

用水蚤监测水质

罗岳平,邱振华,李建国

(长沙市自来水公司,湖南 长沙 410015)

摘要:介绍了利用水蚤监测水质的优势及常用方法,探讨了水蚤的实验室培养技术,并综述了水蚤对污染物的形态、生殖和行为反应,提出利用水蚤监视污水安全排放和生产用水水质的设想。在分析水蚤毒性试验误差来源的基础上,建议对试验生物材料和测试环境进行限定,最终形成操作性强的标准方法。

关键词:水蚤;水质;生物监测;污染;毒性试验

中图分类号:X835 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-2009(2002)01-0012-05

Monitoring Water Quality Using *Daphnia*

LUO Yue-ping, QIU Zhen-hua, LI Jian-guo

(Changsha Water Supply Corporation, Changsha, Hunan 410015, China)

Abstract: The advantages and general methods of pollution monitoring using *Daphnia* are introduced in this paper. Laboratory culture of *Daphnia* is also discussed. The morphological, reproduction and behavioural response of *Daphnia* to pollutants are reviewed comprehensively. The ideal of monitoring wastewater safe discharge and inflow water quality with *Daphnia* is put forward in the paper. Based on the analysis of sources of errors in *Daphnia* toxic tests, methods that culture healthy test organisms and control environmental factors are suggested. Standard test procedure should be established in the future.

Key words: *Daphnia*; Water quality; Biological monitoring; Pollution; Toxic test

水蚤 (*Daphnia*) 用于生物监测的研究始于 1920 年,并在 20 世纪 40 年代后迅速发展。

水蚤有 20 多种,分布广泛,繁殖能力强,以藻类、细菌、真菌、碎屑物及溶解性有机物为食。水蚤的一个重要行为特征是向光性,即对光刺激的定向反应。Meester^[1] 研究发现,大型蚤的趋光行为是可遗传的特征,并可划分为正趋光、中趋光和负趋光 3 种类型,成年个体趋光行为的品系差别较幼年个体显著。

1 水蚤的污染指示作用

水蚤是较为理想的实验生物,尤其适用于污染物毒性分析。用水蚤来指示污染的优势包括:

- (1) 它们在多种水体中都有分布;
- (2) 在水生食物网中处于关键位置,存在与否及数量多少对水生生态系统结构的影响大;
- (3) 对一系列污染物敏感;
- (4) 适宜条件下以孤雌生殖为主,保证了实验

材料的均一性,也使生物对环境条件的反应具有良好的 consistency;

- (5) 生长和繁殖周期短,可获得足量实验动物;
- (6) 个体小,易培养且成本低;
- (7) 对污染物的反应具有良好的重现性^[2]。

利用水蚤指示污染也存在不确定性,需要重点考虑的因素包括:

- (1) 水蚤对污染物的敏感性受培养时间的影响;
- (2) 如果不补充食物,则实验时间不能超过 48 h;
- (3) 补充食物时,水中污染物被吸附在食物上,因而水蚤体内污染物不完全来自水体直接吸收;
- (4) 营养生长使试验结果变复杂;

收稿日期:2001-05-20;修订日期:2001-12-18

基金项目:国家留学基金管理委员会资助项目(98943003)

作者简介:罗岳平(1971-),男,湖南华容人,工程师,硕士,主要从事淡水污染生态、给水理论与技术研究等方面的工作。

(5) 其他环境因素干扰污染效应的评价。

用于监测化学物质对水蚤影响的方法有多种,最常用的有急性致死试验、慢性中毒试验和生物积累试验方法。

急性致死试验应在一定时间如 24 h 内完成,一般是评估程序的第一步。其操作简单,毒理学意义大,往往成为立法依据。

慢性中毒试验提供有关污染物对水蚤存活、生长和繁殖影响的信息,最终确定“不产生可见影响的浓度”或“最高允许毒性浓度”,并将其类推到自然种群。

生物积累试验是以水蚤通过直接从水中或从食物中摄入等途径在体内积累的污染物,根据有毒化学物质在动物组织内积累的水平计算出生物浓缩系数,并以此估计可能造成的环境危害。

