

水体中铊对泥鳅外周血红细胞的遗传毒性

汪珍春¹, 姚焱¹, 蔡冬霞¹, 张平², 陈永亨²

1. 广州大学生命科学学院, 广东 广州 510006; 2. 广州大学环境科学与工程学院, 广东 广州 510006

摘要: 铊(Tl)是剧毒的重金属元素。含铊矿产资源在开发利用过程中会释放铊,对生态环境和人体健康造成威胁。目前我国尚缺乏水环境中铊的安全标准。利用泥鳅*Misgurnus anguillicaudatus*红细胞微核技术研究水体中铊的遗传毒性。结果表明:水体中铊含量在0~1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内,随铊质量浓度的增加,泥鳅红细胞产生微核以及核突起、凹陷等各种核异常现象;微核率、核异常率及核空泡率等3项指标随铊质量浓度升高而升高,且呈显著或极显著正相关。这3项指标作为铊胁迫下泥鳅红细胞毒害程度的依据具有可行性。当水体铊质量浓度为0.3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,微核率、核异常率及核空泡率均极显著高于对照。将铊质量浓度0.3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为泥鳅红细胞发生突变的阈值。

关键词: 铊; 泥鳅红细胞; 微核; 核异常; 核空泡; 相关分析

中图分类号: X826

文献标识码: A

文章编号: 1674-5906(2009)02-0414-04

铊(Tl)是剧毒的重金属元素。我国拥有丰富的含铊矿产资源,在开发利用过程中,铊被释放入大气、水体和土壤中,每年仅我国进入环境中的铊就达15~20 T,对生态环境和人体健康造成潜在威胁^[1-2]。鉴于铊对人体健康的威胁,美国、俄罗斯等国制定了水环境中铊的安全标准^[3-4],但目前我国尚缺乏相应的铊环境安全标准^[5]。张忠建议我国饮用水中铊安全无毒害含量为1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[3],铊的检测方法较多^[6-7],张平利用蚕豆根尖细胞微核技术(*Vicia faba*-root tip cells micronucleus test)初步确定了水体中铊含量1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 为安全含量^[8],但选取植物材料为研究对象,可能存在一定的局限。因此,扩大动物毒理学测试的种类和范围,利于提供较全面的检测依据。

微核试验是检验动物细胞遗传损伤和检测化学物质毒性的一种常规方法^[9]。泥鳅*Misgurnus anguillicaudatus*属鲤形目,鳅科,花鳅亚科,泥鳅属。泥鳅的血红细胞具核,在外来诱变剂的作用下会出现微核和各种核畸变现象。近年来研究者将泥鳅作为研究水体污染的材料,取得较好效果^[10-12]。因此,本文以泥鳅为研究对象,检测水体中的重金属铊对泥鳅外周血细胞微核、核异常等的作用规律,为制定我国饮用水中铊的安全标准提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

泥鳅,购于市场。选取体长12~14 cm、体质量10~13 g、无外伤健康活泼的个体,养于符合饮用水标准的自来水中2 d后,供试验研究。

1.2 试验方法

1.2.1 供试污染物

采用分析纯 TlNO_3 试剂,配制 Tl^+ 水溶液质量浓度分别为0, 0.1, 0.3, 0.5, 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,用统一规格的水桶盛放。

1.2.2 染毒处理

各质量浓度处理分别投放5条泥鳅,保持室温在20~30 $^{\circ}\text{C}$ 。染毒12 h后,以断尾法取其外周血涂片,晾干,用甲醇固定15 min^[11],再用瑞氏染料扣染1 min^[10],然后用磷酸缓冲液冲洗,晾干后用w=15%Giemsa染液染色15 min^[12],水洗,自然晾干。

1.3 统计及分析

各质量浓度分别观察10 000个细胞,重复3次,统计微核细胞、核异常细胞和核空泡细胞数,于油镜下观察并拍照。

微核评定标准:微核存在与胞质中,大小约为主核的1/10~1/30,圆形或椭圆形^[11]。微核率MCN(%)=(带有微核的细胞数/观察细胞总数) $\times 1\ 000$;

