

氯化高汞对大型溞的慢性毒性*

庄德辉 梁彦龄 邓冠强

(中国科学院水生生物研究所)

提 要

在换水静置条件下(25℃),氯化高汞(以 Hg^{++} 计)对大型溞的48小时 LC_{50} 值及其可信限为 $13.5(\pm 2.1)$ 微克/升。试验个体饲以斜生栅藻单个培养,在汞含量为1—21微克/升浓度下,产仔总数经方差分析表明组间差异显著($F > F_{0.05}$)。各浓度组(X)与产仔总数(Y)的关系为: $Y = -51.823X + 4320.960$ ($r = -0.904$, $p < 0.01$)。净增殖率(R_0)随浓度升高而逐渐下降。存活和生长用方差分析及D值检验表明对照组与各浓度组之间(差异数分别小于各自的D值20.89和0.1749),没有显著差异。各浓度组对内禀增长能力(r_m)和世代平均周期(T)影响不大。根据大型溞的生物学基本参数,其体长的生长模型为:

$$l_t = 4.57 - 3.5177e^{-0.00338t}$$

自从日本“水俣病”出现以来,汞污染受到全世界的关注。水环境中的汞主要来自两方面,一是由于天然过程的作用(如自然界含汞物质的溶解),二是在人类生产活动中将含汞废水排入生态系。为了保护水环境,必须了解汞污染对水生生物的急性和慢性毒性,以便为制订有关标准提供依据。

关于汞对溞类的毒性问题, Breukelman (1932)^[13] 研究了大型溞不同年龄和性别对氯化高汞的忍耐能力。Anderson (1948)^[9] 测定了汞等25种阳离子在Erie湖水中对大型溞致毒的表观临界值。Biesiger等(1972)^[11] 在急性毒性的基础上做了慢性毒性,评价了汞等各种金属对大型溞存活、生长、生殖和新陈代谢的影响。Taylor (1979)^[14] 的“汞对水生生物致死和亚致死影响的评论”一文,比较了各种水生生物对汞的敏感性,认为最敏感的淡水生物是溞类。Biesiger等(1982)^[12] 又进一步研究了无机汞和有机汞对大型溞的慢性毒性。在国内,我们于1976年在用溞类监测农药污染水体的研究^[6]中,测定了氯化高汞对隆线溞(*Daphnia carinata* King)的急性毒性。徐锐贤等(1980)也进行过汞等五种金属对大型溞的急性毒性试验。堵南山等(1982)^[1] 进一步做了汞对隆线溞的慢性中毒试验。有关汞对大型溞的慢性毒性我国尚未见报道。本文论述大型溞的生物学特性、急性和慢性毒性的试验结果。

* 本文承王德铭主任、陈受忠副研究员审阅,谨致谢意。

1) 堵南山、赖伟、李爱民, 1982。汞对隆线溞的慢性中毒试验。中国动物学会甲壳动物学会成立大会暨学术讨论会资料。

编辑部收到稿件日期: 1983年11月19日。

材料和方法

试验用大型溞 (*Daphnia magna* Straus) 系 1981 年 9 月采自哈尔滨市郊区, 经本实验室分离、纯系培养。试验溞为同一母体的后代, 试验开始时溞龄 6 ± 6 小时。溞饲以斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kutz.)。栅藻用水生 4 号培养基^[7]培养。试验用氯化高汞 (HgCl_2) 系上海试剂四厂产品 (分析纯, 含量不少于 99.5%)。试验用水是经活性炭过滤的自来水, 曝气后静置 24 小时以上。水中溶解氧 6.8—7.3 毫克/升, pH7.20—7.68, 电导率 283—297 微欧/厘米, 总汞含量痕迹。整个试验在恒温水浴中进行, 水温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 照度 3,000—3,300 勒克司, 光照每天 9—10 小时。试验容器全部经稀硝酸浸泡过。

