

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20141128001

刘建梅,王蕾,刘济宁,等.微宇宙技术和物种敏感度分布曲线法评估铜离子生态危害比对研究[J].生态毒理学报,2015,10(4):34-46

Liu J M, Wang L, Liu J N, et al. A microcosm study compared to the species sensitivity distribution approach: A case study with the copper ion [J].

Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(4): 34-46 (in Chinese)

微宇宙技术和物种敏感度分布曲线法评估铜离子生态危害比对研究

刘建梅^{1,2}, 王蕾², 刘济宁², 石利利^{2, #}, 陈英文^{1, *}, 沈树宝¹

1. 南京工业大学生物与制药工程学院, 南京 210009

2. 环境保护部南京环境科学研究所, 南京 210042

收稿日期: 2014-11-28 录用日期: 2015-03-16

摘要: 为对比微宇宙方法和物种敏感度分布曲线法在铜离子生态危害评估中的差异, 构建了包括浮游藻类、轮虫和大型溞的微宇宙系统, 持续监测了铜离子浓度、物种丰度和系统理化性质的变化, 推导出铜离子对微宇宙系统的63 d无显著效应浓度(63 d-NOEC); 同时, 将铜离子对鱼类、甲壳类、昆虫类、藻类及软体动物等对铜离子的长期毒性数据通过物种敏感度分布曲线法进行拟合, 推导出对生态系统中95%物种无显著危害的作用浓度(HC₅)。测试结果表明, 大型溞种群在铜离子110.80 μg·L⁻¹作用下暂时消失, 导致了系统中轮虫和藻类数量的增长, 试验后期铜离子浓度降低, 大型溞种群呈现恢复的趋势; 在212.06及420.26 μg·L⁻¹铜离子作用下, 藻类和轮虫的存活受到严重抑制, 在试验后期也没有恢复。与物种敏感度分布曲线法推导得出的HC₅值相比, 通过微宇宙系统得出的NOEC值较高, 这可能是微宇宙系统中铜离子生物可利用性在各相介质间的差异及种间反馈调节造成的。

关键词: 铜离子; 微宇宙; 物种敏感度分布曲线; 生态危害

文章编号: 1673-5897(2015)4-034-13 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

A Microcosm Study Compared to the Species Sensitivity Distribution Approach: A Case Study with the Copper Ion

Liu Jianmei^{1,2}, Wang Lei², Liu Jining², Shi Lili^{2, #}, Chen Yingwen^{1, *}, Shen Shubao¹

1. College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing 210009, China

2. Nanjing Institute of Environmental Sciences, MEP, Nanjing 210042, China

Received 28 November 2014 **accepted** 16 March 2015

Abstract: To compare the differences between microcosm study and species sensitivity distribution approach in ecological hazard assessment of copper ion, a microcosm system contained planktonic algae, rotifers and daphnia was built and the dynamics of copper ion concentration, species abundances and physicochemical properties of the system were monitored for 63 d. And on this basis the 63 d-NOEC (no observed effect concentration) of copper ion for

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)(No. 2013AA06A308); PBT/PvB分类技术体系及智能筛选平台开发(科研院所技术开发研究专项)

作者简介: 刘建梅(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向为生态毒理测试, E-mail: liulaoda08@163.com;

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: ywchen@njtech.edu.cn

共同通讯作者(Co-corresponding author), E-mail: sll@nies.org

the microcosm system was calculated. In the meantime, species sensitivity distribution curves were constructed with chronic toxicity data for fish, crustacean, insects, algae and mollusk, which gave a no obvious hazard concentration for 95% species in the ecosystem (HC_5). According to test results, *Daphnia magna* had disappeared for a short time at $110.80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ treatment, which led to the increase of rotifers and algae abundances. However, in the later period of the test the recovery of *Daphnia magna* was observed at $110.80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ treatment due to the decrease of the measured copper ion concentration. While for 212.06 and $420.26 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ treatments, the survival of rotifers and algae were strongly inhibited and no recovery had been observed till the end of test. Compared to HC_5 value calculated by the species sensitivity distribution approach, the 63 d-NOEC derived from microcosm study was much higher than HC_5 . Possible causes might be the different bio-availability of copper ion in different phases of medium and the interspecies feedback included in the microcosm.

Keywords: copper ion; microcosm; species sensitivity distribution; ecological hazard

生态危害评估、暴露评估和风险表征是化学品生态风险评估的一般步骤。其中,生态危害评估是定性和(或)定量评估生物体、系统或(亚)种群暴露于化学物质中的潜在危害性,是化学品生态风险评估的首要任务^[1]。传统的生态危害评估是基于化学品对某一种或几种敏感生物进行单一物种的毒性测试数据,运用评估因子法(assessment factor, AF)、物种敏感度分布曲线法(species sensitivity distribution, SSD)^[2-3]等外推方法来计算外源污染物的预测无效应浓度(predicted no effect concentration, PNEC)^[4]。然而随着生态毒理学的发展,20世纪70年代的毒理学家认识到基于单一物种毒性数据的危害评估不能较好地反映真实生态系统的种内、种间关系和反馈机制,其评估结果和实际效果可能存在较大偏差^[5]。由此生态学领域的“微宇宙”技术被引入到生态危害评估中,即利用人工构建的生态系统开展测试进而评估化学品的环境归趋和生物危害^[6-7]。经过几十年的发展,国外在利用水生微宇宙进行风险评价方面积累了丰富的经验,美国化学品安全与污染防治办公室(OCSPP)^[8]、美国试验与材料协会(ASTM)^[9]、经合组织(OECD)^[10]均已出台相关导则指导并规范水生微宇宙测试。此外,荷兰瓦格宁根大学环境风险评估研究所 Sinderhoeve 研究中心自20世纪80年代即开展了一系列微宇宙和中宇宙的构建及农药毒性暴露规律的研究,发展了一套较为系统的测试方法^[11],并据此建立了关于水生微宇宙测试的GLP实验室。目前国外的水生微宇宙研究已经涉及农药、抗生素、工业化学品、重金属等多类化学物质以及混合物、实际污染源。而我国由于化学品环境管理起步较晚,目前的危害评估仍限于单一物种的毒性评估,水生微宇宙在化学

品生态危害评估中的应用很少,现有的、为数不多的研究所构建的水生微宇宙系统生物效应、功能效应测试终点缺少系统、深入分析,测试结果不能全面反映化学品暴露作用引起的系统结构和功能的变化^[12-16]。

随着工业化的发展,以铜离子为代表的重金属通过采矿、污水灌溉与排放等方式进入水环境,通过直接致毒和食物链浓缩积累的方式危害水生态安全^[17]。同时,由于铜离子对藻类及水生动物的生存均产生不同程度的胁迫,国外相关研究普遍以其作为水生微宇宙测试的阳性对照物^[18]。为了评估铜离子对水生生态系统的危害、提供微宇宙试验有效性验证数据,本文在构建标准化微宇宙的基础上测定了其在铜离子长期暴露下物种丰度和理化指标的动态变化,从系统结构和功能两方面综合评估铜离子的生态危害;同时与基于单一物种毒性数据的物种敏感度分布曲线法得到的危害评估结果对比,探讨微宇宙技术和物种敏感度分布曲线法在生态危害评估中的差异,旨在为化学品生态危害方法的选择提供借鉴。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 试验仪器和试剂

电感耦合等离子体质谱 ICP-MS(Thermal Scientific Xseries, 美国),多功能水质参数测定仪(HQ40d, 美国哈希公司),振荡培养箱(INNOVA 43R, NBS公司),显微镜(DM2500, 德国 Leica),分光光度计(DR2800, 美国哈希公司),照度计(ZDS-10, 上海嘉定学联仪表厂),离心机(2-16PK, Sigma公司),真空泵(AP-01P, 天津奥特赛恩斯仪器公司),超净工作台(SW-OJ-1FD, 苏州安泰空气技术公司),高压蒸汽灭菌锅(MLS-3750, 日本三洋公司),超声清洗器(南京以马内利仪器设备公司),温湿度