核异常评定标准:包括小核,双核,核质外凸,核质凹陷,核质断裂,核位置明显异常等^[8],见图1。核异常率(%)=(带有异常核的细胞数/观察细胞总数) $\times 1\ 000$;

核空泡评定标准:细胞膨大,出现细胞核空泡现象,甚至无核现象,见图1。核空泡率(%)=(带有核空泡的细胞数/观察细胞总数) $\times 1\ 000$;

所得数据进行方差分析,t检验,以及各质量浓度处理间的差异性检验。

2 结果与分析

2.1 铊对泥鳅外周血红细胞微核、核异常和核空泡的影响

通过细胞显微观察,铊对泥鳅红细胞的生长发

基金项目:国家自然科学基金委-广东省人民政府联合基金(U0633001);广州市属高校科技计划项目(62066)

作者简介:汪珍春(1966年生),女,副教授,从事遗传学研究。E-mail: wzc.laoshi@yahoo.com.cn

收稿日期:2009-01-17

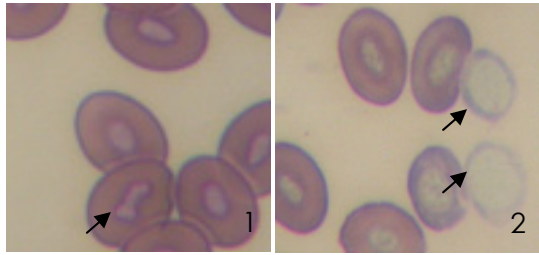


图 1 铊对泥鳅红细胞的诱导

Fig. 1 The induction of thallium on *Misgurnus anguillicaudatus* red blood cells

1: 细胞核异常; 2: 细胞空泡

育的影响见表 1。泥鳅正常的红细胞核为椭圆形，染色后呈紫红色，均匀。在不同质量浓度铊处理下，泥鳅红细胞会出现微核、核凹陷以及核空泡等，表明红细胞在铊的毒性作用发生了畸变。当铊质量浓度低于 $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，细胞微核率、核异常率及核空泡率与对照组间相比没有显著差异；在质量浓度达到 $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 及以上时，以上 3 项指标与对照组间均具有极显著差异。

表 1 铊对泥鳅外周血红细胞微核、核异常和核空泡形成的影响

Table 1 The effect of thallium on micronucleus, abnormal nucleolus and vacuole nucleolus in *Misgurnus anguillicaudatus* red blood cells

$\rho(\text{Tl})(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	平均微核率/%	平均核异常率/%	平均核空泡率/%
0	1.6 ± 0.2 bB	0.3 ± 0.15 cC	0.5 ± 0.15 cB
0.1	3.1 ± 0.5 bB	1.2 ± 0.21 cC	0.7 ± 0.06 cB
0.3	10.6 ± 1.4 aA	4.1 ± 0.76 bB	1.9 ± 0.51 bB
0.5	11.7 ± 1.7 aA	6.6 ± 0.78 aA	3.1 ± 0.65 aA
1	11.7 ± 0.96 aA	7.8 ± 0.76 aA	3.8 ± 0.61 aA

注：小写字母代表差异显著 ($P<0.05$)；大写字母代表差异极显著 ($P<0.01$)

2.2 泥鳅外周血红细胞微核率、核异常率、核空泡率的相关性分析

将红细胞微核率和核异常率进行相关比较，经计算得相关系数 $r=0.913$ ，($t=3.90$ ， $t_{0.05, 3}=3.18$ ， $t_{0.01, 3}=5.841$)，表明红细胞微核率和核异常率两者之间

呈显著性正相关；将红细胞微核率和核空泡率进行相关性分析，相关系数 $r=0.944$ ， $t_{0.05, 3}<t<t_{0.01, 3}$ ($t=4.967$ ， $t_{0.05, 3}=3.18$ ， $t_{0.01, 3}=5.841$)。表明红细胞微核率和核空泡率两者之间显著性正相关；将核异常率和核空泡率进行相关性分析，相关系数 $r=0.996$ ， $t>t_{0.01, 3}$ ($t=19.833$ ， $t_{0.05, 3}=3.18$ ， $t_{0.01, 3}=5.841$)。表明核异常率和核空泡率两者具有极显著正相关。见图 2。