试验方法参照《水和废水标准检验法》^[10]进行。急性试验见对六六六的试验^[11]。急性适应性试验是用母体自出生起在各种浓度下生活至第 12 天产下的幼体。慢性试验用 80 毫升烧杯, 装试验液 50 毫升, 置溞 1 个, 10 个平行, 7 个试验浓度和对照均同, 共 80 杯。每隔一天换试验液一次。换水时统计存活数和产仔数, 移出幼体, 加入栅藻液维持大约 40 万个细胞/毫升。试验期间, 头 12 天每天测量体长, 以后换水时测量。试验至 75 天, 当绝大部分个体死亡时结束。

试验结果用目测概率法计算 LC_{50} 值及其 95% 可信限。用方差分析方法比较各个浓度组的平均寿命、生长和生殖。用回归方程式表示后代总数与毒物浓度的关系^[4]。最后, 用公式:

$$\sum_0^{\infty} e^{-r_m x} l_x m_x = 1$$

计算内禀增长能力 (r_m)^[5]。

结 果

1. 大型溞的生物学特性 大型溞在 25°C 下饲以斜生栅藻时生长繁殖良好, 平均溞龄 68.40 天, 龄期 27.5 龄, 产仔 22.5 次, 产仔总量 449.6 个 (表 1)。生殖量从第 1 成龄 (11.10 ± 3.10 个) 起波动上升, 至第 8 成龄达到高峰 (37.90 ± 6.96 个), 以后就波动下降, 第 15 成龄以后生殖量明显偏小。在上述培养条件下, 体长的增长趋势可用下式表达, 即:

$$l_t = 4.57 - 3.5177e^{-0.0838t}$$

式中 t 为溞龄, l_t 为 t 时的体长 (图 1)。大型溞一生体长增长大体可以划分为三个阶段: 第 1 阶段自出生至第 6 龄 (7.20 ± 0.63 天) 增长最快, 每龄平均增长量 0.42 毫米, 平均增长率 27%; 第 2 阶段从第 7 龄至第 18 龄 (36.80 ± 0.63 天), 增长减慢, 平均增长量 0.12 毫米, 平均增长率 3%; 第 3 阶段从第 19 龄至死亡, 增长颇低, 平均增长量 0.01 毫米, 平均增长率几乎等于零, 有的个体只脱壳而无增长或甚至有负生长现象。

2. 急性毒性 氯化高汞 (以 Hg^{++} 计, 以下均同) 对 6 ± 6 小时溞龄的大型溞的 LC_{50} 值及其 95% 可信限如下: 6 小时为 $39.0 (\pm 7.6)$ 微克/升, 24 和 48 小时分别为 $28.0 (\pm 4.1)$

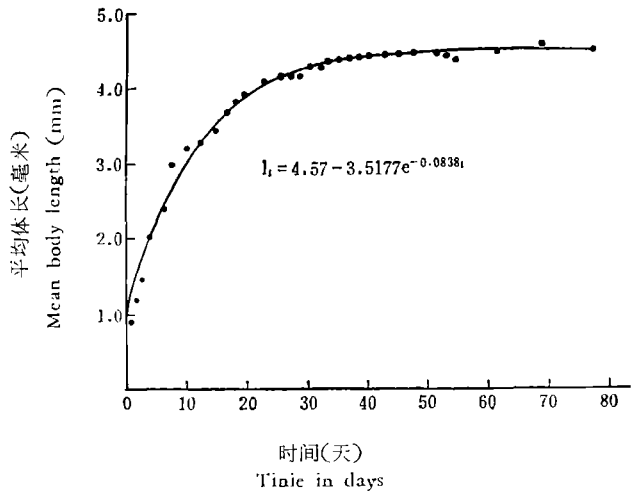


图 1 大型溞在 25℃ 下饲以斜生栅藻时体长与时间的关系

Fig. 1. Growth curve of *Daphnia magna* fed with *Scenedesmus obliquus* at 25°C.

