

蒽与有机磷农药对海洋微藻的联合毒性*

THE JOINT TOXIC EFFECT OF ANTHRACENE AND PROFENOFOS ON MARINE MICROALGA

王 悠 唐学玺 李永祺

(青岛海洋大学生命学院 266003)

关键词 蒽, 丙溴磷, 联合毒性, 海洋微藻

天然水环境中存在多种污染物质。当两种或两种以上污染物共存时会发生复杂的联合毒性效应。因此, 只分析单一毒物对水生生物的影响是不够的。多环芳烃 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) 蒽 (Anthracene) 是近来颇受关注的一类有机污染物, PAH 对鱼类、贝类及藻类的伤害效应在国内外已有报道^[4], 它们在生物体内高积累、高残留和致癌性越来越引起人们的重视^[8]。有机磷农药是我国沿海地区常用的农药, 对于农业生产的快速发展具有重要的意义, 但对于环境的危害不容忽视。近年来, 由于有机磷农药而导致的鱼、虾、贝类的死亡事故时有发生, 对水产养殖业的持续发展构成威胁^[4,8]。本文以海洋微藻为实验生物, 探讨多环芳烃与有机磷农药的联合作用对海洋微藻生长的影响, 以期阐明这两种有机污染物共存时的毒性变化机制提供参考。

1 材料与方 法

1.1 藻种的选择

选用青岛海洋大学微藻培养室提供的青岛大扁藻 (*Platymonas* sp.), 中国科学院海洋研究所提供的盐藻 (*Dunaliella* spp.) 和三角褐指藻 (*Phaeodactylum tri-cornutum*) 为实验藻种。

1.2 培养条件

参照唐学玺等 1997 年^[6]的方法进行, 其中明暗周期为 12:12。

1.3 相对增长率(K)的测定

培养 72 h 的藻液用 Lugol 氏液固定, 血球计数板计数, 计算相对增长率:

$$K = (\lg N_t - \lg N_0) / T$$

式中, N_0 为起始密度, N_t 为 t 时刻细胞密度, T 为培养时间。以浓度为横坐标, 相对增长率为纵坐标绘制生长效应曲线, 内插法求出半数有效抑制浓度 EC_{50} 。

1.4 毒性实验

按照周永欣等^[2]的水生生物毒性实验方法进行。单一毒性实验: 在预备实验的基础上等对数间距设置浓度, 每一种化合物设 5 个浓度组, 一个对照组, 并设一平行组。藻类的生长情况用 721 分光光度计于 690 nm 处测定, 并用血球板计数法直接记数, 以作对照和比较。联合毒性实验: 在单一实验的基础上, 按毒性比 1:1 设置 5 个浓度, 记录其 96 h 生长情况。

1.5 联合毒性评价方法

采用 Marking 的相加指数法进行联合毒性大小的评价。

相加指数 AI (Additive Index) 法:

当 $AI = 0$ 时为相加作用; $AI > 0$ 时为大于相加作用 (协同作用); $AI < 0$ 时为小于相加作用 (拮抗作用)。

公式 $S = (A_m/A_i) + (B_m/B_i)$ 。 S 为混合毒物生物活性, A 、 B 为实验毒物, i 、 m 分为单一、联合毒物 EC_{50} 值。 $S < 1$ 时, $AI = 1/S - 1$; $S > 1$ 时, $AI = S(-1) + 1$

* 国家科委攀登计划 B 资助项目 PDB6-7-1 号和国家自然科学基金资助项目 37870146 号。

收稿日期: 1999-05-13; 修回日期: 1999-12-11



2 结果

2.1 蒽与丙溴磷农药对 3 种海洋微藻的单一毒性效应

由表 1 可以看出, 蒽对 3 种微藻的毒性远远高于丙溴磷农药。对于不同污染物, 3 种藻的耐受力不同。蒽胁迫, 其抗性顺序为: 盐藻 > 三角褐指藻 > 扁藻; 丙溴磷胁迫, 抗性顺序为: 盐藻 > 扁藻 > 三角褐指藻。对蒽或丙溴磷胁迫, 盐藻都表现出较强的耐受力。

表 1 蒽与丙溴磷农药对 3 种海洋微藻的单一毒性作用

藻种	72 h 半数有效抑制浓度(mg/L)	
	蒽	丙溴磷
盐藻	0.030 2	10.10
三角褐指藻	0.026 1	5.32
青岛大扁藻	0.017 2	6.65