计(SQ6HM10, 武汉中西仪器公司)。

配制 Taub 培养基^[7]和鲁哥氏液。五水硫酸铜(分析纯, 成都科龙化工试剂厂), 超纯水(电阻率 = 18.2 M Ω . cm), 丙酮(分析纯, 南京化学试剂有限公司)。

1.2 供试生物

小球藻(*Chlorella vulgaris*)、羊角月牙藻(*Sele-nastrum capricornutum*)、四尾栅藻(*Scendesmus quadricauda*)和斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)均购自武汉水生所淡水藻种库, 采用 T82MV 培养基培养, 培养温度为(21~24) °C (± 2 °C), 照度为 3 000 lux ($\pm 15\%$), 振荡培养箱振荡速度为 100 (± 10) 次 \cdot min⁻¹, 每周转接 1 次。

试验所用大型溞(*Daphnia magna*)由本实验室驯养, 驯养条件为(20~21) °C, 自然光照, 采用 Elendt M4 作为驯养和试验介质, 试验开始前 2 周使用 Taub 培养基之 T86MVK 大型溞培养基驯养用于试验。以栅藻(*Scenedesmus subspicatus*)浓缩液喂食, 喂食量(以碳计)为 0.1~0.2 mg \cdot (溞⁻¹ \cdot d⁻¹)。

萼花臂尾轮虫来自南京师范大学, 轮虫培养液采用 US EPA 配方(去离子水配制, 含 NaHCO₃ 96 mg \cdot L⁻¹, CaSO₄ \cdot 2H₂O 60 mg \cdot L⁻¹, MgSO₄ 60 mg \cdot L⁻¹, KCl 4 mg \cdot L⁻¹, pH 7.5 左右)。每天投喂蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)。轮虫的培养条件为: 光照强度约 4 000 lux, 昼长比 L:D = 16 h: 8 h, 温度(25 \pm 1) °C。培养期间, 每天更换 1 次培养液并检查轮虫产卵状况。

1.3 毒性数据收集筛选与物种敏感度排序

用于推导 HC₅ 值的生物毒性数据均来自美国 ECOTOX 毒性数据库^[19]和 OECD eChemPortal—全球化学物质有害信息在线查询通道^[20]。毒理数据的筛选和处理遵循精确性、适当性和可靠性的 3 个原则, 对某测试终点有多个测试数据时, 选择对效应和终点描述最精确和恰当的数据; 当有多个可靠毒理数据可用时, 选用几何平均值, 对于暴露时间不确定的数据均予以剔除。表 1 为搜集的包括铜离子对鱼类、藻类、甲壳类、昆虫类、软体动物等的长期毒性数据。

表 1 推导铜离子 HC₅ 的慢性毒性数据
Table 1 Chronic toxicity data used to extrapolate HC₅ of copper ions

物种名 Species name	生物学分类 Classification	毒性终点 Endpoint	数值/(μ g \cdot L ⁻¹) Value/(μ g \cdot L ⁻¹)
真无须魮 <i>Barbus ticto</i>	脊索动物门, 鲤科 Chordata, cyprinidae	10 d-NOEC	44
翠鳢 <i>Channa punctata</i>	脊索动物门, 鳢科 Chordata, channidae	15 d-NOEC	360
斑点杜父鱼 <i>Cottus bairdi</i>	脊索动物门, 杜父鱼科 Chordata, cottidae	28 d-NOEC	25
鲤鱼 <i>Cyprinus carpio</i>	脊索动物门, 鲤科 Chordata, cyprinidae	35 d-NOEC	55
牙汉鱼 <i>Odontesthes bonariensis</i>	脊索动物门, 拟银汉鱼科 Chordata, atherinopsidae	16 d-NOEC	16.6
湖拟鲤 <i>Rutilus rutilus</i>	脊索动物门, 鲤科 Chordata, cyprinidae	14 d-NOEC	140
金头鲷 <i>Sparus aurata</i>	脊索动物门, 鲷科 Chordata, sparidae	20 d-NOEC	100
斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	脊索动物门, 鲤科 Chordata, cyprinidae	21 d-NOEC	8
斑点叉尾鲷 <i>Ictalurus punctatus</i>	脊索动物门, 北美鲶科 Chordata, ictaluridae	28 d-NOEC	1 500
黑头呆鱼 <i>Pimephales promelas</i>	脊索动物门, 鲤科 Chordata, cyprinidae	30 d-NOEC	11
银大麻哈鱼 <i>Oncorhynchus kisutch</i>	脊索动物门, 鲑科 Chordata, salmonidae	30 d-NOEC	282
虹鳟鱼 <i>Oncorhynchus mykiss</i>	脊索动物门, 鲑科 Chordata, salmonidae	21 d-NOEC	41.1

续表 1

	物种名 Species name	生物学分类 Classification	毒性终点 Endpoint	数值/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) Value/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
甲壳类 Crustacea	棘猛水蚤 <i>Attheyella crassa</i>	节肢动物门 异足猛水蚤科 Arthropoda, canthocamptidae	120 d-NOEC	130
	圆形盘肠溇 <i>Chydorus sphaericus</i>	节肢动物门 盘肠溇科 Arthropoda, chydoriidae	29 d-NOEC	44
	长刺溇 <i>Daphnia longispina</i>	节肢动物门 溇科 Arthropoda, daphniidae	29 d-NOEC	18
	蚤状钩虾 <i>Gammarus pulex</i>	节肢动物门 钩虾科 Arthropoda, gammaridae	35 d-NOEC	10
	沼虾 <i>Macrobrachium dayanum</i>	节肢动物门 长臂虾科 Arthropoda, palaemonidae	20 d-NOEC	105
	模糊网纹蚤 <i>Ceriodaphnia dubia</i>	节肢动物门 溇科 Arthropoda, daphniidae	18 d-NOEC	5
	大型溇 <i>Daphnia magna</i>	节肢动物门 溇科 Arthropoda, daphniidae	21 d-NOEC	10
	蚤状溇 <i>Daphnia pulex</i>	节肢动物门 溇科 Arthropoda, daphniidae	58 d-NOEC	5
	端足虫 <i>Hyaella azteca</i>	节肢动物门 端足科 Arthropoda, dogielinotidae	10 d-NOEC	310
	藻类 Algae	莱茵衣藻 <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	绿藻门 衣藻科 Chlorophyta, chlamydomonadaceae	3 d-NOEC
小球藻 <i>Chlorella vulgaris</i>		绿藻门 小球藻科 Chlorophyta, chlorellaceae	4 d-NOEC	100
羊角月牙藻 <i>Selenastrum capricornutum</i>		绿藻门 小球藻科 Chlorophyta, chlorellaceae	3 d-NOEC	6
组囊藻 <i>Anacystis nidulans</i>		蓝细菌 倒囊藻属 Cyanophyta, anacystis	3 d-NOEC	128
蛋白核小球藻 <i>Chlorella pyrenoidosa</i>		绿藻门 小球藻科 Chlorophyta, chlorellaceae	4 d-NOEC	1 000
小球藻 <i>Chlorella sp.</i>		绿藻门 小球藻科 Chlorophyta, chlorellaceae	4 d-NOEC	4.5
漆草藻 <i>Desmarestia menziesii</i>		裸藻门 酸藻科 Euglenophyta, desmarestiaceae	7 d-NOEC	500
锥囊藻 <i>Dinobryon sp.</i>		金藻门 棕鞭藻科 Chrysophyta, ochromonadaceae	29 d-NOEC	44
杜氏盐藻 <i>Dunaliella tertiolecta</i>		绿藻门 盐藻科 Chlorophyta, dunaliellaceae	3 d-NOEC	8
茧形藻 <i>Entomoneis punctulata</i>		硅藻门 茧形藻科 Bacillariophyta, naviculaceae	3 d-NOEC	0.3
眼虫藻 <i>Euglena gracilis</i>		裸藻门 裸藻科 Euglenophyta, euglenaceae	7 d-NOEC	3 200
墨角藻 <i>Fucus serratus</i>		褐藻门 墨角藻科 Phaeophyta, fucaceae	5 d-NOEC	13.4
鱼鳞藻 <i>Mallomonas sp.</i>		金藻门 鱼鳞藻科 Chrysophyta, mallomonadaceae	29 d-NOEC	11
新月菱形藻 <i>Nitzschia closterium</i>		硅藻门 菱形藻科 Bacillariophyta, nitzschiaceae	3 d-NOEC	4
三角褐指藻 <i>Phaeodactylum tricornutum</i>		硅藻门 褐指藻科 Bacillariophyta, phaeodactylaceae	3 d-NOEC	200
浮球藻 <i>Planktosphaeria sp.</i>		绿藻门 卵囊藻科 Chlorophyta, oocystaceae	29 d-NOEC	11
栅藻 <i>Scenedesmus subspicatus</i>		绿藻门 栅藻科 Chlorophyta, scenedesmaceae	3 d-NOEC	56
扁藻 <i>Tetraselmis sp.</i>		绿藻门 衣藻科 Chlorophyta, chlamydomonadaceae	3 d-NOEC	7
羊角月牙藻 <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>		绿藻门 小球藻科 Chlorophyta, chlorellaceae	3 d-NOEC	14

