



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110724723 B

(45) 授权公告日 2023. 04. 07

(21) 申请号 201910949565.7

G06F 17/18 (2006.01)

(22) 申请日 2019.10.08

C12R 1/89 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 110724723 A

(56) 对比文件

CN 106501474 A, 2017.03.15

CN 103472194 A, 2013.12.25

CN 105137055 A, 2015.12.09

CN 110241173 A, 2019.09.17

CN 103983727 A, 2014.08.13

CN 105044317 A, 2015.11.11

CN 102121935 A, 2011.07.13

WO 03061567 A2, 2003.07.31

(43) 申请公布日 2020.01.24

(73) 专利权人 南京信息工程大学

地址 210044 江苏省南京市江宁区宁六路
219号

韩双等. 基于微藻运动性的海洋污染物生态
毒性效应研究.《海洋科学》.2019, 第43卷(第6
期), 34-41.

(72) 发明人 王长友

审查员 夏向东

(74) 专利代理机构 南京经纬专利商标代理有限

公司 32200

专利代理师 刘传玉

(51) Int. Cl.

C12Q 1/02 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

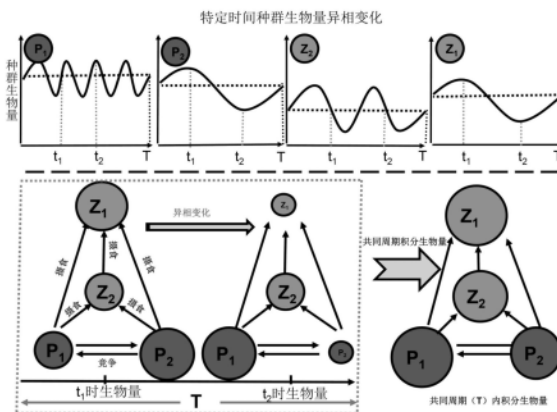
权利要求书2页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

一种测算污染物生态毒性效应半效浓度的
方法

(57) 摘要

本发明公开了一种测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法, 基于种群水平上的毒性效应实验结果, 利用种群间的生态关系构建群落毒性效应模型, 将若干种群水平上的反应终点与群落水平上的反应终点关联起来, 由种群水平上的污染物浓度与毒性效应之间的定量关系构造出群落水平上的污染物浓度与毒性效应之间的定量关系, 以一定污染物浓度下群落中各种群共同周期积分生物量中值偏离对照群落共同周期积分生物量中值的程度作为半效浓度的判据, 计算污染物生态毒性效应半效浓度。本发明不仅提高了半效浓度的生态相关性, 还可以充分利用现有的大量单物种种群毒性效应实验数据, 节约社会资源。



1. 一种测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法,其特征在于,包含以下步骤:步骤1),进行单藻培养体系毒性效应实验,计算不同污染物浓度下微藻种群的内禀增长率、环境容纳量;

步骤2),进行浮游动物种群毒性效应实验,计算不同污染物浓度下浮游动物的存活率、繁殖速率、内禀增长率、世代时间、以及不同污染物浓度下浮游动物种群的雌体抱卵率和种群增殖率,并以此为反应终点分析污染物对浮游生物种群的毒性效应;

步骤3),基于浮游生物种群毒性效应实验结果,计算各反应终点下的 EC_{10} 、 EC_{50} 、 EC_{90} 及其95%置信区间,分析不同反应终点下生态毒性效应的敏感性、可靠性和稳定性,确定测算生态毒性效应半效浓度即 EC_{50} 的反应终点,构建种群毒性效应模型;

步骤4),进行双藻竞争实验,计算微藻的竞争抑制参数;

步骤5),进行浮游动物对微藻的摄食实验,计算浮游动物对于微藻的滤水率和摄食率;

步骤6),进行浮游动物对微藻的选食行为实验,计算浮游动物对于微藻的摄食选择性系数;

步骤7),进行大中型浮游动物对小型浮游动物的摄食实验,计算大中型浮游动物对小型浮游动物滤水率和摄食率;

步骤8),进行大中型浮游动物对小型浮游动物的选食行为实验,计算大中型浮游动物对小型浮游动物的摄食选择性系数;

步骤9),构建具有摄食-竞争关系的群落模型,基于种群水平上的反应终点,通过种群毒性效应模型建立起污染物浓度与种群水平上的毒性效应之间的定量关系,通过Logistic生长模型和Lotka-Voterra捕食模型建立群落模型,并将种群水平上的反应终点作为群落模型参数嵌入到群落模型中,污染物浓度与模型参数之间的变化关系通过若干种群水平上反应终点的毒性效应函数来构造,建立群落毒性效应模型;

步骤10),基于群落毒性效应模型模拟计算群落中各个生物种群生物量的变化周期,进而计算它们的最小公倍数,获得群落中各种群生物量变化的共同周期,计算在预设的各个污染物浓度下群落共同周期内的积分生物量及其中值;

步骤11),以预设的各个污染物浓度下群落中任意种群共同周期积分生物量中值偏离对照群落该种群共同周期积分生物量中值的50%作为生态毒性效应半效浓度的判据,综合运用模型计算及数理统计方法,测算污染物生态毒性效应半效浓度,所述污染物生态毒性效应半效浓度为群落中各种群共同周期积分生物量中值偏离对照群落该种群共同周期积分生物量中值的50%的最小污染物浓度,并进行不确定性分析。