表 1 大型溞在 25℃ 下饲以斜生栅藻时的生物学参数(均数±SD)

Table 1 Biological parameters of *Daphnia magna* fed with *Scenedesmus obliquus* at 25°C (Mean±SD)

寿命(天)	龄 期		第 1 次 生殖平均 天数	平均产 仔量	平均每胎 产仔量	产仔次数	最大产仔量时				最大体长 (毫米)	平均产 仔间隔 天数
	幼龄	成龄					日龄	体长 (毫米)	成龄期	个数		
68.40± 9.82	4.10± 0.31	23.40± 2.83	7.10± 0.31	44.60± 44.99	19.50± 3.89	22.50± 2.46	23.20± 5.76	4.07± 0.22	8.90± 2.28	43.00± 5.05	4.58± 0.10	2.48

和 13.5(±2.1) 微克/升。母体经氯化高汞 (1—7 微克/升) 适应以后, 产下幼体对氯化高汞的敏感性在 6 和 24 小时急性试验中未见明显差别, 而在 48 小时, 则明显表现出随着适应浓度的升高, 48 小时 LC₅₀ 值增加。经 7 微克/升适应过的, 其 48 小时 LC₅₀ 为 26.5 微克/升, 几乎比对照组 13.5 微克/升高一倍(表 2)。

表 2 大型溞在氯化高汞(以 Hg⁺⁺ 计)不同浓度中适应 12 天后产下幼体对氯化高汞的敏感性
(单位: 微克/升)

Table 2 HgCl₂ (as Hg⁺⁺) sensitivity of newborn *Daphnia magna* reproduced by adults acclimatized at different HgCl₂ concentrations for 12 days (in µg/L)

适应浓度	6 小时 LC ₅₀ 值	24 小时 LC ₅₀ 值	48 小时 LC ₅₀ 值
0	39.0(±7.6)*	28.0(±4.1)*	13.5(±2.1)*
1	42.0(±6.6)	28.8(±2.5)	19.8(±2.9)
3	36.0(±2.5)	27.0(±2.3)	23.2(±2.3)
5	42.0(±4.9)	28.2(±1.5)	23.8(±1.0)
7	39.5(±4.5)	28.5(±2.3)	26.5(±2.1)

* 95% 可信限 Confidence limit.

3. 慢性毒性 在 1—28 微克/升的氯化高汞 7 个浓度组及对照组中, 除了 28 微克/升

表 3 大型蚤在氯化高汞(以 Hg^{++} 计)不同浓度中的慢性毒性试验结果

Table 3 Demographic information of *Daphnia magna* from chronic toxicity tests at various mercuric chloride (as Hg^{++}) concentrations, under temperature of $25\pm 1^{\circ}C$

浓度 (ppb)	平均寿命 (天)	平均龄数	平均每胎间隔时间 (天)	平均胎的大小	产仔总数 (个)	第 20 龄平均体长 (mm)	内禀增长能力	净增殖率 (代)	世代平均周期(天)
0	$68.40\pm 9.82^*$	$27.80\pm 2.82^*$	2.48	$19.50\pm 3.89^*$	4496	$4.46\pm 0.12^*$	0.434	448.396	28.12
1	61.10 ± 13.85	25.50 ± 4.22	2.46	19.21 ± 2.60	3943	4.60 ± 0.10	0.459	394.299	27.51
3	66.10 ± 11.22	27.20 ± 3.70	2.50	18.96 ± 3.90	4200	4.51 ± 0.04	0.468	419.997	30.65
6	67.30 ± 11.03	27.50 ± 3.80	2.46	18.34 ± 1.73	4185	4.50 ± 0.09	0.461	418.495	30.90
10	60.60 ± 20.56	24.90 ± 7.72	2.51	18.71 ± 1.79	3678	4.50 ± 0.12	0.444	367.851	31.27
15	56.70 ± 17.89	24.40 ± 5.92	2.42	18.72 ± 2.46	3705	4.45 ± 0.07	0.459	370.296	28.92
21	54.70 ± 24.39	23.90 ± 7.90	2.41	17.49 ± 3.55	3137	4.33 ± 0.05	0.434	312.691	30.11
28	3.40 ± 0.84	2.20 ± 0.42			0				

* 标准差 Standard deviation.

