

# 用 PFU 微型生物群落毒性试验研究污染物的生态毒理效应

沈韫芬<sup>1,2</sup>

1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉市
2. 华中科技大学, 武汉市

## 摘 要

微型生物群落是水污染监测和生态毒理评价的理想受试生物。群落间和群落内的多样性十分丰富, 最能反映生态系中污染物的胁迫及其毒性效应。《水质——微型生物群落监测——PFU 法》已通过为国家标准。文中综合了近期研究的四种化学品——电镀厂出水(含混合重金属)、洗涤剂 DBS、CuSO<sub>4</sub>、稀土肥料的毒性, 提出的安全浓度与国内和国际饮用水标准相符, 对尚无标准的稀土肥料“农乐”提供了初步的安全浓度范围。对微尺度群落级毒性试验方法在原有的 MacArthur-Wilson 群集曲线法的基础上, 提出新的种类损伤法, 两种方法结果相似, 后者有更为快速、经济的优势, 尚须进一步规范。对不具致死而有致癌、致畸、致突变的遗传毒物, 如某些持久性的有机污物(POP), 对遗传毒物如何建立监控技术, 进行了探讨。

关键词: 生态毒理学, PFU 法, 微型生物群落, MacArthur-Wilson 模型, 群落级毒性试验

## 壹、前 言

在 21 世纪开创之际, 我们回顾一下, 人类社会在这 100 年的发展中已获得了巨大的物质文明和精神文明。现在, 人类面临着严重的生态危机, 具体表现是大气和水环境污染, 物种多样性减少, 森林覆盖率下降, 沙漠化的面积已占陆地面积的 1/3, 并还在继续扩大。生态圈的破坏主要由于人类经济活动的不当。如二噁英、DDT 和多氯联苯是上世纪人类制造的三种化学品及其衍生物。曾几何时还将 DDT 和多氯联苯称誉为人类的伟大发明。现在人们才了解到它们是潜伏在环境中的剧毒物品, 有人将这三类化学品称之为“世纪三毒”。

在农业和工业污染物还没有达到零排放之前, 可以说绝大多数污染物无论来自大气, 还是陆地, 最终将归为水污染。这是因为大气污染通过降雨、土壤污染及地表径流, 最后归结到水体。当然, 水体中的污染物也可以通过蒸发, 污染大气, 同样也可

以通过渗滤而浸染土壤。这里强调的是工、农业中产生的污染物之归趋。

环境保护的目的是要保护人类在内的生物, 因为人类属于地球, 但地球不仅仅属于人类。污染物一旦进入水体后, 和各种非生物和生物因子接触, 就会发生许多变化。它在水中的迁移和归宿是十分复杂的过程。因而这种污染物的毒性也会出现颞颞、叠加和协同三种效应, 并随时空而不断变化。如何正确评价它的生态毒理效应是改善环境质量、解救生态危机的重要前提之一。任何一种化学品或是工厂排放的废水, 在进入水体之前, 首先要测试它的毒性有多大, 它的安全浓度是多少, 而不是到水生态系统遭受严重破坏后, 再来控制它的排放浓度。可惜的是我国在“高资本投入、高资源消耗、高污染排放”的发展模式下, 已成为继美国之后的第二个“污染大国”。本文从生态毒理学原理着手, 以我们近年来的研究为基础, 提出应用群落级毒性试验的方法评价污染物的生态毒理效应, 希望能引起环保部门的各级干部和技术人员重视生物毒性试验的预警能力, 从而做到保护生态环境在污染发生之前。

