

水污染的微型生物监测

沈蕴芬 顾曼如 冯伟松
(中国科学院水生生物研究所 武昌 430072)

X520.2
X835

A **摘要** 一切污染物最终都要流入水体。对水体进行生物监测是控制水污染的关键。本文从公害评价的基本原理出发,对已成为我国国家标准《水质—微型生物群落监测—PFU法》的生态学基础、方法的改进和创新,在国内的推广、应用及其标准化的过程作了扼要介绍。对新方法提出的5个问题作了解答。

关键词 水污染的生物监测, 微型生物群落监测, PFU法, 水质, 国家标准
分类号 X52

微型生物监测

一切污染物, 不管它来自大气还是来自陆地, 通过降雨和地表径流后最终都要流到水体(江、河、湖、海、地下水等)中去。水污染的问题已引起国家的重视。

1 公害评价的基本原理

对当前水污染中潜在在公害体问题急需知道: (1) 有多少潜在污物进入水环境, 什么地方、什么时候、以什么方式进入水体? (2) 进入水体的污染物在物理、化学、生物方面会发生什么变化? 会对个体(包括人)、种群、群落、整个生态系产生什么效应? 这些效应会引起环境产生什么性质的变化?

为此, 必须提出有实验证据的两种科学判断: 即该环境条件下化学品的环境浓度和生物效应浓度(图1上的粗线)。只有对这两个浓度的探索(图1上的虚线)能尽量地接近其客观存在的浓度, 才能对公害作出正确的判断。在生物效应浓度高于环境浓度时对水质才是安全的。如果这两个浓度十分接近乃至颠倒, 说明将要或者已经造成公害。从这个意义上来说, 生物监测与化学监测有同等的重要性。

2 微型生物监测 PFU 法的生态学基础

2.1 微型生物群落的客观存在

Patrick 和 Cairns(1967) 从 1948~1966 年在美国各地、

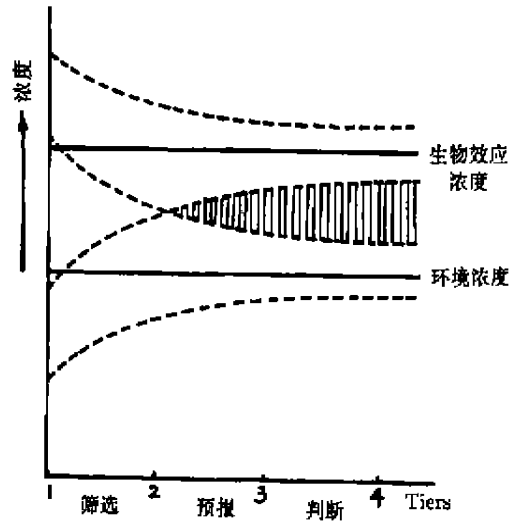


图1 公害评价系列试验中生物效应浓度和环境浓度的关系

南美和加拿大调查 202 条河流的各类水生生物, 发现藻类、原生动物、水生昆虫、鱼等在相似环境中, 种类组成随时间、空间而变化, 但是种类数相当稳定, 种类的个体数量分布也有一定的模型。微型生物也不例外, 它是客观存在的一类群落。

2.2 用 PFU 采样能收集到微型生物群落。

PFU 是 Polyurethane Foam Unit(聚氨酯泡沫

塑料块)的简写,它是三维的人工基质,可在任何时间浸没于任何水体,其孔径 100~150 μm 左右,只有微型生物(细菌、真菌、藻类、原生动物、小型轮虫等)才能进入 PFU 内,能收集到 85% 的种类,具有环境真实性。

2.3 原生动物在 PFU 内的群集过程符合生态学的一个基本原理, MacArthur-Wilson 岛屿区域地理平衡模型: $S_t = S_{eq}(1 - e^{-Gt})$, 由此式可计算出三个功能参数 S_{eq} 、 G 、 $T90\%$ 。不同的环境有不同的平衡曲线和不同的参数,这就是用 PFU 法进行水质生物监测的生态学基础。