2. 根据权利要求1所述的测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法,其特征在于,所述步骤1)的具体步骤如下:

步骤1.1),以实验室繁育的微藻为对象,过滤海水添加适量营养盐作为培养液,置于培养瓶中,按照预设的培养温度、盐度、光照强度、微藻初始密度、光周期在光照培养箱中培养;

步骤1.2),根据预设的污染物浓度间隔,每组设置3个平行样;每天在显微镜下进行种类鉴定和计数,并在实验对象种群出现衰亡时结束实验;

步骤1.3),利用Logistic生长模型拟合获得微藻内禀增长率和环境容纳量,分析污染物对微藻种群的毒性效应。

3. 根据权利要求1所述的测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法,其特征在於,所述步骤2)的具体步骤如下:

步骤2.1),进行浮游动物单体培养:

步骤2.1.1),选择健康活泼的浮游动物成熟雌体,每个盛有培养液的产卵瓶放1只;

步骤2.1.2),根据预设的污染物的浓度间隔,每组设置10个平行样,根据预设的培养温度在恒温下培养;每天检查计数产卵个数、孵化出的幼体数和母体存活情况,并移去幼体,同时按约1/2的比例换培养液水,并添加饵料藻;实验到雌体死亡为止;

步骤2.1.3),计算浮游动物存活率、繁殖速率、内禀增长率、世代时间,分析污染物对浮游动物种群的毒性效应;

步骤2.2),进行浮游动物群体累计培养:

步骤2.2.1),定量移取活泼健壮、相同条件下预培养的浮游动物若干只置于盛有培养液的烧杯中;

步骤2.2.2),根据预设的污染物的浓度间隔,每组设3个平行样,在恒温下培养,培养时间到种群增长达到高峰并开始下降为止;在实验期间每隔24h投喂饵料一次;每天计数浮游动物总个体数、抱卵个体数、脱落的夏卵数量;

步骤2.2.3),计算浮游动物雌体抱卵率和种群增殖率,分析污染物对浮游动物种群的毒性效应。

4. 根据权利要求1所述的测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法,其特征在於,所述步骤4)的具体步骤如下:

步骤4.1),将实验微藻两两混合,根据培养液中藻细胞密度和单个藻细胞生物体积的大小设定微藻的初始接种生物量,使共培养微藻生物量比为1:1;

步骤4.2),利用Lotka-Volterra竞争模型拟合获得竞争抑制参数。

5. 根据权利要求1所述的测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法,其特征在於,所述步骤5)的具体步骤如下:

步骤5.1),将预培养的浮游动物分别在相应要摄食的微藻中驯化培养3-5d,再饥饿24h;

步骤5.2),在烧杯中进行实验,微藻密度为预设的最适投喂密度阈值,每个烧杯加入若干浮游动物,每实验组设3个平行样,另设不加浮游动物的对照组;用黑布将实验烧杯罩住在黑暗条件下培养24h;

步骤5.3),采用饵料浓度差法,24h后,在显微镜下血球计数板计数并计算藻细胞密度;

步骤5.4),计算浮游动物对于微藻的滤水率和摄食率。

6. 根据权利要求1所述的测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法,其特征在於,所述步骤6)的具体步骤如下:

步骤6.1)将微藻两两混合,投喂选取的浮游动物,根据单个藻细胞生物体积的大小确定混合比例,使两种微藻生物量比为1:1,每个烧杯加入若干浮游动物,每实验组设3个平行样,另设不加浮游动物的对照组;用黑布将实验烧杯罩住在黑暗条件下培养24h;

步骤6.2),采用饵料浓度差法,计算浮游动物对于微藻的摄食率;

步骤6.3),根据浮游动物对不同微藻的摄食程度确定其摄食选择性系数。

一种测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及水环境保护领域,尤其涉及一种测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法,具体来说是利用群落内各种群生物量变化的共同周期、通过共同周期时间范围内积分生物量中值测算环境污染物生态毒性效应半效浓度的方法。

背景技术

[0002] 水质基准的核心是剂量效应关系,其基础环节是污染物生态毒性效应阈值浓度的确定方法。国际有影响的机构组织,如美国环保局(USEPA)、欧盟联合研究中心(EUC)及世界经济与合作组织(OECD)等都在研究更为完善的污染物阈值浓度测算方法。USEPA、EUC及OECD等机构组织发布的“技术指南”在计算水质基准时,主要采用了个体水平反应终点的毒性数据。尽管反应终点水平越微观,实验结果的因果关系越强,但生态学意义越不显著,个体水平及以下的反应终点难以满足推导水质基准的需要。即使同一生态受体的多个反应终点,对污染物不利效应的表征能力往往不同。目前通常的做法都是选择最敏感的反应终点做为确定阈值浓度的反应终点。然而一个个体水平上最敏感的反应终点所确定的毒性效应并不必然反映种群毒性效应,这是因为种群效应并不必然由最敏感的生命周期特征决定。同样,一个种群水平上最敏感的反应终点所确定的毒性效应并不必然反映群落或生态系统毒性效应,这是因为生态系统中竞争、摄食等生态关系影响污染物的毒性效应。尽管生态受体所处的生命组建层次越高,相应的反应终点综合反映生态系统毒性效应的能力越强,然而由于技术条件限制,目前只有种群水平上的反应终点可以定量测量。因此目前污染物生态毒性效应阈值浓度研究多限于单物种毒性实验,缺乏考虑生态系种群间的生态相关性,致使研究结果的真实性和可靠性降低。