续表1

	物种名 Species name	生物学分类 Classification	毒性终点 Endpoint	数值/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) Value/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
昆虫 Insect	摇蚊幼虫 <i>Chironomus riparius</i>	节肢动物门 摇蚊科 Arthropoda, chironomidae	8 d-NOEC	2 000
	扇贝 <i>Chlamys asperima</i>	软体动物门 海扇蛤科 Mollusca, pectinidae	2 d-NOEC	2
	黑唇鲍 <i>Haliotis rubra</i>	软体动物门 鲍科 Mollusca, haliotidae	2 d-NOEC	1
	双壳贝 <i>Lamellidens corrianus</i>	软体动物门 齿蛤科 Mollusca, thyasiridae	7 d-NOEC	200
	淡水沟贝 <i>Lampsilis siliquoidea</i>	软体动物门 珍珠贝科 Mollusca, pteriidae	28 d-NOEC	6.6
	椎实螺 <i>Lymnaea peregra</i>	软体动物门 椎实螺科 Mollusca, lymnaeidae	30 d-NOEC	10
	紫贻贝 <i>Mytilus galloprovincialis</i>	软体动物门 贻贝科 Mollusca, mytilidae	9 d-NOEC	40
	翡翠贻贝 <i>Perna viridis</i>	软体动物门 贻贝科 Mollusca, mytilidae	7 d-NOEC	25
软体动物 Mollusc	膀胱螺 <i>Physa fontinalis</i>	软体动物门 膀胱螺科 Mollusca, physidae	30 d-NOEC	10
	海扇贝 <i>Placopecten magellanicus</i>	软体动物门 扇贝属 Mollusca, argopecten	49 d-NOEC	20
	不等壳毛蚶 <i>Scapharca inaequalvis</i>	软体动物门 魁蛤科 Mollusca, arcidae	14 d-NOEC	100
	彩虹贻贝 <i>Villosa iris</i>	软体动物门 贻贝科 Mollusca, mytilidae	10 d-NOEC	100
	蓝贻贝 <i>Mytilus edulis</i>	软体动物门 贻贝科 Mollusca, mytilidae	7 d-NOEC	10
	斑马贻贝 <i>Dreissena polymorpha</i>	软体动物门 贻贝科 Mollusca, mytilidae	63 d-NOEC	10
	牡蛎贻贝 <i>Epioblasma capsaeformis</i>	软体动物门 贻贝科 Mollusca, mytilidae	28 d-NOEC	3.1
	粉色珠贝 <i>Lampsilis abrupta</i>	软体动物门 珍珠贝科 Mollusca, pteriidae	10 d-NOEC	100
	曲领棘缘吸虫 <i>Echinoparyphium recurvatum</i>	软体动物门 棘口科 Mollusca, echinostomatidae	30 d-NOEC	10
	十指臂尾轮虫 <i>Brachionus patulus</i>	轮虫动物门 臂尾轮科 Rotifera, brachionidae	24 d-NOEC	20
	弯豆形虫 <i>Colpidium campylum</i>	原生动物门 田膜科 Protozoa, didiniidae	2 d-NOEC	50
其它 Others	绿水螅 <i>Hydra viridissima</i>	刺胞动物门 水螅科 Cnidaria, hydridae	6 d-NOEC	4
	矩形龟甲轮虫 <i>Keratella quadrata</i>	轮虫动物门 臂尾轮科 Rotifera, brachionidae	29 d-NOEC	33
	盖纤虫 <i>Opercularia</i> sp.	原生动物门 盖虫科 Protozoa, operculariidae	2 d-NOEC	50
	多肢轮虫 <i>Polyarthra</i> sp.	轮虫动物门 多肢轮科 Rotifera, polyarthrae	29 d-NOEC	11
	涡虫 <i>Dugesia dorotocephala</i>	扁形动物门 三角涡虫科 Platyhelminthes, dugesiidae	4 d-NOEC	40
	褐色涡虫 <i>Girardia tigrina</i>	扁形动物门 涡虫科 Platyhelminthes, dugesiidae	4 d-NOEC	400
	多毛环虫 <i>Laonereis acuta</i>	环节动物门 沙蚕科 Annelida, nereidae	14 d-NOEC	62.5

物种敏感度分布曲线法假设不同门类的生物由于生活史、生理构造、行为特征和地理分布等不同而对污染物的毒性效应响应符合一定概率函数^[21]。该法将筛选出的种平均毒性数据由小到大排列并设定相应的序数 R , 根据序数计算出累计概率 $P(P = R/(N + 1))$, N 为种平均毒性数据总数。然后将累计概率 P 和种平均毒性数据对数值拟合出累计概率分布函数, 即物种敏感度分布曲线。其中的拟合模型可选用 Sigmoid, Weibull, Gompertz, Hill 等多种 SigmaPlot 12.0 软件内置的函数, 拟合优度采用决定系数 R^2 和图像综合判别。确定最佳拟合模型后推算出累计概率为 5% 的毒性值, 即保护 95% 以上的物种不受污染物影响的 HC_5 值。

1.4 微宇宙试验方法^[9]

本研究设计的微宇宙包括藻、轮虫、大型溞 3 个营养级生物组分, 三者从低到高形成捕食关系。其中大型溞除捕食轮虫外, 还可直接捕食藻类。

微宇宙的构建和驯化: 准备 30 个 5 L 的烧杯, 每个烧杯中装入 200 g 石英砂、0.5 g 纤维素、0.5 g 几丁质和 3 L T82MV 培养基以构建标准化微宇宙系统。实验室温度维持在 (20 ~ 22) °C, 光照约为 3 000 lux, 光周期为 12 h(明):12 h(暗)。第 0 天接种入 4 种藻类, 使其初始细胞浓度为 10^4 cells·mL⁻¹, 第 4 天加入大型溞 (16 只·微宇宙⁻¹) 和萼花臂尾轮虫 (0.03 只·mL⁻¹)。第 7 天根据溶解氧变化、pH 值、大型溞数量、羊角月牙藻数量以及微宇宙早期占优势藻种等指标剔除差异较大的 6 个微宇宙。

