

多环芳烃对海洋浮游植物的生物毒性研究*

江 玉 吴志宏 韩秀荣 张 蕾 王修林^①

(青岛海洋大学化学化工学院 266003)

摘要 采用静态实验方法研究了4种(多环)芳烃对6种海洋浮游植物的生物急性毒性效应,并应用对数模型计算了其 EC_{50} 值。结果表明,根据对数模型计算的 EC_{50} 值与定义作图法所得结果较为一致,但在低浓度PAHs对浮游植物有促进作用时,其具有准确和合理的优点。其中甲苯、萘、2-甲基萘、菲的72 h- EC_{50} 分别为34.1~114 mg/L, 3.9~7.3 mg/L, 1.69~3.03 mg/L, 0.6~1.92 mg/L。4种芳烃对6种浮游植物的生物急性毒性顺序为:小新月菱形藻>甲藻>三角褐指藻>中肋骨条藻>小球藻>亚心形扁藻。此外,4种芳烃的72 h- EC_{50} 与其相应的 K_{ow} 值有较好的log-log相关性。

关键词 多环芳烃,浮游植物,急性毒性, EC_{50}

随着经济的发展,(石)油类污染物已经成为当今海洋主要污染物之一,其对海洋生态系的破坏和对海洋生物资源的影响越来越受到人们的重视和广泛关注^[2]。多环芳烃,作为石油烃的主要组分,对海洋生态环境产生的持久性危害尤为严重^[5]。研究多环芳烃对浮游植物的急性毒性效应,是研究多环芳烃等疏水性有机物对海洋生态系影响的前提,对于进一步研究其在海洋环境中的作用及环境评价具有重要的意义^[3]。

污染物的生物急性毒性一般用72 h- EC_{50} 或96 h- EC_{50} 表示。根据定义求得的 EC_{50} ,即定义作图法不能全面反映在整个浓度系列中污染有机物的毒性效应^[6]。目前,国际上描述抑制率-污染有机物浓度关系的方程主要有线性方程,对数方程,抑制方程,Weibull方程等^[4,8]。其中对数方程是目前应用较为广泛的一个方程,对于低毒性或低浓度时对浮游植物的生长有促进作用的有机污染物,用对数方程更能合理地反应其毒性效应,被越来越多的作者所采用。然而,目前国内的研究者一般采用定义作图法和线性方程计算 EC_{50} ,并且较少见到系统研究多环芳烃对浮游植物的毒性效应的报道^[1]。本文的研究目的是系统测定4种多环芳烃对6种浮游植物的毒性效应,考虑有机污染物在低浓度时对浮游植物生长的促进作用,应用对数模型计算急性毒性参数 EC_{50} 。

1 实验

1.1 实验材料

选取常见的海洋饵料藻及长江口和胶州湾代表赤潮藻种进行实验,分别为甲藻(*Zooxanthella microdrix tica*),三角褐指藻(*Pheodactylum tricorutum*

Bohlin),小新月菱形藻(*Nitzschia closterium minutissima*),中肋骨条藻(*Skeletonema costatum* Greville),小球藻(*Chlorella vulgaris*),亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis* (Wille) Hazen),均由青岛海洋大学微藻种库提供。

1.2 实验方法

1.2.1 浮游植物培养

浮游植物的培养采用f/2营养液配方^[6], pH为8.1~8.2,温度 22 ± 1 °C,明暗周期为12 h:12 h,光源为白色日光灯,光照强度约为6 000 lx。在整个培养过程中,各操作步骤均进行灭菌处理。

1.2.2 多环芳烃(PAHs)对浮游植物的急性毒性实验

平行取5份浮游植物培养液于250 ml具塞玻璃三角瓶中,每份100 ml,起始浮游植物密度为 10^4 cell/ml。分别加入一定浓度的PAHs(甲苯,萘,2-甲基萘和菲)后,置于光照培养箱中培养,实验条件与浮游植物培养相同。为最大可能地减小有机物挥发对实验结果的影响,实验过程中以玻璃具塞封口。分别于0, 24, 48, 72 h时取5 ml浮游植物培养液测定其细胞密度,其中以含丙酮(浓度小于150 μ l/L)的浮游植物培养液作为参比(Control)。

* 国家自然科学基金资助项目49776302号和跨世纪优秀人才培养计划基金资助。

第一作者:江玉,出生于1974年,硕士。研究方向:海洋生态,现就读于美国IOWA STATE UNIVERSITY大学, E-mail: yjiang@iastate.edu