[0003] 随着生态毒理学的发展,生态学领域包含多种群的群落构建技术被引入到污染物生态毒性效应半效浓度测算中,利用人工组建的生态系统开展环境污染物毒性效应的测算,一定程度提高了生态毒性效应半效浓度的可靠性。然而由于存在多重竞争和摄食关系,包含多种群的群落是复杂的非线性系统,群落中各种群的生物量呈周期性变化,且变化周期也不相同。群落在污染物存在条件下,各种群生物量变化发生剧烈振荡,不同污染物浓度下其种群生物量的振荡周期、振荡强度不同。因此,群落振荡系统各种群在同一特定时间的生物量可比性很低,作为毒性反应终点分析不同染物浓度的毒性效应,其可靠性、重复性都很低;基于特定时间的种群生物量测算的污染物生态毒性效应半效浓度,也具有较大的不确定性。即由于振荡周期的不同,各处理组特定时间种群生物量所处周期的相位不同,其可比性、代表性将会降低,由此测算的生态毒性效应的可靠性、重复性也将降低。

[0004] 目前还没有利用群落共同周期积分生物量中值提高污染物生态毒性效应半效浓度测算结果可靠性的相关报道。本发明的测算方法能够提高包含多种群的群落的生态毒性效应半效浓度测算的可靠性,有助于完善污染物生态毒性效应半效浓度的推导方法,有助于夯实环境管理的科学基础,促进工农业生产和生态环境和谐发展。

发明内容

[0005] 本发明所要解决的技术问题是针对背景技术中所涉及到的缺陷,提供一种测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法。

[0006] 本发明为解决上述技术问题采用以下技术方案:

[0007] 本发明公开了一种测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法,基于种群水平上的毒性效应实验结果,利用种群间的生态关系构建群落毒性效应模型,将若干种群水平上的反应终点与群落水平上的反应终点关联起来,由种群水平上的污染物浓度与毒性效应之间的定量关系构造出群落水平上的污染物浓度与毒性效应之间的定量关系,以一定污染物浓度下群落中各种群共同周期积分生物量中值偏离对照群落共同周期积分生物量中值的程度作为半效浓度的判据,计算污染物生态毒性效应半效浓度,具体包括以下步骤:

[0008] 步骤1),进行单藻培养体系毒性效应实验,计算不同污染物浓度下微藻种群的内禀增长率、环境容纳量;

[0009] 步骤2),进行浮游动物种群毒性效应实验,计算不同污染物浓度下浮游动物的存活率、繁殖速率、内禀增长率、世代时间、以及不同污染物浓度下浮游动物种群的雌体抱卵率和种群增殖率,并以此为反应终点分析污染物对浮游生物种群的毒性效应;

[0010] 步骤3),基于浮游生物种群毒性效应实验结果,计算各反应终点下的 EC_{10} 、 EC_{50} 、 EC_{90} 及其95%置信区间,分析不同反应终点下生态毒性效应的敏感性、可靠性和稳定性,确定测算生态毒性效应半效浓度即 EC_{50} 的反应终点,构建种群毒性效应模型;

[0011] 步骤4),进行双藻竞争实验,计算微藻的竞争抑制参数;

[0012] 步骤5),进行浮游动物对微藻的摄食实验,计算浮游动物对于微藻的滤水率和摄食率;

[0013] 步骤6),进行浮游动物对微藻的选食行为实验,计算浮游动物对于微藻的摄食选择性系数;

[0014] 步骤7),进行大中型浮游动物对小型浮游动物的摄食实验,计算大中型浮游动物对小型浮游动物滤水率和摄食率;

[0015] 步骤8),进行大中型浮游动物对小型浮游动物的选食行为实验,计算大中型浮游动物对小型浮游动物的摄食选择性系数;

[0016] 步骤9),构建具有摄食-竞争关系的群落模型,基于种群水平上的反应终点,通过种群毒性效应模型建立起污染物浓度与种群水平上的毒性效应之间的定量关系,通过Logistic生长模型和Lotka-Voterra捕食模型建立群落模型,并将种群水平上的反应终点作为群落模型参数嵌入到群落模型中,污染物浓度与模型参数之间的变化关系通过若干种群水平上反应终点的毒性效应函数来构造,建立群落毒性效应模型;

[0017] 步骤10),基于群落毒性效应模型模拟计算群落中各个生物种群生物量的变化周期,进而计算它们的最小公倍数,获得群落中各种群生物量变化的共同周期,计算在预设的各个污染物浓度下群落共同周期内的积分生物量及其中值;

[0018] 步骤11),以预设的各个污染物浓度下群落中任意种群共同周期积分生物量中值偏离对照群落该种群共同周期积分生物量中值的50%作为生态毒性效应半效浓度的判据,综合运用模型计算及数理统计方法,测算污染物生态毒性效应半效浓度,所述污染物生态毒性效应半效浓度为群落中各种群共同周期积分生物量中值偏离对照群落该种群共同周