微宇宙危害测试: 在剩余的系统加入受试物, 并随机分配不同处理组的位置。设置 3 个浓度: 500、1 000 和 2 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (以铜离子计), 并设置空白对照组, 每个浓度 6 个平行。试验周期为 63 d, pH、溶解氧浓度 (DO)、叶绿素 a 含量和物种丰度等每周测定 2 次。

溶氧值分别在 3 个时间点测定: 早上光周期开始前 (DO_1)、下午光周期结束前 (DO_2) 以及第 2 天的光周期开始前 (DO_3)。光合作用产氧量 $P = \text{DO}_2 - \text{DO}_1$, 呼吸作用耗氧量 $R = \text{DO}_2 - \text{DO}_3$ 。pH 值在取样测定物种丰度当天的光周期开始前进行测定。

叶绿素 a 和物种丰度在同 1 天取样测定。叶绿素取样和测定方法参考标准 SL88-2012 “水质叶绿素的测定—分光光度法”^[22]。在水体较清澈且大型溞数量较少的情况下可以对大型溞进行肉眼计数, 在数量较多时, 用取样圆筒取一定体积的水样再计

数, 最后进行换算, 单位为个·(100 mL)⁻¹。取 1 ~ 2 mL 搅拌均匀的微宇宙水样并用鲁哥氏液固定, 在倒置显微镜下用 1 mL 的浮游生物计数板对轮虫进行计数 (只·mL⁻¹)。藻类的计数同样将水样用鲁哥氏液固定, 再采用视野计数法用 0.1 mL 的计数板进行计数 (10^4 或 10^3 cells·mL⁻¹)。每周最后 1 次取水样后向每个烧杯中加轮虫培养液 1 滴 (约 0.05 mL), 4 种藻的混合液 (每种藻的接种浓度为 10^4 cells·mL⁻¹) 1 mL 以补充取样的损失, 并加入大型溞使其数量为每烧杯至少 3 只。试验期间不再加入培养基。由于本试验早期固着藻类的采样和镜检结果证实难以获取组间可比的鉴定结果, 所以放弃该指标的显微镜计数, 其数量没有体现在总藻丰度中, 故总藻丰度为小球藻、羊角月牙藻、斜生栅藻和四尾栅藻丰度的总和。但是叶绿素 a 的浓度同时涵盖固着藻类和其他藻类。

本测试以小球藻、四尾栅藻、斜生栅藻、羊角月牙藻、大型溞和轮虫等物种丰度及叶绿素 a 作为微宇宙系统结构变化指标, 以 pH、光合作用产氧量 P 、呼吸作用耗氧量 R 及 P/R 等理化指标作为微宇宙系统功能变化指标。

1.5 数据处理

铜离子加权平均浓度的计算方法参考“化学品测试方法—生物系统效应”大型溞繁殖试验的附录 5^[23]。采用邓恩特检验 (Dunnett's tests, ANOVA, SPSS 17.0) 多元对比分析微宇宙受试组和对照组的差异, 分别确定引起微宇宙系统结构和功能变化的最低显著效应浓度 (LOEC) ($P < 0.05$), 无显著效应浓度 (NOEC) 即小于 LOEC 的前一个设定浓度。每个取样日期最敏感毒性终点的 NOEC 即作为系统水平的 NOEC^[24]。

1.6 化学分析

采用电感耦合等离子体质谱 ICP-MS 测定水体中铜离子的浓度。仪器工作条件为: 功率 1 300 W, 样品气 (Ar) 流量 $1.02 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, 辅助气 (Ar) $0.7 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, 冷却气 (Ar) $14 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, 蠕动泵速 $20 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 1 次读数时间 5 s, 读数次数 3 次, 1 次读数样品量 0.01 mL。

2 结果 (Results)

2.1 微宇宙系统毒性测试结果

2.1.1 铜离子浓度变化

图 1 展示了在为期 63 d 的试验中各受试组水中铜离子的实测浓度。由实测浓度计算得到添加浓

度为 500, 1 000 和 2 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的微宇宙系统中铜离子的加权平均浓度分别为 110.80, 212.06 和 420.26 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。由图中可以看到, 铜离子加入后水中实测浓度快速下降, 到 35 d 时达到相对稳定。水中铜离子浓度的快速下降一方面可能是因为在培养基中的 H^+ 、 OH^- 或 EDTA 与铜离子结合而沉淀, 另一方面可能是因为在水体中藻细胞、生物质及沉积物对铜离子的吸附和富集^[25]。

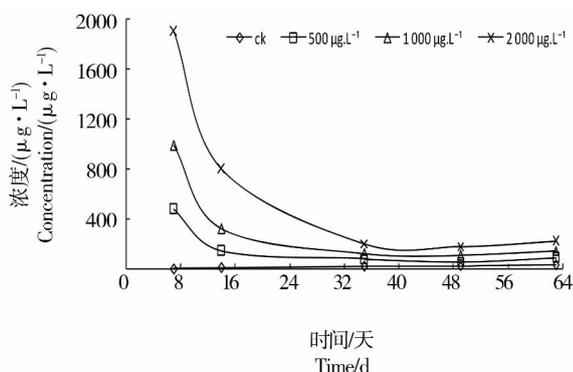


图1 微宇宙中铜离子实测浓度变化趋势

Fig. 1 Trend of copper ions measured Concentrations in microcosms

2.1.2 物种丰度

(1) 大型溞丰度变化

试验期间各受试组大型溞的丰度(平均组计数的算术平均值,下同)变化见图2(a)。由图可见,大型溞的繁殖受铜离子抑制非常明显,整个试验周期内处理组的大型溞丰度远低于空白对照组。在空白对照组中,试验初始大型溞的数量因为食物充足而大幅增长,在第21天达到顶峰,而后大型溞种群数量因环境承载能力的不足而减少,并在第30~50天

达到相对稳定状态。在第50天以后,大型溞数量因系统营养物质耗尽而不断下降。在试验早期,不同铜离子浓度处理组中大型溞数量均处于较低水平。在试验后期,由于铜离子浓度的降低,最低浓度组的大型溞表现出恢复的趋势,而其他两个浓度组的大型溞仍未见数量增长。

(2) 轮虫丰度变化

微宇宙中萼花臂尾轮虫丰度的变化如图2(b)所示。由图中可以看出在接种后的1周内,各浓度组的轮虫丰度均增大,空白对照组增加的轮虫数量远高于其他处理组。接种的1周后,空白对照组和处理组中轮虫丰度均迅速下降。虽然溞类摄食和铜离子毒性均可导致轮虫增长停滞,但空白对照组轮虫丰度的快速下降证实溞类摄食的影响更加直接。铜离子处理组在极低的大型溞丰度下出现的轮虫丰度下降可能主要由高浓度铜离子的生物毒性所导致。此后空白对照组轮虫丰度在第42~49天、第56~63天出现小幅度的增长,110.80 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组轮虫保持相对稳定的丰度,其他处理组在整个试验期间的丰度接近零且没有增长。

(3) 藻类丰度变化

微宇宙中各种藻类的丰度变化如图3所示。总体而言,四尾栅藻和小球藻的丰度变化范围较大,斜生栅藻次之,羊角月牙藻最小。这可能由藻类对微宇宙环境适应程度和敏感度不同所导致。此外,在整个试验周期中,空白对照组中4种藻类丰度均低于受试组,而不同浓度处理组藻类丰度则呈现出不同的规律:所有处理组四尾栅藻丰度随铜离子浓度升高而降低;212.06和420.26 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组斜生栅藻丰度相似,均高于110.80 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组;所有处理

