

三种重金属离子对大草履虫的毒性作用研究

林 茹,马现成,甄 爽,王 雪,赵晨晨,吴云飞,张跃华

(佳木斯大学 理学院,黑龙江 佳木斯 154007)

摘要:为了研究重金属离子对草履虫的毒性作用,配制梯度浓度的重金属离子溶液对 25℃培养条件下的大草履虫进行毒性试验。结果表明: Cu^{2+} 12 h 对大草履虫的半致死浓度(LC_{50})为 $0.090 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, Cu^{2+} 24 h 对大草履虫的 LC_{50} 为 $0.056 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; Pb^{2+} 12 h 对大草履虫的 LC_{50} 为 $6.647 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, Pb^{2+} 24 h 对大草履虫的 LC_{50} 为 $3.213 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; Zn^{2+} 12 h 对大草履虫的 LC_{50} 为 $6.180 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, Zn^{2+} 24 h 对大草履虫的 LC_{50} 为 $2.328 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。3 种重金属离子对草履虫的毒性作用大小为 $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Pb}^{2+}$ 。

关键词:大草履虫;重金属离子;毒性作用

中图分类号:S865.33 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)02-0054-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.02.0054

Cu、Pb、Zn 是 3 种主要的重金属污染物,随着冶金工业的迅猛发展,3 种重金属污染物对于环境的影响日益加剧,特别是对水体产生严重影响,极度威胁着水生生物和人体健康。据了解 Cu^{2+} 对水体的污染已有相关的报道,含铜防污涂料的使用使每年约有 2 200 t 的铜渗入美国加利福尼亚的海域中^[1],我国对于铜污染海域的事件也进行了相关的报道^[2]。针对这一情况,国内外的学者进行了铜对水生生物的慢性毒性研究^[3-4],但多选择生长速度作为观察指标。 Pb^{2+} 对神经系统存在毒性,同时也对红细胞有影响^[5]。 Zn^{2+} 具有酶促功能,当 Zn^{2+} 在污泥系统中含量增多时,会改变细菌内外渗透压的平衡,从而抑制其正常的生长、代谢等^[6]。

草履虫(*Paramecium*)是原生动物纤毛纲的代表动物,也是原生动物的代表种,对外界的刺激反应灵敏,易于繁殖。世界已知草履虫种类 22 种,常见的草履虫有大草履虫(*Paramecium caudatum*)、尾草履虫(*Paramecium caudatum*)、绿草履虫(*Paramecium bursaria*)等。在带有腐草或有机质丰富的池塘和小河中均可采集到草履虫。大草履虫个体较大,易于观察和培养,因此本试验中选择大草履虫作为试验材料,研究了 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 的不同浓度的毒性作用,得出 12 h 和 24 h 时 3 种重金属离子的 LC_{50} ,为水环境

中的重金属离子监测提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与草履虫纯化培养

1.1.1 材料 所用药品均为分析纯 $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 。用可溶性的 $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 分别配置 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液作为母液,置于 4℃ 冰箱内保存,使用前使用蒸馏水稀释至所要浓度。

1.1.2 草履虫采集与培养 从朱艳芳^[7]对草履虫的培养研究中得知,15℃ 草履虫个体较大,游动缓慢,适合显微观察,25℃ 适合中长期培养。草履虫采自黑龙江省佳木斯市四丰山水库区,气温 15℃ 左右,将水样取回后,按文献的培养方法在 25℃ 将草履虫扩大培养。

1.1.3 大草履虫纯化培养 培养草履虫的培养液为稻草培养液^[8],配方为:10 g 稻草加入到 1 000 mL 蒸馏水中煮沸约 30 min,滤去稻草,调节 pH 至 7.0 左右。用胶头滴管吸取扩大培养 7 d 后的草履虫于 $1\,500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的离心机内离心 3 min,弃去上清液,将 EP 管内的底层液体吸出放在显微镜下观察,继续离心,重复上述操作,直至在显微镜下观察到的微生物均为草履虫,从中找到大草履虫,并将其挑取出来,放在稻草培养液中继续培养 7~15 d,重复上述操作,直至培养出单一且稳定的大草履虫,对其进行重金属离子的毒性试验。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 由预备试验获得大致质量浓度,按等对数间距配置, Cu^{2+} 的质量浓度为 0.05、0.15、0.10、0.25、0.45 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, Pb^{2+} 的质量浓度为 1.6、3.2、6.4、12.8、19.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, Zn^{2+} 的质量

收稿日期:2015-12-11

基金项目:黑龙江省大学生创新创业训练计划资助项目(201410222060)

第一作者简介:林茹(1991-),女,黑龙江省佳木斯市人,在读学士,从事环境科学研究。E-mail: ml5765344164_1@163.com。

通讯作者:张跃华(1962-),男,博士,副教授,从事环境微生物学研究。E-mail: zhangyaoehua_2008@163.com。

浓度为 7.8、13.7、24.8、44.2、77.9 mg·L⁻¹。以蒸馏水作为空白对照,每个浓度梯度设 3 次重复,试验容器为 10 mL 的 EP 管,每个 EP 管内装有 3 mL 试验液,将对数生长期的大草履虫进行低速(1 500 r·min⁻¹)离心处理约 3 min,每 30 只大草履虫置于一个 EP 管内,12 和 24 h 分别观察一次,并记录大草履虫的死亡个数,计算死亡率。