收稿日期:2000-12-04;修回日期:2001-02-11

2 结果与讨论

2.1 不同浓度 PAHs 对浮游植物生长的影响

图 1 表示不同浓度 PAHs 条件下的浮游植物生长曲线。结果表明,随 PAHs 浓度的增大,对其生长的抑

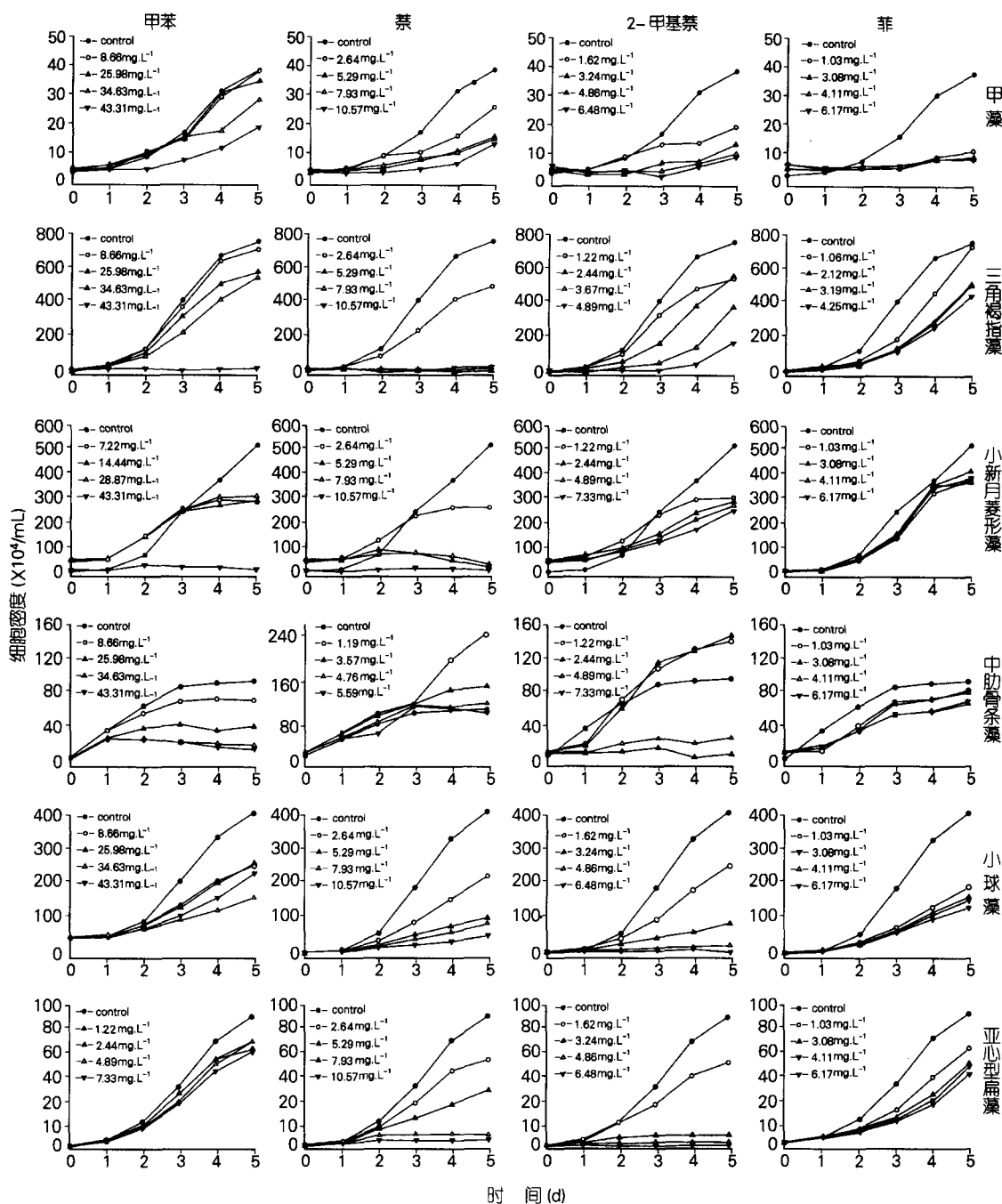


图 1 甲藻、三角褐指藻、小新月菱形藻、中肋骨条藻、小球藻和亚心型扁藻在不同浓度的甲苯、萘、2-甲基、菲介质中的生长曲线
 Fig. 1 The growth curve of *Zooxanthella microadriatica*, *Pheodactylum tricornutum* Bohlin, *Nitzschia closterium minutissima*, *Skeletonema costatum* Greville, *Chlorella vulgaris* and *Platymonas subcondiformis* (wille) Hazen in 4 PAHs of different concentrations