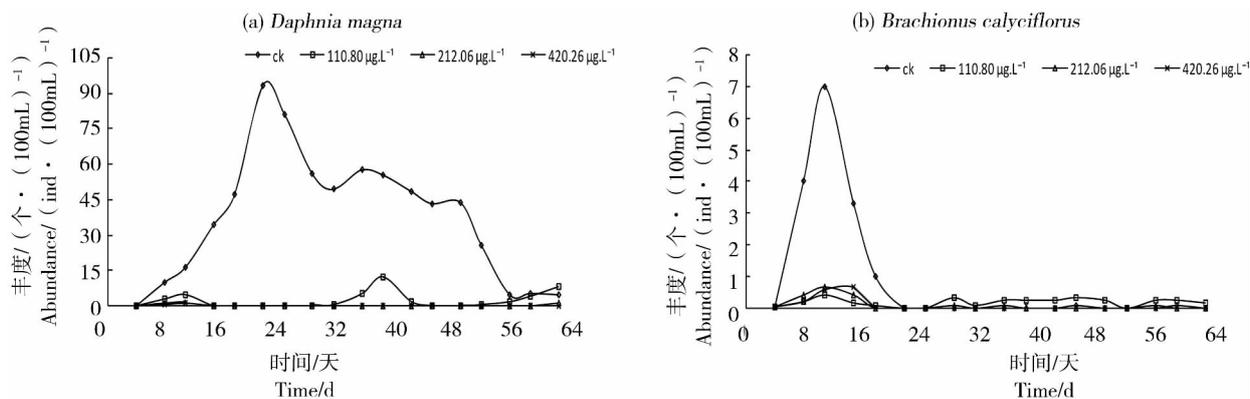


图2 试验期间大型溞和轮虫丰度的变化

Fig. 2 Changes of daphnia and rotifer abundances in microcosms

组羊角月牙藻丰度变化规律与斜生栅藻相似,与铜离子浓度无显著相关性;处理组小球藻丰度前期与空白对照组无显著差异,后期(46 d后)随铜离子浓度升高而升高。对比微宇宙中溞类丰度变化规律可知,较高的溞类捕食压力是导致空白对照组藻类丰

度普遍偏低的直接原因。而处理组在较低的溞类捕食压力下仍呈现出不同的铜离子浓度相关性可能与溞类捕食选择性和藻类对铜离子危害响应敏感性差异有关。根据本试验测试结果可推断,处理组中大型溞倾向于优先捕食斜生栅藻和小球藻,而四尾栅

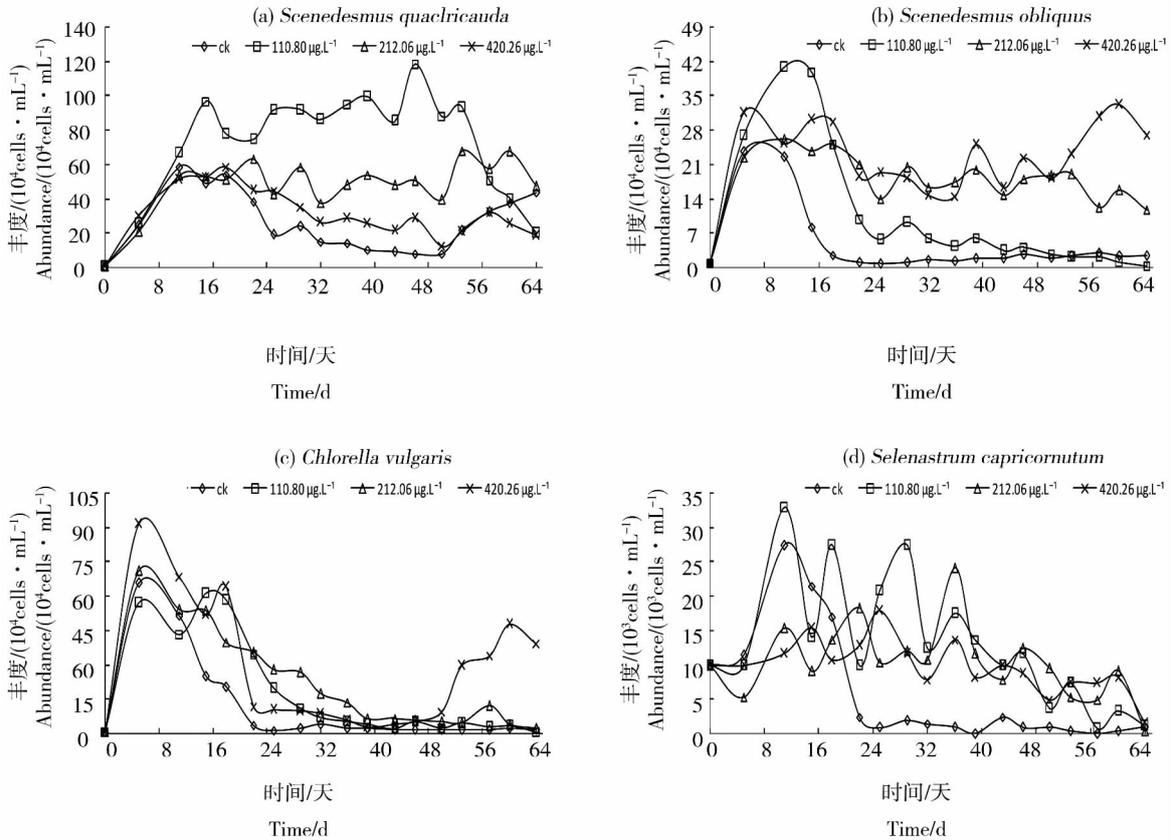


图 3 微宇宙中藻类丰度变化

Fig. 3 Changes of algae species abundances in microcosms

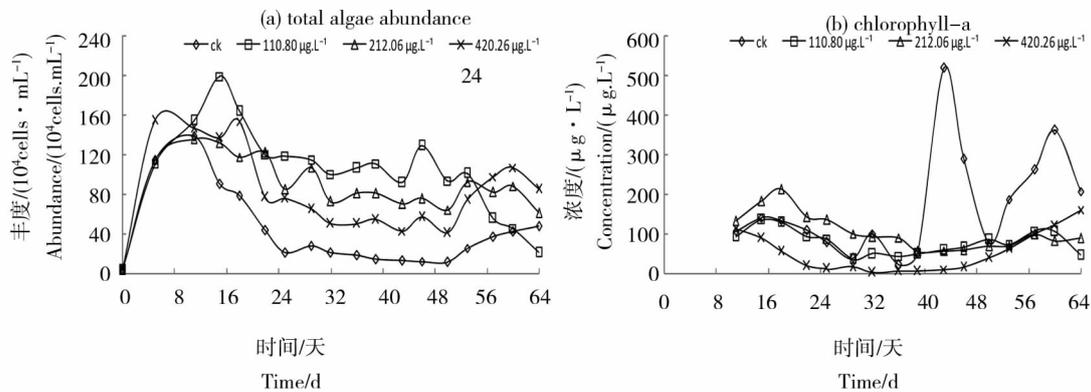


图 4 微宇宙中总藻丰度和叶绿素 a 浓度的变化

Fig. 4 Changes of total algae abundances and chlorophyll-a concentrations in microcosms