## 贰、PFU 微型生物群落级毒性试验的生态学基础

### 一、群落有较高层次的生物组建水平属性

人们知道生物组建水平依次是: 细胞——组织——器官——种——种群——群落——生态系——生物圈。如果我们要诊断某类污染物进入环境后的生态毒理学效应, 只用某种生物的某类细胞、某种组织、某个器官或是整个有机体以至整个种群做毒性试验, 所得结果只能代表这个物种的毒性效应, 而不能代表整个环境中的生态毒理效应, 不能外推到其它物种, 更不能外推到整个生态系。因为同一种污染物对不同种类有不同的毒性效应; 而不同污染物对同一种类的毒性效应也是不同的。一般认为在自然界十分敏感的种类和十分耐受的品种是少数, 大多数种类居于其间, 也即是生物敏感性和耐受性呈正态分布的模式。目前实验室中常使用较敏感的生物以期得到较好的毒性试验结果, 但是它忽视了大多数种类是分布于敏感和耐受之间的。群落级的毒性试验可以克服这种局限性。因为群落是由许多物种组成的, 包括一定范围营养层的集合体。在这个群落内物种之间是有序地共同生活, 在结构和功能上都能反映出整个群落的内在特征。如果用它做污染物的毒理学效应, 所得结果能外推到污染物对生态系统毒性效应, 具有环境真实性。当然, 如果用模拟的人工生态系统来做毒性试验, 也有很好的效果, 但实验设施费用昂贵。

### 二、PFU 微型生物群落毒性试验的生态学基础

微型生物(Microbial)是指细菌、藻类、原生动物和小型的后生动物, 一般大小在 20~200 $\mu\text{m}$  左右。无论从生物量还是从新陈代谢活动来看, 它是地球上优势的生命类群(Cairns, et al.1998)。用它做毒性试验具有很大的优越性。首先, 它们是世界性分布的生物, 可以在不同地区和不同国家进行, 所得结果可比度大, 并可以进行重复试验, 其重复性比大型动物为好。其次, 它是群落级水平的, 比单种试验有较好的环境真实性。再次, 试验费用节省。

### 1. 微型生物群落是自然界客观存在的群落

Patrick 等(1967) 在美国、南美和加拿大研究了 202 条河流, 历时 19 年。他们发现在相似的环境中藻类、原生动物、水生昆虫、鱼类的种类组成随时间和空间而变化, 其中种类组成最高相似度是藻类, 但也仅 <50%。然而, (1) 它们的种类数相当稳定, 分别是 84(藻类)、59(原生动物)、63(水生昆虫) 和 24(鱼类); (2) 种类的个体数量呈正态分布模型, 即密度很高的和密度很低的种类是少数, 大多数种类的密度居于中间水平。因此认为在人工基质(如 PFU) 上群集的微型生物, 其种类的积累不是一个随机的过程, 而确实是一个有结构和功能特征的、客观存在的微型生物群落, 它能对污染物的毒性在群落级水平上作出反响。

2. 微型生物群落毒性试验的 PFU 法是以 MacArthur-Wilson 岛屿区域平衡学说为基础的

《水质——微型生物群落监测——PFU 法》的生态学基础就是 MacArthur-Wilson 岛屿区域平衡学说, 其模型的公式为:  $S_t = S_{eq} (1 - e^{-Gt})$ , 式中  $S_t$  是  $t$  时的种数,  $S_{eq}$  是平衡时的种数,  $G$  是群集速度常数。

Cairns 等(1969) 首次用 PFU(polyurethane foam unit 聚氨酯泡沫塑料块) 浸没于水中, 它的孔径只有 150 $\mu$ m 左右。这块 PFU 对水中的微尺度生物俨然是一个巨大的岛屿。首先群集上去的是细菌、真菌。接着是小的、有伪足的变形虫类及有色素的自养性鞭毛虫(亦称为鞭毛藻类) 和无色素的异养性鞭毛虫, 然后是纤毛虫。当这些原生动物群集到相当数量后, 就有小型的轮虫, 偶尔还有介形类、枝角类、腹毛类、昆虫幼虫和线虫等小型后生动物。其中, 单细胞的原生动物是最有效的一个类群, 它最能反映污染物所造成的生态危害, 因为它含有各个营养层次的生命。它有:

1) 能营光合作用的初级生产者(primary producer), 如有色素体的鞭毛虫——衣藻虫 *Chlamydomonas*, 隐藻虫 *Cryptomonas*, 眼虫 *Euglena*;

