

大型溞在水质在线生物安全预警仪中的应用及研究

张 聪*, 刘 湛#, 刘亚诗

武汉市天泉慧源环保科技有限公司, 湖北 武汉

收稿日期: 2023年3月11日; 录用日期: 2023年4月14日; 发布日期: 2023年4月21日

摘要

本研究采用水质在线生物安全预警仪为测试仪器, 其原理为通过机器视觉技术识别水生生物的行为而对水质进行持续监测, 计算机根据大型溞各项行为参数建立的毒性值模型公式, 高效快速地评价出受测水体的毒性大小。为了检验仪器测试结果的精密度, 以及比对不同仪器测试结果的差异, 以大型溞为指示生物, 以配制的标准水为测试水体, 经过一系列测试, 结果表明: 1. 水质在线生物安全预警仪的精密度或稳定性性能良好, 在可接受的范围内; 2. 三台水质在线生物安全预警仪的测试结果, 经过配对t检验验证, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。同时, 本文以大型溞为指示生物, 以常见的Cr⁶⁺重金属以及农业中常用的吡虫啉、溴氰菊酯两种农药为试验毒物, 探讨不同毒物胁迫下, 大型溞在水质在线生物安全预警仪中的运动行为学参数(游泳速度、运动幅度、运动范围)及存活率的变化规律。实验结果表明: 1. 大型溞在受到毒害后, 其运动行为及存活率会发生显著变化; 2. 大型溞在同一毒物不同浓度胁迫下, 游泳速度、运动幅度和运动范围及存活率的响应时间不同, 浓度越大, 响应时间越早, 但行为的变化趋势相似。

关键词

大型溞, 在线监测, 生物预警, 运动行为, 存活率

Study on *Daphnia magna* Applied to the Online Biosafety Early Warning Instrument of Water Quality

Cong Zhang*, Zhan Liu#, Yashi Liu

Wuhan Tianquan Huiyuan Environmental Protection Technology Company Limited, Wuhan Hubei

*第一作者。

#通讯作者。

Received: Mar. 11th, 2023; accepted: Apr. 14th, 2023; published: Apr. 21st, 2023

Abstract

In this study, the water quality online biological early warning instrument was used as the testing instrument, whose principle is to use machine vision technology to identify the behavior of aquatic organisms, and according to the model formula of toxicity value established by the behavior parameters of *Daphnia magna*, the toxicity of the tested water was evaluated efficiently and quickly by computer to continuously monitor water quality. In order to check the precision of the test results of the instrument, and compare the differences between the test results of different instruments, taking *Daphnia magna* as the indicator organism and standard water as the test water, the results show that: 1. The precision or stability of the water quality online biosafety early warning instrument is good and within the acceptable range. 2. The test results of three online water quality biosafety early warning instruments, verified by paired *t*-test, showed no statistical significance ($P > 0.05$). Next, this paper describes a laboratory experiment investigating the behaviors (swimming speed, motion elevation, motion rang) and the survival rate of *Daphnia magna*, that is the biological indicator when being exposed to three toxicant substances: they are heavy metal cation Cr(VI) and two commonly used pesticides (Imidacloprid, deltamethrin). The experimental results show: 1. The movement behavior and survival rate of *Daphnia magna* were significantly changed after being poisoned; 2. The response time of swimming speed, motion elevation, motion rang and survival rate of *Daphnia magna* were different under the stress of the same toxin concentration, the higher the earlier the response time, but the change trend of behavior was similar.

Keywords

Daphnia magna, Online Monitoring, Biological Early Warning, Movement Behavior, Survival Rate

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

突发性水体环境污染事故是指在日常社会生产和生活中所使用的危险品在生产、运输、使用、存储和处置的整个过程中，由于自然灾害或者是人为操作失误和疏忽等因素，在瞬间导致具有剧毒或者恶性的污染物质大量、非正常的排放或泄露，对水环境造成严重污染和破坏，给人民的生命和国家财产造成重大损失的恶性事故。有毒和危险化学品向水环境的意外泄漏，不仅会对人类造成重大危害，对生物的生存形成威胁，更会破坏水生态系统平衡。有效的水质预警技术不仅可以降低突发性环境污染物对水生态平衡的破坏，更有利于保障人类饮用水的安全。

目前，国内外科研工作者已经将生物运动作为监测对象，进行水体突发性污染事故的在线生物预警研究[1] [2] [3]。生物可以通过行为调节机制保持体内环境的相对稳定[4]。在一定环境胁迫下，生物行为反应是生物对外界环境和内部生理变化的外在体现[5]。水生生物所表现出的行为生态学改变，是体现环境质量问题的最灵敏指标[6]。将受污染水体中水生生物的运动方式、生活习性等作为检测水环境质量的依据，具备突出的可靠性与科学性[7]。因此，通过监测生物行为变化实现水体突发性污染事故的在线安全预警是非常有研究前景的生物预警监测技术。在早期警报系统分析中，多选择的是无脊椎动物作为分析对象[8] [9]。大型溞(*Daphnia magna*)对水体内化学物质的变化非常敏感[10]，用于运动的触角数量很多，

其中第二对触角是主要的运动器官[11]，运动形式多样，且幅度大，因此大型溞可以用于在线生物监测的指示生物。在 1991 年，Persone 应用了高速摄像系统进行水质监测，该系统在当前仍发挥着重要的作用 [12]。本研究以大型溞为指示生物，以常见的 Cr⁶⁺重金属以及农业中常用的吡虫啉、溴氰菊酯两种农药为试验毒物，研究毒物胁迫下大型溞的运动行为(游泳速度、运动幅度、运动范围)、存活率等 4 个参数的变化，探讨不同毒物胁迫下，大型溞 4 个参数变化的共性与差异，为利用大型溞监测水质状况提供依据。

2. 材料及方法

2.1. 实验材料

2.1.1. 实验溞种

实验用大型溞(*Daphnia magna* Straus)为野外采集，经过分离、纯化，在显微镜下鉴定确认为大型溞后，选择体大、健康的母体数个，用 50 mL 小烧杯单个培养。选择繁殖量最大的一代为母溞，单克隆化，使之成为纯品系。在 2 L 的烧杯中，加入 2 L 培育水，加入 10 个~20 个大型溞，投喂新鲜的栅藻液，使藻浓度为 6×10^6 个/mL~ 8×10^6 个/mL，在室内自然光照条件下进行培养，避免阳光直射，培养温度 15℃~25℃，pH 值为 7.5 ± 0.5 ，溶解氧 2 mg/L 以上，每周全换培养液 3 次。按照《大型溞急性毒性实验方法》(GB/T 161235-2012)相关要求，定期检查大型溞的敏感性：测定重铬酸钾的 24 h EC₅₀，20℃时重铬酸钾的 24 h EC₅₀应在 0.5 mg/L~2.0 mg/L 之间，同时对照组大型溞的受抑制率不能超过 10%。为便于大型溞运动行为轨迹拍摄，选择出生 4 d~5 d，体长在 1.5 mm~2.0 mm(含尾长)之间的水溞进行实验(太小会造成跟踪拍摄困难)。

