

十二烷基苯磺酸钠 (DBS) 对原生动物的毒性效应*

蔡俊鹏 沈韫芬 顾曼如

(中国科学院水生生物研究所, 武汉)

提 要

进行了十二烷基苯磺酸钠 (DBS) 对原生动物的种、种群和群落等三个不同生物学组织水平的毒性试验。结果表明: DBS 对 5 种原生动物的急性毒性作用没有种的特异性 ($p > 0.05$)。半致死浓度 $12h-LC_{50}$ 在 $7.0-10.47$ ppm 之间; 对美洲四膜虫种群的急性毒性作用, $12h-LC_{50}$ 为 17.21 ppm; 对其呼吸率的影响, 表明其效应浓度为 12.84 ppm ($p < 0.05$); $3-40$ ppm DBS, 对微型生物群落的结构、功能有不同程度的影响。结构参数有原生动物种类组成和种类数; 功能参数有原生动物群集过程、微型生物群落的 P/R 化。反映原生动物群集过程的 3 个参数 S_{eq} 、 G 和 $T_{c\%}$ 中的 S_{eq} 与 DBS 浓度的自然对数成直线负相关, 由其回归方程 $Y = 29.7281 - 5.6722X$ ($p < 0.05$) 推算出 DBS 对原生动物群落的 EC_{50} 、 EC_{20} 和 EC_5 分别为 4.684 、 0.51 和 0.1681 ppm。以种和种群水平的 $12h-LC_{50}$ 为基础, 推算出的 $MATC$, 在 AF 为 0.1 时, 分别为 0.7 和 1.721 ppm; 在 AF 为 0.01 时, $MATC$ 为 0.07 和 0.1721 ppm。比较来自种和种群水平的 $MATC$ 与来自群落水平的 EC_{20} 、 EC_5 , 后者更具科学性和环境真实性。因此, 对于东湖, $MATC$ 不得高于 0.5 ppm, 最好低于 0.17 ppm。

关键词 十二烷基苯磺酸钠 (DBS), 原生动物, 毒性试验, 微型生物群落的结构与功能, 群集速率, 毒物最大允许浓度 ($MATC$)

在我国, 合成洗涤剂应用日益广泛, 需求量不断上升, 在环境中残存的数量也越来越多。因此, 有必要了解它对水生生物的效应。本试验用原生动物作为试验生物, 进行种、种群和群落三个生物学组织水平的毒性试验, 以了解 DBS 毒性大小, 并由此提出一个对水生态系统无效应的安全浓度。

材 料 与 方 法

(一) 培养及虫子的预处理

1. 四膜虫的培养 实验所用四膜虫 (*Tetrahymena americanis*, *T. pigmentosa*, *T. borealis* 3IV WW0, *T. borealis* 3II VM665, *T. tropicalis* DIVTTC 89) 由北京大学

* 系自然科学基金会资助项目 386-0594。
1987年6月12日收到。

生物系陈阅增先生赠送, 为无菌纯系培养, 在 25℃ 下约 4 天即可进入生长的平衡期。培养使用的配方: 胰蛋白胨 20%, 葡萄糖和酵母粉各 0.1%, pH 为 7.0—7.2。

2. 尾草履虫 (*Paramecium caudatum*) 的培养 为纯系培养, 以 10% 稻草水为培养基, 27℃ 15 天左右即可用于实验。

3. 虫孑预处理 实验前, 离心四膜虫、草履虫, 去掉培养基, 用无菌蒸馏水或 0.12% Osterhout 等渗液^[20]冲洗 3 次, 最后悬浮之, 置于培养箱中备用。

(二) 试验药物

为表面活性剂, 即十二烷基苯磺酸钠 DBS (Dodecyl Benzene Sulfonate), 分子量 348.48。

(三) 种水平毒性试验

浓度为 1、3、5、8、10、12、15 ppm。每一指碗含 0.2 溶液、四膜虫 10 个; 或含 1 ml 溶液、草履虫 20 个。共有 6 个平行样。12 小时试验, 每隔 2 小时在解剖镜下观察一次, 以虫孑死亡解体为试验终点。

(四) 种群水平的毒性试验

1. 急性毒性试验 DBS 浓度为 3.21、9.63、12.84、16.06、19.27、25.69 和 32.11 ppm。均有 3 组平行样。每一 50 ml 烧杯内加美洲四膜虫悬液 2.5 ml、DBS 溶液或 0.12% Osterhout 液 0.5 ml。试验 12 小时, 其后用鲁哥氏碘液固定、计数 0.1 ml, 以求得存活的虫孑数目。

2. 慢性毒性试验 采用 Gilson 差分呼吸仪测定美洲四膜虫呼吸率。加样后在 25℃ 水温下平衡 1 小时即行测定。共 2 小时, 每隔 20 分钟读数一次, 第一次读数后即把反应瓶侧臂中的 0.5 ml DBS 溶液或 Osterhout 液与 2.5 ml 细胞悬液混合, 观察四膜虫呼吸率的变化。试验结束, 吸出细胞悬液, 加鲁哥氏碘液固定, 吸 0.1 ml 计数。每一浓度均有 10 个平行样。

(五) 流水、稀释型微生态系 (Flow-through, diluted microcosm) 毒性试验

1. 连续流水稀释系统 为提高试验结果的环境真实性, 我们采用了一套连续流水试验系统, 进行流水、稀释型微生态系毒性试验。该系统包括稀释水、稀释装置、母液罐及试验槽等四部分 (图 1)。

① 稀释水 为东湖水, 采自东湖 I 站 (接近开阔区的湖边)。DBS 浓度 (用 Methylene Blue Alkyl Surfactants 浓度表示, 下同) 均 ≤ 0.11 ppm。湖水经 25# 浮游生物网过滤 2 次, 再在 75—80℃ 加热 15—20 分钟, 尽可能杀灭生物, 冷却曝气, 第二天使用。

② 稀释装置 为本所自制的恒流稀释装置, 稀释系数为 0.5 左右。

③ 母液罐 容积为 6 升的母液罐位于稀释装置的最顶端, 罐内盛放浓度为 3 810 ppm 的 DBS 母液经虹吸作用以恒速进入稀释装置, 按比例稀释后得到 30、15、3.5 和 0 ppm 浓度的溶液。此时, 经胶管导出, 以 20.93/分流速注入试验槽。

④ 试验槽 由有机玻璃制成, 直径 40 cm 高 20 cm 的圆形槽。底部均匀分布有 6 个直径 1 cm 的出水孔, 流速均为 3.49 ml/分。每一试验槽的水位高 12 cm, 溶液 15 升。DBS 在槽中滞留时间为 12 h。