组只经 1—2 次蜕壳,存活不到 4 天之外,其他各组均能存活并繁殖(表 3)。

(1) 存活 大型蚤在氯化高汞不同浓度中的存活曲线见图 2。从图中可以看出, 28 微克/升组死亡最快,平均寿命只 3.40 ± 0.84 天,均未能达到性成熟。方差分析及 D 值检验表明,除了 28 微克/升组之外,对照组与其它各浓度组之间的差异数均小于 D 值 20.89,即差异不显著。

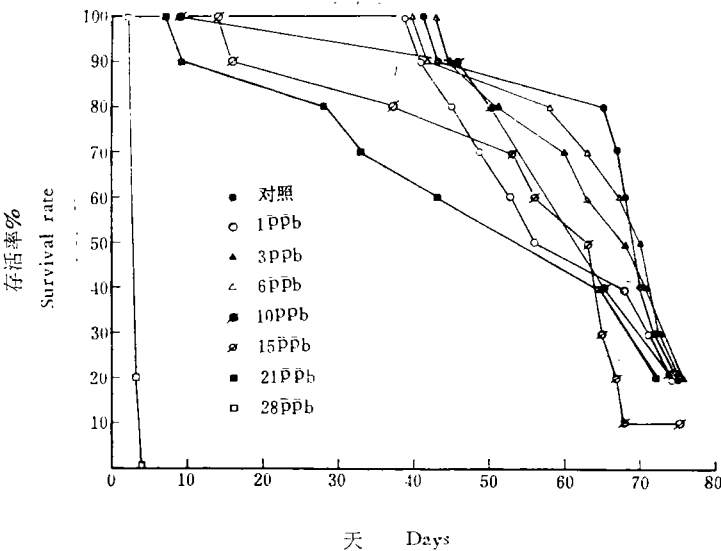


图 2 大型蚤在氯化高汞(以 Hg^{++} 计)不同浓度 (ppb) 中的存活曲线。曲线根据开始时 10 个个体画出

Fig. 2. Survival curves of *Daphnia magna* at different $HgCl_2$ (as Hg^{++}) concentrations (ppb) Each curve is based on an initial cohort of 10 individuals.

(2) 生长 在氯化高汞 1—21 微克/升浓度及对照组中,大型蚤第 20 龄(第 20 龄

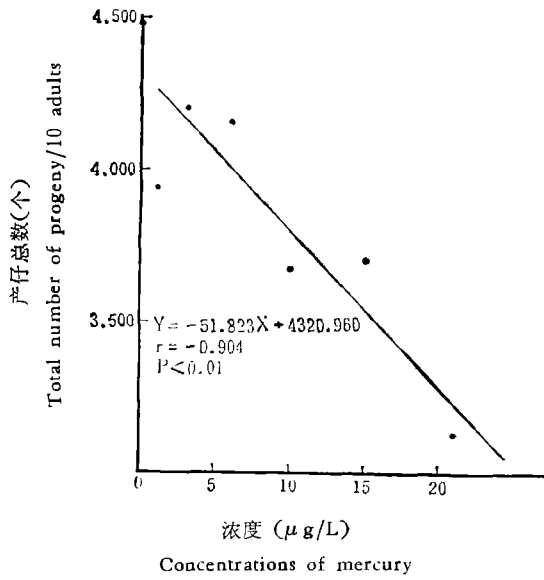


图3 大型蚤在 HgCl_2 (以 Hg^{++} 计) 不同浓度中每十个成体的后代总数及其回归线

Fig. 3. Relationship between mercuric concentration and total number of progeny reproduced by 10 adult *Daphnia magna*.

