

# 重金属离子对原生动物呼吸功能 影响的研究\*

顾曼如 闻根芳  
(中国科学院水生生物研究所)

呼吸速率是动物代谢生理中的一个重要指标。研究生态系统中的能量转移、生物群落的功能和结构、环境对动物生命活动的影响等,都要进行耗氧量的测定<sup>[6,7,10]</sup>。如浮游动物的呼吸速率与天然栖息处迁移的关系<sup>[9]</sup>,浮游动物中桡足类(Copepoda)的呼吸速率与年龄以及区域和季节变异的关系<sup>[1,14]</sup>,哲水蚤(*Diaptomus*)在不同温度时的呼吸作用,原生动物的不同个体大小、重量和耗氧量的关系等等<sup>[16]</sup>。此外,还有不少学者进行了污染水体中有毒物质对微小水生动物致毒作用的研究,如重金属离子对原生动物半致死浓度的测定,其目的是用它作为指示生物<sup>[5,13]</sup>。在污染水体和污水的生物处理过程中,都有原生动物存在,它们是生物群落的一个重要组成部分。原生动物的存在与污水处理场的出水质量有着密切的关系。当污水中存在的重金属离子对原生动物虽没有达到致死浓度,但却对其生命活动产生很大障碍,使其净化功能遭到破坏,出水质量变坏<sup>[4,15]</sup>。

本文使用铜、镉、锌、铅四种重金属盐和磷酸钠等五种毒物对尾草履虫进行实验,测定不同浓度的金属离子对它致毒后呼吸功能的影响,试图找出重金属离子浓度高到什么程度才不致使原生动物的呼吸机能受到影响,以致停止生命活动。这些资料为模拟水污染生态系中原生动物作为最低等的次级生产提供参考数据,同时为进行生物测试评价水质的研究工作开拓方向。

## 材料和方法

### 1. 实验材料

尾草履虫(*Paramecium caudatum*)属纤毛纲(Ciliata)膜口目(Hymenostomatida)草履虫科(Parameciidae),是最普通的世界性纤毛虫之一。材料从野外采集筛选洗涤后,在室内进行培养。培养基的制备:10g干稻草杆加1升水,煮沸5分钟,冷却,过滤,灭菌置于冰箱中备用。pH为8左右。

### 2. 实验用水

武昌东湖水,pH值为8.1—9.2,总硬度(德国度)6.37—7.68,碱度2.06—2.89mg/l,碳酸氢盐为76.56—117.92 CO<sub>2</sub>mg/l,磷酸盐为0.012—0.037 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>mg/l。

### 3. 实验仪器

过去测定微小动物的呼吸速率多采用微比压计法(Micromanometer)和浮沉子法

\* 文稿承王德铭副教授审阅、修改,特此致谢。张晓华同志参加部分工作。  
收稿日期:1982年1月7日。

(Cartesian diver)<sup>[12]</sup>, 这些方法操作比较复杂。我们采用极谱氧电极微呼吸仪<sup>1)</sup>。仪器包括呼吸室、控制器和 XWT 台式记录仪,呼吸室由有机玻璃制成,体积 1—6ml 可调,外有恒温水套,铂微电极和参考银—氯化银电极安装在呼吸室底部,覆有 10—15  $\mu\text{m}$  厚的聚四氟乙烯薄膜,呼吸室内有磁舟作搅拌,顶部装有橡皮圈的有机玻璃塞子,开有小孔以便加试剂和生物体,因孔径很小,气体交换很慢,不致影响测定结果。使用此仪器可以连续得出原生动物的呼吸速率的动态结果。

#### 4. 实验方法

培养: 在 6cm 培养皿或 10ml 离心管内,加入一定容量的上述培养基及经洗洁长半寸的草杆,接种虫体后放置在温度为 28°C 的隔水式恒温箱内进行培养。

测定: 在测定前先进行毒物对虫体的致死浓度和半致死浓度的毒性试验。试验前 12 小时必须将虫体进行处理,用灭过菌的湖水洗涤 2—3 次,离心转速 2000—2500r/min。实验时使用两套同样的呼吸室和控制器进行对照试验,由双笔记录仪同时记下测定结果。呼吸室容量为 4ml,恒温在 28°C 的水浴套内。溶液的 pH 控制在 7.5—8.5 范围内。使用细胞移植操作器<sup>2)</sup>逐个进行计数。然后将虫体接入呼吸室,盖上盖子进行测试。