2. 种源 (Epicenters) 以东湖 I 站群集了 22—23 天, 已达平衡期的 PFU (Polyu-

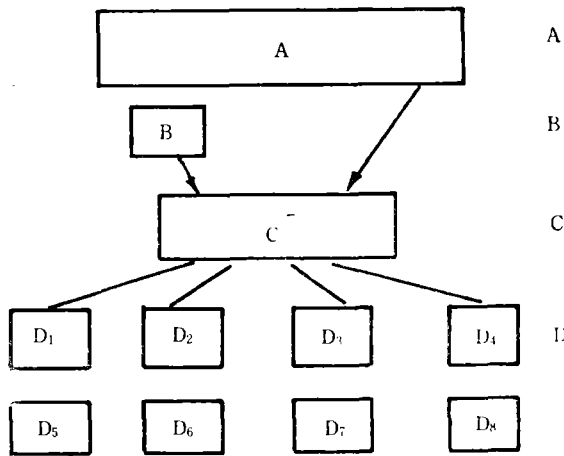


图1 流水、稀释系统示意图

Fig. 1 Diagram of the flow-through, diluted system

A——水源 (Water source), B——母液罐 (Stock Tank), C——恒流稀释装置 (Constant Flow Dilution Device), D——试验槽 (Test Chamber)

rethene Foam Unit) 群落为种源。

3. 试验时间及光照周期 共试验三次, 分别为 13、3 和 5 天。光照周期为 16L:8D。光照强度约为 1 000 lx。试验 III 因测定要求而全部以达平衡期的 PFU 群落为材料。

4. 光合作用 (P)/呼吸作用 (R) 测定及 P/R 比 试验 I、III 的 P、R 测定在 Gilson 差分呼吸仪上进行。每一反应瓶加 PFU 挤出的水样 5ml。在测定光合作用 P 的反应瓶中, 侧臂加 0.06 mol/L NaCO 和 0.340 mol/L NaHCO 各 0.5ml^[18], 光照强度为 $5\,280 \pm 309.7$ lx; 测定呼吸率 R 的反应瓶的中加 0.2ml 10% KOH, 另在反应瓶外包裹红、黑布各一层, 避免光线进入, 和光合作用瓶一起, 组成黑白瓶。测定时每隔 2 小时读数一次, 共 10 小时。因在测定时生物仍会生长、繁殖, 故结果以 6 小时内的数据为标准进行统计处理。

5. 原生动动物群落的采集、镜检及试验水质、DBS 浓度的测定 采样、镜检方法同前^[1]。对挤出的水样, ①进行活体观察, 鉴定种类; ②测定 P、R 值; ③对 PFU 内(挤出的)和 PFU 外(试验槽中)的五项水质指标和 DBS 浓度进行测定。溶氧、电导率、水温、浊度及 pH 等五项水质指标用 U-7 型多功能水质分析仪测定。用 MBAS 法^[4,5]测定 DBS 浓度。试验前, 制作 DBS 浓度与波长 652nm、光程 1cm 的光密度值关系的标准曲线(图 2)。测定时所取水样之量, 按实验槽号 1、2、3、4、5、6、7、8 等 4 个不同浓度, 分别为 50、10、5、2ml。样品经氯仿抽提后在 721 型分光光度计上测光密度, 查对标准曲线, 即得 DBS 浓度。

6. 数据处理 依据黑白瓶原理, 白瓶测得值为净光合作用率 (P_n), 黑瓶测得值为整个群落呼吸率 (R), 总光合作用率 (P_G) 为 P_n 、R 之和, 故群落光合作用率与呼吸率之比为 P_G/R ^[10]。对试验 I、II 群集结果进行符合 MacArthur-Wilson 模型的 LOF (lack

of fit) 检验。平衡模型为： $S_t = S_{eq}(1 - e^{-Gt})$ ，由此求出三个参数： $S_{eq}, G, T_{90\%}$ 。

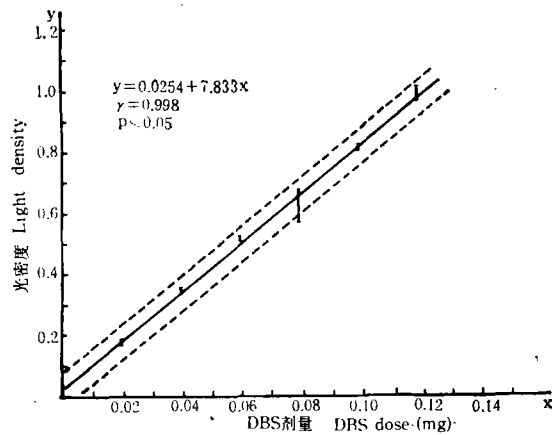


图2 DBS 浓度的标准曲线
Fig. 2 Standard calibration graph for the DBS concentration
(虚线表示 95% 的置信区间)

结 果

(一) 种水平急性毒性试验

试验在 25℃、pH7.17、电导率 0.1mS/cm 条件下完成。DBS 对 5 种原生动物毒性作用的结果经图形分析的概率方法^[6]处理 (图 3)，得到 12h-LC₅₀ 及其 95% 置信范围

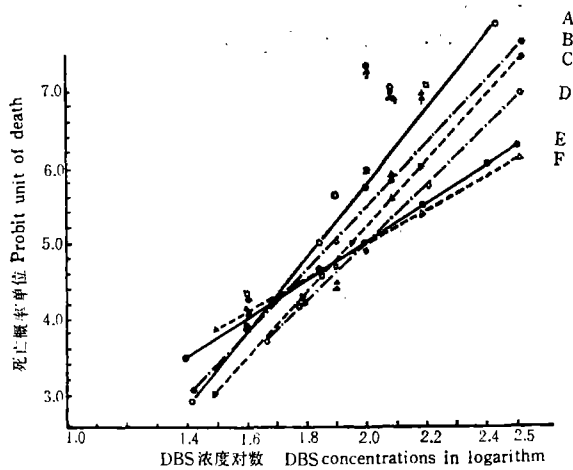


图3 DBS 对 5 种原生动物的 12 小时急性毒性作用的剂量反应曲线
Fig. 3 Dose-reaction curves of DBS toxicity to five protozoan species within 12 hours
A—*Paramecium caudatum*; B—*Tetrahymena americanis*; C—*T. tropicalis* DIV TC89; D—*T. pigmentosa*; E—*T. borealis* 31V WW0; F—*T. borealis* 31I VM665

(表 1)。由表可知, DBS 对这 5 种原生动动物毒性的 LC_{50} 在 7.0—10.47ppm 之间。比较每一种类的 LC_{50} ^[6], 表明其间无显著差异 ($P > 0.05$), 即 DBS 对它们的毒性作用无种的特异性。

表 1 DBS 对原生动动物作用的 12h- LC_{50} (种水平)
Tab. 1 12h- LC_{50} of DBS to Protozoans (species level)

12h- LC_{50} 及 95% 置信范围 12h- LC_{50} & 95% confidence	毒物 toxicant	DBS (ppm)
受毒对象 tested animals		
尾草履虫 <i>Paramecium caudatum</i>		7.00(5.70—8.60)
美洲四膜虫 <i>Tetrahymena americanis</i>		7.67(5.82—10.12)
多色四膜虫 <i>T. pigmentosa</i>		10.23(7.41—14.12)
北方四膜虫 <i>T. borealis</i>		
品系 1 strain 1; 3IV WW0		9.77(6.15—15.53)
品系 2 strain 2; 3II VM665		10.47(6.13—17.17)
热带四膜虫 <i>T. tropicalis</i>		
品系 strain; DIV TC89		9.02(7.21—11.28)