2) 渗透性营养的分解者(decomposers), 如无色鞭毛虫中的漂眼虫 *Astasia*;

3) 不同层次的消费者(consumers):

(1) 吃细菌和碎屑的消费者, 如异养性鞭毛类——波豆虫 *Bodo*, 领鞭虫 *Codosiga*, 小的变形类——纳氏虫 *Naegleria*, 纤毛类——游仆虫 *Euplotes*, 钟虫 *Vorticella*;

(2) 吃藻类的消费者, 如肉足类中的大变形虫 *Amoeba proteus*, 丝足类中的放射太阳虫 *Actinophrya sol*;

(3) 肉食性的消费者, 如刺胞虫 *Acanthocystis* 专吃小型纤毛类中的豆形虫 *Colpidium*, 栉毛虫 *Didinium nasutum* 专吃大型纤毛类中的尾草履虫 *Paramecium caudatum*。

PFU 原生动物群落中的种类与溶解于水中的营养物质、细菌、真菌、藻类形成一个复杂的、反映种类之间相互依存、相互竞争的食物网。这个群落中的许多种类又被小型后生动物所掠食, 构成更为复杂的微型生物群落(或称微尺度生物群落 Microscale community)。微尺度生物在向 PFU 小岛群集时, 种类数和个体数随时间而逐渐增加, 过一定时间后, 种类数就维持在平衡状态, 群集曲线达到平衡。Cairns 等(1983) 证明原生动物在 PFU 块上的群集过程完全符合 MacArthur-Wilson 模型; PFU 群集的种类数约占周围水体种数的 80%~85%, 具有环境真实性。在不同的水体中微型生物群落有

十分丰富的多样性。即使在不同污染程度的水体中, 微型生物群集曲线也均符合 MacArthur-Wilson 的模型, 只是  $S_{eq}$ 、 $G$ 、 $T_{90\%}$ (达到 90%  $S_{eq}$  所需的时间) 有所不同, 因此它可以作为水质污染监测的一种新方法(沈韞芬等, 1990,1997)。由于 MacArthur-Wilson 模型没有考虑环境胁迫因素( $H$ ), 因此我们将此公式修正为  $S_t = S_{eq} (1 - e^{-Gt}) / 1 + He^{-Gt}$ , 如果水是干净的, 则  $H$  为 0, 此修正公式即为 MacArthur-Wilson 原公式(王继忠等, 1989)。

### 叁、微型生物群落毒性试验的应用和验证

#### 一、试验步骤和方法

##### 1. PFU 种源(Epicenter)的制备

PFU 是 Polyurethane foam unit (聚氨酯泡沫塑料块) 的缩写。白色或淡黄色的泡沫塑料块均可。将它切割成 50mm×65mm×75mm 的 PFU。使用前在蒸馏水中浸泡 12~24 小时。用时挤去水分, 再用细绳将 PFU 束腰捆紧。就地选择无污染、比较干净的水体, 将 PFU 悬挂在水面下。一般流水中曝露时间为 3 天, 静水中 15~20 天。此时 PFU 内已群集了许多微型生物种类。接近平衡期的种数  $S_{eq}$  是对毒性反应敏锐的、新组合的群落, 最适于做毒性试验的种源 PFU。

##### 2. 微宇宙(Microcosm)毒性试验的布局及试验程序

可分静态试验和动态试验两类。动态试验除适用于易降解的毒物外, 还可模拟河流的流速。微宇宙的布置是在试验盘(缸)的中央挂放种源 PFU, 在其周围挂放等距离的空白 PFU。这样, 种源 PFU 中的原生动物就会选移到空白 PFU 内。如果采用稀释因子(Dilution factor) 0.5, 理论上可得到毒物浓度为 100%、50%、25%、12.5%、6.25% 以及对照组 0% 等各浓度组。稀释水须用挂种源 PFU 的、当地比较干净的过滤水, 这样更具有现实性。在试验系统中按 0.5(流动系统中补加一次)、1、3、7、11、15 天采样 PFU, 进行原生动物种类镜检, 就可以得到不同浓度的原生动物群集曲线, 再用统计方法求出毒物在群落级水平上的效应浓度  $EC_5$ 、 $EC_{20}$ , 得到安全浓度范围。