2.2 蒽与丙溴磷农药对 3 种海洋微藻的联合毒性

在单一毒性实验的基础上, 蒽与丙溴磷按毒性比 1:1 进行联合毒性实验。由表 2 看出, 这两种有机物共同作用时的相加指数 AI 均大于 0, 表现为大于相加作用即协同作用。

表 2 蒽与丙溴磷农药对 3 种海洋微藻的联合毒性作用

藻种	混合 EC_{50} 值(mg/L)		AI	联合作用 作用方式
	(72 h)			
	丙溴磷	蒽		
盐藻	3.610	0.121	40.67	协同作用
三角褐指藻	4.210	0.085	30.25	协同作用
扁藻	2.310	0.086	37.46	协同作用

3 讨论

3.1 3 种微藻对蒽和丙溴磷农药的敏感性差异分析

3 种微藻的细胞结构不同。青岛大扁藻有细胞壁, 其成分主要是纤维素; 三角褐指藻的原生质外有一层无机硅质, 盐藻没有细胞壁。蒽为高脂溶性化合物, 与有机物亲和力大, 能较容易穿过扁藻的细胞壁而与细胞膜结合, 发生毒性作用。而三角褐指藻原生质外的无机质能对蒽起到某种屏障作用。另外, Imber 等 1983 年提出, 硅藻能够产生一些胞外产物, 这些胞

外产物能结合有机物, 在藻细胞周围形成相对稳定的微环境抵抗毒物作用。盐藻没有细胞壁, 但它却表现出高抗性, 这可能是因为盐藻体内富含 β 胡萝卜素^[7], 而 β 胡萝卜素是有效的抗氧化剂, 保护细胞免受活性氧的伤害。这可能是盐藻对蒽和丙溴磷表现出较高的抗性的主要原因之一。

另外, 实验结果还表明, 扁藻对蒽的胁迫表现得最为敏感, 而三角褐指藻对丙溴磷农药的胁迫表现得比扁藻更为敏感。说明不同的藻对不同污染物的敏感性有明显的不同。

3.2 蒽与丙溴磷农药对海洋微藻的联合毒性作用

(1) 蒽是一种线形三环芳烃, 化学性质活泼, 在正常情况下不表现致癌或致突变性, 但经过卤化或硝化作用后, 即会表现出明显的致突变作用^[3]。从丙溴磷农药的结构推测, 当蒽与丙溴磷农药共存时, 可能发生卤化作用, 蒽的结构发生变化, 毒性增强, 因此与丙溴磷共同作用时表现为协同作用。

(2) 唐学玺等^[5,6]的研究认为, 外源污染物胁迫下产生的活性氧是导致藻细胞伤害的主要原因之一, 有机磷农药对微藻的致毒作用主要是通过降低微藻细胞内清除自由基的关键性酶 SOD、POD 的活性, 使微藻体内自由基过量积累而造成伤害的。对于 PAH 的毒性作用, Gorgellis 1987 年的研究认为海洋生物在分解多环芳烃化合物时会产生大量的自由基中间产物, 这些中间产物可与核酸、蛋白质等共价联结, 产生毒性作用, 使细胞 DNA 受到损伤, 引起畸变、死亡。因此推测, 两种毒物共同作用时能产生大量的自由基中间产物, 对微藻的细胞结构及抗氧化防御系统的功能产生影响, 对细胞造成伤害。但二者对微藻的致毒机制可能存在一定的差异, 在联合作用时能够相互促进, 表现为协同作用。

毒物的联合作用十分复杂, 不同的作用时间、不同的毒性配比可能产生不同结果^[1], 需要进一步的研究。

参考文献

- 1 罗立新等. 中国环境科学, 1998, 18(1): 72~75
- 2 周永欣、章宗涉. 水生生物毒性实验方法. 北京: 农业出版社, 1987
- 3 山根靖弘等编著, 环境污染物质与毒性, 成都: 四川科学技术出版社, 1985. 127~145

-
- 4 赵云英等。海洋环境科学, 1998, 17(2): 16~20
5 唐学玺等。海洋通报, 1998, 18(2): 204~207
6 唐学玺等。海洋学报, 1997, 19(1): 139~143

- 7 刘建国等。海洋与湖沼, 1995, 26(3): 323~330
8 Adamo, D. R. *et al.*. *Mar. Chem.*, 1997, 56(1-2): 45~59

(本文编辑: 张培新)