(二) 种群水平的毒性试验

1. 急性毒性试验 对结果进行一无线性回归处理, 得到 12h- LC_{50} 为 17.21ppm (图 4)。

2. 慢性毒性试验 未加药前, 对照和试验组原生动动物呼吸率基本一致, 10^6 个细胞呼吸率为 17.0—26.0 $\mu l O_2$ /20min.。用单因子方差分析处理对照组, 表明在 140 分钟内, 呼吸率没有显著变化 ($P > 0.05$)。试验和对照组呼吸率有差异, 且 t 检验表明: DBS 浓度在 12.84ppm 以上, 差异显著 ($P < 0.05$); 小于 9.63ppm 则不显著 ($P > 0.05$)。在时

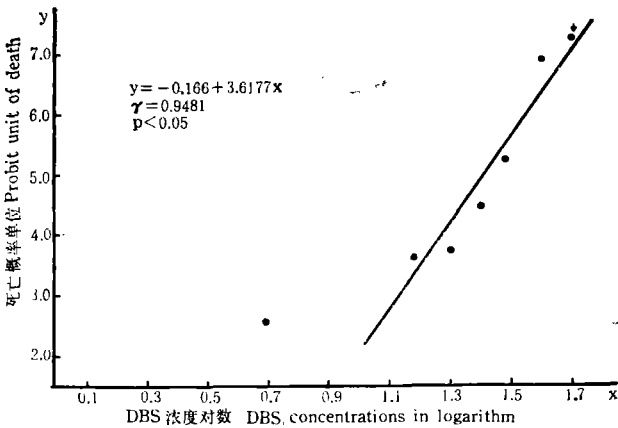


图 4 美洲四膜虫种群水平 12 小时急性毒性试验的剂量反应曲线
Fig. 4 Dose-reaction curve of 12h. acute toxicity of DBS to *Tetrahymena americanis* population

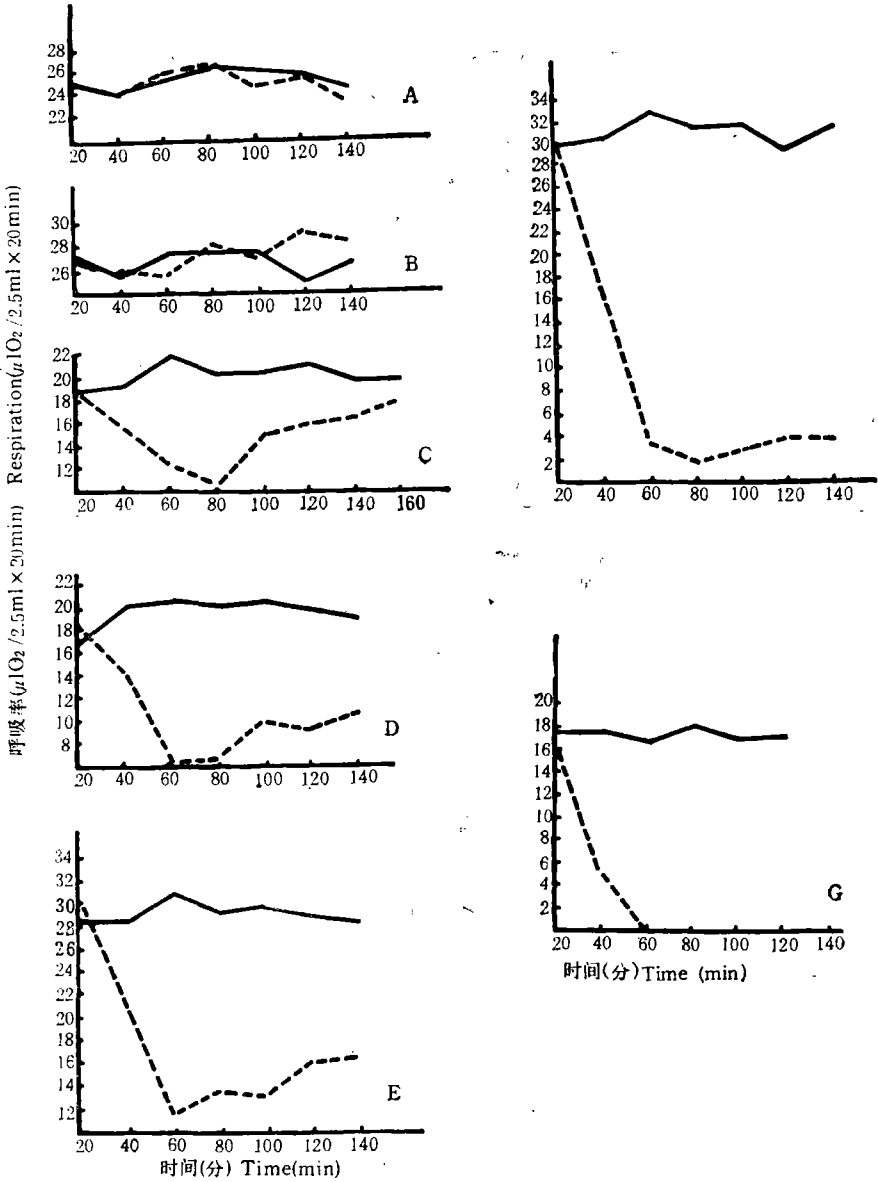


图 5 DBS 对美洲四膜虫呼吸率的影响

Fig. 5 Effects of DBS on the respiration of *Tetrahymena americana*

图中实线表示对照 (control) 虚线为试验组
A——3.21ppm DBS (P 0.05); B——9.63ppm DBS
P 0.05); C——12.84ppm DBS (P 0.05); D——
16.06ppm DBS (P 0.05); E——19.27ppm DBS
(P 0.05); F——25.69ppm DBS (P 0.05)(右上图);
G——32.11ppm DBS

间上(图 5),自第 20 分钟加入 DBS 后,除 3.21、9.63ppm 浓度组外,其余的呼吸率均因受到抑制而逐渐下降,至 60—80 分钟抵最低点,随后又逐渐恢复。至试验结束,其恢复的程度随 DBS 浓度增大而减小。

表 2 流水、稀释型微生物毒性试验的水质条件
Tab. 2 Water quality in the flow-through, diluted microcosm for toxicity tests

测定项目 Item	硬度 Hardness* (ppm CaCO ₃)	碱度 Alkalinity* (ppm)	总磷 Total phosphorus* (ppm)	总氮 Total nitrogen* (ppm)	硅酸盐 Silicate* (ppm)	电导率 Conductivity (ms/cm)	浊度 Turbidity (ppm)	pH	溶解 DC (ppm)	水温 Water tem- perature (C)
测定值 Value	154.78	3.00	0.732	5.25	4.70	0.9—1	1—24	7.4—8.3	6.8—8.5	19.5—27.9

