

监测分析

紫露草四分体微核检测技术中的几个问题

王英彦 汤大友 赵 艾 李日新

(北京市环境保护科学研究所)

紫露草(*Tradescantia*)四分体微核检测技术及其应用已由首倡者马德修(Te-Hisu Ma)教授评述^[1-4],1980年通过中美合作途径引入我国^[5],1982年由方宗熙教授主持,通过了紫露草四分体微核检测技术并加以推广,在国内各地也相继开展起此项工作^[6-9]。在实际应用过程中,我们发现一些问题,为进一步充实该技术,作了相应的观察,现将结果介绍如下。

一、材料和方法

紫露草(*Tradescantia Paludosa* Clone# 03)山东海洋学院惠赠。处理、制片及计算等检测技术如文献[1]所述。

甲基磺酸乙酯(EMS) ICN Phamaceutic.

氟乙酰胺 二级试剂,北京化工厂产品。

丝裂霉素 C (*Mitomycin Kyowa*) 注射用药,日本。

二、结果和讨论

1. 紫露草花序中不同花蕾的减数分裂图象

供实验用的典型花序是顶端花蕾开放,茁壮饱满的早期成熟花序。由于紫露草四分体微核检测原理是外因作用,以花粉母细胞的早前期 I 染色体为靶,以四分体微核为终点,因此熟悉花序左右配列花蕾的减数分裂图象是该技术操作中的要点。Taylor 曾报告

紫露草花粉母细胞各减数分裂时相的一般形态和时间^[10],Ma 曾图示完整花序的早期四分体大约位于第七位(对)^[4]。本文为更具体地掌握花序各成熟程度不同花蕾的减数分裂图象,对相应的各朵花蕾进行了显微摄影(图1),早期四分体(含有少量二分体)位于第七位附近。与 Ma 所报告的第七对位置相一致。

2. 花序大小和成熟程度的影响

一个典型花序中早期四分体花蕾的存在机率常为 30—50%^[11],此时 8—10 cm 植株

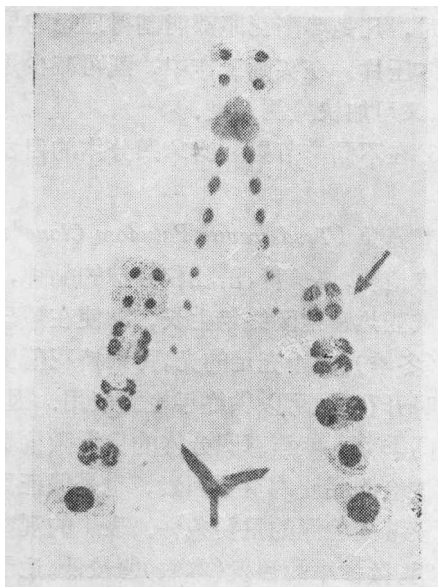


图1 紫露草花序不同花蕾的减数分裂图象。

取一个完整的早期成熟花序切下各朵花蕾,按成熟程度自下而上排列,早期四分体在第 6、7 对位置上(箭头)。

表 1 在不同季节下紫露草四分体的自发微核率

微核率 (%)	季 节	冬 季		春 季	夏 季	秋 季
	年 月	1982.2		1983.5	1983.8	1983.10
	地 点	室 内*	温 室**	室 内	室 外***	室 内
均 值		3.6	3.6	2.2	1.1	2.7
±SE		1.43	1.79	1.20	0.73	1.92

* 本所办公室(吸烟除外),冬季暖气 20℃ 左右。

** 中国科学院北京遗传研究所温室。

*** 本所草坪。

茎上含有 18—20 个花蕾(以顶花开放为例,花序最大—最小的列有 15—7 对花蕾)。如果采摘非典型花序,对制作早期四分体的压片将产生一定的影响。一是花序偏小。当花蕾在 16 个以下时,四分体成对的占 10%,单个的占 40%,缺乏的占 50%。二是花序偏晚。当花序丛中两朵以上花蕾的非幼期花序被摘用时,将不易找到或找不到早期四分体,即使制得压片,常呈分散的半月形四分体细胞,趋向花粉粒,影响观察。因此在栽培条件适宜时,凡是典型花序都能制得理想的早期四分体压片。在实际工作中,既可减少用花数量,又可加快检测速度。

3. 在不同季节里紫露草四分体的自发微核率

紫露草 (*Tradescantia Paludosa* Clone#03) 是草本植物,属多育、茁壮和分株的品种,在温室或亚热带地区终年生长,即使在短日照季节(冬季),给予充足的光,可维持花蕾生长和适时开花,故可以供终年检测使用。因此,在不同季节下紫露草四分体的自发微核率是其微核检测品质的重要因素,也是保证用于大规模常规检测的重要条件。表 1 的观察结果表明,微核率的自发(本底)值较低,适于实际检测,但是标准误(±SE)较大,这便是适宜于样品筛检的理由。