期积分生物量中值的50%的最小污染物浓度,并进行不确定性分析。

[0019] 作为本发明一种测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法进一步的优化方案,所述步骤1)的具体步骤如下:

[0020] 步骤1.1),以实验室繁育的微藻为对象,过滤海水添加适量营养盐作为培养液,置于培养瓶中,按照预设的培养温度、盐度、光照强度、微藻初始密度、光周期在光照培养箱中培养;

[0021] 步骤1.2),根据预设的污染物浓度间隔,每组设置3个平行样;每天在显微镜下进行种类鉴定和计数,并在实验对象种群出现衰亡时结束实验;

[0022] 步骤1.3),利用Logistic 生长模型拟合获得微藻内禀增长率和环境容纳量,分析污染物对微藻种群的毒性效应。

[0023] 作为本发明一种测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法进一步的优化方案,所述步骤2)的具体步骤如下:

[0024] 步骤2.1),进行浮游动物单体培养:

[0025] 步骤2.1.1),选择健康活泼的浮游动物成熟雌体,每个盛有培养液的产卵瓶放1只;

[0026] 步骤2.1.2),根据预设的污染物的浓度间隔,每组设置10个平行样,根据预设的培养温度在恒温下培养;每天检查计数产卵个数、孵化出的幼体数和母体存活情况,并移去幼体,同时按约1/2的比例换培养液水,并添加饵料藻;实验到雌体死亡为止;

[0027] 步骤2.1.3),计算浮游动物存活率、繁殖速率、内禀增长率、世代时间,分析污染物对浮游动物种群的毒性效应;

[0028] 步骤2.2),进行浮游动物群体累计培养:

[0029] 步骤2.2.1),定量移取活泼健壮、相同条件下预培养的浮游动物若干只置于盛有培养液的烧杯中;

[0030] 步骤2.2.2),根据预设的污染物的浓度间隔,每组设3个平行样,在恒温下培养,培养时间到种群增长达到高峰并开始下降为止;在实验期间每隔24h投喂饵料一次;每天计数浮游动物总个体数、抱卵个体数、脱落的夏卵数量;

[0031] 步骤2.2.3),计算浮游动物雌体抱卵率和种群增殖率,分析污染物对浮游动物种群的毒性效应。

[0032] 作为本发明一种测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法进一步的优化方案,所述步骤4)的具体步骤如下:

[0033] 步骤4.1),将实验微藻两两混合,根据培养液中藻细胞密度和单个藻细胞生物体积的大小设定微藻的初始接种生物量,使共培养微藻生物量比为1:1;

[0034] 步骤4.2),利用Lotka-Volterra 竞争模型拟合获得竞争抑制参数。

[0035] 作为本发明一种测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法进一步的优化方案,所述步骤5)的具体步骤如下:

[0036] 步骤5.1),将预培养的浮游动物分别在相应要摄食的微藻中驯化培养3-5d,再饥饿24h;

[0037] 步骤5.2),在烧杯中进行实验,微藻密度为预设的最适投喂密度阈值,每个烧杯加入若干浮游动物,每实验组设3个平行样,另设不加浮游动物的对照组;用黑布将实验烧杯

罩住在黑暗条件下培养24h;

[0038] 步骤5.3),采用饵料浓度差法,24h 后,在显微镜下血球计数板计数并计算藻细胞密度;

[0039] 步骤5.4),计算浮游动物对于微藻的滤水率和摄食率。

[0040] 作为本发明一种测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法进一步的优化方案,所述步骤6)的具体步骤如下:

[0041] 步骤6.1)将微藻两两混合,投喂选取的浮游动物,根据单个藻细胞生物体积的大小确定混合比例,使两种微藻生物量比为1:1,每个烧杯加入若干浮游动物,每实验组设3个平行样,另设不加浮游动物的对照组;用黑布将实验烧杯罩住在黑暗条件下培养24h;

[0042] 步骤6.2),采用饵料浓度差法,计算浮游动物对于微藻的摄食率;

[0043] 步骤6.3),根据浮游动物对不同微藻的摄食程度确定其摄食选择性系数。

[0044] 步骤7)、步骤8)的详细步骤参照步骤5)、步骤6)即可。

[0045] 本发明采用以上技术方案与现有技术相比,具有以下技术效果:

[0046] 本发明基于群落中各种群生物量的周期性变化,通过生物种群间的生态关系,构建群落毒性效应模型,计算群落中各种群生物量变化的共同周期,进而计算共同周期内各种群的积分生物量及其中值,不仅解决了同一特定时刻各种群生物量周期的相位差异带来的可比性差的问题,而且解决了由污染物浓度不同造成的各种群生物量变化振荡周期、振荡强度差异带来的不同处理间生物量可比性差的问题,提高污染物生态毒性效应半效浓度测算的可靠性、准确性。此外,本发明方法可以利用种群水平上的毒性效应数据测算群落水平上的污染物生态毒性效应半效浓度,不仅提高了半效浓度的生态相关性,还可以充分利用现有的大量单物种种群毒性效应实验数据,节约社会资源。本发明方法涉及的生物毒性实验都是常规实验,针对监测生物设计的群落模型可应用于不同污染物,便于在广大水质环境监测部门推广使用。