* 数据为四室水化组提供。

Data provided by the Chemical Group of the Fourth Laboratory

表 3 流水、稀释型微生物毒性试验中 PFU 内、外的 DBS 浓度
Tab. 3 DBS concentrations outside and inside PFU in the flow-through, diluted microcosm for toxicity tests

试验次数 Test No.		实 验 I Test I		实 验 II Test II		实 验 III Test III	
试验槽号 Test tank No.	DBS 浓度 DBS concentration (ppm)	范围 Range	平均值 Average	范围 Range	平均值 Average	范围 Range	平均值 Average
PFU 外 Outside PFU							
1,2		0.02—0.149	0.079	0.01—0.131	0.062	0.11—0.13	0.12
3,4		1.36—6.99	4.09	1.23—7.78	4.42	1.62—5.36	3.62
5,6		14.06—21.73	18.01	15.91—19.63	17.34	15.9—21.9	17.8
7,8		29.31—41.5	34.73	28.2—43.25	37.94	30—42.25	39.04
PFU 内 Inside PFU							
1,2		0—0.11	0.025	0—0.02	0.005	0	0
3,4		0—1.03	0.203	0—0.281	0.157	0.11—1.46	0.62
5,6		3.38—7.83	5.69	4.03—16.74	8.84	5.4—9.0	7.39
7,8		9.89—26.37	15.56	14.19—20.71	18.04	12.16—22.66	17.99

(三) 流水、稀释型微生态系毒性试验

1. 水质条件和 DBS 浓度 对试验 I、II、III 的五项水质测定表明: ①PFU 内、外的水质条件无明显差异; ②各次试验间的水质条件也比较一致。经统计处理后的结果均见表 2。DBS 浓度的测定结果见表 3。

2. 原生动物的种类组成及其隶属的功能类群 总计试验 I、II 结果, 共观察到 109 种原生动物, 其中植鞭毛虫 26 种, 动鞭毛虫 24 种, 肉足虫 21 种, 纤毛虫 38 种。从试验槽号 1、2 (对照), 3、4 (4.0ppm), 5、6 (17.7ppm), 7、8 (36.5ppm) 等, 由低浓度到高浓度, 观察到的原生动物种类数分别为 93、85、33、21 种; 其中, 植鞭毛虫依次为 22、19、11、2 种, 动鞭毛虫分别为 21、18、10、11 种, 肉足虫顺次为 19、15、6、4 种, 纤毛虫为 31、33、6、4 种。除原生动物外, 群集到 PFU 上的尚有细菌、真菌、枝角类、轮虫及线虫等, 它们共同组成一个微型生物群落。

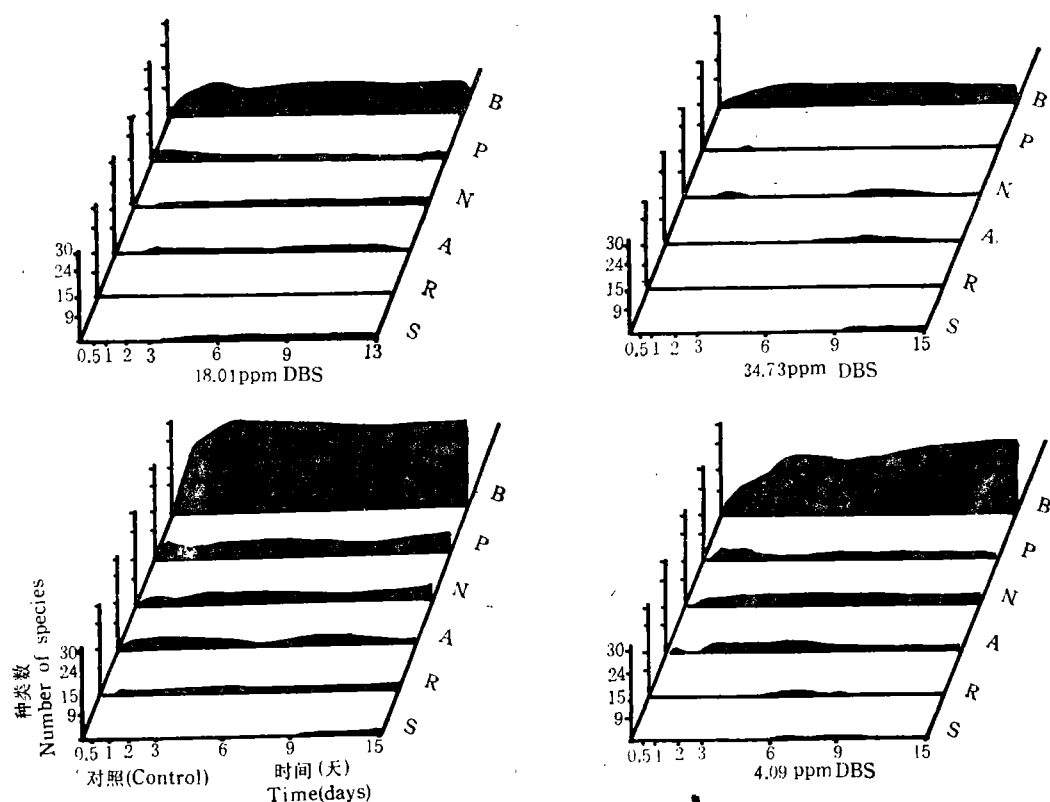


图 6 流水、稀释型微生态系毒性试验(I)中原生动物组成的功能类群的变化

Fig. 6 Changes in the protozoan functional groups in the flow-through, diluted microcosm for toxicity test (I)

B——菌、屑食者(Bactivores-detritivores), P——光合自养者(Photosynthetic autotrophs), N——非选择杂食者(Nonselective omnivores), A——食藻者(Algivores), R——捕食者(Predators or Raptors), S——腐生者(Saprotrophs)

在试验 I, 我们也对原生动物群落中功能类群的变化进行了分析(图 6)。根据 Pratt

和 Cairns (1985)^[16] 的观点,把原生动物分为 6 个功能类群: 食菌和碎屑者 (Bacti-vores-detrivores, B)、光合自养者 (Photosynthetic autotrophs, P)、无选择性杂食者 (Non-selective omnivores, N)、食藻者 (Algivores, A)、捕食者 (Predators Raptors, R)、腐生者 (Saprotrophs, S)。从图 6 可看出: ①所有功能类群, 其数值均随 DBS 浓度增大而减小, 有的最终在群落中消失。如 R 类群, 在 18.01、34.73ppm DBS 中全部消失; ②每一群落, 占据优势的为 B 类群, 但随着 DBS 浓度升高, 其绝对值逐渐下降。与对照的 B 类群 (28.5 种) 相比, 4.09 ppm 的 (20.75 种) 减少 27.19%; 18.01ppm 的 (8.5 种) 减少 70.18%; 34.73 的 (6.75 种) 减少 76.32%。③第 2 优势功能类群在不同浓度、时间下各不相同。对照组为 P 类群; 4.09ppm 浓度组, 开始的 2 天为 P 类群, 此后为 N 类群所取代; 18.01ppm 组, 开始 2 天也是 P 类群, 其后为 P、N 两类群共享; 34.73ppm 浓度组, 因群落