2 水蚤的实验室培养

水蚤在自然水和去氯自来水中都能良好生长,但这类水中可能含有不同浓度的污染物,使水蚤产生适应反应而降低其对污染物的敏感性,因此用于生物监测的水蚤最好在人工配制液中生长。目前尚无理想的人工培养基,但有研究表明,水蚤在硬水中生长较好^[3],如按照 ISO(1989)配制的溶液,其组成为:CaCl₂·2H₂O 0.294 g/L;MgSO₄·7H₂O 0.123 g/L;NaHCO₃ 0.065 g/L;KCl 0.06 g/L,pH 值 7.8 ± 0.2。

水蚤的温度适应范围较宽,多数实验室将培养温度控制在 20℃,略高于最佳发育温度。光照周期 12 h(光)◇12 h(暗)或 14 h(光)◇10 h(暗)。

可用烧杯、水簇箱、玻璃缸等容器静态培养水蚤,以广口瓶最佳,水蚤密度保持在 25 个/L ~ 30 个/L。每 24 h 或 48 h 更换培养液,用以复氧和补充食物。

食物丰富度对水蚤生长、繁殖的影响很大。在食物充足的环境中,新生个体小而数量多;如果降低食物水平,则新生个体大但是数量少。由于母体营养水平直接决定新生个体的大小,进而影响其对污染物的反应,因此必须保证食物数量和质量的相对稳定。

细菌和酵母都不能作为培养水蚤的惟一食物^[2]。大量实验室培养表明,单细胞藻类对水蚤的营养价值最高。衣藻(*Chlamydomonadids*)、栅藻(*Scenedesmus*)、纤维藻(*Ankistrodesmus*)、小球藻

(*Chlorella*)等藻类体积小,细胞壁薄,蛋白质、脂肪酸、碳水化合物和各种维生素的含量丰富,常用于水蚤培养。

单种藻常常不足以在较长世代内维持水蚤种群。例如,只喂食小球藻,水蚤种群会在 10 代~30 代后衰退,这可能与缺乏微量元素硒、锌和维生素 B₁₂有关^[4],可在培养液中补充。

生长着胶鞘的藻、丝藻及长度超过 50 μm 的藻都难以被水蚤消化,因而要防止这些藻的污染。

为保证实验材料的均一性,建议统一藻种和培养基。国外大多采用栅藻和 EPA 使用的配方介质^[5]。在培养出现问题时,可临时投加次优替代食物,如新鲜酵母饼、纤毛虫等。

水蚤培养基中藻细胞的浓度要保持相对稳定。营养不足的水蚤颜色苍白,体内脂肪积累少,定期补充藻细胞可保证食物的供给。

新生水蚤个体的氧消耗水平较高。测量发现,25 个带卵成年个体的氧日消耗量为 850 μg,若其在 24 h 内产生出新生个体 150 个,那么氧日消耗量会增加 600 μg。母体与新生个体混合培养可能会造成培养基贫氧的严重后果,而且成熟个体短期内会产出大量新生个体,它们的摄食将快速降低培养基中食物的密度,使母体处于饥饿状态。因此,必须经常检查水蚤培养基,及时将新生个体与母体分离。

在适宜的培养条件下,水蚤种群可保持稳定生长,但是,细菌、真菌和其他寄生物都有感染能力。例如,*Theohania* 会降低水蚤的产仔率,丝囊霉真菌(*Aphanomyces daphniae*)能感染在高温(25℃~28℃)、低氧(4 mg/L)、人工合成食物环境中生长的水蚤。对受到病菌感染的水蚤要进行适当的废弃处理。