3 讨论

泥鳅红细胞按其形态与功能，可以分为原红细胞、幼红细胞、成熟红细胞。从原红细胞发育到成熟红细胞，期间要经过有丝分裂和无丝分裂的过程。细胞在分裂期间，易受到水体中还原性有机或无机污染物的遗传损伤，会出现微核及各种核异常现象，包括核内空泡，核凹陷，核质凸起等^[3]。泥鳅红细胞在重金属铊胁迫下也发生了类似的遗传损伤。

水体中铊在低质量浓度 $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，对泥鳅红细胞的诱变影响不明显；当铊质量浓度达到 $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，红细胞微核率、核异常率及核空泡率均极显著高于对照处理，表明 $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 铊质量浓度对泥鳅红细胞具有明显的遗传损伤。此时铊影响了细胞的正常分裂，使微核、异常核和核空泡的数量极显著增加。当质量浓度达到 $0.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 及以上时，异常核率和核空泡率仍随铊胁迫质量浓度增加而上升，但微核率没有继续升高。这可能是铊 $0.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 质量浓度一定程度的抑制了细胞分裂，进而影响了微核的产生有关。相关研究也出现诱变物剂量过高会导致细胞的正常分裂活动受到抑制或终止，微核率出现不升反降的趋势^[13-18]。

本研究中的微核率、核异常及核空泡等 3 项观察指标与铊质量浓度间均具有一定的正相关，表明以微核率、核异常率及核空泡率作为铊胁迫下泥鳅红细胞毒害程度的指标具有可行性。这 3 项指标在铊质量浓度 $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时与对照组出现极显著差异，

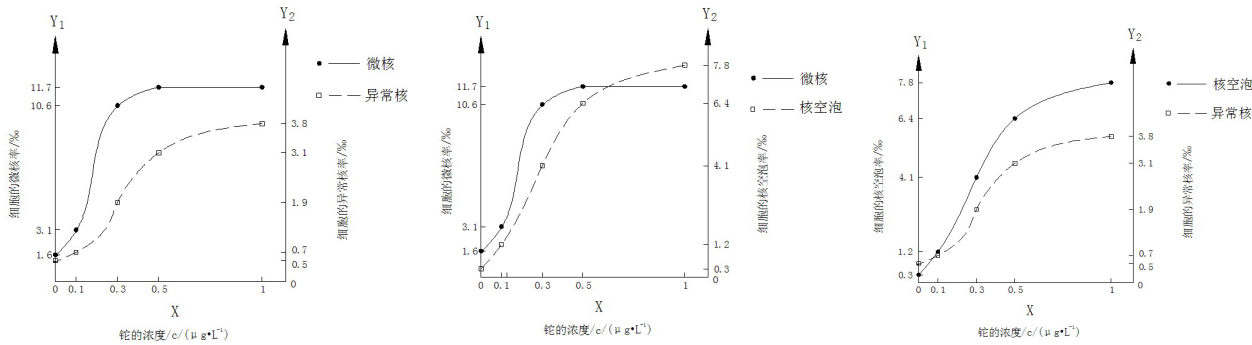


图 2 泥鳅红细胞微核率、核异常率和核空泡率间的相关性

Fig. 2 Correlation between micronucleus rate, abnormal nucleolus rate and vacuole nucleolus rate in *Misgurnus anguillicaudatus* red blood cells

表明此质量浓度对染色体、细胞核的破坏作用已经明显。可以将 $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 铊质量浓度作为发生细胞遗传损伤的阈值。比较铊对蚕豆根尖细胞的遗传毒性作用,引起蚕豆微核率变化的最低质量浓度为 $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ [8]。这说明泥鳅外周血红细胞对铊的毒性反应比蚕豆根尖细胞更加敏感。

参考文献:

- [1] 邓红梅, 陈永亨. 水中铊的污染及其生态效应[J]. 环境化学, 2008, 27(3): 363-367.
DENG Hongmei, CHEN Yongheng. Thallium pollution and its ecological effect in water[J]. Environmental Chemistry, 2008, 27(3): 363-367.
- [2] 周清平, 胡颈, 姚顺忠. 铊的应用以及对人体的危害[J]. 有色金属加工, 2009, 38(1): 10-12.
ZHOU Qingping, HU Jin, YAO Shunzhong. Application of thallium and its harm of human body[J]. Nonferrous Metals Processing, 2009, 38(1): 10-12.
- [3] 张忠, 张宝贵, 龙江平, 等. 中国铊矿床开发过程中铊环境污染研究[J]. 中国科学: D 辑, 1997, 27(4): 331-336.
ZHANG Zhong, ZHANG Baogui, LONG Jiangping, et al. Study on thallium environmental pollution during thallium mineral deposit exploitation in China[J]. Science in China: Series D, 1997, 27(4): 331-336.
- [4] 吴若菁, 陈宜秋, 林霞, 等. 利用泥鳅红细胞核的遗传损伤监测福州市内河水质[J]. 应用与环境生物学报, 2005, 11(1): 59-63.
WU Ruojing, CHEN Yiqiu, LIN Xia, et al. Genetic damage of the nuclear in erythrocyte water quality of the river in Fuzhou[J]. Chin J Appl Environ Biol, 2005, 11(1): 59-63.
- [5] 孟顺龙, 陈家长, 冷春梅. 微核试验及其在水污染检测中的应用[J]. 水利渔业, 2006, 26(4): 71-72.
MENG Shunlong, CHEN Jiachang, LENG Chunmei. application of micronucleus techniques in water pollution monitoring[J]. Reservoir fisheries, 2006, 26(4): 71-72.
- [6] 齐剑英, 李祥平, 刘娟, 等. 环境水体中铊的测定方法研究进展[J]. 矿物岩石地球化学通报, 2008, 27(1): 81-86.
QI Jianying, LI Xiangping, LIU Juan, et al. Advance on the method determining thallium in environmental waters[J]. Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry, 2008, 27(1): 81-86.
- [7] 张平, 姚焱, 汪珍春, 等. 溶出伏安法测定蔬菜中的铊[J]. 食品科学, 2007, 28(2): 227-228.
ZHANG Ping, YAO Yan, WANG Zhenchun, et al. Study on determination of thallium in vegetables by differential pulse anodic stripping voltammetry[J]. Food Science, 2007, 28(2): 227-228.
- [8] 张平, 汪珍春, 姚焱, 等. 蚕豆根尖微核技术研究水体中铊的遗传毒性[J]. 生态环境, 2008, 17(1): 47-49.
ZHANG Ping, WANG Zhenchun, YAO Yan, et al. Genotoxicity of thallium in water using *Vicia faba* root tip cells micronucleus test technique[J]. Ecology and Environment, 2008, 17(1): 47-49.
- [9] 李向科. 重金属污染在大麦体内积累、迁移及遗传毒性效应的研究[D]. 太原: 山西大学, 2008.
LI Xiangke. Genotoxicity of heavy metals and their accumulation and transfer in *Hordeum vulgare*[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2008.
- [10] 吴若菁, 吴惠平, 杜惠东. 亚硫酸氢钠对泥鳅红细胞微核和核变形的诱导[J]. 福建师范大学学报: 自然科学版, 2006, 22(2): 85-88.
WU Ruojing, WU Huiping, DU Huidong. Induction of Micronucleus anuclear Anomalies in Erythrocytes of *Misgurnus anguillicaudatus* by NaSO_3 [J]. Journal of Fujian Normal University: Natural Science Edition, 2006, 22(2): 85-88.
- [11] 钱晓薇, 南旭阳, 许成武, 等. 三氧化二砷对黄鳝外周血红细胞微核的影响[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(10): 1205-1206.
QIAN Xiaowei, NAN Xuyang, XUE Chengwu, et al. Effects of As_2O_3 on micronucleus in peripheral blood erythrocytes of *monopterus albus*[J]. China Public Health, 2004, 20(10): 1205-1206.
- [12] 田志环, 付荣恕. 废旧干电池对泥鳅的致毒作用[D]. 济南: 山东师范大学, 2006: 1-19.
TIAN Zhihuan, FU rongshu. Studies on the effect of water polluted by waste cells on functions loach (*Misgurnus anguillicaudatus*)[D]. Jinan: Shandong Normal School, 2006: 1-19.
- [13] 王蕊芳, 贺维顺, 吴世芳, 等. 昆明水源水和自来水水质致突变性及化学背景值 II: 蝌蚪红细胞微核和 C100 细胞染色体畸变及 SCE 实验[J]. 动物学研究, 1996, 17(4): 469-475.
WANG Ruifang, HE Weishun, WU Shifang, et al. Mutagenicity and background content chemicals of water quality of source water and tap water in Kunming[J]. Zoological Research, 1996, 17(4): 469-475.
- [14] 耿德贵, 区艾, 王景明, 等. 除草剂精克草星对黄鳝的遗传毒性研究[J]. 癌变·畸变·突变, 2000, 12(1): 28-30.
GENG Degui, QU Ai, WANG Jingming, et al. Genetic toxicity in cells of *monopterus ballus* exposed by the herbicide jing ke cao xing[J]. Carcinogenesis Teratogenesis and Mutagenesis, 2000, 1(12): 28-30.
- [15] 楼允东, 吴萍. 亚硝基胍对泥鳅红细胞微核及核异常的诱导[J]. 中国环境科学, 1996, 16(4): 275-278.
LOU Yundong, WU Ping. Induction of micronuclei and nuclear anomalies in erythrocytes of loach by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine[J]. China Environmental Science, 1996, 16(4): 275-278.
- [16] 耿德贵, 刘文, 韩燕, 等. 除草剂盖草能对黄鳝外周血红细胞微核和核异常的影响[J]. 徐州师范大学学报: 自然科学版, 2000, 18(2): 53-54.
GENG Degui, LIU Wen, HAN Yan, et al. Effects of herbicide Gallant on Micronuclei and Nuclear Anomalies in Peripheral Blood Erythrocytes of *Monopterus albus*[J]. Journal of Xuzhou Normal University: Natural Sciences, 2000, 18(2): 53-54.
- [17] 匡少平, 徐仲. DDVP 对泥鳅的致毒效应[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(4): 434-436.
KUANG Shaoping, XU Zhong. Toxicity of endocrine-disrupting of dichlorvos(DDVO) on loach[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2003, 22(4): 434-436.
- [18] 陈细香, 卢昌义, 蔡金聪. 漂染废水对泥鳅红细胞核异常的诱导[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2007, 46(4): 555-558.
CHEN Xixiang, LU Changyi, CAI Jincong. Induction of nuclear anomalies in erythrocytes of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) by bleached waste[J]. Journal of Xiamen University: Natural Science, 2007, 46(4): 555-558.