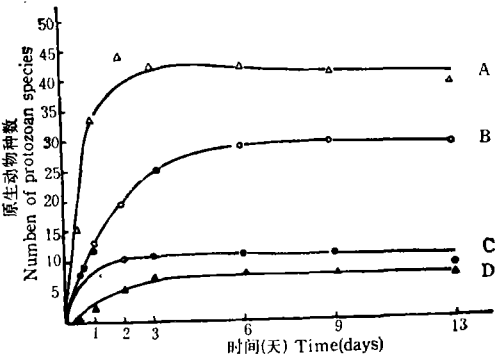


图 7 流水、稀释型微生态系毒性试验(I)中原生动物在不同浓度下的群集过程
Fig. 7 Protozoan colonization at different DBS concentrations in flow-through, diluted microcosm for toxicity test (I)
A——对照 (control), B——4.09ppm DBS, C——18.01ppm DBS, D——34.73ppm DBS

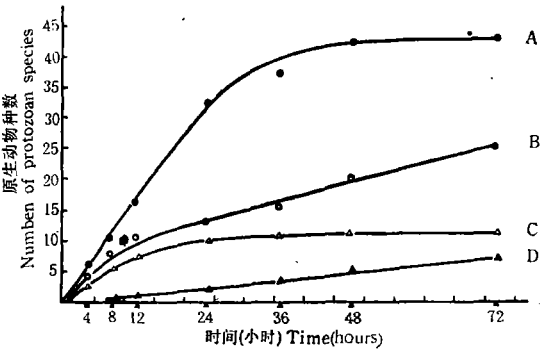


图 8 流水、稀释型微生态系毒性试验(II)中原生动物在不同浓度下的群集过程
Fig. 8 Protozoan colonization at different DBS concentrations in flow-through, diluted microcosm for toxicity test (II)
A——对照 (control), B——4.42ppm DBS, C——17.34ppm DBS, D——37.94ppm DBS

结构破坏严重,无法比较。

3. DBS 对原生动物种类群集过程的影响 从图 7 可知,对照、4.09ppm 和 34.73 ppm 浓度组,其种类群集在 3 天左右达到平衡,18.01ppm 浓度组则在 1 天内达到平衡。平衡后的种类数目,随 DBS 浓度升高而减少:对照组最大,34.73ppm 浓度组最小。这点可由原生动物群集曲线随 DBS 升高而降低来阐明。图 8 是试验 II 的原生动物群集曲线,为试验 I 原生动物在前 3 天的群集过程的补充。可以看到:除 17.34ppm 浓度组,其原生动物群集在 24—36 小时内,对照组在 48 小时左右达到种类平衡外,其余二个浓度组(4.42, 37.94ppm)在 3—6 天达到种类平衡。平衡后的种类数目,也是随着浓度由低到高而逐渐减少。反映在群集曲线上,也是随着 DBS 浓度增大,群集曲线逐渐降低。试验结束时,试验组“种源”的原生动物种类数均低于对照组,且随 DBS 浓度增大而下降(表 4)。

根据 MacArthur-Wilson 模型,对原生动物群集过程进行处理,得到 3 个参数:原生动物平衡种类数 S_{eq} 、群集速率 G 和达到 90% 平衡种类数所需时间 $T_{90\%}$ (表 5)。除 17—18ppm 浓度组原生动物种类群集过程外 ($P < 0.05$),其余均不适合用 MacArthur-Wilson 模型来描述 ($P > 0.05$)。按 DBS 浓度由低到高次序,试验 I、II 的 S_{eq} 分别为 41.94、78.86、10.39、7.61 和 47.32、27.72、11.65、8.65 种,后三个数值均明显低于前者,即所有浓度的 DBS 均降低原生动物平衡种类数。在不同 DBS 浓度下, G 值变化较大。在试验 I、II 中,除了 17—18ppm 浓度组的 G 值大于对照外,其余两个浓度组的 G 值均小于对照(表 5)。此外, $T_{90\%}$ 值与 G 值成反比关系: G 值越大, $T_{90\%}$ 越小,即原生动物达到平衡越快;相反,则原生动物达到平衡越慢。

表 4 流水、稀释型微生态系毒性试验中“种源”内的原生动物种数

Tab. 4 The number of protozoan species in the epicenters of the flow-through, diluted microcosm for toxicity tests

DBS 浓度 DBS concentration* (ppm)	原 生 动 物 种 数 Number of protozoan species	
	开始(0 天) Initial (0 day)	结 束 Final (14 days)
试验 I Test I (14 days)		
control	44	38.5
4.09	—	26.5
18.01	—	8.5
34.73	—	7
试验 II Test II (3 days)		
control	43	42.5
4.42	—	25.5
17.34	—	11.5
37.94	—	7

* 每一浓度均有一重复。

Duplicate samples were taken at each concentration.

对于试验 I 的 S_{eq} 和 PFU 外的 DBS 浓度的自然对数的关系进行直线回归,得到

表 5 流水、稀释型微生态系毒性试验的原生动物群集过程中的参数分析

Tab. 5 Parameter analysis of protozoan colonization in the flow-through, diluted microcosm for toxicity tests

DBS 浓度 DBS concentration (ppm)	S_{eq}	G	$T_{90\%}$	P*
试验 I Test I				
control	41.94	1.35	1.71	>0.05
4.09	28.86	0.63	3.65	>0.05
18.01	10.39	3.58	0.64	<0.05
34.73	7.61	0.56	4.14	>0.05
试验 II Test II				
control	47.32	0.96	2.4	>0.05
4.42	27.72	0.68	3.39	>0.05
17.34	11.65	1.98	1.16	<0.05
37.94	8.65	0.39	5.94	>0.05

* $P>0.05$, 不符合 MacArthur-Wilson 平衡模型
 $P>0.05$ indicates that the situation did not fit the MacArthur-Wilson equilibrium model

回归直线 $Y = 29.7281 - 5.6722X$, $P0.05$ (图 9)。据此, 我们可推算其效应浓度 (Effective Concentration, EC), 即引起一定比例的测定值 (如种类数) 下降的药物浓度。EC₅₀、EC₂₀ 和 EC₅ 分别是减少 50%、20% 和 5% 种类数的药物浓度。在本试验, 因对照组 S_{eq} 为 41.94 种, 故 DBS 对原生动物集群的 S_{eq} 作用的 EC₅₀、EC₂₀ 和 EC₅ 分别为 4.684、0.51 和 0.1681ppm。