2.4 PFU 法是群落水平上的、连续的生物监测 PFU 内生活的微型生物群落在达到平衡以后,能出现掠食、竞争等种间关系并构成食物网。有生产者、分解者、初级消费者和次级消费者,因而在群落水平上对环境作出反应。PFU 放在水中 1~3 天,反映的是 1~3 天的水质状况,能及时发现工厂泄漏事故,具有连续监测的性能。

3 PFU 法的改进及其在我国的应用和标准化

PFU 法是美国 Cairns 教授在 70 年代创立的。80 年代初与之合作研究,被引入中国。经十余年的修正、改进、验证和推广,该方法的改进和创新点有:(1)提出了四个生物参数(植鞭毛虫%、原生动物种数、多样性指数、异养性指数),建立了与化学参数有显著性相关;(2)修正了 MacArthur-Wilson 的模型,加入了环境压迫因素(H),修正公式为 $S_t = S_{eq}(1 - e^{-Gt}) / (1 + He^{-Gt})$; (3)在种类污染价的基础上建立了群落污染价,并得到验证;(4)设计的恒流稀释微宇宙(Flow-through Diluted Microcosm)装置适用于群落级毒性试验和修复试验,毒性试验可在现场进行,在 15 天内完成,结果能提出当地受纳水体中化学品的最高允许浓度(MATC)范围;(5)常规监测 1(或 3)天,能及时发现泄漏事故。若种数突然下降,即可向管理部门报警。

1983、1984、1989、1990 年由中国科学院水生生物研究所、国家环保局标准处分别举办了 4 期《微型生物群落监测》学习班。除西藏、海南、青海、台湾四省和自治区外,学员来自 26 个省市,151 名学员。除学习基本原理、方法和微型生物分类知识外,学员们还进行了野外监测和室内毒性试验,获得了满意的监测结果。在推广中对各种废水如重金属、农药、石油、发电厂热排水、化工、冶炼、印染、制药、食品加工、汽车制造、炼钢、炼焦、炼油、采石、棉纺、纺织、酿酒、制烟、化肥、航天工业以及生活污水等进行 PFU 法的监测;对我国长江、汉江、乌江、清江、沅江等用 PFU 法进行水质评价;对三峡水库、南水北调、常德市污水资源化等工程的环境效应进行预测;建立化学品(洗涤剂 LAS、 CuSO_4 和稀土化肥“农乐”)的安全浓度。PFU 法在国内得到广泛应用,证明是一种新的快速、经济、准确的监测方法。

国家环保(86)监字 405 号文件指出:鉴于生物监测刚刚起步,先在北京、上海等 20 个城市进行。据此要求,PFU 法在 1991 年时推广程度已达 95% 以上。同年 7 月经全国水质标准化技术委员会审议,8 月国家环境保护局首先通过作为中华人民共和国国家标准(GB/T12990-91,水质—微型生物群落监测—PFU 法),也是我国第一个自行制定的生物监测标准。该项成果获国家环保局 1992 年(部级)环保科技进步一等奖。1990 年出版的《微型生物监测新技术》专著是理论和实践的结合。它论述微型生物的生态原理,介绍从细胞、种、种群、群落、微宇宙、中宇宙水平的微型生物监测和毒性试验方法,提出藻类和原生动物指示种类和污染指数测定,对 749 种常见的微型生物种类进行分类描述,附有详图,并建立检索软件。此书获 1992 年全国优秀科技图书二等奖和 1994 年中国科学院科技进步二等奖。

本项目系国家自然科学基金资助的面上项目《微型生物监测方法的标准化》(No. 38670594)。项目完成成果转化全过程。

4 对 PFU 法几个问题的讨论

第一个问题: 在目前, PFU 法是否是比较好的生物监测方法?