#### 二、应用和验证

我们曾对电镀厂出水(含混合重金属)、洗涤剂(DBS)、 $CuSO_4$  和稀土肥料的安全浓度进行毒性试验, 除洗涤剂(DBS) 是动态试验外, 其余均为静态试验。

##### 1. 电镀厂出水(含混合重金属)

Shen et al.(1986) 在美国弗吉尼亚黑堡地区的一条小河——Ceder Run 进行污染物的毒性监测试验。该河有两处污染源——生物处理厂和电镀厂的排放废水。混合重金属含有 Cd、Cu、Pb、Zn、Ni 等。共设 10 个采样站, 同步进行 PFU 法野外监测和室内毒性试验。均用 MacArthur-Wilson 岛屿区域地理平衡模型的原理测定 PFU 群集过程中的  $S_{eq}$ 、 $G$ 、 $T_{90\%}$  三个功能参数。室内毒性试验的种源 PFU 是用 Ceder Run 河对照站的 PFU 群落。实验装置是静态的。主要结果为: 无论野外还是室内, 原生动物种数( $Y$ ) 和重金属浓度( $X$ ) 成显著性相关, 公式为:

$$Y = 50.0 + (-17.06) \log X, \quad (r = 0.73, p < 0.005, n = 10) \quad (\text{野外})$$

$$Y = 56.08 + (-22.45) \log X, \quad (r = 0.73, p < 0.005, n = 10) \quad (\text{室内})$$

根据这两个相关公式, 预报了重金属的效应浓度(EC), 如表 1 所示。

表 1 重金属的效应浓度(EC)

	EC5 (ug/L)	EC20 (ug/L)
室内	18	48
野外	31	51

EC5 表示 5% 的原生动物种类消失, EC20 表示 20% 的原生动物种类消失。从环境保护的目的是要保护 95% 生物物种, 因此 EC5 应是安全浓度, 而 EC20 是最高的警戒阈值。将室内和野外的相关曲线综合后, 最后得出重金属的 EC20 是 44 $\mu\text{g/L}$ , 符合国际标准。这次试验首次揭示了 PFU 室内毒性试验与野外 PFU 监测试验相符, 说明 PFU 室内毒性试验具有一定的预报能力, 并得到了符合国际标准的验证。

## 2. 洗涤剂 DBS (十二烷基苯磺酸钠)

考虑到工厂的废水排放一般都进入河流, 而洗涤剂又比较容易降解, 因而设计了流水型的毒性试验装置。种源 PFU 来自武昌东湖 I 站。为了与传统的单种毒性试验方法比较, 同步进行了种级(一种尾草履虫 *Paramecium caudatum*, 五种四膜虫 *Tetrahymena* spp.)、种群级(美洲四膜虫 *T. Americanis*) 和群落级(PFU 法) 的毒性试验(蔡俊鹏等, 1989)。主要结果如表 2 所示。

表 2 种级、种群级和群落级的毒性试验

	种 级		种群级		群落级	
	LC50	MATC*	LC50	MATC*	EC20	EC5
	(ppm)		(ppm)		(ppm)	
AF 0.1	7.0	0.7	17.21	1.721	0.51	0.1681
AF 0.01	7.0	0.07	17.21	0.1721	0.3	0.2

\*MATC(maximum acceptable toxicant concentration 最大可接受的毒物浓度) 的计算公式为:  
 $\text{MATC} = \text{LC}_{50} \times \text{AF}$ 。