附图说明

[0047] 图1是群落中各种群特定时间生物量与共同周期积分生物量示意图;

[0048] 图2是污染物浓度不同造成的各种群生物量振荡周期、振荡强度变化示意图;

[0049] 图3是各种群共同周期积分生物量中值(ξ)、群落共同周期积分生物中值(TB)量随石油烃浓度变化示意图。

具体实施方式

[0050] 下面结合附图对本发明的技术方案做进一步的详细说明:

[0051] 本发明可以以许多不同的形式实现,而不应当认为限于这里所述的实施例。相反,提供这些实施例以便使本公开透彻且完整,并且将向本领域技术人员充分表达本发明的范围。在附图中,为了清楚起见放大了组件。

[0052] 本发明公开了一种测算污染物生态毒性效应半效浓度的方法,以浮游生物种群毒性效应实验为基础,获取模型参数,构建群落毒性效应模型,计算一定污染物浓度下群落中各种群共同周期时间范围内的积分生物量及其中值,进而计算污染物半效浓度。方法的科学性可以通过群落对照实验结果,分析模型的拟合优度,并验证半效浓度计算结果来评估,

如图1所示,图中, t_1 、 t_2 分别为两个特定时间; T 为共同周期; P_1 、 P_2 、 Z_2 、 Z_1 面积相对大小代表种群 P_1 、 P_2 、 Z_2 、 Z_1 生物量相对大小。

[0053] 1、生态毒性效应实验及参数获取:

[0054] (1) 单种微藻毒性效应实验

[0055] 采用实验室繁育获得青岛大扁藻 (*Platymonas helgolandica*) 和球等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*), 过滤海水调节盐度至9, 添加适量营养盐作为培养液, 置于1000mL锥形瓶中, 在光照培养箱中培养。培养温度15℃ (或23℃, 分别与后面实验中两种浮游动物的适宜培养温度相配合), pH 8.0, 光照强度 $60\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 初始密度均为 $1\times 10^4\text{cells mL}^{-1}$, 光周期12L:12D。石油烃污染物设6个浓度梯度, 包括对对照。每组设置3个平行样。每隔24h取5mL培养液, 加入固定液, 在显微镜下进行种类鉴定和计数。实验对象种群出现衰亡时结束实验。根据实验结果利用Logistic生长模型拟合获得微藻内禀增长率、环境容纳量等参数。

[0056] (2) 双藻竞争实验

[0057] 将青岛大扁藻、球等鞭金藻混合, 根据培养液中藻细胞密度和单个藻细胞生物体积的大小设定微藻的初始接种生物量, 使共培养微藻生物量比为1:1, 其他培养条件及检测指标也与单藻毒性效应实验相同。根据实验结果利用Lotka-Volterra竞争模型拟合获得竞争抑制参数。

[0058] (3) 浮游动物种群毒性效应实验

[0059] 单体培养 选择健康活泼的大型溞 (*D. magna*) (或褶皱臂尾轮虫 (*B. plicatilis*)) 成熟雌体, 分别放进15mL的6孔培养板。污染物的浓度设6个浓度梯度, 包括对对照, 每组设置10个平行样。实验在23℃下恒温培养, 每天检查计数产卵个数、孵化出的幼体数和母体存活情况, 移去幼体, 同时按约1/2的比例换海水, 并添加饵料藻, 实验到雌体死亡为止。根据实验结果可计算浮游动物存活率、繁殖速率、内禀增长率、世代时间等。

[0060] 群体累计培养 定量移取活泼健壮、相同条件下预培养的大型溞 (或褶皱臂尾轮虫) (初始密度为 10ind mL^{-1}) 置于盛有300mL培养液的烧杯中。污染物的浓度设6个浓度梯度, 包括对对照, 每组设3个平行样。实验在23℃下培养。培养时间到种群增长达到高峰并开始下降为止。在实验期间每隔24h投喂饵料一次。每天计数浮游动物总个体数、抱卵个体数、脱落的夏卵数量 (计数后再放回原培养物中), 连续重复三次, 求出平均数。根据实验结果可计算浮游动物雌体抱卵率和种群增殖率等。

[0061] (4) 浮游动物摄食、选食行为实验

[0062] 分别将青岛大扁藻、球等鞭金藻单独喂养大型溞 (或褶皱臂尾轮虫)。浮游动物由实验室繁育获得, 实验前先将预培养的浮游动物分别在相应要摄食的微藻中驯化培养3-5d, 再饥饿24h。实验在150mL烧杯中进行, 实验藻液体积为50mL, 微藻密度根据预实验设置为最适投喂密度, 温度为23℃, 每个烧杯加入 10 ind mL^{-1} 大型溞 (或褶皱臂尾轮虫), 每实验组设3个平行样, 另设不加浮游动物的对照组。用黑布将实验烧杯罩住在黑暗条件下培养24h。采用饵料浓度差法, 24h后计数, 鲁哥氏液固定藻液, 在显微镜下血球计数板计数并计算藻细胞密度, 根据实验结果可计算大型溞 (或褶皱臂尾轮虫) 对于微藻的滤水率和摄食率。大型溞对褶皱臂尾轮虫的物摄食、选食行为实验方法步骤同上。