2.1.2. 实验试剂

(1) 实验用标准水

a、氯化钙溶液

将 11.76 g 氯化钙(CaCl₂·2H₂O)溶于水中定容至 1 L；

b、硫酸镁溶液

将 4.93 g 硫酸镁(MgSO₄·7H₂O)溶于水中定容至 1 L；

c、碳酸氢钠溶液

将 2.59 g 碳酸氢钠(NaHCO₃)溶于水中定容至 1 L；

d、氯化钾溶液

将 0.25 g 氯化钾(KCl)溶于水中定容至 1 L。

各取以上四种溶液 50 mL 混合，稀释至 2 L。必要时可用氢氧化钠溶液或盐酸溶液调节 pH 值，使其稳定在 7.8 ± 0.2 。并曝气 1 h 左右，使 DO > 5 mg/L。

(2) 重铬酸钾(K₂Cr₂O₇)——分析纯

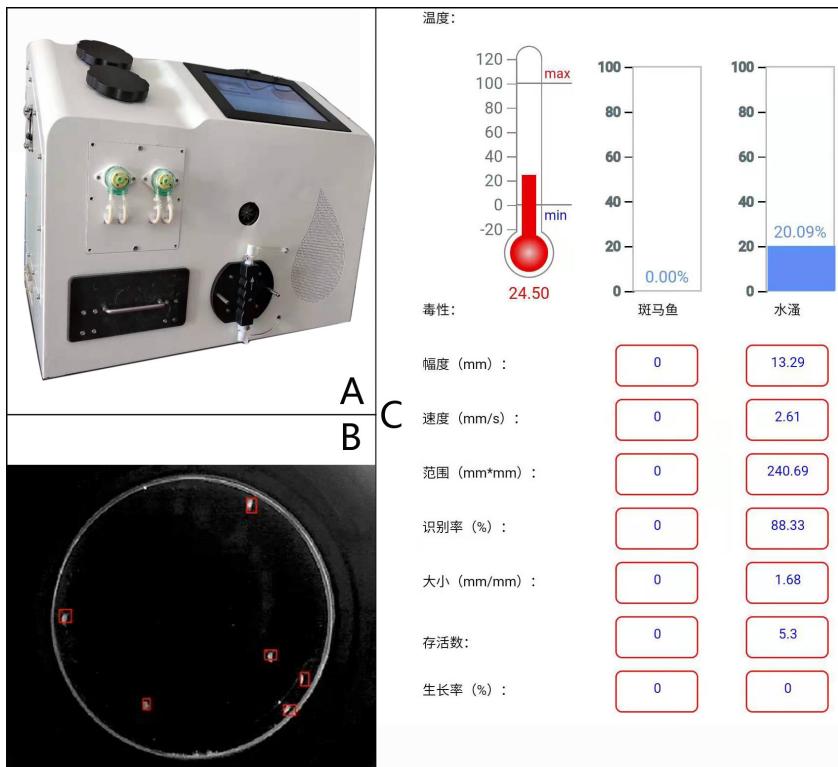
(3) 吡虫啉(C₉H₁₀ClN₅O₂)——生物试剂

(4) 溴氰菊酯(C₂₂H₁₉Br₂NO₃)——生物试剂

2.1.3. 仪器设备

实验采用武汉天泉慧源环保科技有限公司生产的水质在线生物安全预警仪，通过高清显微拍摄系统 24 小时实时跟踪拍摄大型溞的运动学行为变化，同时利用图像识别技术将大型溞受到有毒物质伤害后的行为变化数据(游动速度、游动幅度、运动范围等)传递给计算机，计算机根据大型溞各项行为参数建立的毒性值模型公式，能够高效快速地评价出受测水体的毒性大小。

图示：



- A. 水质在线生物安全预警仪;
 B. 水质在线生物安全预警仪大型溞单元观察窗;
 C. 水质在线生物安全预警仪云平台组态画面。
- A. Water quality online biosafety early warning instrument;
 B. The unit observation window of water quality online biosafety early warning instrument;
 C. Cloud platform configuration screen of water quality online biosafety early warning instrument.

2.2. 实验方法

2.2.1. 测试流程

每次实验前，需要进行 30 分钟的标准水的校准实验，待校准实验结束后，输入校准参数进行正式实验，大型溞全部死亡后停止实验。每次实验使用塑料吸管吸取 6 只体长为 1.5 mm~2 mm 的大型溞加入观察窗。每组实验的数据均为大型溞的平均值，由水质在线生物安全预警仪监测得到。

2.2.2. 精密度测试及仪器比对

使用三台水质在线生物安全预警仪，反复进行 30 分钟标准水的校准测试，实验结果用于评价仪器的精密度或稳定性，实验步骤如下：

- (1) 配制三份 10 L 实验用标准水，作为三台水质在线生物安全预警仪的循环水体，然后开机预热 15 分钟；
- (2) 三台仪器观察窗内各放入 6 只大型溞，使用标准水进行 30 分钟的测试校准，将这 30 分钟毒性值的平均值作为校准数据，用于分析仪器的精密度或稳定性；
- (3) 重复以上操作，每台水质在线生物安全预警仪各做 20 组标准水 30 分钟校准测试，各获得 20 个校准数据；

- (4) 用统计学分析工具计算出其平均值、标准差、变异系数($CV\%$)，使用变异系数($CV\%$)评价仪器的精密度或稳定性；
(5) 将目前测试用的三台仪器进行两两比对，两台仪器测试结果的差异比较采用配对 t 检验。