藻丰度的降低主要归因于铜离子的生物毒性作用。

微宇宙中总藻丰度和叶绿素 a 的变化如图 4 所示。由图 4(a) 可知, 空白对照组总藻丰度在整个周期内都低于各个处理组, 且在试验中期(28-49 d) 相对平稳, 在后期(49 d 后) 略有增长。铜离子对总藻丰度的影响呈现出与四尾栅藻相似的浓度-效应关系, 主要是因为四尾栅藻作为整个试验周期内的主要优势藻种, 掩盖了其他藻类数量的微弱变化; 在试验后期, $110.80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 铜离子暴露浓度下的藻类数量由于大型溇种群的恢复而先于其他浓度组下降, 其他浓度组中的藻类数量因为铜离子实际浓度的降低和营养物质的耗尽而表现出先增长后下降的趋势。图 4(b) 呈现一种与图 4(a) 显著不同的规律: 从第 35 天开始, 空白对照组中叶绿素 a 含量明显上升, 此时可明显观察到空白对照组缸壁上开始长出固着藻类。由于固着藻类数量体现在叶绿素 a 的测定结果中且未体现在总藻丰度的测定结果中, 所以推断此时的固着藻类已成为空白对照组中的优势种群。处理组未观察到固着藻类的生长, 鉴于溇类对固着藻类的捕食难度, 这可能反映了铜离子对固着

藻类的生长抑制效应。

2.1.3 理化指标

(1) 微宇宙中溶解氧的变化

图 5 展示了微宇宙中光合作用产氧量 P 和呼吸作用耗氧量 R 及其比值在整个试验期间的变化。 R 值反映了生态群落呼吸作用消耗的有机物质的量, P 值反映了植物光合作用有机物质的合成量减去呼吸作用消耗的有机物质之后的净初级生产量。而生产量与消耗量之比(P/R) 可以反映群落的代谢水平, P/R 越大, 群落生产力越高。由图 5 可知, P 和 R 表现出相似的规律: 在整个试验周期内, $420.26 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组 P 和 R 均低于空白对照组, 而其他处理组与空白对照组无显著差异。由图 5(c) 可知, 所有处理组的 P/R 变化几乎一致: 前 35 天均在 1 上下小范围内波动, 在第 35 天到 42 天由于 R 的快速下降而上升, 其后经过一段时间的平稳期, 试验结束前一周由于营养物质的耗尽而下降。

(2) pH

图 5(d) 展示了不同处理组 pH 值随时间的变化。pH 值反映了系统内部化学环境的改变, 可作为

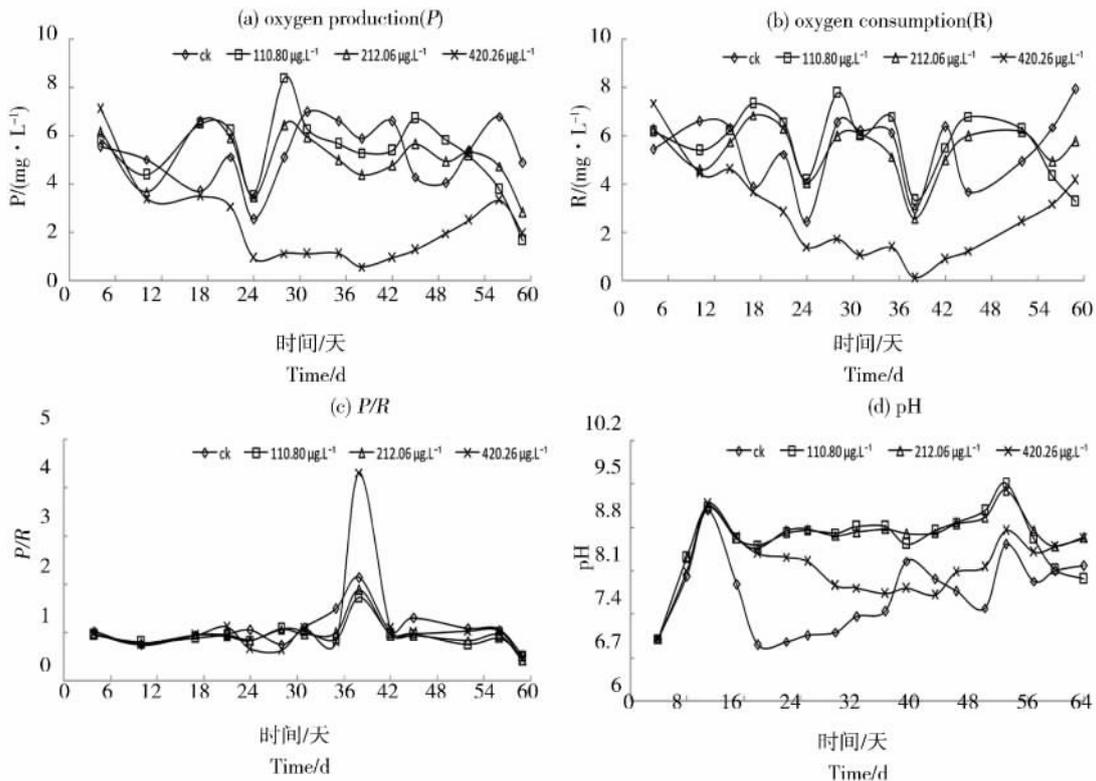


图 5 微宇宙理化指标的变化

Fig. 5 Dynamics of physicochemical properties in microcosms

外源胁迫对生态系统功能影响程度的指标。由图中可以看出不同浓度组 pH 值的数值高低排列与总藻丰度的变化曲线(图 4(a))相吻合,表明 pH 值与藻类的数量呈现一定的相关性:藻类浓度越大,pH 值越高。这主要是藻类生长大量消耗水中碳酸氢根离子引起的^[26]。

2.1.4 微宇宙系统危害综合评估

空白对照组和受试组的物种丰度和理化指标进行的单因素方差分析结果见表 2。由表中可以看出,处理组大型溞丰度在各个监测时间点均比对照组显著降低,且 LOEC 在试验 14 d-49 d 内均维持在 110.80 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;但在试验后期(56 d 以后)LOEC 由 110.80 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 升至 212.06 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。这说明铜离子生物毒性是导致大型溞种群变化的主要因素,后期由于铜离子实际浓度的降低促进了溞类种群的恢复。其它生物丰度仅在某些监测时间点表现出显著的剂量-效应关系。值得注意的是,处理组叶绿素 a 浓度显著低于对照组,而处理组的各种藻类丰度及其总量却显著高于对照组。由于藻类及总量丰度仅涉及水中藻类(小球藻、羊角月牙藻、斜生栅藻和四尾栅藻),而叶绿素 a 的浓度同时涵盖固着藻类和

其他藻类,因此对比大型溞丰度与铜离子暴露浓度的关系可知,水中藻类(不包括固着藻类)生长受抑制主要归因于大型溞摄食压力,而溞类对固着藻类的摄食难度导致铜离子毒性成为叶绿素 a 浓度随处理浓度升高而降低的主要原因。

从功能性指标来看,处理组 pH 均显著高于对照组,这与水中藻类(不包括固着藻类)丰度的变化规律比较一致。因此除固着藻类之外的水中藻类种群是影响本系统 pH 变化的主要因素。与空白对照组相比,处理组 P/R 在 28 d 和 56 d 趋势相反,原因可能是 28 d 和 56 d 时作为系统主要生产者的藻类和作为主要消费者的大型溞的相对丰度的变化。

从系统整体水平来看,综合考虑物种丰度和系统功能性指标,铜离子对微宇宙 7-56 d-NOEC 均低于 110.80 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,63 d-NOEC 为 110.80 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,反映了试验后期系统群落的恢复。

2.2 物种敏感度分布曲线法评估 HC₅ 值

表 3 为使用不同模型的 HC₅ 值拟合结果。从表中可以看出,各个模型的拟合效果均较好,R²均达到 0.99 以上。采用 Weibull 模型的拟合度最高,为 0.9957,由此推导出的铜离子的 HC₅ 值为 3.278 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表 2 不同终点在各取样日期的 LOECs (Dennett's test, P < 0.05)