[0063] 将青岛大扁藻、球等鞭金藻混合, 投喂大型溞 (或褶皱臂尾轮虫), 根据单个藻细胞

生物体积的大小确定混合比例,使两种微藻生物量比为1:1,其他实验条件步骤同上。采用饵料浓度差法,计算大型溘(或褶皱臂尾轮虫)对于微藻的摄食率,根据其对不同微藻的摄食程度计算其摄食选择性系数。

[0064] (5)群落毒性效应实验

[0065] 将青岛大扁藻、球等鞭金藻混合,使共培养微藻生物量比为1:1,取大型溘、褶皱臂尾轮虫接种到微藻混合液中,并添加污染物。初始接种的微藻生物量、浮游动物生物量及添加的污染物浓度间隔同上。浮游动物选取活泼健壮、相同条件下预培养的个体,实验前先在相应的微藻混合液中驯化培养3-5d,再饥饿24h,使之排空肠道。实验在10L玻璃容器中进行,23℃下培养。每实验组设3个平行样,另设不加污染物的对照组。其他培养条件与单藻毒性效应实验相同。每天观察计数浮游生物种类和数量变化,计数方法同上述相应实验。根据实验系统中浮游生物种群数量稳定持续时间情况决定实验结束时间。如图2所示,图中,t₁、t₂分别为两个特定时间;T₁为污染物浓度C₁条件下的共同周期;T₂为污染物浓度C₂条件下的共同周期;T₁>T₂。

[0066] 2、种群毒性效应参数的获取:

[0067] 根据种群毒性实验测定结果,应用Log-logistic模型计算不同种群毒性反应终点(微藻种群的内禀增长率、环境容纳量等参数,浮游动物种群的存活率、繁殖速率、内禀增长率、世代时间、雌体抱卵率、种群增殖率、滤水率和摄食率等参数)下EC₁₀、EC₅₀、EC₉₀及其95%置信区间,分析不同反应终点下毒性效应的敏感性、可靠性和稳定性。

[0068] 结论:通过反应终点分析,发现微藻种群的内禀增长率、环境容纳量等参数,浮游动物种群的存活率、内禀增长率、滤水率和摄食率等参数具有较高的敏感性、可靠性和稳定性,可以作为种群水平上的反应终点,建立种群毒性效应模型,表征种群水平上的污染物生态毒性效应。

[0069] 3、群落毒性效应模型构建:

[0070] 根据双藻竞争实验和浮游动物摄食、选食行为实验测定的参数,基于Logistic生长模型和Lotka-Voterra捕食模型建立群落模型,其中微藻生长考虑密度制约,浮游动物生长不考虑密度制约,污染物浓度与模型系数之间的变化关系通过若干基于种群水平上反应终点的毒性效应函数来构造,这样便将种群毒性效应模型嵌入到群落模型当中,构建成群落生态毒性效应模型。

[0071] 结果分析:利用竞争-摄食等生态关系建立起来的群落模型,将若干种群水平上的反应终点与群落水平上的反应终点关联起来,由种群水平上的污染物浓度与毒性效应之间的定量关系构造出群落水平上的污染物浓度与毒性效应之间的定量关系。

[0072] 4、群落中各种群共同周期积分生物量的计算

[0073] 在上述实验条件下,群落中各个生物种群生物量呈周期性变化,且变化周期也不尽相同(T_{Z1}, T_{Z2}, T_{P1}, T_{P2})。应用群落毒性效应模型模拟计算群落中各种群生物量的变化周期(最小正周期),计算它们的最小公倍数,获得整个群落各种群生物量变化的共同周期(T),进而计算一定污染物浓度下整个群落共同周期积分生物量及其中值M_T(Z_{1T}, Z_{2T}, P_{1T}, P_{2T})。

[0074] 结果分析:群落共同周期积分生物量能够表征群落生物量的周期变化特征。以一定污染物浓度下整个群落共同周期积分生物量中值作为毒性效应的反应终点,不仅比种群水平上的反应终点具有更高的生态相关性,而且比特定时间生物量作为反应终点具有更高

的代表性、可比性和可靠性。

[0075] 5、半效浓度的测算及验证：

[0076] 群落共同周期积分生物量中值是群落水平上的毒性效应反应终点。在一定的污染物浓度条件下，群落共同周期积分生物量中值 $M_T(Z1_T, Z2_T, P1_T, P2_T)$ 发生变化，偏离原来群落共同周期积分生物量中值 $M_{T0}(Z1_{T0}, Z2_{T0}, P1_{T0}, P2_{T0})$ ，这里我们将群落中任意种群共同周期积分生物量中值 $\xi_{Tc}(\xi_{Tc}=Z1_{Tc}, Z2_{Tc}, P1_{Tc}, P2_{Tc})$ 偏离原群落相应种群共同周期积分生物量中值 $\xi_{T0}(\xi_{T0}=Z1_{T0}, Z2_{T0}, P1_{T0}, P2_{T0})$ 的50%时的最小污染物浓度作为群落生态毒性效应半效浓度，并应用蒙特-卡罗方法进行阈值浓度的不确定性分析，如图3所示。

