 闾江口和梁溪河口水中有有机提取物诱发的微核率与阴性对照相比, 即使在相当于原水 12.5ml 时, 其差别在统计学上已有显著意义, 而加入量相当于原水 50ml 及其以上时, 差别极显著; 大浦河口有机提取物诱发的微核率与阴性对照相比, 在低剂量时(加入量相当于原水 12.5ml) 无显著差异, 加入量相当于原水 50ml 及其以上时, 差异极显著, 小梅口的微核率与阴性对照相比, 在高剂量(相当加入原水 200ml) 时, 其差异在统计学上有显著意义。很明显, 4 个样点水中有有机提取物的诱变能力以梁溪河口和闾江口最高, 其次是大浦河口, 最后是小梅口。而将太浦河口水中有有机提取物的微核率与阴性对照

相比, 差别不显著, 显示该剂量条件下, 其无诱变能力。

表3 人体外周血淋巴细胞微核试验结果

Tab.3 Results of the micronucleus test on the human peripheral lymphocytes cells for the abstracted organic compounds at five sites in Taihu Lake

受试物	剂量(相当于原水量)	观察的淋巴细胞数	有微核的细胞数	微核率(%)
	ml/皿	(个)	(个)	
DMSO阴性对照	0.1	3015	7	2.32
MMC ³ 阳性对照	1.3ug/瓶	6082	101	16.61 ²⁾
闾江口水样	12.5	3453	12	3.47 ¹⁾
	50	3198	15	4.69 ²⁾
	200	3054	19	6.22 ²⁾
小梅口水样	12.5	1992	5	2.51
	50	2025	6	2.96
	200	3140	13	4.20 ²⁾
大浦河水样	12.5	3240	9	2.78
	50	3357	17	5.07 ²⁾
	200	3193	21	6.58 ²⁾
梁溪河水样	12.5	2984	10	3.35 ¹⁾
	50	3032	16	5.28 ²⁾
	200	3218	20	6.22 ²⁾
太浦河水样	12.5	3124	8	2.56
	50	3340	8	2.40
	200	3263	9	2.74

1) 统计学有显著意义($P<0.05$); 2) 统计学有极显著意义($P<0.01$); 3) MMC指丝裂霉素C

表4 人体外周血淋巴细胞微核率与有机提取物剂量的相关分析

Tab.4 Analysis of the correlation between the frequency of micronucleus and the dose of abstracted organic compounds

样点	相关关系式	相关系数	P 值
闾江口	$y=3.35+0.0019x$	0.92	$P<0.05$
小梅口	$y=2.40+0.0091x$	0.99	$P<0.01$
大浦河口	$y=2.88+0.02x$	0.92	$P<0.05$
梁溪河口	$y=3.20+0.017x$	0.89	$P<0.05$
太浦河口	$y=2.40+0.0017x$	0.81	$P<0.05$

3 讨论

3.1 太湖主要入出湖河道非挥发性有机提取物对 TA98、TA100 菌株 ($\pm S_0$) 的致突变性和人体外周血淋巴细胞微核率产生的趋势较一致。二者都以闾江口最高、梁溪河口次之, 小梅口较低, 而太浦河口显示阴性。大浦河口的微核试验呈阳性, Ames 试验呈可疑阳性。二种试验结果表明, 闾江口和梁溪河口有机遗传毒物污染最重, 小梅口和大浦河口较轻, 而出湖水中 1L 水的有机提取物也不显示致突变性作用(该处占太湖出水量的 67%)。

从 Ames 试验结果看, 闾江口水中的有机提取物对 TA100 和 TA98 菌株, 不管是加 S_0 ,

或不加 S_0 , 均有较强致突变性。因此, 推测该水体的有机致突变物中, 既有大量碱基置换型致突变物质, 也含大量移码型致突变物, 同时也可由加 S_0 时的致突变性最强表明这些致突变物中以间接致突变物为多; 小梅口水中有机提取物只对 TA100 菌株加 S_0 时表现致突变阳性结果, 显示该水域有机致突变物是以间接置换型致突变物为主, 但也存在其他的一些移码型物质; 梁溪河口水样的试验结果表明, 有机致突变物质中含较多置换型或移码型致突变物, 其中的碱基置换型物质中较大一部分是间接致突变物, 而移码型物质几乎都是间接致突变的。

微核试验表明, 间江口、梁溪河口及大浦河口水中有机提取物诱变性较高, 小梅口较低。关于微核形成 Yamamoto 等 (1980) 认为由于遗传毒物作用于细胞使染色体或染色单体断裂, 这种无着丝点的断片在细胞分裂末期便在细胞浆内形成一个或几个微核, 微核直径较小; 而类似秋水仙素的毒物能使纺体损害, 由丧失了着丝点的单个或一组落后的染色体形成微核, 这种微核直径较大。实验结果显示, 间江口、小梅口、大浦河口 3 个样点水样诱发形成小微核, 表明这三个样点有机致突变物有染色体断裂剂样作用。而梁溪河口水样诱发形成大微核, 揭示以城市生活污水为主的一类有机致突变物具有纺体断裂剂样的作用。