2.2.3. 毒物测试

以重铬酸钾、吡虫啉、溴氰菊酯为试验毒物，记录毒物胁迫下大型溞的运动行为学(游泳速度、运动幅度、运动范围)及存活率等参数的变化，实验步骤如下：

- (1) 配制三份 10 L 实验用标准水，作为三台水质在线生物安全预警仪循环水体，开机预热 15 分钟；
- (2) 三台仪器观察窗内各放入 6 只大型溞，进行毒物测试前使用标准水进行 30 分钟的测试校准；
- (3) 校准完成后，将仪器内标准水排尽；
- (4) 以重铬酸钾为试验毒物，分别配制不同浓度(0.2 mg/L, 1 mg/L, 5 mg/L)的重铬酸钾溶液各 10 L，作为三台水质在线生物安全预警仪的循环水体，观察窗内重新放入 6 只大型溞上机测试，记录毒物胁迫下大型溞的运动行为学参数的变化；
- (5) 重铬酸钾溶液测试完成后排尽，将仪器使用蒸馏水反复清洗 3 次以上，再使用标准水进行 30 分钟的测试校准；
- (6) 以吡虫啉为试验毒物，分别配制不同浓度(10 mg/L, 20 mg/L, 30 mg/L)的吡虫啉溶液各 10 L，作为三台水质在线生物安全预警仪的循环水体，观察窗内重新放入 6 只大型溞上机测试，记录毒物胁迫下大型溞的运动行为学参数的变化；
- (7) 吡虫啉溶液测试完成后，将仪器使用蒸馏水反复清洗 3 次以上，再使用标准水进行 30 分钟的测试校准；
- (8) 以溴氰菊酯为试验毒物，分别配制不同浓度(0.002 mg/L, 0.01 mg/L, 0.05 mg/L)的溴氰菊酯溶液各 10L，作为三台水质在线生物安全预警仪的循环水体，观察窗内重新放入 6 只大型溞上机测试，记录毒物胁迫下大型溞的运动行为学参数的变化；
- (9) 溴氰菊酯溶液测试完成后，将仪器使用蒸馏水反复清洗 3 次以上。

3. 实验结果

3.1. 精密度测试

Table 1. Comparison of precision about the test results of 1#, 2#, 3# instruments

表 1. 1#、2#、3#仪器测试结果精密度对比

编 号	校准 30 分钟阶段毒性值														均值 \bar{x}	标准 差 t	变异系数 ($CV\%$)						
1#	6.4	4.55	3.32	5.55	3.34	5.23	6.17	1.35	2.35	8.12	5.32	6.32	5.87	8.69	7.56	6.23	8.45	7.69	3.21	7.65	5.65	2.08	0.37
2#	5.36	6.36	8.54	6.32	5.45	6.47	5.36	6.32	6.35	5.12	8.65	5.59	7.87	5.22	6.14	6.31	8.41	6.32	3.11	9.21	6.52	1.12	0.17
3#	8.41	9.12	8.54	8.23	5.12	8.32	2.36	1.98	3.55	3.54	5.60	8.74	9.35	8.21	3.56	8.41	7.26	6.21	2.95	8.32	6.36	2.47	0.39

如表 1 所示，1#、2#、3#仪器的变异系数($CV\%$)依次减小，表明精密度 $3\# < 1\# < 2\#$ ，但都小于 5%，说明仪器的精密度或稳定性性能良好，都在可接受范围内[13] [14]。

3.2. 仪器比对

将目前测试使用的 1#、2#、3#仪器进行两两比对，对两台仪器测试结果的差异进行比较，采用配对检验。

统计学公式[14]: $\bar{d} = \frac{\sum d}{n}$, $S_d = \sqrt{\frac{\sum d^2 - \frac{(\sum d)^2}{n}}{n-1}}$, $t = \frac{\bar{d}}{S_d / \sqrt{n}}$ 。式中 d 为两台仪器样本测定数据的差值, \bar{d} 为差值样本的均数, S_d 为样本差值的标准差, n 为配对样本的对子数, 每两台仪器比对结果详见表 2。

Table 2. Comparison of test results of three instruments**表 2.** 三台仪器测试结果比对

编号	两台仪器校验 30 分钟阶段毒性值差值																		均值 \bar{d}	标准差 S_d	t 值/ $t_{0.05(19)}$	P		
	1#-2#	1.04	-1.81	-5.22	-0.77	-2.11	-1.24	0.81	-4.97	-4	3	-3.33	0.73	-2	3.47	1.42	-0.08	0.04	1.37	0.1	-1.56	-0.76	2.42	1.397
2#-3#	-3.05	-2.76	0	-1.91	0.33	-1.85	3	4.34	2.8	1.58	3.05	-3.15	-1.48	-2.99	2.58	-2.1	1.15	0.11	0.16	0.89	0.04	2.36	0.066	0.948
1#-3#	-2.01	-4.57	-5.22	-2.68	-1.78	-3.09	3.81	-0.63	-1.2	4.58	-0.28	-2.42	-3.48	0.48	4	-2.18	1.19	1.48	0.26	-0.67	-0.72	2.74	1.178	0.253

经统计学处理, $|t_{1\#-2\#}| = 1.397$, $|t_{2\#-3\#}| = 0.066$, $|t_{1\#-3\#}| = 1.178$;

自由度(v) = $n - 1 = 19$, 查 t 值表 $t_{0.05(19)}=2.093$ 。

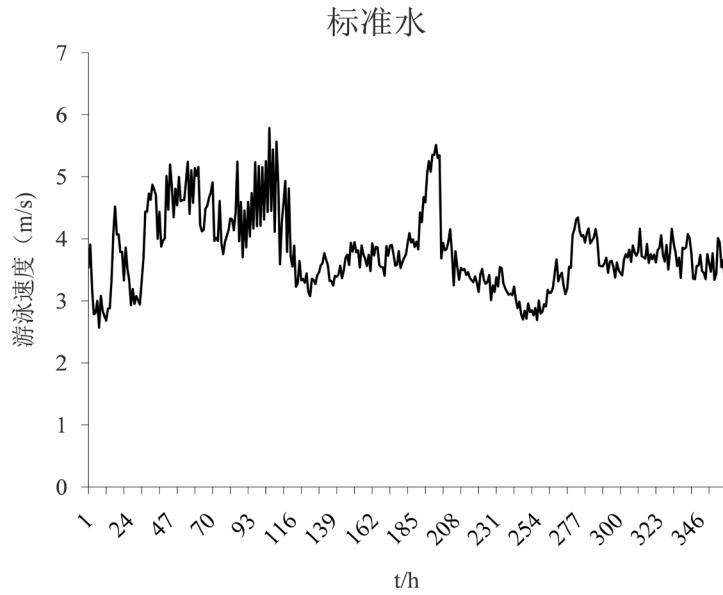
$|t_{1\#-2\#}| < t_{0.05(19)}$, $P_{1\#-2\#} > 0.05$, 1#与 2#仪器测试结果差异不显著;

$|t_{2\#-3\#}| < t_{0.05(19)}$, $P_{2\#-3\#} > 0.05$, 2#与 3#仪器测试结果差异不显著;