[0077] 将群落毒性效应实验中各污染物浓度下浮游生物种群生物量测定结果 $(Z1_t, Z2_t, P1_t, P2_t)$ 与模型计算的相应结果 $(Z1_t, Z2_t, P1_t, P2_t)$ 进行比对，计算得到模型拟合优度 $R^2 > 0.9$ ，检验模型计算的群落共同周期积分生物量中值 $M_T(Z1_T, Z2_T, P1_T, P2_T)$ 与实验测定的群落共同周期积分生物量中值 $M_T(Z1_T, Z2_T, P1_T, P2_T)$ 没有显著性差异，从而验证了模型计算结果的可靠性。

[0078] 结论：以一定污染物浓度下群落中任意种群共同周期积分生物量中值偏离对照实验群落相应种群共同周期积分生物量中值的程度为半效浓度的判据，通过迭代逼近方法计算任意种群共同周期积分生物量中值偏移对照实验50%的污染物浓度，各种群最小半效浓度 (EC_{50}) 作为群落的半效浓度，其置信区间通过蒙特-卡罗方法获得。石油烃的生态毒性效应半效浓度测算结果为 $3.6 \pm 0.2 \text{mg/L}$ 。

[0079] 应用本发明的方法，基于青岛大扁藻、球等鞭金藻、褶皱臂尾轮虫、大型溞等种群毒性效应实验数据，以群落模型计算的共同周期积分生物量中值偏离程度为判据测算的污染物生态毒性效应半效浓度，与由青岛大扁藻、球等鞭金藻、褶皱臂尾轮虫、大型溞构成的实验群落的测定结果基本一致。这一结果进一步验证了由群落共同周期积分生物量中值作为反应终点测算污染物生态毒性效应半效浓度的可操作性及可靠性，同时也表明了本发明方法在水环境污染毒性效应半效浓度测算中具有一定的应用价值。

[0080] 本技术领域技术人员可以理解的是，除非另外定义，这里使用的所有术语(包括技术术语和科学术语)具有与本发明所属领域中的普通技术人员的一般理解相同的意义。还应该理解的是，诸如通用字典中定义的那些术语应该被理解为具有与现有技术的上下文中的意义一致的意义，并且除非像这里一样定义，不会用理想化或过于正式的含义来解释。

[0081] 以上所述的具体实施方式，对本发明的目的、技术方案和有益效果进行了进一步详细说明，所应理解的是，以上所述仅为本发明的具体实施方式而已，并不用于限制本发明，凡在本发明的精神和原则之内，所做的任何修改、等同替换、改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

