细菌彷徨试验检测城市污水致突变性

赵泽贞 黄民提 梁索元 丁树荣

(河北省肿瘤研究所)

国外城市污水大多经过一、二级处理后仅用于灌溉林带、苗圃、棉麻,牧草等经济作物^[1]。我国自 1956 年开始用城市污水灌溉农田、蔬菜及粮食作物。1958 年全国第一次污灌会议后得到普遍推广。八十年代初污灌面积已达 500 多万亩,平均日排灌量达到 10⁸t 以上^[2]。城市污水 85% 为工业废水,废水中含有丰富的氮、磷、钾肥,因此污灌确实可增产,同时也解决了水资源不足的问题,有着明显的经济效益。但由于目前我国大部污水不经处理即排放,污水中含酚、苯、氰、砷、铅、汞、镉、铬等有毒物质,并含有致病微生物,故污灌可带来环境污染^[3,4]。生物污染短期可观察到,已有污灌造成肠道传染病流行的报告^[5]。但化学污染多属远期生物效应,其毒理作用复杂,对人群的危害短期内不易发现,往往被忽视。因此选择微生物学快速方法检测污水的致突变、致畸、致癌作用具有重要意义,为制定消除环境致癌因素的措施提供科学依据。本工作重点讨论用彷徨试验(Fluctuation Test)检测石家庄市污水成份的致突变性。

一、材料和方法

1. 受试污水的取样及处理

(1) 采样容器 将清洗后的采样瓶在洗液中浸泡一天,清水冲净,再用蒸馏水冲洗三次,加塞包装高压灭菌。

(2) 采样地点 沿石家庄市工业废水及生活污水汇流成的东明渠,由上游至下游,每

隔 0.5—1 km,分段在污水渠两岸及中心处分别采样(水深 20cm 处),共分五段,采样 24 瓶。

(3) 标本的处理 每瓶污水各取 2ml 混合,经(47.8803 × 8) Pa 10min 灭菌,放入冰箱待检。

2. 实验方法

按彷徨试验常规进行。

(1) 指示菌种 选择缺陷型鼠伤寒沙门氏菌属 TA 98 及 TA 100 两株菌种为指示菌。该菌株经过结晶紫试验,氨苄青霉素试验,紫外线照射试验,组氨酸需求试验及自然回变菌落计数试验的鉴定均符合其生物学特性。

(2) 以无菌操作取受试污水 0.1 ml 及培养 16h 的指示菌肉汤培养物 0.1ml,分别加入到 5ml 含相应组氨酸及生物素的专用盐溶液培养基中,充分混合后每种菌各分装 50 只小试管,每管 0.1ml。37℃ 培养 20—22h。将含有溴甲酚紫指示剂的专用盐溶液培养基 2ml 加入上述每只小试管中。用震荡器混匀,经 37℃ 培养五天,每天观察结果记录变色管数。

(3) 同时设致突变阳性药物对照,每种菌各 50 只管。用 1mg/ml 的正定霉素 0.1ml 诱变 TA98 菌,1mg/ml 的叠氮钠 0.1 ml 诱变 TA100 菌。另设阴性对照,每种菌 50 只管。

(4) 统计各组变色管数,分别与阴性对照组比较,用 X^2 检验,进行统计学处理,以 $P < 0.05$ 为阳性,综合分析,判断结果。

表 1 彷徨试验检测污水结果

分 组	每组管数	1 天变色管数		2 天变色管数		3 天变色管数		4 天变色管数		5 天变色管数	
		TA98	TA100								
阴性对照	50	0	0	0	0	7	9	7	9	7	9
阳性对照	50	0	0	0	0	23**	27**	25**	30**	25**	30**
污 水	50	0	0	0	0	24**	20*	24**	26**	24**	26**

* P<0.05 ** P<0.01

二、实验结果

24 份污水混合液彷徨试验的细菌诱变结果见表 1。由此可见受试污水组及阳性诱变药物对照组从第三天开始均半数左右变色。而阴性对照组从第三天仅少数变色，污水组及阳性对照组的变色管数均多于阴性对照组($P < 0.05$ 或 0.01)，有显著差异，可判断受试污水致突变阳性。

三、讨 论

1. 该项试验所取 24 份污水混合标本，采取了上、下游纵向分段及左、右、中心横向分别采取的办法。有充分的代表性。经彷徨试验获得了致突变阳性结果，提示石家庄市污水有一定的致突变作用。用该污水直接灌溉农田将造成环境污染，该污水处理问题亟待解决。

(2) 彷徨试验是较 Ames 试验更敏感的微生物学快速筛选致突变物的先进手段^[5]。用于直接检测城市污水，能更好的反映污水中多种物质联合作用的效应。污水中的各种有机质及重金属混合存在，可发生相加，协同，互补，促进或者相减，颉颃等复杂作用，从而影响污水总的致突变性，使之增加或减弱，故这比分开测定污水中单一成份更具有实际意义，可测试出污水中各种成份的实际联合作用。

参 考 文 献

- [1] Dunlop, S. G., The Symposium on The Use of Sewage Effluent for Irrigation, Louisiana Polytechnic Institute, Ruston, P 107. 1968.
- [2] 蔡诗文, 劳动与环境医学, 5(4), 3(1982).
- [3] 蔡诗文, 卫生研究, 13(2), 25-29(1984).
- [4] 邵义隆, 中国环境科学, 3, 53-57(1983).
- [5] Green, M. H. L., et al. (张湘桥译), 用简化波动试验检测低水平致变物, 生物学短期试验。人民卫生出版社, 北京, 第一版, 第 137 页, 1982 年。
- (上接第 89 页)
- [13] Maria, P. S. et al., *Acta Microb. Polon.*, **30**, 79 (1981).
- [14] Mietz, J. A. et al., *Water Air Soil Pollut.*, **20**, 147 (1983).
- [15] Mills, A. L. et al., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **18**(1), 99(1977).
- [16] Nelson, J. D. et al., *Microb. Ecol.*, **1**, 191(1975).
- [17] Oppenheimer, C. H., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **19**, 244 (1960).
- [18] Ramamoorthy, S. et al., *Microb. Ecol.*, **2** 162 (1975).
- [19] Rother, J. A. et al., *Plant and Soil*, **69** (2), 239 (1982).
- [20] Slowik, J., *Acta Microb. Polon.*, **30** (2), 183 (1981).
- [21] Sterritt, R. M. et al., *Sci. Total Environ.*, **14**, 5 (1980).
- [22] Summers, A. O. et al., *Ann. Rev. Microbiol.*, **32**, 637 (1978).
- [23] Tan, T. L., *Microb. Ecol.*, **5**(4), 295 (1980).
- [24] Thormann, D., *Veroff. Inst. Meeresforsch Bremerh.*, **15** (3), 237 (1975).
- [25] *Ibid.*, **17**(2), 163 (1979).
- [26] Tornabene, T. G. et al., *Science*, **176** (4042), 1334 (1972).
- [27] Tornabene, T. G. et al., *Appl. Microbiol.*, **29** (5), 680 (1975).