$|t_{1\#-3\#}| < t_{0.05(19)}$, $P_{1\#-3\#} > 0.05$, 1#与 3#仪器测试结果差异不显著。

3.3. 毒物测试

3.3.1. 游泳速度的变化

**Figure 1.** Variation of swimming speed of *Daphnia magna* in standard water**图 1.** 标准水中大型溞游泳速度变化情况

大型溞的游泳速度(mm/s)能够直接反映大型溞的活性状态, 游泳速度的变化见图 1, 在全部死亡之前, 大型溞的游泳速度基本在 3~6 mm/s 的区间变化。

采用不同浓度的重铬酸钾、吡虫啉和溴氰菊酯，利用水质在线生物安全预警仪，对大型溞进行毒性测试，大型溞的游泳速度变化情况见图2~图4。

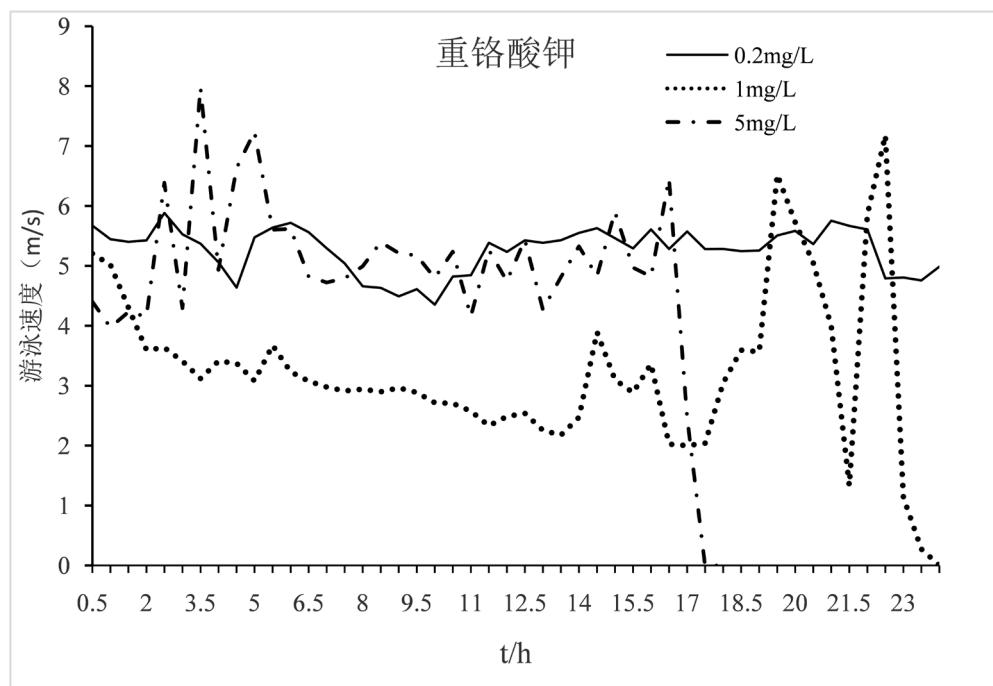


Figure 2. Variation of swimming speed of *Daphnia magna* exposed to Cr^{6+}
图2. 重铬酸钾胁迫下大型溞游泳速度变化情况

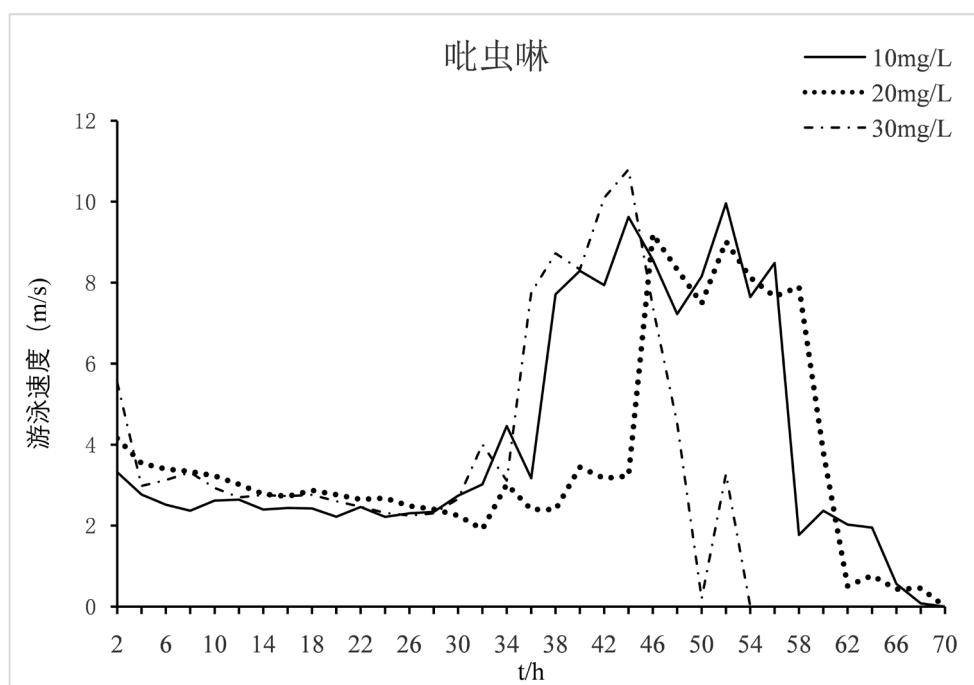


Figure 3. Variation of swimming speed of *Daphnia magna* exposed to imidacloprid
图3. 吡虫啉胁迫下大型溞游泳速度变化情况

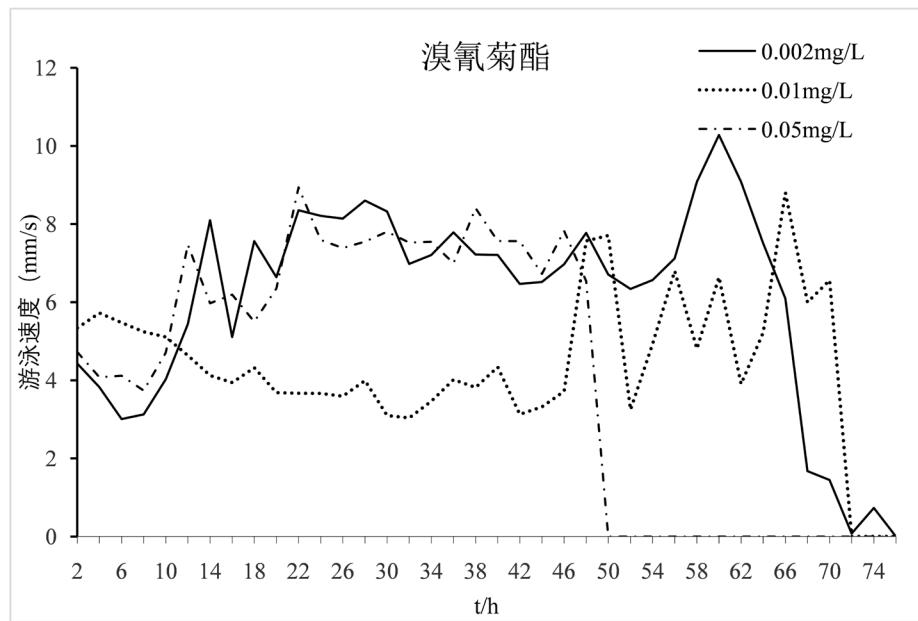


Figure 4. Variation of swimming speed of *Daphnia magna* exposed to deltamethrin
图 4. 溴氰菊酯胁迫下大型溞游泳速度变化情况