上述结果表明, 种级水平的毒性试验结果与之相距甚远, 没有预报能力, 证明单种的  $\text{LC}_{50}$  半致死浓度只能对毒性测试起初步的扫描作用。种群级水平的结果略好些, 但它取决于 AF(applied factor 应用因子) 的选用。AF 范围为 0.1~0.0001, 选用哪个档次的 AF, 决定于毒物的毒性和降解速度。考虑到 DBS 毒性不大, 故取 AF 为 0.1 和 0.01 进行计算。如果选用 AF 0.1, 则预报的 MATC 比饮用水标准高得多; 如果选用 AF 0.01,

比较接近国际标准。因此,在很大程度上渗入了个人的主观因素,就很难反应出毒物客观存在的安全浓度。在 PFU 群落级毒性试验中获得了原生动物的种数( $Y$ ) 和洗涤剂(DBS)浓度( $X$ ) 的相关公式  $Y = 29.7281 - 5.6277 X$  ( $r = 0.9557, n=4, p < 0.05$ ), 由此求出 DBS 的 EC5 及 EC20。预报出 MATC 不得高于 0.5 ppm, 最好低于 0.17ppm。这一结果验证符合饮用水标准。

### 3. 硫酸铜和稀土肥料(农乐)

我国有丰富的稀土元素储藏量,20 世纪 70 年代起就被广泛地作为肥料用于农业生产。稀土肥料“农乐”含 38% 稀土元素,包括  $CeO_2$  49%~51%,  $La_2O_3$  25%~30%,  $Nd_2O_3$  15%~17%,  $Pr_6O_{11}$  5%~6%,  $Sm_2O_3 < 0.03\%$ 。CuSO<sub>4</sub> 和“农乐”的毒性试验均采用静态的 PFU 微型生物群落毒性试验法(冯伟松等, 1990; Shen et al., 1992), 结果如表 3 所示。

表 3 毒性试验结果

化学物	种数和浓度的相关公式	EC5(ppm)	EC20 (ppm)
CuSO <sub>4</sub>	$Y = 35.9615 e^{-2X} + 5$ ( $r=0.99, n=4, p<0.013$ )	0.056	0.234
稀土肥料	$Y=9.08-0.32 X$ ( $r=0.86, n=6, p<0.05$ )	3.042	12.594

验证表明 CuSO<sub>4</sub> 的毒性试验所预报的安全浓度符合我国公布的地面水标准。稀土元素在国内外均未公布安全浓度标准。目前我国农业上使用“农乐”的范围是(4~10) ppm, 与我们预报的 EC5 到 EC20 的范围(3.042~12.594) ppm 比较接近。但“农乐”的稀土元素成分较为复杂, 我们没有做各种纯稀土元素的毒性试验, 故此结果仅是初步的, 有待深入测试。

## 肆、微尺度群落级毒性试验新的探索

从上述四种化学品的毒性试验中可以说明群落级毒性试验比较可靠, 预报的安全浓度接近国家和国际标准。我们都知道国家和国际标准的制定是以各种生物, 如大型蚤、斑马鱼等的 LC<sub>50</sub> 急性毒性试验、亚致死毒性试验、慢性毒性试验为基础的, 还要做整个发育史, 如从鱼卵——鱼苗——幼鱼——成鱼——下一代鱼卵的影响。试验周期长, 费用高。对比之下, 微型生物群落的毒性试验时间短, 一般在十五天左右, 费用低。由于它是基于生态学上一个著名理论——MacArthur-Wilson 的岛屿平衡模型基础上, 而且可以用当地的微型生物群落作为种源, 因此结果比较可靠。

但是, 如果工厂出现事故, 化学物溢流的突然事件发生, 要立即判断毒性效应时, 能否就地进行快速的 PFU 群落级毒性试验呢? 这是困扰了很久的一个难题。中国科学院水生生物研究所原生动物分类和生态学实验室(冯伟松等, 1999) 探索了直接用 PFU 微型生物群落做毒性试验的方法, 不须用微宇宙静态或动态设施, 免去做复杂的