在获得蚤类种源后,要求至少驯化 2 代,以消除母系影响,并使繁殖进入稳定状态。

由于第一胎个体通常较小,因而弃之不用,可選用第 2 胎以后的幼蚤供试验用。

精心的培养可获得足量供测试用的健康个体,然而,由于培养方法和食物类型等因素的差异,实际试验材料的状况往往明显不同,从而导致测试结果的不一致。因此,必须严格规范水蚤的培养技术,消除材料差异带来的误差。

3 水蚤对水体污染物的反应

水蚤对多种污染物敏感,其对污染物的反应受污染物类型、环境条件等因素的影响。

3.1 影响水蚤对污染物敏感的生物和环境因素

自然胁迫,如低溶解氧、食物缺乏、捕食者分泌的体外化学物质等会降低水蚤的生长速率,其中一些因素与污染物协同作用,会进一步降低水蚤对污染物的耐受能力。

3.1.1 物种和基因型

不同种水蚤对污染物的敏感性不同,即使属于同一物种,基因型不同,所获得的半致死浓度也相差很大^[6]。

3.1.2 适应反应

水蚤对污染物的适应反应取决于预暴露条件。将大型蚤预暴露于亚致死浓度的 Cd 溶液和 Zn 溶液中,其对这 2 种金属的耐受能力显著提高。此外,预暴露于 Zn 溶液中,大型蚤对 Cd 的耐受能力增强,但是预暴露于 Cd 溶液不会提高大型蚤对 Zn 的耐受能力,这可能与 Zn 同蛋白质的亲和力低,不能将 Cd 置换出来有关^[7]。

3.1.3 渗透压和离子平衡

水蚤是典型的淡水生物类群,调节内渗透压的能力差,对离子浓度偏离平衡态敏感。环境中某些阳离子浓度的变化会干扰水蚤对污染物的反应。

3.1.4 捕食者分泌的体外化学物质与污染物的联合作用

水蚤对捕食者分泌的体外化学物质敏感。目前尚不清楚这些化学物质的基本性质,只了解其具有水溶性、至少有 2 种以上的活性形式、中等极性、热稳定、是一种代谢物等特点^[8]。在有捕食者体外化学物质存在的情况下,水蚤的成熟提前,体长缩短,脂肪贮存减少,同时产仔量增加,在整体上提高了种群的繁殖能力^[9]。

不同种水蚤对捕食者体外化学物质的反应有差异,不迁移物种的反应更敏感。而捕食者体外化学物质的反应诱导作用则没有种类差异,不同种类分泌的体外化学物质的作用类似^[10]。捕食者体外化学物质消失速度快,可能是细菌降解的结果。水蚤感知捕食者体外化学物质的时间也短,而且可能具有记忆能力,使反应维持 5 d ~ 6 d。幼年水蚤对捕食者体外化学物质更敏感。

受测试液中含有捕食者体外化学物质时,水蚤对不利环境条件的抵抗会发生改变。一方面,产生

反应的动物数量增加;另一方面,反应强度提高。例如,在食物缺乏的环境中,受捕食者体外化学物质影响的个体死亡率更高,形成休眠卵,长出盔状物等附属结构。在有捕食者体外化学物质存在的情况下,蚤状蚤对亚致死浓度的甲氨甲酸萘酯的敏感性提高而耐高温能力下降。

捕食者体外化学物质对某些品系大型蚤趋光行为的影响非常明显。在有鱼类体外化学物质存在的情况下,大型蚤 P_{132,85} 品系的趋光性可由 +0.65 左右下降至 -0.75。