3.3.2. 游泳幅度的变化

大型溞的游泳幅度(mm)表示其游泳的高度，在标准水中大型溞的游泳幅度变化见图 5，大型溞的游泳幅度基本在 5~16 mm 的区间变化。

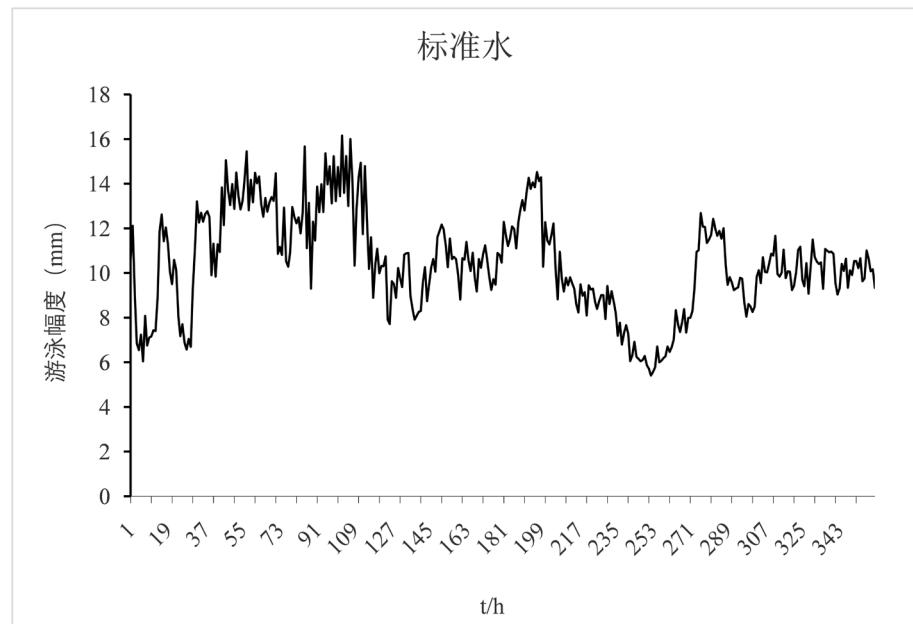


Figure 5. Variation of motion elevation of *Daphnia magna* in standard water
图 5. 标准水中大型溞游泳幅度变化情况

采用不同浓度的重铬酸钾、吡虫啉和溴氰菊酯，利用水质在线生物安全预警仪，对大型溞进行毒性测试，大型溞的运动幅度变化情况见图 6~图 8。

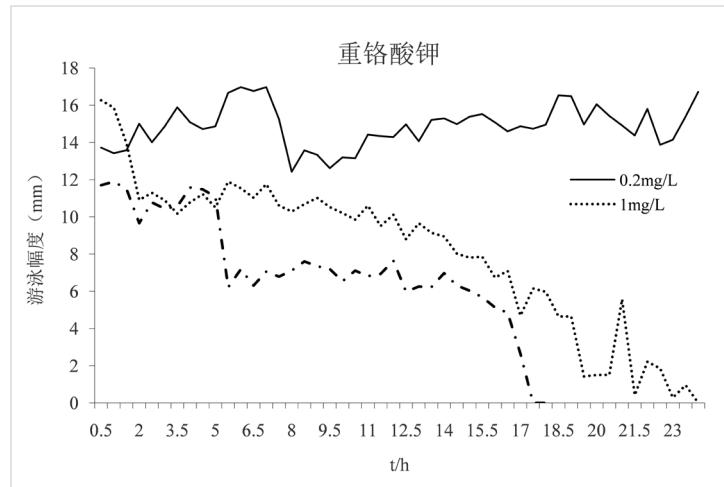


Figure 6. Variation of motion elevation of *Daphnia magna* exposed to Cr^{6+}
图 6. 重铬酸钾胁迫下大型溞游泳幅度变化情况

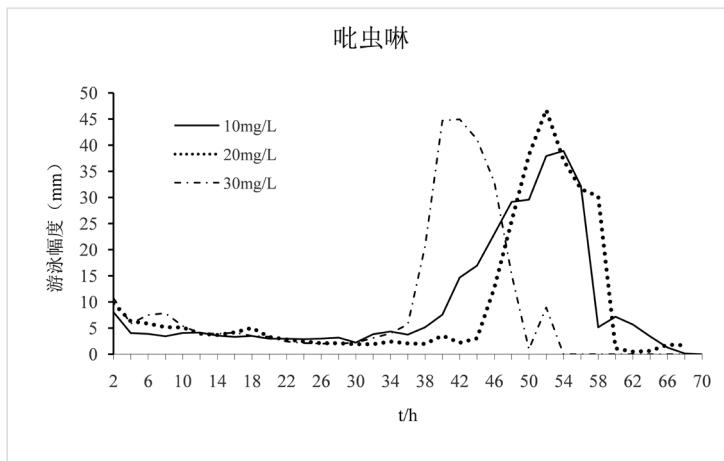


Figure 7. Variation of motion elevation of *Daphnia magna* exposed to Imidacloprid
图 7. 毗虫啉胁迫下大型溞游泳幅度变化情况

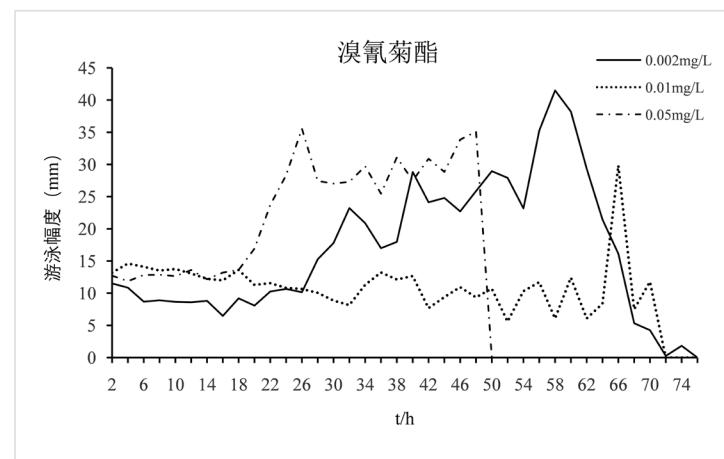


Figure 8. Variation of motion elevation of *Daphnia magna* exposed to deltamethrin
图 8. 溴氰菊酯胁迫下大型溞游泳幅度变化情况