MacArthur-Wilson 理论的群集曲线之麻烦。

第一步先做勘察试验。用原生动物尾草履虫(*Paramecium caudatum*)做不同浓度  $\text{CuSO}_4$  的 24h.  $\text{LC}_{50}$  半致死毒性试验, 得出致死率 ( $Y$ ) 和  $\text{CuSO}_4$  ( $X$ ) 的回归方程为  $Y = 9.23 + 2.4 X$  ( $n = 4, r = -0.9866, p < 0.0134$ )。由此方程用内插法获得草履虫的 24h.  $\text{LC}_{50}$  的  $\text{CuSO}_4$  浓度为 0.17 ppm。

第二步做正式试验。将勘察试验的  $\text{LC}_{50}$  浓度放大 10 倍作为 PFU 原生动物群落毒性试验的最大浓度。按比例配比  $\text{CuSO}_4$  系列浓度为 1.68、0.84、0.42、0.105 ppm 和对照组, 共五组浓度。在武昌东湖水质较好的后湖中浸 PFU 30 天, 作当受试原生动物群落种源。整个毒性试验用同一块 PFU 挤出液。用容量为 30 mL 的自制烧杯取代过去用 16 L 试验盘(缸)。各试验系统中  $\text{CuSO}_4$  浓度配制如下:

PFU 挤出液(mL)	15	14.85	14.5	14	13
5ppm $\text{CuSO}_4$ (mL)	0	0.129	0.5	0.42	2
	对照组	0.105 ppm	0.42 ppm	0.84 ppm	1.68 ppm

每个浓度有三个平行样, 置于常温条件。三天后检查原生动物种数如表 4 所示。

表 4 不同硫酸铜浓度下原生动物种数

	样 1	样 2	样 3
对照组	43	41	42
0.105ppm 组	37	37	36
0.42 ppm 组	29	30	30
0.84 ppm 组	24	23	26
1.68 ppm 组	14	15	17

三天后, 对照组平均有 42 种原生动物, 而其它各浓度组存活的种数( $Y$ ) 依  $\text{CuSO}_4$  浓度( $X$ ) 增加而递减, 其回归方程为:  $1/Y = 0.0235 + 0.024 X$  ( $n = 5, r = 0.9953, p < 0.00038$ )。根据此方程可求得  $\text{EC}_5$ ,  $\text{EC}_{20}$ ,  $\text{EC}_{50}$ 。与上述用 MacArthur-Wilson 群集曲线的方法求得  $\text{CuSO}_4$  的  $\text{EC}_5$ 、 $\text{EC}_{20}$  十分接近, 比较结果如表 5 所示。

表 5 两种方法比较结果

	$\text{EC}_{50}$	$\text{EC}_{20}$	$\text{EC}_5$
MacArthur-Wilson 群集曲线法	0.9994ppm	0.263ppm	0.065ppm
种类损伤(taxonomic loss)法	0.757 ppm	0.234ppm	0.056ppm

事实上这两种方法都是测试在毒物的胁迫下还有多少种类能存活下来。用种类损伤法进行毒性试验, 显然具有试验场地小、时间短的优点。更重要的是它可以在任何

地点、任何季节、任何水体进行现场(in situ) 的毒性试验, 也就是说用当地的微型生物群落直接进行生态毒理学测试, 具有更好的环境真实性。

但这个方法尚须进一步规范化。譬如在不同地区、不同水体(池塘、湖泊、水库、河流等)、不同营养程度的水质中取得的 PFU 微型生物群落, 作为受试生物进行  $\text{CuSO}_4$  的快速种类损伤法试验, 能否也取得相近的结果呢? 迄今为止, 华中科技大学环境科学研究所已在三个省(湖北、河南、福建) 的池塘、河流、湖泊中, 取其 PFU 微型生物群落作为种源进行  $\text{CuSO}_4$  的种类损伤毒性试验, 均可得出原生动物种数( $Y$ ) 与  $\text{CuSO}_4$ ( $Y$ ) 呈显著性相关。由相关公式求得的  $\text{EC}_5$ 、 $\text{EC}_{20}$ 、 $\text{EC}_{50}$  十分接近(待发表)。