国家环境保护局颁布的《环境监测技术规范》(以下简称《规范》)第四册生物监测(水环境)部分在生物群落法中提出五种方法: 浮游植物、浮游动物、着生生物、底栖动物和水生维管束植物。“六五”国家重大科技项目《京津地区生态系统与污染防治》中要求对北京燕山区的五条河流进行污染程度的评价。1985 年我们根据《规范》中的两种方法即经典的浮游生物沉淀法和载玻片着生生物(亦可称周从生物, Periphyton)法, 再加 PFU 法对此五条河流进行评价。结果是经典的浮游生物沉淀法效果最差, 只能监测出周口店河污染严重, 对其余四条河流无法区分。在着生生物法中, 根据多样性指数的比较, 除能监测出周口店河最差外, 还能监测出东沙河上游到下游的河流自净过程。但对其它三条河流则无法区分污染程度。只有 PFU 除采用多样性指数外, 还采用群落内种类相似系数聚类分析法, 最终把这五条河流水质从优到劣的次序排列为大石河、丁家洼河、西沙河、东沙河、周口店河(沈韞芬等, 1988)。底栖生物公认为是一种效果好的生物监测方法, 但采样器笨重, 在流速过快的而底质又硬的深水河流中采样尤为困难。有时在污染十分严重的地区根本就没有底栖生物。PFU 法只是把 PFU 悬浮在水面下, 方法简便, 不受水深、底质硬的影响, 即使在污染十分严重的地区中没有底栖生物时也能采到特别耐污染的种类(主要是动鞭毛虫)。若是连这些特别耐污的种类也没有, 那就说明是“死水”了, 曾为此而提醒过某监测站的注意。水生维管束植物不是分布很广的水生生物, 有些河流沿岸无水生维管束植物, 作为常规监

测有一定难度。PFU 法的 4 个生物参数中, 有 2 个参数与藻类有关。一是植鞭毛虫即鞭毛藻类的百分比; 另一个是异养性指数要测定叶绿素 a, 这 2 个参数都是用以反映群落中自养性生物的比例, 以此来判别水质优劣。

第二个问题: PFU 法是否适用于监测所有的工业废水?

在推广中已将 PFU 法应用于重金属、农药、石油等各种工业废水的监测。此外, 为给三峡工程可行性研究提供科学依据, 1985~1986 年在长江上游合川、江津至宜昌共 21 个江段上进行了 PFU 法的监测, 获得原生动物群落在枯水期和丰水期时的种数和多样性指数背景值。还指出长寿、万县等工业废水未经处理排入长江, 可引起长江原生动物 60%~70% 种类受到损伤。由于长江流速快, 稀释率大, 在 500~1 000 米距离内, 原生动物群落得到修复。三峡建坝后, 流速下降, 若不治理, 这种潜在的工业污染毒性就会成为严重的问题(沈韞芬等, 1987)。

第三个问题: PFU 法监测参数与化学监测参数能否在统计学上证明有相关性?

生物监测未获重视, 一个很关键的问题是缺乏令人信服的简易方法。在《常德市城河污水处理与资源化生态工程系统》项目中, 于 1986~1987 年对该市各类水体——河流、池塘、湖泊、沟渠等设 16 个站, 进行四季的原生动物群落在 PFU 上的群集过程, 获得 MacArthur 模型中的三个参数 S_{eq} (平衡时的种数)、 $T_{90\%}$ (达到 90% S_{eq} 所需时间)、 G (群集速度) 以及 HI (异养性指数) 均与化学监测中的化学综合(由 COD、 BOD_5 、溶解氧、硫化物和挥发酚 5 个项目综合) 污染指数 P 在统计学上有显著的相关性(沈韞芬等, 1991)。1992~1993 年在汉江建立了 47 个采样站, 同步进行了化学监测(含 29 个理化项目) 和生物监测(细菌、微型生物群落和大型无脊椎动物)。化学综合污染指数 P 选用了氨氮、硝酸盐氮、亚硝酸盐氮、溶解氧、

COD、BOD₅、挥发酚、氰化物 8 个控制项目。在三项生物监测中,只有 PFU 法中的 4 个生物参数均与化学综合污染指数在统计学上呈显著性相关,再次证明 PFU 法能反映客观真实性(沈韞芬等, 1995)。

第四个问题: PFU 法室内毒性试验能否正确预报毒物安全浓度?