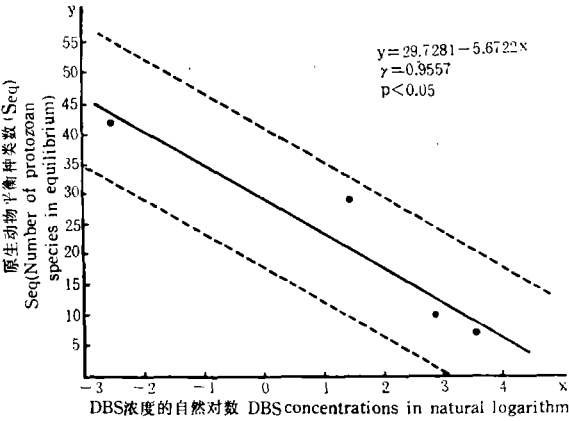


图 9 流水、稀释型微生态系毒性试验(I)的 S_{eq} 与 DBS 浓度自然对数的线性关系

Fig. 9 Relationship between the logarithm of DBS concentration and S_{eq} in the flow-through, diluted microcosm for toxicity test (I)

图中虚线表示 95% 的置信区间

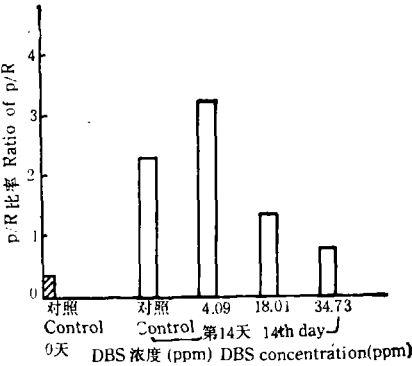


图 10 流水、稀释型微生态系毒性试验(I)第 0 天和第 14 天的 P/R 比率与 DBS 浓度关系

Fig. 10 Relationship between DBS concentration and the P/R ratio on 0 day and day 14 in the flow-through, diluted microcosm for toxicity test (I)

4. DBS 对微型生物群落 P、R 的影响 在试验 I, 14 天后微型生物群落的 P、R 值及 P/R 比在试验组与对照组有较大的差异(图 10)。对照组, P、R 及 P/R 比为 30.38、13.39 $\mu\text{lO}_2/2.5\text{h}$ 和 2.27; DBS 浓度为 4.09 ppm 的则为 82.0、25.68 $\mu\text{lO}_2/2.5\text{h}$ 和 3.20;

其余两浓度组 (18.01, 34.73ppm) 分别为 23.65、17.63 $\mu\text{lO}_2/2.5\text{h}$ 和 1.34, 15.21、19.93 $\mu\text{lO}_2/2.5\text{h}$ 和 0.76。由此可见, 除了 4.09ppm 浓度组外, 其余两浓度组的 P、R 及 P/R 比均小于对照组, 表明 P、R 均受到 DBS 影响。

试验 III 的 P/R 比见图 11。二组平行样, 因试验时间错开一天, 故所得结果不尽相同, 但总的趋势一致, 且与试验 I 的结果吻合: 低浓度 (3.5—4ppm) DBS 引起 P、R 增值, P/R 比增大; 而更高浓度 (17—18, 34—39ppm) 的 DBS 则抑了 P、R 作用, 特别是 P 更为敏感, 从而降低了 P/R 比。此外, 随着时间的推移, 对照的 P/R 比逐渐向数值“1”的方向变化, 即自 2.77—1.54 或 0.95 的方向发展。对于试验组来说, P/R 比随时间而变化, 同样也是演替的表现, 只不过是在压迫状态下的演替而已; 另一方面, 也可能是毒物压迫随时间而递增的效应。

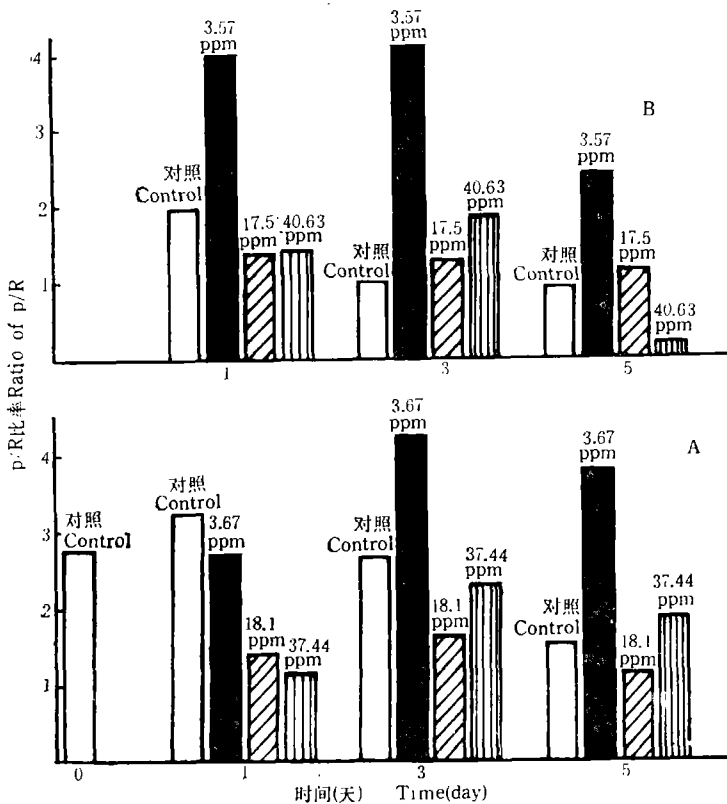


图 11 流水、稀释型微生态系毒性试验 (III) 中 P/R 比率在不同 DBS 浓度下随时间的变化

Fig. 11 Changes in the P/R ratio with time at different DBS concentrations in the flow-through, diluted microcosm for toxicity test (III)

A——A 组(试验槽号: 1,3,5,7); A group (test chamber No: 1,3,5,7)

B——B 组(试验槽号: 2,4,6,8); B group (test chamber No: 2,4,6,8)

讨 论

(一) 种和种群水平的毒性

1. 急性毒性 DBS 对原生动物种水平作用的急性毒性强度,与重金属如 Hg、Cd 等相比,要小些。如 Carter (1973)^[7] 实验表明:氯化汞、硫酸镉、硫酸钴对梨形四膜虫 (*Tetrahymena pyriformis*) 急性毒性的 96h-TLM 分别为 3.12, 0.84 和 4.08ppm, 比 DBS 的 12h-LC₅₀ (7.0—10.47ppm) 小。

对于美洲四膜虫的种和种群水平的急性毒性, 12h-LC₅₀ 分别为 7.67 和 17.21ppm; 两者相比, 种群水平的 LC₅₀ 约提高了 111%。这一比较说明, 生物种类以种群形式出现, 可增强对外界不利条件的抵抗能力, 这是符合 Allee 氏规律的^[3]。

2. 慢性毒性 从图 5 可知, 美洲四膜虫呼吸率虽一开始就受到 DBS 的抑制, 但它很快就适应, 出现恢复现象。这种情形在 Hall (1941) 所作的氰化物对弯豆形虫 (*Colpidium campylum*) 的呼吸作用的效应研究中也可见^[8]。其机理有待进一步研究。