1.2.2 测定项目及方法 依据 Probit 法^[9],通过 Excel 2003 得出 12 和 24 h 大草履虫的机率单位与浓度对数的线性回归方程,得出大草履虫的 LC₅₀。

2 结果与分析

2.1 Cu²⁺ 对大草履虫的毒性作用

从表 1 可以看出,Cu²⁺ 对大草履虫的 24 h 平均死亡率均大于 12 h 时的平均死亡率。Cu²⁺ 质量浓度在 0.05~0.15 mg·L⁻¹ 时大草履虫的平均死亡率急剧上升。根据 12 和 24 h 大草履虫的死亡率的机率单位(Y)与浓度对数(X)在 Excel 上做回归分析,得到回归方程: $Y_{12\text{ h}}=2.324\ 8X+7.403\ 8$, $R^2=0.934$, $Y_{24\text{ h}}=2.594X+8.261\ 5$, $R^2=0.862\ 3$,当 Y=5(死亡率为 50%)时,Cu²⁺ 对大草履虫的 12 和 24 h LC₅₀ 分别为 0.090 mg·L⁻¹ 和 0.056 mg·L⁻¹。大草履虫的死亡率随着 Cu²⁺ 质量浓度的增加而增加,但 Cu²⁺ 的质量浓度变化较平缓。

表 1 Cu²⁺ 对草履虫的毒性作用
Table 1 Cu²⁺ toxicity for *Paramecium*

Cu ²⁺ 质量浓度/(mg·L ⁻¹)	时间/h	平均死亡率/%	机率单位(Y)	浓度对数 lgC
Cu ²⁺ concentration	Time	Average mortality rate	Probit	
0	12	1.1 bc	0	0
	24	5.6 bc	3.4	0
0.05	12	14.4 c	3.9	-1.6
	24	26.7 ac	4.4	-1.6
0.15	12	27.8 b	4.4	-1.2
	24	45.6 b	4.9	-1.2
0.10	12	44.4 bc	4.9	-1.0
	24	60.0 a	5.3	-1.0
0.25	12	64.4 ab	5.4	-0.9
	24	80.0 ab	5.8	-0.9
0.45	12	83.3 a	6.0	-0.7
	24	96.7 a	6.9	-0.7

2.2 Pb²⁺ 对大草履虫的毒性作用

由表 2 可知,Pb²⁺ 质量浓度在 0~6.4 mg·L⁻¹ 时,对大草履虫的毒性作用的变化率较小,质量浓度为 12.8~19.2 mg·L⁻¹ 时,大草履虫平均死亡率急剧上升。根据 12 和 24 h 大草履虫的死亡率的机率单位(Y)与浓度对数(X)在 Excel 上做回归分析,得到回归方程: $Y_{12\text{ h}}=1.895\ 9X+3.440\ 4$, $R^2=0.979\ 4$, $Y_{24\text{ h}}=2.190\ 4X+3.889\ 6$, $R^2=0.872\ 7$,当 Y=5(死亡率为 50%)时,Pb²⁺ 对大草履虫的 12 h 和 24 h LC₅₀ 分别为 6.647 mg·L⁻¹ 和 3.213 mg·L⁻¹。Pb²⁺ 质量浓度变化范围较大,大草履虫死亡率变化较大,说明 Pb²⁺ 对大草履虫的毒性影响较小。

表 2 Pb²⁺ 对草履虫的毒性作用
Table 2 Pb²⁺ toxicity for *Paramecium*

Pb ²⁺ 质量浓度/(mg·L ⁻¹)	时间/h	平均死亡率/%	机率单位(Y)	浓度对数 lgC
Pb ²⁺ concentration	Time	Average mortality rate	Probit	
0	12	0	0	0
	24	3.3 c	3.2	0
1.60	12	4.4 c	3.3	0
	24	17.8 c	4.1	0
3.20	12	22.2 b	4.2	0.3
	24	32.2 b	4.5	0.3
6.40	12	33.3 ac	4.6	0.6
	24	46.7 bc	5	0.6
12.80	12	53.3 ab	5.1	0.9
	24	65.6 ab	5.4	0.9
19.20	12	70.0 a	5.5	1.1
	24	96.7 a	6.8	1.1