污染物会降低水蚤对生物和非生物环境的适应能力。存活和/或繁殖反应可能低估污染的毒性,而行为改变直观、快速,可作为灵敏指标广泛研究、应用。

影响水蚤对污染物敏感性的环境因素往往共存,联合作用方式非常复杂。试验研究时应周密考虑,将环境因素的相互影响控制在可接受的水平。

3.2 水蚤对污染物的生物反应

直接致死是利用水蚤调查污染物毒性的最设定终点,亚致死指标,例如形态变化、生长、繁殖、行为甚至种群增长速率也提供评价污染物毒性的信息。

3.2.1 水蚤对污染物影响的形态学响应

Hanatao 等^[11]研究发现,甲氨甲酸萘酯会诱导蚤状蚤等水蚤形成高盔物和颈齿。Dodson^[12]也指出,受污染物胁迫,水蚤可能出现长尾刺、长头、脂肪贮存下降等形态变化。镍可使大型蚤的平均体长在数个世代后显著变短。

甲氨甲酸萘酯诱导的形态变化与作用方式有关。只有在浓度足够高且接触时间短的情况下,形态变化才显著。但如果测试液中存在捕食者分泌的体外化学物质,与其协同作用,则低浓度的甲氨甲酸萘酯也会诱导形态变化。

有些水蚤的甲壳内会出现重金属沉积,这可能是一种代谢排毒方式,并因此使外骨骼变得粗糙,提供藻类等微生物附生的环境^[13]。

3.2.2 污染物对水蚤生殖活动的影响

一般认为,水蚤可通过调节能量来抵抗外界胁迫。污染物的存在通常使水蚤转向早产,发育时间缩短,导致子代成年后个体小,甚至不能发育成熟。

镍和铜都会使新生个体体长缩短。即使短期暴露于相对低浓度的铬,也会使水蚤的首次生殖时间延长和产仔数量下降^[14]。成年个体平均存活期

及繁殖期缩短也间接影响繁殖能力。

内禀增长率是一个综合指标,对污染物的指示作用优于个体指标。甲萘甲酸萘酯的作用会导致水蚤的内禀增长率下降^[15]。

3.2.3 水蚤对污染物的行为反应

水蚤通过多种行为方式提高对环境的适应能力。对水蚤滤食、游泳、趋光行为的研究尤为充分。这些行为易定量分析,而且测量快捷,可成为评价污染物环境危害的灵敏指标。

3.2.3.1 污染物对水蚤滤食行为的影响

大型蚤能有效滤食细小颗粒物。受铜胁迫时,滤食速率明显下降。可根据滤食速率的变化判断水蚤受毒害程度。

3.2.3.2 污染物对水蚤游泳行为的影响

不同种、品系的水蚤运动能力相差很大。大型蚤的运动速率可达 15 mm/s ~ 20 mm/s,大多数水蚤的运动速率维持在 6 mm/s ~ 8 mm/s^[16]。如果接触高剂量的甲萘甲酸萘酯,那么水蚤的运动速率会加快,而且旋转角度加大^[12]。林丹会使水蚤的随机运动增加^[17]。

3.2.3.3 污染物对水蚤趋光行为的影响

Michels 等^[18]研究指出,在标准生长条件下,低浓度污染物即可显著改变水蚤对光的反应。例如,受铜、PCP 等污染物作用,大型蚤的正趋光性下降。

4 水蚤在水质监测方面的应用和发展

生物监测在环境保护活动中的作用越来越受重视。为适应立法工作的需要,不仅要加强毒性测试方法的研究,还要尽可能将它们应用于实际,为决策、管理提供准确资料。

4.1 用水蚤评价化学物质的毒性

荷兰、瑞典、英国、美国和日本等国批准用水蚤评价化学物质的毒性。欧盟还通过一项技术导则,规定了新制化学物质投入市场前进行水蚤毒性试验的方法。中国也在制订水蚤试验标准方法^[19]。