## 伍、展 望

另一个困扰了很久的问题, 就是有许多持留性有机污染物(Persistent Organic Pollutants, POPs) 并不立即产生致死效应, 但它具有强烈的致癌、致畸、致突变性, 是一类遗传毒物, 因而对环境和人类产生更为严重的潜在威胁。而在一般的污水处理厂中对 POPs 几乎完全没有去除能力。如何建立对这类遗传毒物进行快速而有效的监控技术, 包括对遗传毒物的筛选——确认——验证 (screen——identification—— verification) 三个层次的技术, 是当前水污染毒理学研究中不容忽视的问题。从目前我国国情出发, 首先是解决遗传毒物的筛选技术。上海市环境科学研究院生态毒理研究所殷浩文教授(私人通讯) 用发光细菌、蚕豆根系微核试验和斑马鱼 DNA 指纹图三种方法对上海市饮用水取水口、污水治理厂的进出口进行遗传毒物的监控已取得一定结果。为了筛选和确认遗传毒物, 我们也许要从群落水平回到细胞水平上来, 测试单细胞原生动物的表型(除微核外, 如自由基、生物发光、细胞膜通道、电生理乃至 DNA 基因突变等)。这也是目前正在兴起的分子生态学中的一个重要领域。

## 参 考 文 献

- [1] 王继忠, 沈韞芬, 顾曼如. 对 PFU 法中 MacArthur-Wilson 平衡模型的修改. 水生生物学报 1989, 13(4): 312~318
- [2] 冯伟松, 胡东利, 顾曼如, 沈韞芬. 硫酸铜对微型生物群落毒性效应的研究. 中国原生动物学学会第五次学术讨论会论文摘要汇编, 1990. 103 页
- [3] 冯伟松, 余育和, 沈韞芬, 顾曼如. 一种快速的 PFU 生物群落毒性试验方法. 中国原生动物学学会第十次学术讨论会论文摘要汇编, 1999. 53~54
- [4] 沈韞芬, 章宗涉, 龚循矩, 顾曼如, 施之新, 魏印心. 微型生物监测新技术. 北京: 中国建筑工业出版社, 1990. 1~524
- [5] 沈韞芬, 顾曼如, 冯伟松. 水污染的微型生物监测. 见: 生命科学, 1997, 9(2): 81~85
- [6] 蔡俊鹏, 沈韞芬, 顾曼如. 十二烷基苯磺酸钠(DBS) 对原生动物的毒性效应. 水生生物学报, 1989, 13(3): 218~233
- [7] Cairns J Jr, Dahlberg M L, Ddickson K L, Smith N and Waller W T. The relationship of freshwater protozoan communities to the MacArthur-Wilson Equilibrium



modal. *Am. Nat.*,1969,103(933):439~454

[8] Cairns J Jr, Plaffkin J L, Kaesler R L and Lowe R L Early colonization patterns of diatoms and protozoa in fourteen freshwater lakes. *J. Protozool.*,1983,31(1):47~51

[9] Cairns J Jr, Niederlehner B R And Smith E P Correspondence of a microscale toxicity test to responses to toxicants in natural systems. In: Wells PG , Lee K, Blaise C and Gauthier J. eds. *Advances, Techniques and Practive*, CRC Press, Boca Raton, 1998.539~547

[10] MacArthur R and Wilson E O An equilibrium theory of insular zoogeography. *Evolution*, 1963(17):373~387

[11] Shen Y F, Buikema A L Yong Jr W H Pratt Jr J R and Cairns J Jr. Use of protozoan communities to predict environmental effects of pollutants. *Protozool*,1986,33(2):146~151

[12] Shen Y F, Gu M R and Fung W S. Single species and community microbiota tests of toxicity of rare earth. *Proceedings of the Sixth International Symposium on River and Lake Environment*, Environmental Research Institute, Kangweon National University. Republic of Korea,1992.270~279