

用梨形四膜虫繁殖抑制试验 作为毒理指标的探讨

翟淑妙 白述昌 徐维玲

(河北省卫生防疫站)

梨形四膜虫 (*Tetrahymena Pyriformis*) 为单细胞真核动物。国内有利用直接计数法获得重金属对其细胞分裂影响的报告。国外有用测定其脱氢酶活性, 评价重金属对四膜虫影响的研究。我们用比浊法, 评价了六种环境毒物对四膜虫的影响。

方法与步骤

一、材料

虫株 无小核梨形四膜虫 HS₁ 单株, 由河北省肿瘤研究所提供。

毒物 硝酸铅、氯化汞、三氧化二砷、硫酸铜、硫酸锌及马拉硫磷。均以分析纯试剂配制成不同浓度的中性无菌标准液。其中马拉硫磷以二甲基亚砷作架桥溶剂。

培养基 胰蛋白胨 1%、多肽 1%、葡萄糖 0.5%。

二、方法与步骤

全部实验过程要求严格无菌。培养液控制 pH 值为 7.0, 培养温度为 27℃。

1. 生长曲线制备

首先通过生长曲线的制备, 找出四膜虫生长繁殖最旺盛时期。逐日测定虫口密度, 以虫口密度和培养天数在坐标纸上作出生长曲线图。斜率最大的天数即为繁殖最旺盛时期。以此期的细胞进行繁殖抑制试验。

2. 消光值和虫口密度曲线图

对繁殖旺盛期的细胞悬浮液, 逐级进行二倍稀释, 测定各稀释细胞悬浮液的消光值,

并同时计数虫口密度。以虫口密度对消光值作曲线, 可看出它们之间呈直线关系。因此, 可通过测定消光值代替计数法。

3. 确定正常繁殖范围

在严格控制同一条件下, 通过实验规定出消光值的正常值范围。共作 32 组正常繁殖试验, 经统计学处理, 采用消光值的均值 ± 2 倍标准差作为四膜虫正常繁殖范围值。然后根据这个正常值范围判定不同毒物对四膜虫的繁殖抑制浓度。在判断其受抑制的程度时, 采用以下三个等级: 以消光值大于均值减 2 倍标准差为不抑制, 相当阈下浓度; 以消光值小于均值减 2 倍标准差以下为明显抑制, 相当于毒作用阈; 以消光值接近 0, 镜下无细胞为完全抑制, 相当于致死浓度。

结果与分析

经过反复试验, 初步获得了不同浓度的硫酸锌、硫酸铜、三氧化二砷、马拉硫磷、硝酸铅及氯化汞六种毒物对四膜虫细胞分裂的影响。每种毒物都能找出不抑制浓度、明显抑制浓度和完全抑制浓度。结果见表 1。

从表 1 可看出, 汞的毒性最大, 其次为铅、马拉硫磷和砷、铜、锌。另外在四膜虫繁殖完全被抑制之前, 有一个虫体变形、缩小的阶段。

我们将这一资料同动物毒理试验及卫生标准相联系, 试作了以下分析。

先将本实验结果同大鼠的毒作用阈比较

表 1 六种毒物影响细胞分裂的浓度(mg/l)

毒 物	不抑制 (阈下浓度)	明显抑制 (阈浓度)	完全抑制 (致死浓度)
ZnSO ₄	80	100	600
CuSO ₄ ·5H ₂ O	70	100	400
As ₂ O ₃	15	20	30
C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	5	10	50
[Pb(NO ₃) ₂]	1	2	3
HgCl ₂	0.1	1	3

表 2 梨形四膜虫同大白鼠毒理

试验结果比较单位: mg/l

毒 物	阈下浓度			阈浓度		
	四膜虫	大白鼠	相差 倍数	四膜虫	大白鼠	相差 倍数
ZnSO ₄	80	—	—	100	30	3.3
CuSO ₄ ·5H ₂ O	70	—	—	100	>6	<6
As ₂ O ₃	15	0.2	75	20	2	10
C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	5	—	—	10	20	2
[Pb(NO ₃) ₂]	1	$\begin{Bmatrix} 1 \\ 0.1 \end{Bmatrix}$	0—10	2	$\begin{Bmatrix} 10 \\ 2-4 \end{Bmatrix}$	0—5
HgCl ₂	0.1	0.01	10	1	0.1	10

(见表 2)。

用四膜虫抑制试验获得的阈下浓度和阈浓度同大白鼠试验结果比较接近,相差多数在 10 倍以内,唯砷的阈下浓度差距较大。据资料介绍,同一种属不同个体的实验动物所获得的结果变异系数约为 1—10,不同种属间的变异系数约为 10。因此一个种属的个体与另一个种属个体间的总变异可达 100。因此,可以认为四膜虫的实验结果与大鼠的实验结果基本一致。

用梨形四膜虫繁殖抑制实验资料和各国饮用水卫生标准相比较,试用以推测毒物在水中是否合乎标准。将实验资料的阈下浓度

除以 100,用动物外推于人的方法,采用 1/100 的安全系数,所得结果和我国及世界卫生组织现行水质标准非常接近(表 3)。

表 3 梨形四膜虫测得数值和各

国饮水标准比较(mg/l)

毒物	测得数值 (阈下浓度/100)*	中国	WHO	欧洲	美国	苏联
铜	0.70	1.0	1.0	0.05	1.0	0.05
锌	0.80	1.0	5.0	5.0	5.0	(1.0)
砷	0.15	0.04	0.2	0.2	0.01	0.05
汞	0.001	0.001	—	—	0.05	(0.005)
铅	0.01	0.1	0.1	0.1	0.05	0.1
马拉硫磷	0.05	(0.25)	—	—	(0.01)	(0.05)

* 按饮水标准均采用了 1/100 倍的安全系数,因此,应以阈下浓度值除以 100 与各国标准比较。括号内为地面水标准。

通过以上比较,我们认为四膜虫繁殖抑制试验能比较近似地推断出环境毒物阈浓度和在水中的允许浓度。可以作为毒理实验的一种手段。

小 结

本实验获得了六种毒物对梨形四膜虫繁殖抑制试验的结果。这些结果与大白鼠等动物毒理实验结果有不少吻合之处。用动物外推法,将各种毒物对梨形四膜虫细胞分裂的不抑制浓度均除以 100,与中外各国的饮用水水质标准相比较,结果接近或非常接近。此法快速、简便,比较稳定,变异系数较小(8%)。因此,梨形四膜虫繁殖抑制试验完全有可能作为环境毒理学的一种快速筛选方法。

(参考文献从略)

更正: 本刊 1984 年 2 期第 70 页《稀土对生物的影响》一文作者应为丁桂村,误为丁桂树,特此更正,并向作者致歉。