Table 2 LOECs for different endpoints (Dennett's test, P < 0.05) per sampling date

时间/d Time/d	7	14	21	28	35	42	49	56	63
物种丰度 Species abundances									
大型溞 Daphnia magna	212.06(↓ ^a)	110.80(↓)	110.80(↓)	110.80(↓)	110.80(↓)	110.80(↓)	110.80(↓)	212.06(↓)	212.06(↓)
轮虫 Brachionus calyciflorus	110.80(↓)	110.80(↓)	— ^b	—	—	—	—	—	—
四尾栅藻 Scenedesmus quadricauda	—	—	—	—	—	110.80(↑)	110.80(↑)	—	—
斜生栅藻 Scenedesmus obliquus	—	—	—	—	212.06(↑)	212.06(↑)	212.06(↑)	420.26(↑)	420.26(↑)
小球藻 Chlorella vulgaris	—	—	212.06(↑)	212.06(↑)	—	—	—	420.26(↑)	—
羊角月牙藻 Selenastrum capricornutum	—	—	—	—	110.80(↑)	—	—	212.06(↑)	—
总藻量 Total algae	—	110.80(↑)	—	—	110.80(↑)	110.80(↑)	110.80(↑)	—	—
叶绿素 a Chlorophyll a	—	—	420.26(↓)	—	—	110.80(↓)	—	110.80(↓)	—
理化性质 Physicochemical properties									
pH	—	110.80(↑)	110.80(↑)	110.80(↑)	110.80(↑)	110.80(↑)	110.80(↑)	212.06(↑)	—
P	—	—	—	420.26(↓)	420.26(↓)	420.26(↓)	—	—	—
R	—	—	—	420.26(↓)	—	420.26(↓)	—	—	—
P/R	—	—	—	110.80(↑)	—	—	—	110.80(↓)	—

注: ^a和对照组相比数量显著上升(↑)或下降(↓);^b无明显剂量-效应关系;NOEC 的单位为 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

Note: ^aPopulations were significantly reduced (↓) or increased (↑) compared to blank control; ^bNo significant effect-dose relationship; the unit of NOEC is $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

表3 不同拟合模型推导出的 HC₅ 值
Table 3 HC₅ values derived from different models

模型名称 Model	拟合方程 Equation	拟合度 R ²	HC ₅ / (μg·L ⁻¹)
Weibull	$y = 1.0365 \times (1 - e^{-\left(\frac{x-0.3455}{1.4006}\right)^1}) \cdot 1.4305$	0.9957	3.278
Gompertz	$y = 1.0177 \times e\left(-e^{\frac{1.1611-x}{0.7045}}\right)$	0.9953	2.453
Sigmoid	$y = 0.9815 - 1.0617 \div \left(1 + e^{\frac{x-1.3261}{0.5142}}\right)$	0.9938	2.046
Logistic	$y = 0.007 - 0.9815 \times \frac{\left \frac{x}{1.522}\right \cdot 2.5306}{1 + \left(\frac{x}{1.522}\right)^{2.5306}}$	0.9955	2.638

3 讨论 (Discussion)

在自然生态系统中,生产者、消费者和分解者共同构成了一个相互依存、动态平衡的体系。当外源胁迫打破这种平衡时,系统结构和功能的稳定就会受到影响^[27]。在本试验微宇宙系统中,藻类作为生产者,可以为其中的消费者(大型溞和轮虫)提供食物来源,而大型溞和轮虫在捕食藻类的同时又构成捕食关系。因此,本系统可以在一定程度上反映种群间的捕食及竞争关系。在空白对照中,大型溞丰度与藻类丰度呈现此消彼长的关系,而铜离子处理组由于抑制了大型溞的存活和繁殖,导致了藻类和轮虫丰度的增长;同时,较高浓度的铜离子也抑制了固着藻类和轮虫丰度的增长;在试验的后期,暴露最低浓度铜离子的系统表现出恢复的趋势:大型溞丰度的增长和藻类丰度的降低,表明在低浓度铜离子暴露下生态系统具有一定的反馈调节功能;而随着铜离子浓度的升高,生态系统恢复越困难,这与 Harrass 和 Taub^[28] 的研究结果一致。

铜离子作为国际上普遍采用的微宇宙危害测试阳性对照物,本研究获取的铜离子对微宇宙的 63 d-NOEC 为 110.80 μg·L⁻¹,危害评估结果与 Harrass 和 Taub^[28] 及 Meador 等^[29] 的微宇宙测试结果一致。同 SSD 法推导出的 HC₅ 值相比较,本研究获取的铜离子对微宇宙的 63 d-NOEC 值较高。造成差异的原因可能是两点:首先,不同试验方法下有效作用于生物体的铜离子到达浓度有所差异。一是由于微宇宙系统中包括多种环境介质,铜离子各相浓度存在动态平衡;二是本研究作为静态试验,铜离子浓度不断降低,在第 63 天时实际铜离子浓度仅约为 60-80 μg·L⁻¹,而查阅到的文献数据多是来自半静态的或

流动的试验系统,其浓度相对稳定,所以求出的 HC₅ 值相对较低。其次,微宇宙系统可以模拟单一物种毒性试验所不具备的种间关系和反馈机制,所以会与单一物种毒性数据的外推结果存在较大差异。Wijngaarden 等^[30] 对 1980—2001 年期间公开发表的农药对微宇宙和单一物种毒性测试结果进行对比分析,发现毒死蜱、杀螟硫磷、胺甲萘等 10 种农药对微宇宙的 NOEC 为其对单一敏感物种(溞类或鱼类) EC₅₀ 的 10% ~ 500%;同时,该研究小组^[24] 还分别利用微宇宙和单一物种测试评估了氟啶胺的毒性:将单一物种急性毒性测试结果(EC₅₀ 或 EC₁₀) 利用物种敏感度分布曲线外推的 HC₅ 与微宇宙测试计算出的系统 NOEC 进行对比,结果表明基于 EC₁₀ 和 EC₅₀ 的 HC₅ 值 95% 置信区间下限均低于模拟系统群落 NOEC,而基于 EC₅₀ 的 HC₅ 值比模拟系统群落 NOEC 稍高;此外, Vervliet 等^[31]、Broise 等^[27] 及 Schramm 等^[32] 的研究也反映出微宇宙系统与单一物种毒性试验结果存在一定的差异。这些差异均反映了微宇宙危害评估结果与传统的单一物种毒性试验结果之间不存在简单的外推关系。水生微宇宙作为欧美等发达国家或地区公认的化学品风险层级评估体系中高级别化学品生态危害评估技术,为了实现其对单一物种毒性测试的有效补充和验证作用,需要进一步规范其系统结构和构建方法以增强微宇宙数据的稳定性,同时进一步探索受试化学品在系统各相间分布和转化规律、充分揭示微宇宙宏观响应的机制。

微宇宙体系以真实的自然系统为模拟对象,反映出化学品暴露下的生态功能及种间关系的变化,以此为基础的生态危害评估更接近实际,并可以降

低单一物种毒性测试数据的不确定性。本文的研究结果一方面为波尔多液等含铜离子的杀菌剂、除藻剂生态风险评估和安全性使用提供数据支持;另一方面也可以为进一步规范化微宇宙测试方法、开发包含更为复杂物种系统的微宇宙测试技术提供参照。然而由于本研究构建的微宇宙系统仅包含浮游藻类、轮虫和大型溞等浮游类生物,未囊括底栖生物和微生物群落,因此对铜离子在底泥中沉积所造成的危害评估考虑不足,后期须尝试构建涵盖更多生态位生物的微宇宙系统开展进一步研究。

通讯作者简介:陈英文(1978-),男,博士,副教授,主要从事环境科学与工程的研究。

石利利(1965-),女,硕士,研究员,主要从事化学品生态风险评估、环境与健康风险评估研究工作。

参考文献(References):