制效应迅速增大。

2.2 EC₅₀的计算方法

根据浮游植物生长曲线,不同时间 PAHs 对浮游植物生长抑制率 $P(\%)$ 可由下式求得:

$$P(\%) = \frac{(\lg B_{t\text{control}} - \lg B_t) - (\lg B_{t0} - \lg B_{0\text{control}})}{\lg B_{t\text{control}} - \lg B_{0\text{control}}} \quad (1)$$

其中 $B_{t\text{control}}$ 为 t 时间参比中浮游植物细胞密度, B_t 为 t 时间样品体系中细胞密度, $B_{0\text{control}}$ 为参比样品的起始细胞密度, B_{t0} 为样品的起始细胞密度。当忽略样品与参比起始细胞密度之间微小差别时,方程(1)可简化为^[7]:

$$P(\%) = \frac{\lg B_{t\text{control}} - \lg B_t}{\lg B_{t\text{control}} - \lg B_{0\text{control}}} \quad (2)$$

用 72 h 时浮游植物的抑制率 $P(\%)$ 对 PAHs 浓度做图,抑制率为 50% 时对应的浓度即为浮游植物的 72 h-EC₅₀。实际上,由于作图法自身的局限性,而使 EC₅₀ 计算的准确性较差,并常常受主观因素(如实验浓度系列的设计,作图方法等)的影响。为了获得更为准确和合理的 EC₅₀ 值,有效的方法是建立或选择合理的描述生物急性毒性效应的(经验)数学方程,在此基础上根据该方程估算相应的 EC₅₀ 参数。目前已有愈来愈多的作者^[4]采用对数方程来描述抑制率-污染物浓度的关系,当低浓度污染物对浮游植物的生长有促进作用时,可用下式表示^[9]:

$$P(\%) = \frac{(2fEC_{50} + 1) \left(\frac{C_{BT}}{EC_{50}} \right)^b - fC_{BT}}{1 + (2fEC_{50} + 1) \left(\frac{C_{BT}}{EC_{50}} \right)^b} \quad (3)$$

其中 C_{BT} 为实验有机物浓度, f , b 为可调参数。这样由 $P(\%)$ 对 C_{BT} 进行拟和即可直接得到 EC₅₀。 f 表示了促进作用的大小,如果没有促进时, $f=0$, 则方程(3)可简化为方程(4):

$$P(\%) = \frac{\left(\frac{C_{BT}}{EC_{50}} \right)^b}{1 + \left(\frac{C_{BT}}{EC_{50}} \right)^b} \quad (4)$$

由图 2 可以看出随着 2-甲基萘浓度的增大,其对小新月菱形藻的生长抑制率相应增大。通过定义直接做图求得 EC₅₀ 为 1.78 mg/L, 根据对数方程(3)拟和求得 EC₅₀ 为 1.69 mg/L。当低浓度 PAHs 对浮游植物生长有促进作用 ($P(\%) < 0$), 不能通过定义直接做图求得 EC₅₀ 时(图 3), 方程(3)比方程(4)能更好地描述 PAHs 对浮游植物生长的促进作用。对一般的抑制效应,由定义做图法得到的 EC₅₀ 和由对数模型得到的 EC₅₀ 较为一致,相对偏差为 4%,而当低浓度 PAHs 对

浮游植物生长有促进作用时,如甲苯,两种方法得到的结果相对偏差大于 10%。

2.3 4 种芳烃对 6 种浮游植物的急性毒性效应

根据对数模型(方程 4)对实验数据进行拟合,得到其生物急性毒性的 72 h-EC₅₀ 值,结果列于表 1。

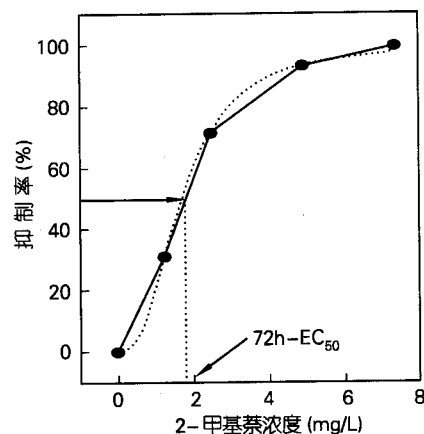


图 2 不同浓度的 2-甲基萘对小新月菱形藻的生长抑制率曲线

“—”是按定义直接做图求得 EC₅₀, “- - -”是对数方程(3)拟和曲线。

Fig. 2 The percent inhibition curve of *Nitzschia closterium minus* in 2-methylnaphthalene of different concentrations EC₅₀ obtained from “—” by its definition and the line with “- - -” is the fitting curve by logistic Equation (3)