美国参议院于 1988 年 9 月 22 日通过一项《消费者产品安全试验法令》的提案,认为 LD₅₀ 急性毒性试验是不准确的,使人误解而无益,为此联邦政府禁止使用 LD₅₀ 试验作为产品安全试验。我们认为单种毒性试验 LD₅₀ 可作为对化学品有无毒性的筛选试验,但不能完全用它作为评价公害和制定安全浓度。因为单种毒性试验的试验条件如温度、pH、试验水容量、受试时间等都有限定的范围,与自然水体中环境因子的千变万化截然不同。更何况同一种类对这种化学品毒性敏感,而对另一种化学品的毒性不敏感;对同一化学品不同种类敏感的程度也有高低。把单种毒性试验的结果外推到水生态系显然是不科学的。

国际环境标准组织(ISO)公布的大型蚤和斑马鱼的急性毒性试验也十分客观地声明“一种生物与另一种生物,由于它们的新陈代谢和习性特点不同,对一种物质或排放水的环境毒性的敏感性可以相差很大。……但所得结果不能推广至其它生物。……单独进行此种毒物试验,对于准确预报一种物质或排放水的环境毒性是不够的,还需要不同种群生物并在不同的环境条件下进行一系列试验。”(国际环境标准, P, 421, 中国标准出版社, 1986)。

生物组建水平可分为亚细胞-细胞-组织-器官-个体-种群-群落-生态系-生物圈。就保护水环境的统一性而言,生态系级的毒性试验最为理想。PFU 法的毒性试验是群落级水平的,在群落中至少有 40~50 种原生动物(包括自养性的植鞭毛虫),此外还

有藻类、真菌、细菌、小型轮虫,它们构成了有复杂食物网关系的微型生物群落,有生产者、分解者、消费者,在这个群落的生命活动中所测定的结构和功能参数是客观环境,即水质环境所赋予的,一旦水质变化,结构与功能参数也随之而变化。在加入不同浓度的化学品(或工业综合废水)后,PFU 内 40~50 种原生动物都会对该化学品(或工业综合废水)毒性强度作出不同的反应,这就不是单一种类的毒性反应,而是整个群落的毒性反应。在试验过程中,尽量使试验条件接近现场条件,如作为受试生物的群落种源可直接取自当地的水体中。化学品(或工业废水)可以直接用现场的天然水进行配比成不同的浓度。为模拟河流,试验是在恒流稀释微宇宙系统中进行。整个毒性试验快则 3 天,慢则 14 天就可以结束。根据修正的 MacArthur-Wilson 模型公式,可计算出 S_{eq} 平衡种数。在 S_{eq} 与化学品(或工业废水)浓度之间可获得显著性的相关公式,由此公式推算出 EC₅ 和 EC₂₀,即降低 5% 和 20% S_{eq} 的效应浓度,提供可靠的 MATC(最大允许毒物浓度)范围。我们进行了 LAS、Cu 的毒性试验,美国学者进行了 Cd、TEM 的试验,获得的安全浓度与国际、国内规定的水质标准相吻合。在此基础上已进行国内外尚无水质标准的稀土元素(稀土肥料“农乐”)安全浓度的推导(蔡俊鹏等, 1989; Shen 等, 1992)。

第五个问题: PFU 群落内的原生动物种类组成是随意的,还是有规律的?

自从 Kolkwitz and Marsson(1908, 1909)首先提出寡污带至多污带的五带污生系统(Saprobic zone),并列出了从细菌-鱼(包括原生动物)在各带的指示种类。后人发现这些指示生物只指示一个污生带,而事实上有不少种类在 5 个污生带中都能生存,只是对某个带特别喜欢。Zelink 等(1959, 1961)为指示生物提出两个新概念,即种类污生价(Saprobic Valency)和种类指示度(Indicative Weight of