3.2 环太湖 5 个人出湖河道中有机提取物的致突变试验表明, 太湖西、北岸 4 个人湖河道中有机提取物致突变性较强, 尤以入梅梁湖的梁溪河和直湖港 (间江口) 最严重, 而梅梁湖是重要的饮用水源地, 这更加说明加强这一水域遗传毒物污染治理的重要性和紧迫性。太浦河是太湖最大的出水口, 也是下游城市上海的潜在水源之一, 研究结果表明, 尽管在太湖上游有相当遗传毒物进入太湖, 但经过湖水稀释和自净, 出湖时几乎显示不出遗传毒性。此外, 水体中未富集的极性化合物, 无论其极性强弱, 也有可能存在致突变性, 因此实际的致突变性可能要大一些。

3.3 太湖是一个重要的商品鱼基地, 年产鱼 4 万 t 左右, 其中的银鱼、刀鱼等系名贵鱼类和出口创汇品种, 经济价值很高。而在水生生态系统中鱼类处于较高的营养级, 具有很强的富集作用, 如甲基汞、DDT、多环芳烃类有机化合物都能在鱼体内富集, 朱惠刚等 (1986) 以鲤鱼等为研究对象, 结果显示鱼类对有机致突变物有轻强富集作用, 因此从渔业资源的利用和保护看, 加强太湖有机遗传毒物治理也极为重要。

参 考 文 献

- 朱惠刚 俞顺章 蒋颂辉等, 1985. 应用国产 402 树脂吸附水中有机致突变物研究. 中国环境科学, 5(2): 65—69
- 朱惠刚 蒋颂辉 周德源等, 1986. 鲤鱼体内有机提取物致突变性研究. 中国环境科学, 6(1): 40—44
- 马国建 薛开先, 1989. 一种快速简便的人体外周血淋巴细胞微核制片方法. 细胞生物学杂志, 11(3): 143—144
- Kool H J, Van Kreijl C F, Van Kranen H J *et al*, 1981. The use of XAD-resins for the detection of mutagenic activity in water I. Studies with surface water. Chemosphere, 10(1): 85—90
- Kool H J, Van Kreijl C F, Van Kreenen H J, 1981. The use of XAD-resins for the detection of mutagenic activity in water II. Studies with drinking water. Chemosphere, 10(1): 91—96
- Yamamoto K L, Kikuchi Y, 1980. A comparison of diameters of micronuclei induced by clastogens and by spindle poisons. Mutation Res, 71(1): 127

MUTAGENICITY OF THE ABSTRACTED NON-VOLATILITY ORGANIC COMPOUNDS FROM FIVE RIVERS AROUND THE TAIHU LAKE

WU Qing-long, KONG Zhi-ming[†], CHEN Kai-ning

(*Nanjing Institute of Geography & Limnology, The Chinese Academy of Sciences, Nanjing, 210093*)

[†](*Department of Environmental Sciences and Engineering, Nanjing University, Nanjing, 210008*)

Abstract The Ames test and human peripheral lymphocytes micronucleus test are carried out to analyse mutation ability of the abstracted organic substances from five rivers around the Taihu Lake. The results show that organic compounds from 4 of the rivers abstracted have mutagenicity, among which the Liangxi River and Zhihu River (Lüjiangkou) are the most serious and, the Dapu River and Tiaoxi River (the Xiaomeikou) are less serious. No genetic toxicity was detected from the Taipu River mouth area. In the Lüjiangkou area, the mutagenic pollutants are composed of either frame-shift mutagens or base-pair substitution mutagens; most of the pollutants are indirect mutations. In the Liangxi River mouth area, the mutagenic pollutants are mainly base-pair substitution mutagen which include direct and indirect frame-shift mutagen. In the Xiaomeikou area, the mutagen is only indirect base-pair substitution. In the light of micronucleus test, the mutagens abstracted from the water in Lüjiangkou, Dapu River and Xiaomeikou which can induce the formation of small micronuclei are chromosome breakage, but the pollutants abstracted from the water in the Liangxi River mouth area which can induce the formation of large micronuclei are spindle breakage. The Meiliang Bay of the Taihu Lake where the polluted water of Zhihu River (Lüjiangkou) and Liangxi River charges is the main source of drinking water. Obviously, it is important to control the mutagen pollution to guarantee the health of people around the Taihu Lake.

Key words Taihu Lake Abstracted organic compounds Mutagenicity

Subject classification number X522