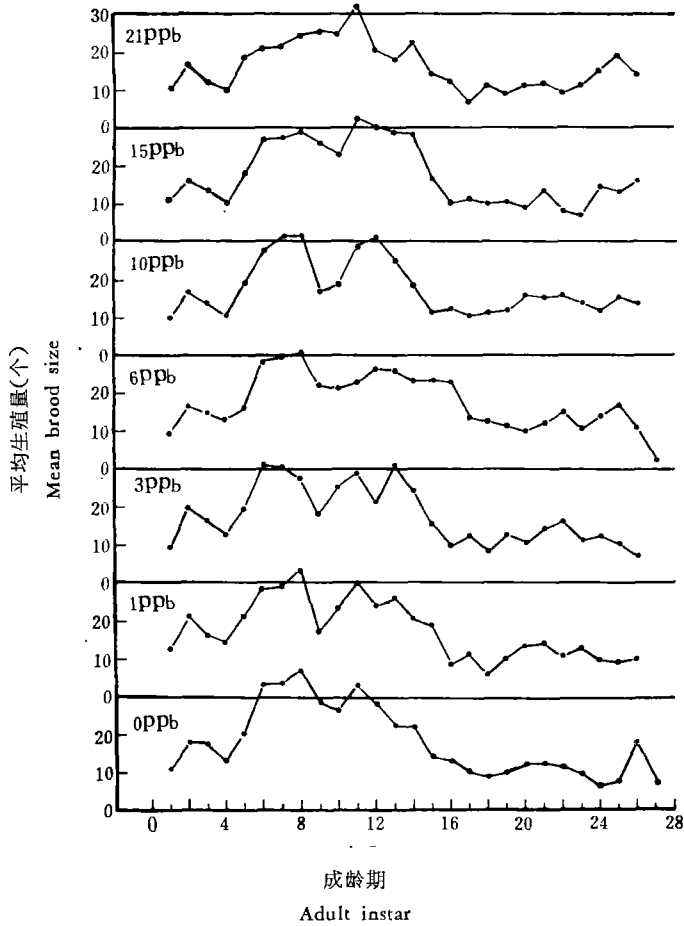


图4 大型蚤在 HgCl_2 (以 Hg^{++} 计) 不同浓度 (ppb) 中各成龄期的生殖量

Fig. 4. Temporal changes in mean brood size of *Daphnia magna* at different HgCl_2 (as Hg^{++}) concentrations (ppb). Each curve is based on an initial cohort of 10 animals.

之后剩下个体甚少)平均体长在 4.33—4.60 毫米之间(表 3)。在 28 微克/升中,最大体长只达 1.40 毫米。方差分析及 D 值检验表明,除了 28 微克/升组之外,各浓度组之间的差异数均小于 D 值 0.1749,即差异不显著。

(3) 生殖 在氯化高汞 1—21 微克/升浓度及对照组中, 10 个大型溞产仔总数在 3,137—4,496 个之间 (表 3), 经方差分析表明组间差异显著 ($F > F_{0.01}$)。各浓度组 (X) 与产仔总数 (Y) 的关系(图 3) 为:

$$Y = -51.823X + 4320.960 \quad (r = -0.904, p < 0.01)$$

若用 Biesinger 等 (1972)^[11] 提出的生殖损伤 (Reproduction impairment) 进行评价, 各试验浓度组均有生殖损伤, 1、3、6 微克/升组的生殖损伤分别为 12.3、6.6、6.9%; 10、15、21 微克/升组生殖损伤分别为 18.2、17.6、30.2%, 均超过 16%。

每胎的生殖量以及每胎间隔时间的平均值, 经方差分析表明各浓度组与对照组之间均无显著差异 ($F < F_{0.01}$)。以各成龄期的生殖量作图 (图 4), 各条曲线总的趋势基本一致。

内禀增长能力 (r_m) 及其有关参数列在表 3 上。从表上看, 净增殖率 (R_0) 随氯化高汞浓度升高而逐渐下降, 而 r_m 和世代平均周期 (T) 则变化不大。