(二) 群落水平的毒性

1. DBS 对微型生物群落结构的影响 从表 4 可以看出: 所有浓度的 DBS 对原生动物种类数和种类组成均有影响。随着 DBS 浓度增大, 对群落影响越明显, 种类减少越多, 群落结构也变得越简单。这也就证明了 Odum (1981) 的假设^[45]: 与不受压迫群落的演替结果相比, 受到压迫的群落演替, 其结果是减小群落的复杂性。在种类组成上, 虽然植鞭毛虫、动鞭毛虫、肉足虫和纤毛虫的种类数均随 DBS 浓度增大而下降, 但其减少程度各不相同(表 6)。由表可见, 纤毛虫种数在 18.01、34.73ppm 浓度组的减少尤为明显, 即不适合于在此浓度下生存; 其次是肉足虫, 对 18.01、34.73ppm 的 DBS 较敏感; 植鞭毛虫特别不适应在 34.73ppm 下生存; 相比之下, 较能适应的是动鞭毛虫, 即使在 34.73ppm 浓度下, 种类数也仅降低一半左右。能在此条件下生存的种类有: 梨波豆虫 (*Bodo edax*)、球波豆虫 (*B. globosa*)、小波豆虫 (*B. minima*)、群领鞭虫 (*Claudia parva*)、斜沟鞭虫 (*Colponema loxodes*)、球滴虫 (*Monas qultuta*)、群集滴虫 (*M. socialis*)、微小滴虫 (*M. minima*)、聚屋滴虫 (*Oikomonas socialis*)、跳侧滴虫 (*Pleurocomonas jaculans*)、活泼锥滴虫 (*Trepomonas aqilis*), 除活泼锥滴虫属于 S 类群外, 其余均属 B 类群。由此说明不同分类和/或功能类群的原生动物, 对 DBS 毒性的敏感程度也不同。

2. DBS 对微型生物群落功能的影响 Maki 等 (1976)^[44]、Rodgers 等 (1979)^[47] 认为: P/R 比是较为理想且重要的功能系数。它反映了群落中生产者、消费者和分解者的功能及组成状况, 是群落中能量流的指标^[46]。

和试验 I 的一样, 试验 III 的低浓度 (3.5—3.67ppm) DBS 引起 P、R 及 P/R 比增值, 高浓度 DBS (17—40ppm) 引起 P、R 及 P/R 比减值。此种低浓度 DBS 引起 P、R 值及 P/R 比大于对照组的原因可能有: ①低浓度 DBS 可刺激藻类生长。由于 DBS 可增加细胞膜的渗透性, 使得环境中的营养元素如磷等更易进入藻类细胞中, 同化为其自身, 因而加速生长繁殖; ②因细菌分解 DBS 产生的无机碳被藻类直接或间接利

表 6 DBS 对原生动物的不同分类类群的影响

Tab. 6 The effects of DBS on different protozoan taxonomic groups

与对照相比,种类减少的 百分数(%) Reduction of species number relative to the control, (%)	DBS 浓度 (ppm) DBS concentration (ppm)			
类群 Taxonomic group		4.09	18.01	34.73
植鞭毛虫 phytoflagellate		13.6	50	90.91
动鞭毛虫 zooflagellate		14.3	52.4	47.3
肉足虫 sarcodina		21.1	68.4	79.
纤毛虫 ciliate		0	80.7	87.1

用,加快其生长;③ DBS 含有大量的 Na^+ , 在低浓度 DBS (4ppm 左右)协同作用下,可刺激藻类生长。正如 1969 年 Provasoli 提出^[6]: 由于 Na^+ 是蓝藻生长必不可少的离子,故增加单价离子如 Na^+ 、 K^+ 的浓度,有利于增大蓝藻的丰度。综上所述,认为 3—4ppm DBS 引起 P、R 及 P/R 比大于对照的最有可能的机理是 DBS 增大藻类细胞膜的渗透性,引起 Na^+ 磷酸盐等营养物质内渗,刺激藻类生长。

参数 P/R 比应用于环境监测尚处于探索阶段,无法对 P/R 比与药物效应浓度间的关系进行定量描述。与此相反,另一功能参数——原生动物群集速率则可进行定量描述(图 9),且可应用由它推出的效应浓度 EC 来预报药物在野外的效应^[19]。

(三) 种、种群和群落三个不同生物学组织水平下的毒物最大允许浓度 MATC 的比较

在此,我们对种和种群水平的毒性试验结果 LC_{50} 进行 MATC 的推导。根据 Mount 等(1967)的公式^[12]: $\text{AF} = \frac{\text{MATC}}{\text{LC}_{50}}$, AF 为应用因子,参照美国国家科学及工程研究院(NAS/NAE) (1973) 的建议^[13]: AF 一般取 0.1—0.0001,考虑到 DBS 毒性不大,故取 AF 为 0.1 和 0.01 进行计算。将其结果和利用微生态系毒性试验(I)的回归直线(图 9)求得的 DBS 的 EC_{20} (0.51ppm)、 EC_5 (0.1681ppm) 进行比较(表 7)。从表中可见,仅在 AF = 0.01 时的种群水平 MATC 与群落水平 EC_5 接近。Shen 等(1986)已证明^[19]: 来自微生态系毒性试验的结果能够准确地预报药物在野外的效应。因此,若应用 AF 而取得的 MATC 作为污水排放标准,则对环境的保护是有一定的危险性的。

当然,由微生态系毒性试验所得的 EC_{20} 、 EC_5 也可与由单种慢性毒性试验的结果推出的安全浓度相比较^[9,14]。但后者毕竟是以单一种类为基础的,以它来保护整个水生生态系的观点是缺乏科学依据的。例如, Yamana 等(1984)实验表明^[22]: $\text{C}_{11,6}\text{LAS}$ 对三种藻类[羊角月芽藻 (*Selenastrum capricornutum*)、铜锈微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*)、泉生菱形藻 (*Nitzschia fonticola*)] 生长抑制作用的 EC_{50} 分别为 50—100、10—20、20—50ppm。而我们实验 I 的 EC_{50} 为 4.684ppm,相比之下,来自微生态系的 EC_{50} 要小得多。由此说明应用单种慢性试验结果来制订的安全浓度,其保护环境的精确度可能

表 7 种、种群水平的 MATC 与群落水平的 EC_{20} , EC_5 的比较Tab. 7 Comparison between EC_{20} and EC_5 at the community level and the MATC at the species and population level.