4.2 用水蚤监视污水的安全排放

建造在线生物预警监测器,在污水超标排放时发出警报信息,工作人员据此采取紧急处置措施,减少污染物排放量,并控制已进入受纳水体的污染物的危害。

4.3 用水蚤监测生产用水水质

地表水水质经常发生变化,以地表水为水源的饮用水处理厂可能面临源水被污染的情况。如果

用水蚤监测进水水质,则水厂有充裕的时间察觉污染事件,并可通过强化处理技术,如投加粉末活性炭、加大混凝剂投加量等降低生产出水的污染物含量。

4.4 水蚤监测技术的发展

尽管将水蚤用于水质监测的历史较长,但不同实验室的研究结果往往相差很大。提高试验方法的重现性是促进水蚤监测技术发展的关键。

4.4.1 水蚤毒性试验的质量控制

对试验手段的比较分析表明,水蚤基因型、食物和培养介质等是水蚤毒性试验误差的主要来源。现行测试标准没有或较少对这些因素进行限定,导致实际操作有别,进而使试验结果差异很大。

(1) 不同基因型水蚤的生理代谢水平有差别,因而使用不同水蚤获得的 EC_{50} 值差别较大。建议采用“标准基因型”,保证试验结果的可比性。

(2) 规范水蚤培养技术,包括采用相同的培养介质、食物、光照强度和周期、种群密度、水温等,使各实验室使用的动物个体具有良好的均一性。避免使用土壤浸出物等物质,防止将未知污染物引入培养介质中。

(3) 控制试验用蚤的年龄。幼龄蚤对污染敏感,且能减轻培养负担,在试验中应优先选用。

(4) 统一试验前的预适应条件。对慢性中毒试验,介质更换和食物投加等操作也应标准化。

(5) 确定试验终止参数。例如,将“死亡”定义为停止活动、心脏停止跳动或第二对触角停止运动等,统一执行。

(6) 进行可靠的参考毒物试验,并检验试验采用污染物的浓度。

只有通过标准化工作,才能长期获得健康的试验动物,确定可被各实验室接受的试验方法,提高数据的准确性和可比性。

4.4.2 监测指标的多样化及完善

传统急性致死、生殖、生长等指标对评价化学物质的安全性、污水危害等具有重要意义,尤其是 24 h 或 48 h 急性致死应被作为必测指标。行为的污染指示作用因其特有的优势而受到越来越广泛的关注,一些以水蚤行为改变为基础连续生物监测器正在研制中。

Knie^[20]试图建造利用大型蚤游泳行为评价污染胁迫的监测器。后来发现,趋光行为对污染物的反应更灵敏、稳定,Meester 对将趋光行为用于污染

事件警报的可能性进行了重点探讨,但从运行效果看,行为背景噪声大,尤其在长时间跨度内的行为波动降低了监测器的可靠性,因而仍无法实际应用。

最新发展是将水蚤置于淡水生物监测器(Multispecies Freshwater Biomonitor)内,监测水蚤在光下的运动频率、强度等信号,根据信号增强、减弱或频率漂移判断可能的污染事件。此装置的准确性和灵敏性有待进一步证实。

ATP 反应、心跳速率、食物摄入量等参数都具有用来监测污染危害的价值,但其定量分析技术、结果表达和统计分析等研究手段尚需完善。

4.4.3 微宇宙的建造

目前的水蚤毒性试验都是在人为确定的环境中完成的。尽管这种研究可获得允许实验室间比较的数据,但基本上都只考虑了单因素作用,与真实环境相差甚远,因而所提供的信息对评价污染物进入自然水体后的危害的作用有限。

实验室规模的微宇宙将真实的化学、物理和生物因素考虑在内,能够更有效地将试验结果类推到自然环境中。由此可见,微宇宙代表了较高级的生态结构,但由于建造和维持难度大,目前仅被少数机构所采用。

水蚤个体小,对污染物敏感,适合用于快速检测。应通过进一步研究,形成标准试验程序,在各种毒性测试环境中推广应用。

[参考文献]