讨 论

大型溞犹如实验室的大鼠, 广泛用于水毒理学的研究。国外对其生物学有过许多报道^[6], 我国宋大祥也进行过培养研究^[2]。过去的研究, 多数是用 Banta 液培养, 我们则用新鲜斜生栅藻喂食。对几种培养结果进行比较(表 4), 表明用栅藻培养的大型溞平均寿命长 (68.4 天), 产仔总数多 (449.6 个), 效果较佳。用藻液培养, 可以避免粪土中未知物质的干扰。我们在用六六六对大型溞生态学影响的研究中^[1], 曾用蛋白核小球藻为饲料。小球藻和栅藻都用水生 4 号培养基培养, 方法相同, 但栅藻易于沉淀浓缩, 在应用上更为方便。

表 4 大型溞在 25℃ 下用不同培养液培养结果的比较

Table 4 Population parameters of *Daphnia magna* living in different culture media at 25℃

培养液类型	平均寿命 (天)	龄 期 数		产仔总数 (个)	最高生殖量 (个)	产仔间隔 时间(天)	资料来源
		幼 龄	成 龄				
改良的彭泰粪土培养液	40.00	4—6	17—22	149.57	16.80	2.30	Anderson, 1942
彭泰粪土培养液	35.70			146.30	26.30	2.30	宋大祥, 1962
含栅藻培养液	68.40	4—5	17—27	449.60	43.00	2.48	本研究, 1983

据 Biesinger 等 (1972)^[11] 报道, 在急性试验中, 汞对大型溞 48 小时 LC_{50} 为 5 微克/升, 而在同一篇文章中, 慢性试验结果是: 21 天 LC_{50} 为 13 微克/升。看来似乎是矛盾的, 然而由于急性和慢性试验条件不同, 结果就不一定会很有规律。这种现象在 Winner 等 (1976)^[13] 对铜的试验也出现过。我们试验的结果是: 48 小时 LC_{50} 为 13.5 微克/升。这

与徐锐贤等(1980)^[3] 48小时 LC_{50} 为15微克/升, 以及我们^[6]以前对隆线溞的试验48小时 LC_{50} 为11.6微克/升比较接近。

从慢性试验结果看, 大型溞各个生物学指标对汞的敏感性不一致。敏感的指标看来是生殖, 这与堵南山等(1982), Biesinger等(1972)^[11]的看法是一致的。但有关生殖的各种参数, 对汞的敏感性也不尽相同。最敏感的指标是: 生殖损伤和净增殖率(R_0)。从结果看, 汞浓度1微克/升对这两个指标已有影响。根据Biesinger等(1982)^[12]介绍: Marshall等(1981)在野外试验中, 加入2微克汞/升($HgCl_2$), 明显降低*Daphnia galeata*的数量。至于Biesinger等(1972)^[11]提出3.4微克汞/升对大型溞就有生殖损伤, 然而他们是7天换水一次, 汞在试验中逐渐消失, 故Biesinger等(1982)^[12]在另一篇报告中又指出: 3.4微克汞/升浓度实际上可能是接近1.8微克汞/升。这些情况均表明, 汞浓度1—2微克/升对大型溞的生殖就有影响。

汞浓度从21到28微克/升对溞的毒性突然增高。这种现象在Winner等(1976)^[15]用铜(40—60微克/升之间)对四种溞的试验也发现过。他们认为, 如果通常的理论是正确的话, 那就是在这个浓度范围内试验水的络合能力饱和了, 明显增加铜离子的浓度。本试验是否也与此有关, 尚待研究证实。