## 结果和讨论

表 1 为五种金属毒物的不同浓度对于尾草履虫呼吸速率的影响结果。从图 1 可看出尾草履虫对金属离子不同浓度的毒性反应,当浓度较低时,呼吸机能不产生明显影响;随着浓度增加活动加快,呼吸频率增加,耗氧量加大。当金属离子达到一定浓度时,呼吸速率就急剧下降,这大概是金属离子毒性对尾草履虫呼吸机能产生严重障碍之故。这现象与我们从解剖镜下观察到的生态反应完全一致。当  $\text{Cu}^{2+}$  溶液与尾草履虫初接触时,游泳活动加剧,经过一定时间后很快缓慢下来,甚至停止不动。另一方面,从图 2 中可看到虫体的呼吸速率随着时间的延长而逐渐降低。受毒害时间愈长,呼吸速率愈低。不同金属毒物的毒性对尾草履虫呼吸抑制作用的大小亦不相同,毒性愈大,抑制作用愈明显。结果与毒性试验所得的半致死浓度的结果是一致的,即毒性愈大存活率愈低,其排列次序是

表 1 尾草履虫在各重金属不同浓度下平均每小时的呼吸速率

$\text{Cu}^{2+}$ ppm	呼吸速率 $\mu\text{g}/300$ indiv/h	$\text{Cd}^{2+}$ ppm	呼吸速率 $\mu\text{g}/300$ indiv/h	$\text{As}^{3+}$ ppm	呼吸速率 $\mu\text{g}/300$ indiv/h	$\text{Zn}^{2+}$ ppm	呼吸速率 $\mu\text{g}/300$ indiv/h	$\text{Pb}^{2+}$ ppm	呼吸速率 $\mu\text{g}/300$ indiv/h
0.001	0.9074	0.01	1.6846	0.01	1.3371	0.1	2.1183	30	1.2026
0.0025	1.1185	0.025	1.6283	0.1	1.1527	0.5	1.1061	35	0.8108
0.005	1.4000	0.05	1.1742	0.15	1.1810	1.0	0.9230	40	0.4019
0.0075	0.8018	0.075	1.1580	0.20	0.5591	2.0	0.8143		
0.01	0.2738	0.1	0.1428			3.0	0.2850		

注: 1. 草履虫在正常试验情况下的呼吸速率在 0.62—0.82  $\mu\text{g}$  之间,平均为 0.7595  $\mu\text{g}$ ;

2. 300 个草履虫干重为 20  $\mu\text{g} \pm 10\%$ ;

3. 以上数据均为两次或两次以上的均值;

4. 实验结果已扣除对照耗氧量。

1) 由我所技术室制作。

2) 我所第二研究室提供。

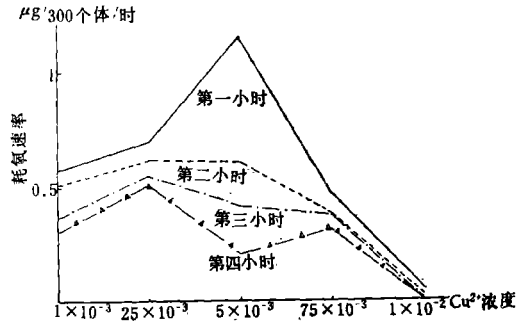


图1 温度 28°C 时 4 个小时的  $\text{Cu}^{2+}$  浓度与耗氧速率关系曲线

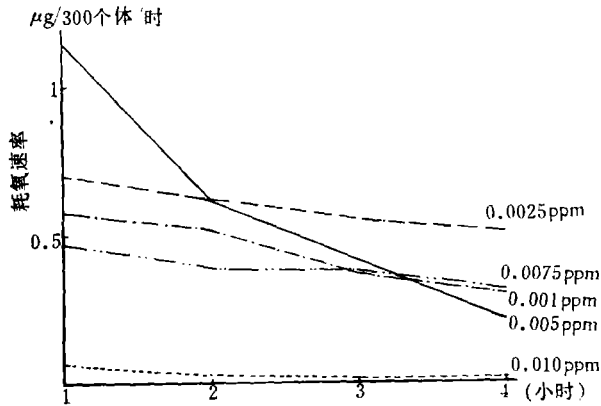


图2 温度 28°C 时 5 种  $\text{Cu}^{2+}$  浓度的时间与耗氧速率的关系曲线

$\text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{As}^{5+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Pb}^{2+}$ 。从以上结果可看出：金属毒物的毒性与尾草履虫的呼吸功能有直接关系。原生动物是单细胞生物，原生质仅通过一层半渗透性细胞膜直接与外界环境相接触，当它处在金属毒性溶液中时，金属离子可渗过半渗透膜与细胞体内原生质结合成难溶性物质，并因而妨碍机体的生理作用，使呼吸功能以及机体其它部分遭受影响和破坏<sup>[3]</sup>。

上述结果分析表明，在受重金属污染的水体中，虽然水中的浓度对原生动物还没有起到致死作用，然而对其呼吸代谢可能产生不良影响，致使其某些适应性的功能减弱或消失。

环境中的重金属的化学形态对其毒性效应起着决定性作用。水体中存在的污染物质是多种多样的，因此水体中重金属一般可以价态、化学态、结合态、结构状态等四种方式存在。金属在水体中沉淀的形式也是个复杂的结构，它不单单依赖于 pH 值，还依赖于水的硬度、碱度、温度，有机物可以使金属毒物形成各种有机或无机胶体与微粒物质，从而降低了水体中金属毒物的毒性<sup>[2,8,11]</sup>。