- [1] 姚薇,王一喆. 化学品风险评估制度建设进展和建议[J]. 环境工程技术学报, 2011, 1(5): 431-437
Yao W, Wang Y Z. Development and suggestions on chemical risk assessment system establishment [J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2011, 1(5): 431-437 (in Chinese)
- [2] 雷炳莉,黄圣彪,王子健. 生态风险评价理论和方法[J]. 化学进展, 2009, 21(2-3): 350-358
Lei B L, Huang S B, Wang Z J. Theories and methods of ecological risk assessment [J]. Progress in Chemistry, 2009, 21(2-3): 350-358 (in Chinese)
- [3] Posthuma L, Traas T P, Suter G W II. General Introduction to Species Sensitivity Distributions. [M]// Posthuma L, Suter G W II, Traas T P (Ed.). Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology. Boca Raton: CRC Press, 2002: 5-7
- [4] González-Pleiter M, Gonzalo S, Rodea-Palomares I, et al. Toxicity of five antibiotics and their mixtures towards photosynthetic aquatic organisms: Implications for environmental risk assessment [J]. Water Research, 2013, 47(6): 2050-2064
- [5] Cairns J. The myth of the most sensitive species [J]. BioScience, 1986, 36(10): 670-672
- [6] Zhu H, Wang Y, Tam N F Y. Microcosm study on fate of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in contaminated mangrove sediment [J]. Journal of Hazardous Materials, 2014, 265: 61-68
- [7] Regier N, Larras F, Bravo A G, et al. Mercury bioaccumulation in the aquatic plant *Elodea nuttallii* in the field and in microcosm: Accumulation in shoots from the water might involve copper transporters [J]. Chemosphere, 2013, 90(2): 595-602
- [8] United States Environmental Protection Agency. OPPTS 850. 1900 Generic Freshwater Microcosm Test, Laboratory [S]. Washington DC: US EPA, 1996
- [9] American Society for Testing and Materials. E1366-96 Standard Practice for Standardized Aquatic Microcosms Fresh Water [S]. Philadelphia: ASTM, 2003
- [10] Organization for Economic Co-operation and Development. Guidance Document on Simulated Freshwater Lentic Field Tests (Outdoor Microcosms and Mesocosms) [S]. Paris: OECD, 2004
- [11] Wijngaarden R P A. Interpretation and Extrapolation of Ecological Responses in Model Ecosystems Stressed with Non-persistent Insecticides [M]. Wageningen: Alterra, 2006: 33-235
- [12] 徐镜波,梁林. 1,4-二硝基苯对藻型塘微宇宙的影响[J]. 东北师大学报: 自然科学版, 2002, 34(3): 108-112
- [13] 吴颖慧,蔡磊明,王捷,等. 莠去津对标准化水生微宇宙的影响[J]. 农药学报, 2008, 10(3): 343-348
Wu Y H, Cai L M, Wang J, et al. The effect of atrazine on standardized aquatic microcosm [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2008, 10(3): 343-348 (in Chinese)
- [14] 张毅敏,金洪钧. EDTA对Cu参水生微宇宙中的毒性和分布的影响[J]. 应用生态学报, 1999, 10(4): 485-488
Zhang Y M, Jin H J. Effect of EDTA on toxicity and distribution of Cu in aquatic microcosm [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 1999, 10(4): 485-488 (in Chinese)
- [15] 王颖,王琳,鲁翌,等. 次氯酸钠对池塘微宇宙结构和功能的影响[J]. 卫生研究, 2007, 36(2): 144-147
Wang Y, Wang L, Lu Y, et al. Effects of sodium hypochlorite on structure and function of pond microcosms [J]. Journal of Hygiene Research, 2007, 36(2): 144-147 (in Chinese)
- [16] 金洪钧,孙丽伟. 实验室水生微宇宙的组建和基本生态学过程[J]. 南京大学学报: 自然科学版, 1992(1): 98-106
- [17] 种云霄,汤仲恩,余光伟,等. 铜离子对2种沉水植物种植水抑藻效应的影响[J]. 生态环境学报, 2012, 21(9): 1594-1598
Zhong Y X, Tang Z E, Yu G W, et al. Growth inhibition of blue-green algae by submerged macrophytes culture solutions with existence of the low level of copper ion [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2012, 21(9): 1594-1598 (in Chinese)
- [18] Taub F B, Kindig A C, Conquest L L. Preliminary results of interlaboratory testing of a standardized aquatic microcosm [J]. Community Toxicity Testing, ASTM

- STP, 1986, 920: 93 - 120
- [19] US EPA. ECOTOX Database [EB/OL]. <http://cfpub.epa.gov/ecotox/>
- [20] OECD. The Global Portal to Information on Chemical Substances [DB/OL]. <http://www.echemportal.org/echemportal/>
- [21] 王宏, 杨霓云, 余若祯, 等. 我国新化学物质生态风险评估数据外推技术探讨 [J]. 环境科学研究, 2009, 22(7): 805 - 809
- Wang H, Yang N Y, Yu R Z, et al. Research on extrapolation techniques of eco-environmental risk assessment for new chemicals in China [J]. Research of Environmental Sciences, 2009, 22(7): 805 - 809
- [22] 松辽流域水环境监测中心. SL88-2012 水质叶绿素的测定-分光光度法 [S]. 北京: 中国水利水电出版社, 2012
- [23] 环境保护部化学品登记中心. GB/T 21828-2008 化学品大型溞繁殖试验 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008
- [24] Wijngaarden R P A, Arts G H P, Belgers J D M, et al. The species sensitivity distribution approach compared to a microcosm study: A case study with the fungicide fluzinam [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2010, 73(2): 109 - 122
- [25] 贾鹏. 含有机络合剂的重金属废水生化处理研究 [D]. 南京: 南京理工大学, 2013: 1 - 4
- Jia P. Study on heavy metal wastewater containing organic complexing agent by biochemical treatment [D]. Nanjing: Nanjing University of Science and Technology, 2013: 1 - 4
- [26] Organization for Economic Co-operation and Development. OECD Series on Testing and Assessment NO. 23 Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures [S]. Paris: OECD, 2000
- [27] De La Broise D, Stachowski-Haberkorn S. Evaluation of the partial renewal of in situ phytoplankton microcosms and application to the impact assessment of bentazon and dimethenamid [J]. Marine Pollution Bulletin, 2012, 64(11): 2480 - 2488
- [28] Harrass M C, Taub F B. Comparison of laboratory microcosms and field responses to copper [M] // Boyle T P. Validation and Predictability of Laboratory Methods for the Assessment of Fate and Effects of Environmental Contaminants in Aquatic Ecosystems. Philadelphia: ASTM STP, 1985, 865: 57 - 74
- [29] Meador J P, Taub F B, Sibley T H. Copper dynamics and the mechanism of ecosystem level recovery in a standardized aquatic microcosm [J]. Ecological Applications, 1993, 3(1): 139 - 155
- [30] Wijngaarden R P A, Brock T C M, Van Den Brink P J. Threshold levels for effects of insecticides in freshwater ecosystems: A review [J]. Ecotoxicology, 2005, 14(3): 355 - 380
- [31] Vervliet-Scheebaum M, Straus A, Tremp H, et al. A microcosm system to evaluate the toxicity of the triazine herbicide simazine on aquatic macrophytes [J]. Environmental Pollution, 2010, 158(2): 615 - 623
- [32] Schramm K W, Jaser W, Welzl G, et al. Impact of 17 α -ethinylestradiol on the plankton in freshwater microcosms I: Response of zooplankton and abiotic variables [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2008, 69: 437 - 452
- ◆