3.3.3. 活动范围的变化

大型溞的活动范围(mm^2)能够直接反映大型溞活动区域的面积，在标准水中，大型溞的活动范围大小的变化见图9，大型溞的活动范围基本 $50\sim 250 \text{ mm}^2$ 的区间变化。

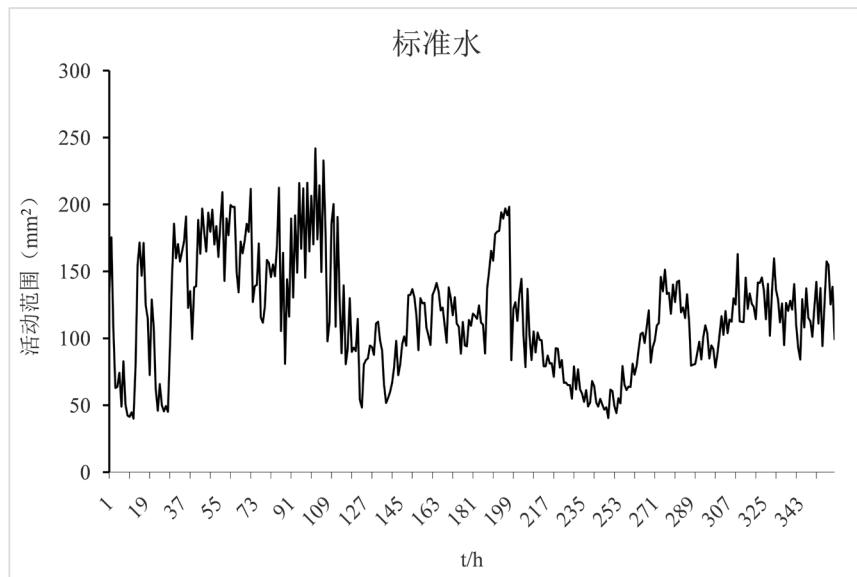


Figure 9. Variation of motion rang of *Daphnia magna* in standard water

图 9. 标准水中大型溞活动范围变化情况

采用不同浓度的重铬酸钾、吡虫啉和溴氰菊酯，利用水质在线生物安全预警仪，对大型溞进行毒性测试，大型溞的活动范围变化情况见图10~图12。

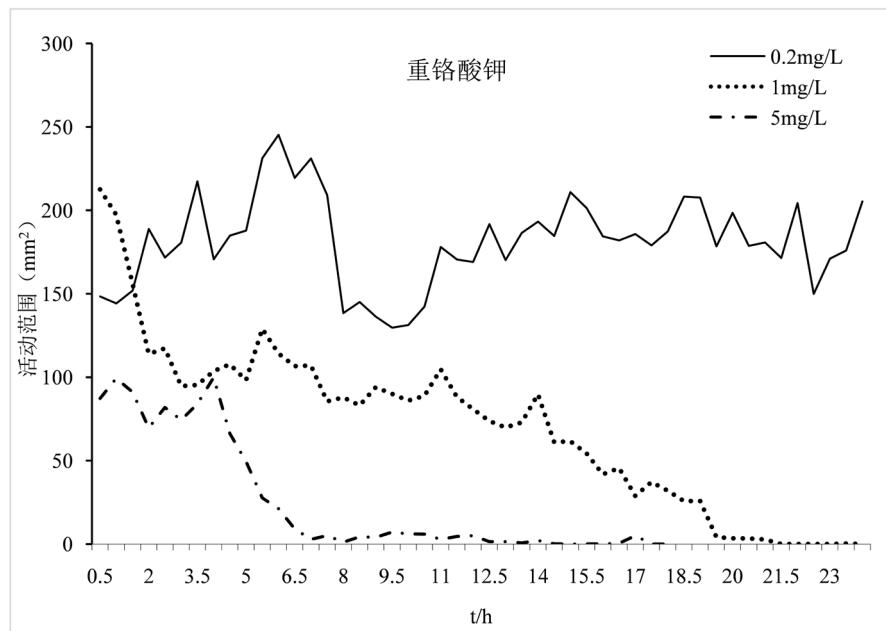


Figure 10. Variation of motion rang of *Daphnia magna* exposed to Cr^{6+}

图 10. 重铬酸钾胁迫下大型溞活动范围变化情况

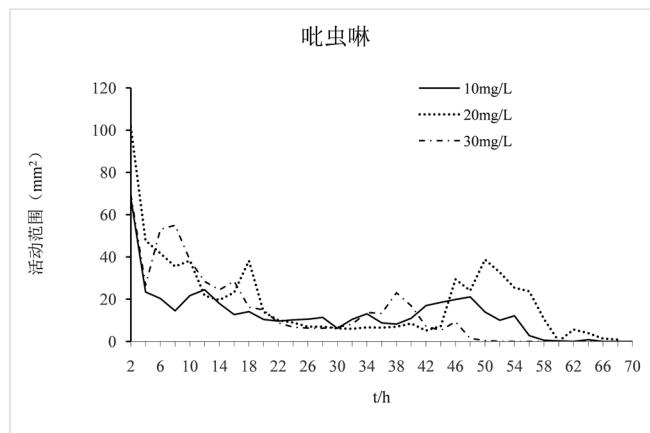


Figure 11. Variation of motion rang of *Daphnia magna* exposed to Imidacloprid
图 11. 吡虫啉胁迫下大型溞活动范围变化情况

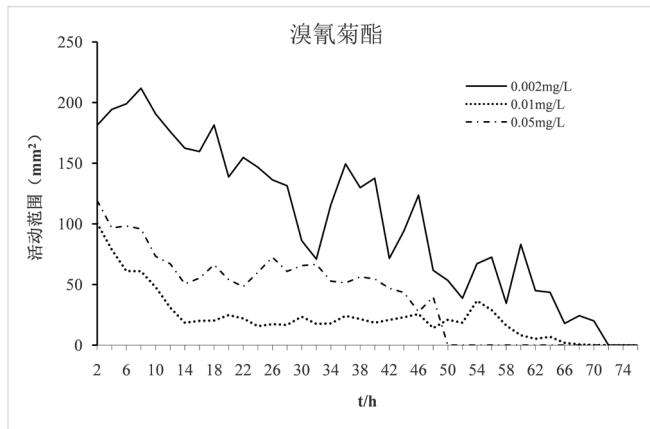


Figure 12. Variation of motion rang of *Daphnia magna* exposed to deltamethrin
图 12. 溴氰菊酯胁迫下大型溞活动范围变化情况