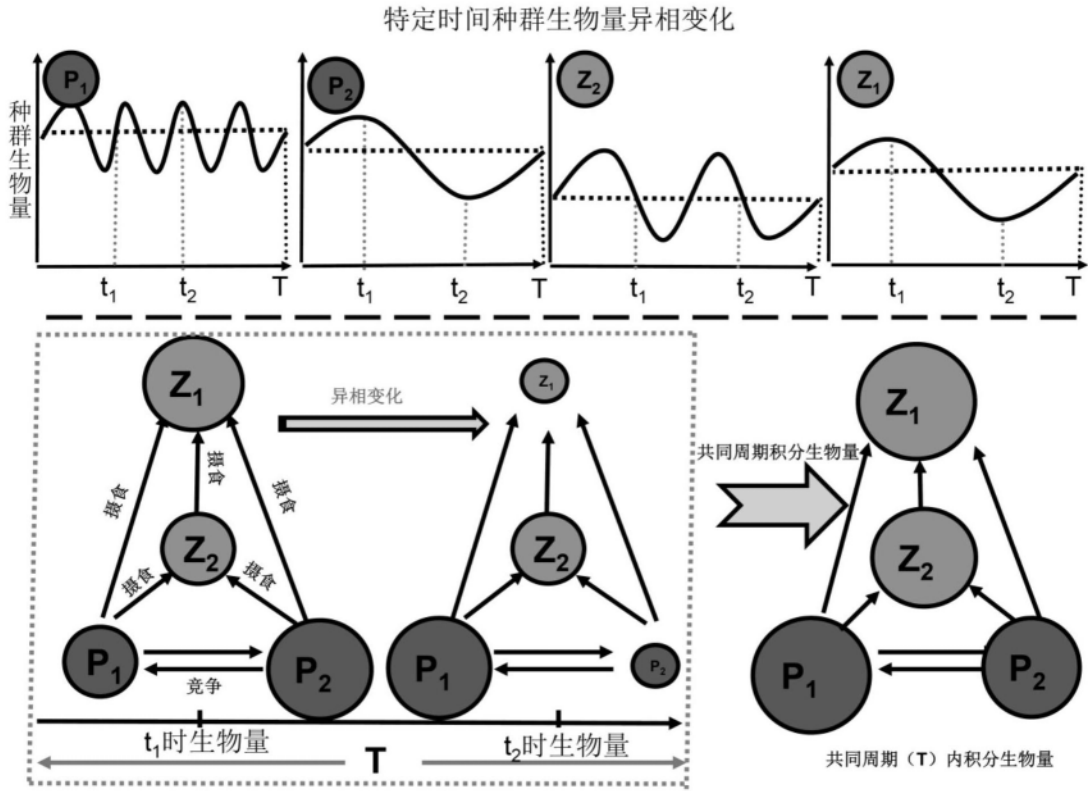


图1

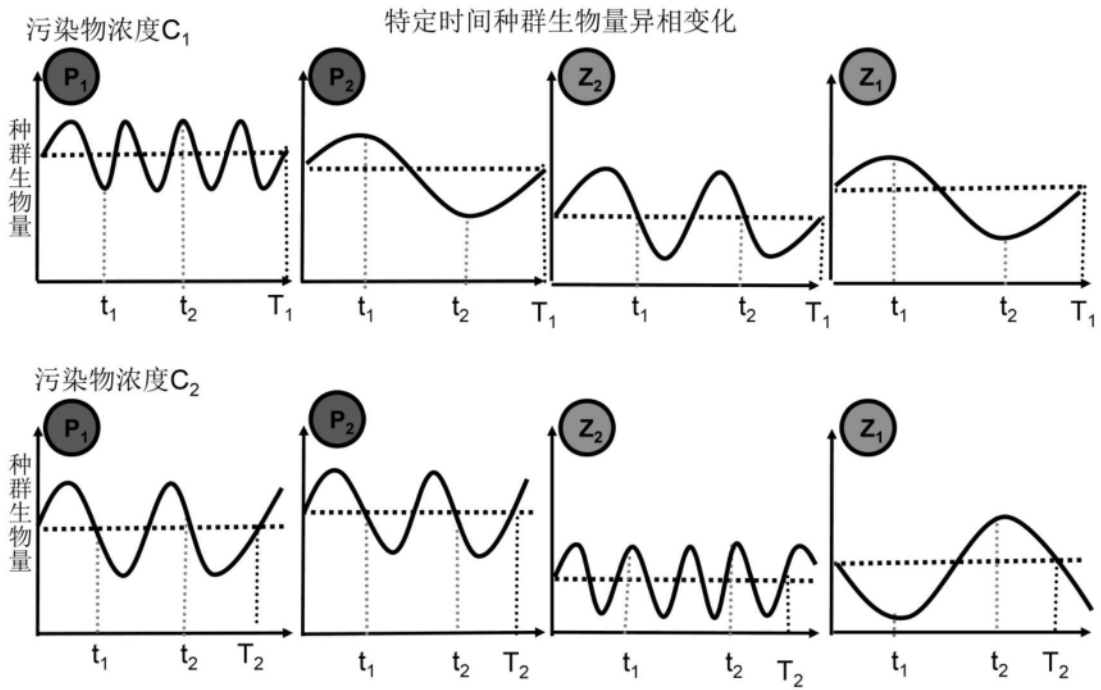


图2

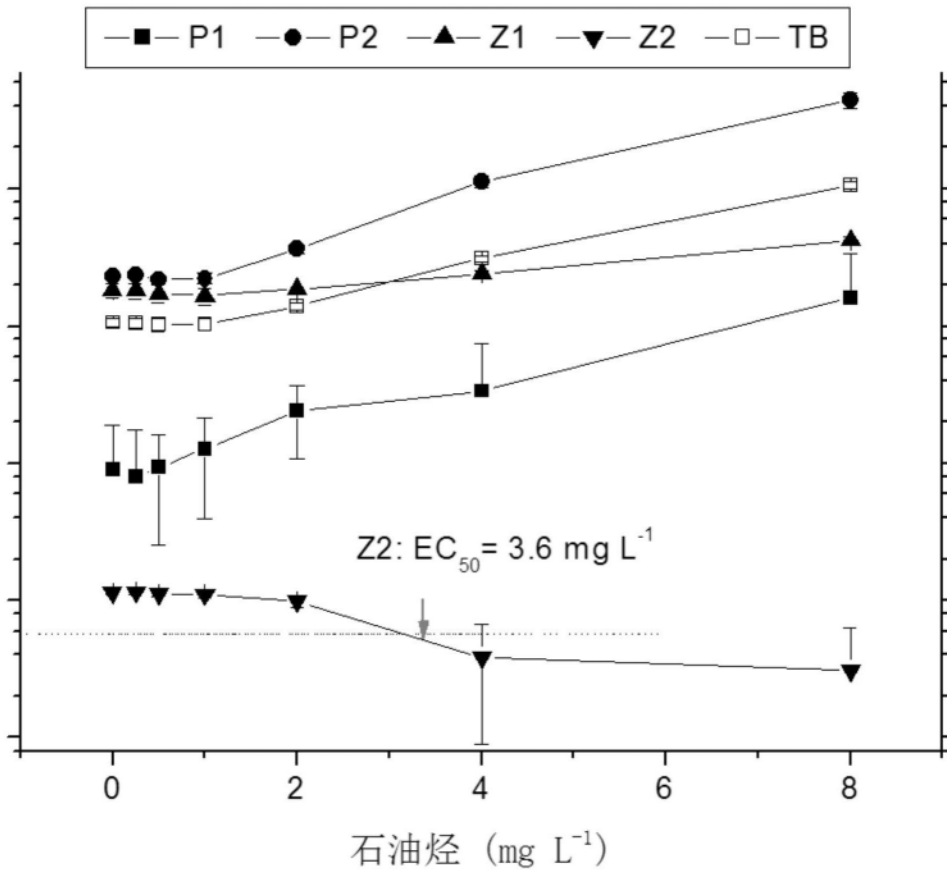


图3