- [1] MEESTER DE L. An analysis of the phototactic behaviour of *Daphnia magna* clones and their sexual descendants[J]. Hydrobiologia, 1991, 225: 217 - 227.
- [2] COUTTAU P, BRENDONCK L, LAVENS L, et al. The use of manipulated baker's yeast as an algal substitute for the laboratory culture of *Anostraca*[J]. Hydrobiologia, 1992, 234: 25 - 32.
- [3] LEWIS M A, MAKI A W. Effects of water hardness and diet on productivity of *Daphnia magna* Straus in laboratory culture[J]. Hydrobiologia, 1981, 85: 175 - 179.
- [4] DAVE G, NILSSON E, SUNDGICIST M. Reproduction of *Daphnia magna* (clone5) (Cladocera) in three media with three diets[J]. Crustaceana, 1991, 61: 294 - 300.
- [5] COWGILL U M, EMMEL H W, HOPKINS D L, et al. The influence of water on reproduction success and chemical composition of laboratory reared populations of *Daphnia magna*[J]. Wat Res, 1986, 20: 317 - 323.
- [6] BAIRD D, BARKER I, BRADLEY M, et al. A comparative study of genotype sensitivity to acute toxic stress using clones of *Daphnia magna* Straus[J]. Ecotoxicol Environ Safety, 1991, 21: 257 - 265.
- [7] ATTAR E N, MAY E J. Acute toxicity of cadmium, zinc and cadmium-zinc mixtures to *Daphnia magna*[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 1982, 11: 291 - 296.
- [8] PAREJ KO K, DODSON S L. Progress towards characterisation of a predator/prey kairomone: *Daphnia pulex* and *Chaoborus americanus*[J]. Hydrobiologia, 1990, 198: 51 - 59.
- [9] DODSON S I, HAVEL J E. Indirect prey effects: Some morphological and life history responses of *Daphnia pulex* exposed to *Notonecta undulata*[J]. Limnol Oceanogr, 1998, 33: 1274 - 1285.
- [10] REEDE T. Life history shifts in response to different levels of fish kairomones in *Daphnia*[J]. J Plankton Res, 1995, 17: 1661 - 1667.
- [11] HANAIZATO T. Pesticides as chemical agents inducing helmet formation in *Daphnia ambigua*[J]. Freshwater Biology, 1991, 26: 419 - 424.
- [12] DODSON S L, HANAIZATO T, GORSKIP R. Behavioral responses of *Daphnia pulex* exposed to carbaryl and *Chaoborus* kairomone[J]. Environ Toxicol Chem, 1994, 14: 43 - 50.
- [13] HALL T M. Free ionic nickel accumulation and localization in the freshwater *Daphnia magna*[J]. Limnol Oceanogr, 1982, 27: 718 - 727.
- [14] CONIGLI L, BAUDO M P. Life-tables of *Daphnia obtusa* (kuze) surviving exposure to toxic concentrations of chromium[J]. Hydrobiologia, 1989, 188/ 189: 407 - 410.
- [15] HANAIZATO T, DODSON S I. Synergistic effects of low oxygen concentration, predator kairomone and a pesticide on the cladoceran *Daphnia pulex*[J]. Limnol Oceanogr, 1995, 40: 700 - 709.
- [16] DODSON S I, RAMCHARAN C W. Size-specific swimming behaviour of *Daphnia pulex*[J]. J Plankton Res, 1991, 13: 1365 - 1379.
- [17] GOODRICH M S, LECH J J. A behavioral screening assay for *Daphnia magna*: A method to assess the effects of xenobiotics on spacial orientation[J]. Environ Toxicol Chem, 1990, 9: 21 - 30.
- [18] MICHELS E M, TEYNEN M, COUSYS C, et al. Phototactic of *Daphnia* as a tool in the continuous monitoring of water quality: Experiments with a positively phototactic *Daphnia magna* clone[J]. Wat Res, 1999, 33: 401 - 408.
- [19] 王德铭. 水生生物监测手册[M]. 南京: 东南大学出版社, 1993.
- [20] KNIE J. Der Dynamischen Daphnientest-ein Automatischer Biomonitor zur Überwachung von Gewässern[J]. Wasser und Boden, 1978, 12: 310 - 312.

本栏目责任编辑 聂明浩 姚朝英