在我们的试验中, 幼龄多数为4龄, 也有5龄, 个别6龄。各试验浓度组溞的幼龄龄数并未表现出明显的规律性。但对照组10个试验溞中, 4龄9个, 5龄1个; 而21微克/升组4龄3个, 5龄6个, 6龄1个, 似乎浓度提高也会增加幼龄龄期, 此点尚待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 庄德辉、梁彦龄、孙美娟, 1983. 六六六对大型溞生态学的影响。水生生物学集刊, 8(3):
- [2] 宋大祥, 1962. 大型溞(*Daphnia magna* Straus)的初步培养研究。动物学报, 14(1): 49—62。
- [3] 徐锐贤、李凤筠、李多元, 1980. 五种毒物对水蚤的毒性实验。环境研究, (1): 70—75。
- [4] 郭祖超等编, 1964. 医用数理统计方法。274—289页。人民卫生出版社。
- [5] 梁彦龄、张国馨, 1964. 隆腺溞(*Daphnia carinata* King)的内禀增长能力。水生生物学集刊, 5(1): 31—36。
- [6] 湖北省水生生物研究所六室, 1976. 用溞类监测农药污染水体的初步试验。环境科学, (1): 53—56。
- [7] 黎尚豪、朱惠、夏宜璋等, 1959. 单细胞绿藻的大量培养试验。水生生物学集刊, (4): 463—472。
- [8] Anderson, B. G. and J. C. Jenkins, 1942. A time study of events in the life span of *Daphnia magna*. *Biol. Bull.*, 83(2): 260—272.
- [9] Anderson, B. G., 1948. The apparent thresholds of toxicity to *Daphnia magna* for chlorides of various metals when added to Lake Erie water. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 78(1): 96—112.
- [10] APHA-AWWA-WPCF, 1975. Standard methods for the examination of water and wastewater, 14th ed. pp. 762—766. Wash. D. C.
- [11] Biesinger, K. E. and G. M. Christensen, 1972. Effects of various metals on survival, growth, reproduction, and metabolism of *Daphnia magna*. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 29(12): 1691—1700.
- [12] Biesinger, K. E., Anderson, L. E. and J. G. Eaton, 1982. Chronic effects of inorganic and organic mercury on *Daphnia magna*: Toxicity, accumulation, and loss. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.*, 11(6): 769—774.
- [13] Breukelman, J., 1932. Effect of age and sex on resistance of daphnia to mercuric chloride. *Science*, 76: 302.
- [14] Taylor, D., 1979. A review of the lethal and sub-lethal effects of mercury on aquatic life. *Residue*

reviews, 72: 33—69.

- [15] Winner, R. W. and M. P. Farrell, 1976. Acute and chronic toxicity of copper to four species of *Daphnia*. *J. Fish. Res. Board Can.*, 33(8): 1685—1691.

TOXICITY OF MERCURIC CHLORIDE TO *DAPHNIA MAGNA* STRAUS, WITH SPECIAL EMPHASIS ON LONG-TERM TESTS

Zhuang Dehui, Liang Yanling and Deng Guanqiang

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica)

Abstract

The toxicity of mercuric chloride (as Hg^{++}) to *Daphnia magna* was studied under renewed static conditions. Under $25 \pm 1^\circ\text{C}$ and 9—10 hour dialy lighting (3,000—3,300 lux), *Daphnia magna*, derived from a pure strain and aged 6 ± 6 hours, were exposed to 1—28 $\mu\text{g Hg/L}$. Experiment of each concentration was carried out by means of ten beakers, each containing 50 ml of filtered water and a single *Daphnia*. *Scenedesmus obliquus* was provided for the animals throughout the experiments.

The LC_{50} of mercuric chloride to *D. magna* was estimated to be $13.5 \pm 2.1 \mu\text{g/L}$ for 48 hours. The chronic test showed that *Daphnia* died totally in 3.40 ± 0.84 days when the mercuric concentration increased up to 28 $\mu\text{g/L}$, but there were no significant differences in the survival rates and growth rates in the media with concentrations ranging from 1 to 21 $\mu\text{g Hg/L}$ except for the total number of offspring. In addition, the net reproductive rate (R_0) of the animals was found to decline gradually with increasing mercuric concentration.