应用因子 Applying Factor, AF	种 和 种 群 水 平 At species and population level				群 落 水 平 At community level	
	种 水 平 At species level		种 群 水 平 At population level		EC_{20} (ppm)	EC_5 (ppm)
	12h-LC ₅₀ (ppm)	MATC (ppm)	12h-LC ₅₀ (ppm)	MATC (ppm)		
0.1	7.0	0.7	17.21	1.721	0.51	0.1681
0.01	7.0	0.07	17.21	0.1721		

较来自应用微生态系实验结果的差些,而且微生态系实验结果 EC_{50} 、 EC_5 可直接应用到野外生物监测和预报中。我们实验中所得的 DBS 的 EC_{20} 、 EC_5 为 0.51 和 0.1681 ppm, 与世界卫生组织 1971 年颁布的饮用水水质标准 (0.2 或 1ppm)^[21] 及我国饮用水水质标准 (0.3ppm)^[2] 十分接近。因此,我们提出: 武汉东湖中 DBS 最高允许浓度 MATC 应为 0.5ppm, 最好控制在 0.17ppm 以下。

参 考 文 献

- [1] 沈毓芬、龚循矩、顾曼如, 1985。用原生动物群落进行生物监测的研究。水生生物学报: 9(4): 299—308。
- [2] 徐幼云、耿维民、张利伯, 1983。环境卫生工作手册。357。人民卫生出版社。
- [3] 华东师范大学、北京师范大学、复旦大学、中山大学, 1983。动物生态学(上册)。P. 179。高等教育出版社。
- [4] 中国医学科学院卫生研究所, 1972。水质分析法。205—207。人民卫生出版社。
- [5] American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation, 1980. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 15th ed., Washington D. C., pp. 530—532, pp. 641—643.
- [6] Cairns, J. Jr., Lanza, G. R. and Parker, B. C., 1972. Pollution related structural and functional changes in aquatic communities with emphasis on freshwater algae and Protozoa. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*. 124(5): 79—127.
- [7] Carter, J. W., and Cameron, I. L., 1973. Toxicity bioassay of heavy metals in water using *Tetrahymena pyriformis*. *Wat. Res.*, 7: 951—961.
- [8] Hall R. H., 1941. The effect of cyanide on oxygen consumption of *Colpidium campylum*. *Physiol. Zool.*, 14: 193.
- [9] Henebry, M. S. & Cairns, J. Jr., 1980. The effect of source pool maturity on the process of island colonization communities. *Oikos*. 35(1): 107—144.
- [10] Lewis, L. O., 1982. Acute metabolic response of lotic epilithic communities to total residual chlorine. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 28(5): 524—529.
- [11] Maki, A. W. & Johnson, H. E., 1976. Evaluation of a toxicant on the metabolism of model stream communities. *J. Fish. Res. Can.*, 33: 2740—2746.
- [12] Mount, D. I. & Stephan, C. B., 1976. A method for establishing acceptable toxicant limits for fish malathion and the butoxyethanol ester of 2,4-D. *Trans Amer. Fish. Soc.*, 96: 185—193.
- [13] National Academy of Sciences and National Academy of Engineering. 1973. Water Criteria of 1972. U. S. Environmental Protection Agency, Washington D. C., (EPA-R3*73—033).
- [14] Niederlehner, B. R., Pratt, J. R. Buikema, A. L. & Cairns, J. Jr., 1985. Laboratory tests evaluating the effect of cadmium on freshwater protozoan communities. *Environ. Toxicol. Chem.*, 4(2): 155—165.
- [15] Odum, E. P., The effects of stress on the trajectory of ecological succession. in: *Stress Effects on Natural Ecosystems*. ed. Gary W. Barrett & Rutger Rosenberg, 191. John Wiley & Sons, Ltd., pp. 43—47.
- [16] Pratt, J. R., & Cairns, J. Jr., 1985. Functional groups in the protozoa; roles in differing ecosystems. *J. Protozool.*, 32(3): 415—423.

- [17] Rodgers, J. H. Jr., Dickson, K. L. and Cairns, J. Jr., 1979. A review and analysis of some methods used to measure functional aspects of periphyton. in: *Methods and Measurements of Periphyton Communities: A Review*. ASTM STP690, R. L. Weitzel, ed. pp. 142—167.
- [18] Sestak, Z., Catsky, J. and Jarvis, P. G., 1971. *Plant Photosynthetic Production—Manual of Methods*. Published by Dr. W. Junk, M. V., the Hague, Netherlands, pp. 241—244.
- [19] Shen, Y. F., Buikema, A. L., Yongue, W. H., Jr., Pratt, J. R. and Cairns, J. Jr., 1986. Use of Protozoan communities to predict environmental effects of pollutants. *J. Protozool.* 33(2): 146—151.
- [20] Taylor, C. V. & Strickland, A. G. R., 1935. Some factors in the excystment of dried cysts of *Colpoda cucullus*. *Arch. Protistenk.* 86: 182.
- [21] World Health Organization, 1971. *International Standards for drinking water*. 3rd, Ed. Geneva, p. 38.
- [22] Yamana, A. N., Okada, M. and Sudo, R., 1984. The growth inhibition of planktonic algae due to surfactants used in washing agents. *Wat. Res.* 18(9): 1101—1115.

STUDY ON THE TOXIC EFFECTS OF SURFACTANT DBS ON PROTOZOA

Cai Junpeng, Shen Yunfen and Gu Manru

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan)

Abstract

Toxic tests of surfactant DBS (Dodecyl Benzene Sulfonate) were carried out at three biological organization levels: species, population, and community. Results showed that there were no specific differences in the acute toxicity of DBS among five protozoan species: *Paramecium caudatum*, *Tetrahymena americanis*, *T. pigmentosa*, *T. borealis* 3IV WW0, *T. borealis* 3II VM665, and *T. tropicalis* DIV TC 89 ($P > 0.05$). 12h-LC₅₀ was between 7.0 and 19.47 ppm. At the population level of *Tetrahymena americanis*, the 12h-LC₅₀ was 17.21 ppm; the effective concentration of DBS was 12.84 ppm ($P < 0.05$), based on the respiration of *Tetrahymena americanis*, determined by the Gilson Differential Respirometer. From low (3 ppm) to high (40 ppm) concentrations the toxic effects of DBS on the structure and function of the microbial community increased. The structural parameters included the number of protozoan species and their composition. The functional parameters included the colonization process (S_{eq} , G , $T_{90\%}$) and the ratio of photosynthesis to respiration. There was a strong negative correlation between S_{eq} and natural logarithm of DBS concentration; their relationship can be described by the regression equation $S_{eq} = 29.7281 - 5.6722 \ln C$. ($P < 0.05$). The effective concentrations (EC) were calculated from the equation, and the EC₅₀, EC₂₀, EC₅ were 4.684, 0.51, 0.1681 ppm respectively. Based on 12h-LC₅₀ at species and population levels, MATC was 0.70 and 1.721 ppm respectively when AF was 0.1, and 0.07, 0.1721 ppm respectively when AF was 0.01. Comparison between the MATC and the values of EC₂₀ and EC₅ reveals that the results from the microcosms are more scientifically-based and more realistic in the sense of environmental protection. Thus, the MATC in the Donghu Lake should be kept below 0.5 ppm or preferably below 0.17 ppm.

Key words Surfactant DBS, Protozoa, Toxicity tests, The structure and function of microbial community, Colonization rate, MATC