冬季室内空气如混入香烟烟雾,铅粉,油

墨等污染物,使自发转为诱发作用时,微核率将陡增,例如同一间办公室,因吸烟未除外,微核率由 3.6% 增加到 33.7%(全距为 25.0—67.5)。由此可见,紫露草栽培条件:(1)土、水和肥料的净度;(2)室内外空气的净度;(3)操作中使用药剂和器皿的净度等都很重要,否则会导致高本底,而使该项技术失效。

4. 紫露草四分体自发微核率的盆间对比

花枝采摘与处理介质插枝都强调随机化,目的是减少抽样和分配误差。盆间花序自发微核率有无差别或差别多大,是上述两种误差的内在因素。表 2 的观察结果表明,盆间存在差别,但是并不显著($P > 0.05$)。当然,盆间差别不显著的存在,是以各盆栽培条件的严格相同为前提的。

表 2 紫露草四分体自发微核率的盆间对比

盆 号	I	II	III	IV
微核率(%)	2.3	2.2	2.5	3.2
±SE	1.73	2.51	1.72	2.94

5. 紫露草左右同步四分体花蕾间微核率的比较

从图 1 可以见到,一个典型的花序有互配成对的左右两个对称的同步四分体花蕾。按习惯,常以顶花背朝下区分花序的左右两侧。从花序中摘取四分体花蕾,一般在一侧

表 3 紫露草花序左右花蕾间四分体微核率*的比较

检测次数	花 蕾	微核率(%)		自 发 的		氟乙酰胺诱发的		丝裂霉素 C 诱发的	
		左	右	左	右	左	右	左	右
1		2.7	4.3	10.3	8.3	11.6	19.6		
2		2.3	2.3	5.3	7.6	25.6	4.3		
3		1.7	2.0	12.6	9.6	7.6	19.6		
4		3.0	1.7	8.6	6.3	17.0	5.6		
5		1.8	1.7	4.3	5.8	6.3	16.6		
均 值		2.3	2.1	8.2	7.5	13.6	13.4		

* 计数 1500 个细胞。

找不到时,便向对侧找,否则上下移动花序再左右寻找,一个典型花序总能找早期四分体花蕾的。由此可见,这一步操作涉及左右四分体微核率间有无差别的问题。表 3 的观察结果表明,不论自发的,或由氟乙酰胺(1.5%)和丝裂霉素 C(20 μ g/ml)诱发的左右花蕾,当与单个花蕾间比较时有的有着较大的差别,但是各观察组的左右花蕾以 1500 个细胞作统计分析时,左右花蕾四分体微核率间的差别不大。由此说明,四分体期早、中、晚三个时相花蕾对外源性因素的影响存在相近的敏感性。同时计数左右花蕾将降低抽样误差,使操作更加合理,但是将会加大工作量,从而影响进行较大规模的现场检测工作。

总之,本文一共提出和描述紫露草四分体微核检测技术的五个问题,兹归纳如下:

(1) 通过显微摄影图象确定,花序中分裂期同步四分体细胞花蕾的位置,在第七位(对)附近。

(2) 花序大小和成熟程度影响制作早期四分体微核压片。

(3) 在适宜的栽培条件下,自发微核率,即本底微核率可以控制在 1.1—3.6%。

(4) 在各盆栽培条件严格相同的条件

下,加之摘花和插枝的随机化,盆间花序的自发微核率差别不大,不会影响实测数据的客观性。

(5) 在前述条件下,花序左右花蕾的自发微核率差别不大,不会因取左或右的同步四分体花蕾压片计数,引起实测数据的显著波动。

以上观察结果进一步地充实紫露草四分体微核检测技术,提高可靠性,促进该技术应用于大量环境样品的常规检测,使观察数据更反映现场实况的客观性。

参 考 文 献

- [1] 马德修,山东海洋学院学报,11(2)65(1981).
- [2] Ma, T. H., *Environ. Healt. Perspect.*, **37**, 85 (1981).
- [3] Ma, T. H., *Mut. Res.*, **99**, 293 (1982).
- [4] Ma, T. H., *In Vitro Toxicity Testing of Environmental Agents*, Part A, pp. 191—214, Ed. Kolber et al. Plenum Publish, Corpor, 1983.
- [5] 山东海洋学院生物系遗传教研室,遗传,3, 23 (1981).
- [6] 方宗熙等,山东海洋学院学报,11(2),74(1981).
- [7] 陈登勤等,山东海洋学院学报,11(2)80(1981).
- [8] 郭婉茹等,环境科学学报,3(2)85(1983).
- [9] 陈竹伞等,环境污染与防治,4,43(1983).
- [10] Taylor, J. H., *Amer. J. Bot.*, **37**, 137(1950).