2.3 Zn²⁺ 对大草履虫的毒性作用

从表 3 看出,Zn²⁺ 质量浓度在 0~7.8 mg·L⁻¹ 这一范围内,对大草履虫的影响较大,而在 7.8~77.9 mg·L⁻¹ 内 Zn²⁺ 对大草履虫的致死率增加较为平缓。根据 12 和 24 h 大草履虫的死亡率的机率单位(Y)与浓度对数(X)在 Excel 上做回归分析,得到回归方程: $Y_{12\text{ h}}=1.079\ 6X+4.142\ 7$, $R^2=0.978\ 6$, $Y_{24\text{ h}}=1.191\ 1X+4.562\ 4$, $R^2=0.981\ 2$,当 Y=5(死亡率为 50%)时,Zn²⁺ 对大草履虫的 12 和 24 h LC₅₀ 分别为 6.180 和 2.328 mg·L⁻¹。通过 12 和 24 h 的 R² 可以看出,Zn²⁺ 对大草履虫的毒性作用较稳定。

表 3 Zn²⁺ 对草履虫的毒性作用
Table 3 Zn²⁺ toxicity for *Paramecium*

Zn ²⁺ 质量浓度/(mg·L ⁻¹) Zn ²⁺ concentration	时间/h Time	平均死亡率/% The average mortality rate	几率单位(Y) Probit	浓度对数 lgC
0	12	3.3 b	3.2	0
	24	6.7 b	3.5	0
7.80	12	24.4 b	4.3	0.2
	24	43.3 a	4.8	0.2
13.70	12	38.9 a	4.7	0.5
	24	54.4 a	5.1	0.5
24.80	12	50.0 a	5	0.7
	24	70.0 a	5.5	0.7
44.20	12	58.9 ab	5.2	1
	24	76.7 ab	5.7	1
77.90	12	66.7 a	5.4	1.2
	24	83.3 a	6	1.2

3 讨论与结论

Cu²⁺、Pb⁺、Zn²⁺ 等是较为常见的重金属离子,近年来也严重威胁着水生生物和人体安全。本试验中大草履虫的 12 和 24 h LC₅₀ 的线性回归关系表明重金属离子对大草履虫的毒性作用大小是:Cu²⁺>Zn²⁺>Pb²⁺。本试验通过 12 和 24 h 两个时间段对大草履虫死亡情况进行观察。结果显示,3 种重金属离子对大草履虫的毒性作用 24 h 均明显大于 12 h,证明时间对于草履虫的毒

性作用具有影响。许多学者也对草履虫致死的相关因素进行分析,分析表明除了重金属自身的毒性作用外,时间的积累也是草履虫致死的一个重要因素。

大草履虫易于观察,分布广泛,试验时间短,对于环境水体中的重金属离子的毒性监测可以较为直观的展现,是理想的环境监测受试物之一,具有很强的环境耐受能力。随着工农业生产的发展以及保护资源和人类环境的需要,草履虫这一水生原生生物研究的应用目的性也越来越强,将进一步试验和探索。

参考文献:

[1] 李永祺. 海洋污染生物学[M]. 北京:海洋出版社,1991.
[2] 陆超华. 南海北部海域经济水产品的重金属污染及其评价[J]. 海洋环境科学,1995(2):12-19.
[3] Stratton G W. Interaction effects of mercury-pesticide combinations towards a cyanobacterium[J]. Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology,1985,34(1):676-683.
[4] Slabbert J L. Improved bacterial growth test for rapid water toxicity screening[J]. Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology,1986,37(1):565-569.
[5] 杨频,生物无机化学导论[M],西安:西安交通大学出版社,1991.
[6] 陈声贵,许木启,杨向平,等. 原生动物在活性污泥中的作用[J]. 生态学杂志,2002(3):47-51.
[7] 朱艳芳,朱力力,卞涛,等. 草履虫的培养研究[J]. 淮北煤炭师范学院学报:自然科学版,2010,31:44-48.
[8] 胡好远,郝家胜,靳璐. Cd⁺ 对草履虫种群的毒性作用[J]. 生物学杂志,2006(1):19-21.
[9] Finley D J. Probit Analysis,3rd ed[M]. London: Cambridge Univ Press,1971.

Study of Toxicity of Three Heavy Metal Ions
on *Paramecium caudatum*

LIN Ru, MA Xian-cheng, ZHEN Shuang, WANG Xue, ZHAO Chen-chen, WU Yun-fei, ZHANG Yue-hua

(College of Science, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: In order to study the toxic effects of heavy metals on *Paramecium*, the concentration of heavy metal ion gradient preparation solution for large *Paramecium* under culture conditions of 25℃ for toxicity experiments. The results showed that lethal concentration (LC₅₀) of Cu²⁺ on *Paramecium caudatum* 12 h was 0.090 mg·L⁻¹, 24 h to 0.056 mg·L⁻¹; LC₅₀ of Pb²⁺ on *Paramecium caudatum* 12 h was 6.647 mg·L⁻¹, 24 h to 3.213 mg·L⁻¹; LC₅₀ of Zn²⁺ on *Paramecium caudatum* 12 h was 6.180 mg·L⁻¹, 24 h to 2.328 mg·L⁻¹. Cu²⁺ toxicity for *Paramecium caudatum* was higher than Pb²⁺ and Zn²⁺.

Keywords: *Paramecium caudatum*; heavy metal ions; toxicity