Species)。假设每种类的污生价为 10, 在不同的污生带进行分配。分配的方法是通过该种类在各污生带出现的概率通过统计或经验得出的。指示度也是根据经验确定的, 从 1 到 5 分别表明该种对污染的指示作用由低到高。Pantle and Buck(1955) 也曾在污生系统中引入污生指数 (Saprobic Index) 的概念, 但它的基础仍是假设每种生物只是一种污生带的指示生物。Sladeczek(1973) 在前人工作基础上提出污生水平 (Saprobic Level) 的公式, 公式中引入的参数有种类的丰度 (绝对值或相对值)、指示度和污生价。此污生水平值在哪个污生带中最高, 该采样点就属于该污生带。欧洲一些国家在应用污生水平和污生指数后, 发现所得结果都过分强调 α -中污水平的成分, 与同步的化学监测不甚相符 (Madoni and Francesco, 1981; Madoni, 1993)。我们认为所有这些生物指数不是直接建立在水质化学数据的基础上, 或许这就是评价结果与实验情况有误差的原因。既然 PFU 原生动物群落的 4 个生物参数都与化学综合污染指数呈显著性相关, 那么是否也可以假设群落中的种类组成也与化学指数有某种内在的联系呢? 1992~1993 年在汉江进行水污染评价项目时, 共观察到原生动物 457 种。记录下每种原生动物在汉江 47 个采样站的分布及该站的化学综合指数 P, 根据公式得出种类污染值 (Species Pollution Value, 简称 SPV), 公式为: $SPV = \sum_{i=1}^n (\ln P)_i / n$ 。这样就得到全部原生动物的 SPV。将 SPV 值代入到各采样站的 PFU 群落种类组成中去, 获得各采样站的群落污染值 (Community Pollution Value, 简称 CPV), 公式为: $CPV = \sum_{i=1}^n (SPV)_i / n$ 。如果 SPV 是无序的, 则 CPV 不可能正确反映该站的水质, CPV 与化学综合污染指数 P 之间不会有显著性相关。结果是令人鼓舞的, 得到

的相关公式为: $CPV = 2.03231 + 0.200429 \ln P$, $r = 0.920319$, $n = 54$ 。根据此相关公式可以获得水质由清至严重污染的 5 个等级的 CPV 范围 (Jiang, *et al.*, 1994)。汉江所列的四百余种原生动物 SPV 和划分水质等级的 CPV 范围在 1986~1987 年的常德市和 1993~1994 年的东湖工作中得到了验证。从理论上又进一步证明 PFU 法的科学性。

参 考 文 献

- 1 沈韞芬, 顾曼如, 冯伟松. 长江三峡地区原生动物背景值及其对污染的评价. 见: 长江三峡工程对生态环境影响及其对策研究论文, 北京: 科学出版社, 1987, 831-840
- 2 沈韞芬, 顾曼如, 白庆笙. 水生生物学报, 1988, 12(1): 1-12
- 3 沈韞芬, 章宗涉, 龚循矩等. 微型生物监测新技术. 北京: 中国建筑工业出版社, 1990, 1-524, 48 图版
- 4 沈韞芬, 顾曼如, 冯伟松. 应用生态学报, 1991, 2(2): 168-174
- 5 沈韞芬, 冯伟松, 顾曼如等. 河流的污染监测 (中、英版本). 北京: 中国建筑工业出版社, 1995, 308
- 6 国家环境保护局规划标准处. ISO 国际环境标准. 北京: 中国标准出版社, 1986, 496
- 7 国家技术监督局, 国家环境保护局. 中华人民共和国国家标准 GB/T12990-91: 水质 — 微型生物群落监测 — PFU 法 Water Quality-Microbial Community Biomonitoring-PFU Method. 北京: 中国标准出版社, 1992, 154
- 8 蔡俊鹏, 沈韞芬, 顾曼如. 水生生物学报, 1989, 13(4): 218-233
- 9 Jiang Jianguo, Feng Weisong, Gu Manru, *et al.*, 1994 Establishment of Protozoan Pollution Value in Hanjiang River. Annual Reports of State Key Laboratory for Freshwater Ecology and Biotechnology of China, 1994, 45-64
- 10 Madoni P & Ghtti P F, *Acta Hydrobiol.*, 1981, 23:142-154
- 11—17 略