Genotoxicity of thallium in water on *Misgurnus anguillicaudatus* peripheral red blood cells

Wang Zhenchun¹, Yao Yan¹, Cai Dongxia¹, Zhang Ping², Cheng Yongheng²

1. School of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China;

2. School of Environmental Science and engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China

Abstract: Thallium (Tl) is a toxic heavy metal. Water pollution of thallium released from thallium con-taining mines will lead to adverse environment effects and human health problems. In order to set found-ations to perfect the water quality indexes and ecological risk assessment, genotoxicity of thallium on *Misgurnus anguillicaudatus* peripheral red blood cells is studied. The results show that the frequency of red blood cell micronucleus rises companied by thallium contents increasing from $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ in water. At the same time, the frequencies of abnormal nucleus and vacuolar nucleus increase either. Especially, the frequencies of micronucleus, abnormal nucleus and vacuolar nucleus under thallium $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ in water are different significantly from control sample. The correlation analysis indicates that significant positive correlation exists among frequency of red blood cell micronuclei, abnormal nuclei and vacuolar nuclei. These three indexes can be used commonly to determine the genotoxicity of thallium on cells. Finally, the threshold of thallium in water on *Misgurnus anguillicaudatus* peripheral red blood cells is determined by $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Key words: Thallium; *Misgurnus anguillicaudatus* peripheral red blood cells; micronucleus; abnormal nucleus; vacuolar nucleus; correlation analysis