3.3.4. 存活率的变化

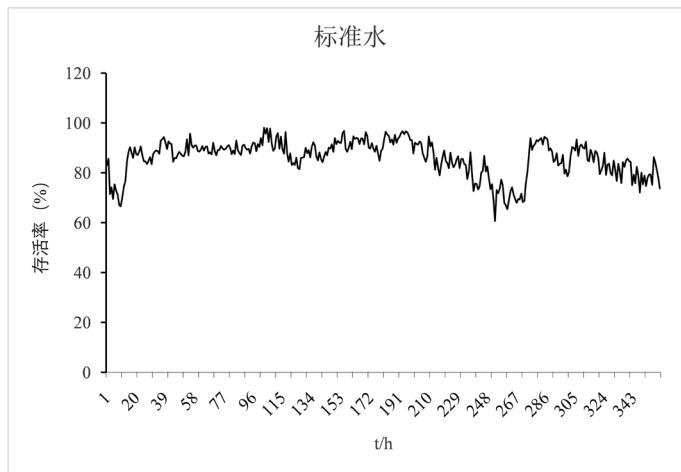


Figure 13. Variation of survival rate of *Daphnia magna* in standard water
图 13. 标准水中大型溞存活率变化情况

在标准水中，大型溞的存活率的变化见图 13，大型溞的存活率基本在 60%~100% 的区间变化。

采用不同浓度的重铬酸钾、吡虫啉和溴氰菊酯，利用水质在线生物安全预警仪，对大型溞进行毒性测试，大型溞的存活率变化情况见图 14~图 16。

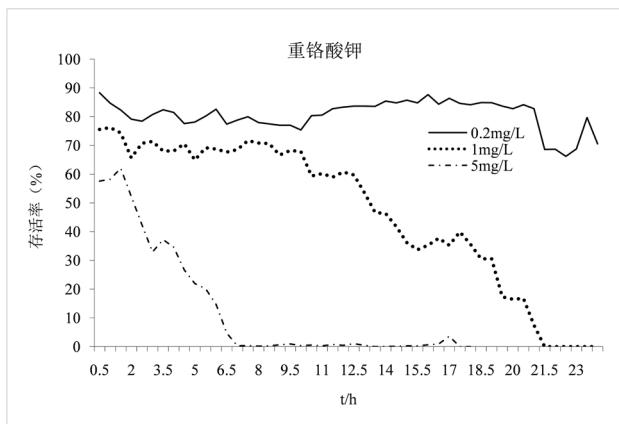


Figure 14. Variation of survival rate of *Daphnia magna* in Cr^{6+}
图 14. 重铬酸钾胁迫下大型溞存活率变化情况

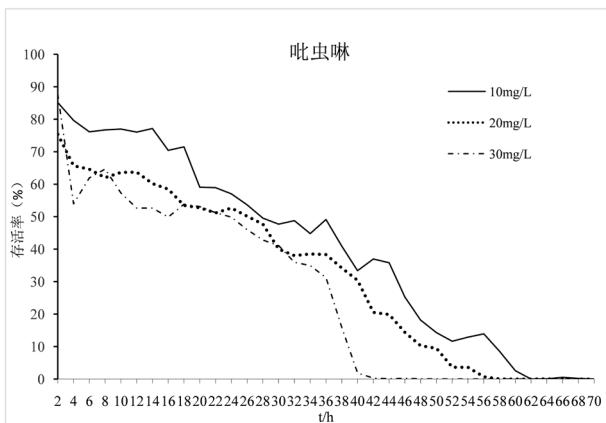


Figure 15. Variation of survival rate of *Daphnia magna* in imidacloprid
图 15. 吡虫啉胁迫下大型溞存活率变化情况

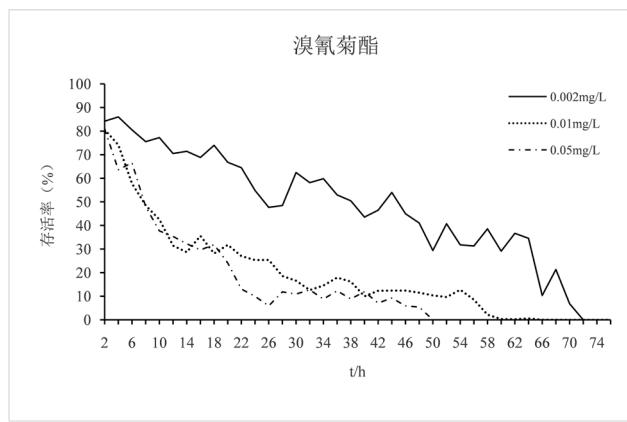


Figure 16. Variation of survival rate of *Daphnia magna* in deltamethrin
图 16. 溴氰菊酯胁迫下大型溞存活率变化情况

4. 讨论

上世纪八十年代后，受科学技术发展影响，世界范围内的在线生物监测技术获得了显著进步。而到了九十年代，数字成像系统的引入，赋予了生物监测系统新的功能，其被用于生态毒理学风险评估[15] [16] [17]。数字成像系统在应用过程中，通过一系列连续的帧，区分众多运动生物体，且引入了运动矢量，来分析生物的运动方向、行为与速度等。在线生物监测技术，是依托生物传感器进行生物监测操作的一种技术，归属于生物监测技术的范畴，但其出现也推动了水质监测技术的发展。借助生物传感器，可以对存在于水环境中的受试水生物的变化进行动态监测，从而为水环境变化发出预警。

水蚤的游泳行为是复杂的、多参数的，是最敏感的生物标志物之一[18]，它可以由游泳速度、游泳范围、运动幅度等参数来反映各种化合物对水蚤的神经及内分泌系统引起的变化。因此通过大型蚤的游泳行为的各种参数及存活率来评价水体急性毒性是有效且敏感的方法，也是水质监测的一种很有应用前景的方法。鉴于该方法的高灵敏性，适合各种水如地下水、家庭用水、工业废水甚至饮用水的长期监测[19] [20]。虽然蚤类运动行为学在评估毒性方面是一个可靠的工具，但是国际上还没有一个针对蚤类运动行为评价水质状况的标准。并且由于水质在线生物安全预警仪的系统很难模拟自然环境，长时间游泳在不自然的环境内会对水蚤造成额外的压力，增加水蚤对被测毒物的异常反应，因此不推荐用于慢性毒性研究。

5. 结论

(1) 受到吡虫啉和溴氰菊酯的刺激后，大型蚤的游泳速度和运动幅度会出现一个较高的峰值然后逐渐下降；除去吡虫啉外，其他两种毒物胁迫下大型蚤的运动行为均受到了明显的抑制；存活率在高浓度毒物胁迫下到达零值的时间较早。