我们在实验中使用不同基质、不同 pH 值、金属毒物对生物毒性有明显的不同。例如以铅盐做实验时，用蒸馏水配制 pH 呈中性或偏酸性。当  $\text{Pb}^{2+}$  浓度为 10ppm 时，虫体在一小时内全部死亡。而用灭菌的东湖湖水配制不同  $\text{Pb}^{2+}$  浓度溶液（pH 值在 8.1—

8.7, 用 10% HCl 调至 pH 为 7.5), 在溶液里产生少许白色沉淀, 虫体在 50ppm 溶液里 2 小时后才死亡。故在使用金属盐类做毒性试验或在实际使用这些数据时, 一定要严格控制或注意重金属的基质(环境水体的水质状况)、pH、温度, 否则会影响实验数据的准确性。

### 参 考 文 献

- [1] 郑重, 1964. 浮游生物概论. 科学出版社, 242—247 页。
- [2] 梁兆坤编译, 1981. 天然水中重金属形态的研究. 环境科学情报资料 **3**: 46—56。
- [3] 闻根芳、惠嘉玉, 1963. 重金属离子对鱼类致毒作用的探讨. 水生生物集刊 **2**: 118—122。
- [4] 须藤隆一, 1972. 生物酸性处理. 用水と廢水 **6**(14): 4—13。
- [5] Cater, J. W. and I. L. Cameron, 1973. Toxicity bioassay of heavy metals in water using *Tetrahymena pyriformis*. *Water Res.* **7**(7): 951—962.
- [6] Comita, G. W., 1968. Oxygen consumption in *Diatomus*. *Limnology and Oceanography* **13**(1): 51.
- [7] Cumner, R., 1958. The transformation of energy by *Daphnia pulex*. *Ecological Monographs* **28**(3): 273—291.
- [8] Freedman, M. L., P. M. Cunningham, J. E. Schindler et al, 1980. Effect of lead speciation on toxicity. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* **25**(3): 389—393.
- [9] John, W. B., 1968. Respiratory rates of migrating zooplankton in the natural habitat. *Limnology and Oceanography* **13**(1): 58—62.
- [10] John, M. T., 1971. Respiration and energy flow. I. B. P. Handbook. **17**: 270—276.
- [11] James, W. P., E. A. Herbert, J. S. John et al, 1977. Carbonate precipitation for heavy metals pollutants. *J. Wat. Pollut. Cont. Fed.* **49**: 2397—2410.
- [12] Lawton, J. H. and J. Richards, 1970. Comparability of Cartesian diver, Gilson, Warburg and Winkler methods of measuring the respiratory rates of aquatic invertebrates in ecological studies. *Oecologia*. **4**: 319—324.
- [13] Robert, A. H., M. J. McGinniss, A. L. Buikema et al, 1980. Toxicity tests of aquatic pollutants using *Chilomonas Paramecium Ehrenberg* (Flagellate) populations. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* **25**(2): 169—175.
- [14] Robert, J. C., 1959. Regional and seasonal variation in the respiratory rate of marine Copepods. *Limnology and Oceanography* **4**: 259—268.
- [15] Sartory, D. P. and B. J. Lloyd, 1976. The toxic effects of selected heavy metals on unadapted populations of *Vorticella convallaria* Var. *Similis*. *Water Res.* **10**(12): 1123—1128.
- [16] Хлебович, Т. В., 1947. Интенсивность дыхания у инфузорий разного размера. *Цитология* **16**(1): 103—106.

## TOXIC EFFECTS OF HEAVY METAL ION ON RESPIRATORY FUNCTION OF PARAMECIUM CAUDATUM

Gu Manru and Wen Genfang

(*Institute of Hydrobiology, Academia Sinica*)

### ABSTRACT

Respiratory rate is an important index of animal metabolism, from which the toxic effects of As, Cu, Cd, Zn and Pb ions on protozoa, a component of biocoenosis occurring in the biological sewage treatment systems, their maximal concentrations at which the animal is capable of maintaining its general abundance and purification activities are determined.

A ciliate protozoan, *Paramecium caudatum*, was used in the experiment. Solutions containing heavy metal ions were prepared with natural lake water (pH 7.5—8.5). Tests were carried out in a series of 3—5 concentration of each chemical compound at the temperature of  $28.0 \pm 0.1^\circ \text{C}$ , and respiratory rate of the ciliate was recorded continuously with a polarographic respirometer.

Results indicated that respiratory rate of animal was more or less inhibited whenever the metals were present. The more toxic the metal, the more distinct the inhibition, which can be ranked as:  $\text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{As}^{5+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Pb}^{2+}$  in intensity. Of the same metal, the inhibition increases with its concentration.