(2) 同一种毒性物质胁迫下，游泳速度、游泳幅度等运动行为的响应时间不同；浓度越大，响应时间越早，绝大部分整体的变化趋势相似。

(3) 标准水测试中，游泳速度最大达到 5.62 mm/s，而使用重铬酸钾、吡虫啉、溴氰菊酯三种有毒溶液测试，游泳速度最大值分别为 8.0 mm/s、10.79 mm/s、10.27 mm/s；标准水测试中，活动范围最大达到 241.56 mm²，而使用重铬酸钾、吡虫啉、溴氰菊酯三种有毒溶液测试，游活动范围最大值分别为 231.1 mm²、101.39 mm²、211.84 mm²；标准水测试中，运动幅度最大达到 14.78 mm，而使用重铬酸钾、吡虫啉、溴氰菊酯三种有毒溶液测试，游泳幅度最大值分别为 17 mm、46.78 mm、41.49 mm；综合以上结果，三种毒物在一定时间段能够提高大型蚤的游泳速度和运动幅度，而对其活动范围有一定抑制作用，因此使用游泳速度、活动范围和游动幅度作为计算水质综合毒性是合理的。

(4) 按照目前进行的三种毒物对大型蚤的测试结果，表明大型蚤的运动行为和存活率的变化能够体现水质毒性变化，可以用来进行水质安全预警，水质安全预警仪具有广阔的应用前景。

(5) 目前，大型蚤的水质毒性测试工作，主要依据《大型蚤急性毒性实验方法》(GB/T 161235-2012)，采用人工的方法测定水体的半抑制浓度或半数致死浓度，用于判断水体的毒性程度；而水质安全预警仪能够节省大量的人力劳动，同时用机器视觉来追踪大型蚤的运动，相比人工判断更准确和精细。

参考文献

- [1] Yachida, M., Asada, M. and Tsuji, S. (1981) Automatic Analysis of Moving Images. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, **3**, 12-20. <https://doi.org/10.1109/TPAMI.1981.4767046>
- [2] Van der Schalie, W.H., Shedd, T.R., Knechtges, P.L. and Widder, M.W. (2001) Using Higher Organisms in Biological Early Warning Systems for Real-Time Toxicity Detection. *Biosensors and Bioelectronics*, **16**, 457-465. [https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(01\)00160-9](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(01)00160-9)
- [3] Gerhardt, A., de Bisthoven, L.J., Mo, Z., Wang, C., et al. (2002) Short-Term Responses of *Oryzias latipes* (Pisces:

Adrianichthyidae) and *Macrobrachium nipponense* (Crustacea: Palaemonidae) to Municipal and Pharmaceutical Waste Water in Beijing, China: Survival, Behaviour, Biochemical Biomarkers. *Chemosphere*, **47**, 35-47.

[https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(01\)00223-5](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00223-5)

- [4] Putman, R.J. and Wratten, S.D. (1984) Principles of Ecology. Springer, Dordrecht.
<https://doi.org/10.1007/978-94-011-6948-6>
- [5] 尚玉昌. 行为生态学[M]. 北京: 北京大学出版社, 1998: 14-16.
- [6] Warner, R.E. (1967) Bio-Assays for Microchemical Environmental Contaminants: With Special Reference to Water Supplies. *Bulletin of the World Health Organization*, **36**, 181-207.
- [7] Tahedl, H. and Häder, D.-P. (2001) Automated Biomonitoring Using Real Time Movement Analysis of *Euglena gracilis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **48**, 161-169. <https://doi.org/10.1006/eesa.2000.2004>
- [8] 王英才, 王树磊, 胡文, 等. 生物综合毒性监测技术进展与多源生物预警体系[J]. 人民长江, 2017, 48(11): 21-26.
- [9] Biswas, K., Taylor, M.W. and Turner, S.J. (2014) Successional Development of Biofilms in Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR) Systems Treating Municipal Wastewater. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **98**, 1429-1440. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5082-8>
- [10] Lagerspetz, K.Y.H. (2000) Thermal Avoidance and Preference in *Daphnia magna*. *Journal of Thermal Biology*, **25**, 405-410. [https://doi.org/10.1016/S0306-4565\(99\)00114-X](https://doi.org/10.1016/S0306-4565(99)00114-X)
- [11] Ringelberg, J. (1995) An Account of A Preliminary Mechanistic Model of Swimming Behaviour in *Daphnia*: Its Use in Understanding Diel Vertical Migration. In: Larsson, P. and Weider, L.J., Eds., *Cladocera as Model Organisms in Biology, Developments in Hydrobiiology*, Vol. 107, Springer, Dordrecht, 161-165.
https://doi.org/10.1007/978-94-011-0021-2_18
- [12] Vandenbroele, M.C., Heijerick, D.G., Vangheluwe, M. and Janssen, C.R. (2000) Comparison of the Conventional Algal Assay and the Algaltoxkit F™ Microbiotest for Toxicity Evaluation of Sediment Pore Waters. In: Persoone, G., Janssen, C. and De Coen, W., Eds., *New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biomonitoring*. Springer, Boston, 261-268. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4289-6_29
- [13] 王庸晋. 现代临床检验学[M]. 第2版. 北京: 人民军医出版社, 2007: 16-19.
- [14] 马斌荣. 医学统计学[M]. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 36-38.
- [15] Steinberg, C.E.W., Lorenz, R. and Spieser, O.H. (1995) Effects of Atrazine on Swimming Behavior of Zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Water Research*, **29**, 981-985. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00217-U](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00217-U)
- [16] Wolf, G., Scheunders, P. and Selens, M. (1998) Evaluation of the Swimming Activity of *Daphnia magna* by Image Analysis after Administration of Sublethal Cadmium Concentrations. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **120**, 99-105. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(98\)10016-8](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(98)10016-8)
- [17] Tahedl, H. and Häder, D.-P. (1999) Fast Examination of Water Quality Using the Automatic Biotest ECOTOX Based on the Movement Behavior of a Freshwater Flagellate. *Water Research*, **33**, 426-432.
[https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00224-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00224-3)
- [18] Stoeckel, J.A., González, M.J., Oris, J.T., Kovach, M.J. and Mace, K.M. (2008) Atrazine and Increased Male Production by *Daphnia*: The Importance of Combining Field and Laboratory Approaches. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **27**, 2352-2360. <https://doi.org/10.1897/07-564.1>
- [19] Hader, D., Erzinger, G.S., Dabrunz, R., Rosenfeldt, R., et al. (2017) Three-Dimensional Analysis of the Swimming Behavior of *Daphnia magna* Exposed Ti Nanosized Titanium Dioxide. *Chemosphere*, **167**, 228-235.
- [20] Storey, M.V., van der Gaag, B. and Burns, B.P. (2011) Advances in On-Line Drinking Water Quality Monitoring and Early Warning Systems. *Water Research*, **45**, 741-747. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.049>