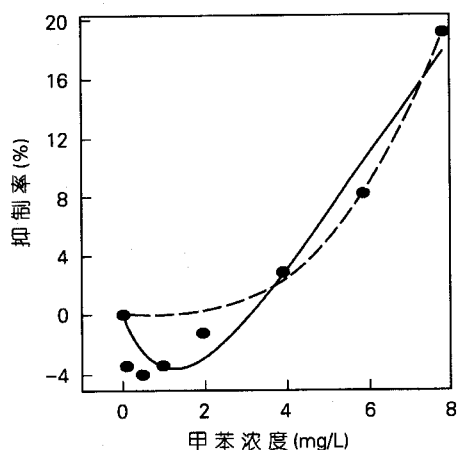


图 3 分别由方程(3)和方程(4)拟和求算 EC₅₀ 的示意图

Fig. 3 The percent inhibition curve where the line with “—” is the fitting curve by Equation (3) and the “- - -” is the fitting curve by Equation (4)

由表 1 可见, 4 种芳烃对 6 种海洋浮游植物急性毒性的 72 h-EC₅₀ 值分别为甲苯 34.1~114 mg/L, 萘 3.9~7.3 mg/L, 2-甲基萘 1.69~3.03 mg/L, 菲 0.6~1.92 mg/L。进一步分析表明, 甲苯、萘、2-甲基萘和菲对 6 种浮游植物的急性毒性大小顺序基本为小新月菱形藻, 三角褐指藻, 甲藻, 中肋骨条藻, 小球藻, 亚心形扁藻, 而且芳烃对甲藻和硅藻的毒性效应比对绿藻的大。PAHs 对浮游植物的毒性效应研究虽然较多, 但由于不同的作者采用的实验条件的差异, 实验所用浮游植物的不同等原因, 所得的实验结果较难相互比较。文献中甲苯和菲对硅藻的 EC₅₀ 分别为 20 mg/L 和 0.66 mg/L^[8], 与本文结果比较可以看出, 对于同一种浮游植物, PAHs 的毒性作用顺序是一致的。

2.4 72 h-EC₅₀ 与 K_{ow} 之间的 log-log 相关性

以 4 种 PAHs 对浮游植物的 72 h-EC₅₀ 与 K_{ow} 取对数做图(图 4), 可得 4 种 PAH 对浮游植物的 72 h-EC₅₀ 值与有机物的正辛醇-水分配系数 K_{ow} 成对数负相关 (R ≥ 0.96, P < 0.01)

总之, 本文采用封闭-静态实验方法测定了 4 种 PAHs 对 6 种海洋浮游植物的生物急性毒性, 并根据对数模型描述了抑制率-PAHs 暴露浓度之间的关系, 由此计算得到 PAHs 对海洋浮游植物生物急性毒性的

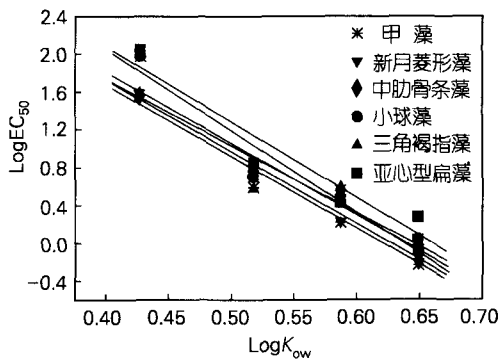


图 4 4 种芳烃对 6 种浮游植物类的 72 h-log EC₅₀ 与 log K_{ow} 的关系

Fig. 4 The relationship between 72 h-log EC₅₀ of four 4 PAHs to six species of algae and their log K_{ow}

表 1 4 种芳烃对海洋浮游植物生物急性毒性的 72 h-EC₅₀ 值和变化范围(括号内值, mg/L)

Tab.1 Values and variation values (in the parenthesis) of 72 h-EC₅₀ of 4 PAHs to the algae (mg/L)

藻种	甲苯	萘	2-甲基萘	菲
甲藻	35.6	5.29	2.96	0.60
<i>Zooxanthella croadricz tica</i>	(10.21)	(1.16)	(0.37)	(0.11)
三角褐指藻	38.3	3.9	3.00	1.04
<i>Pheodactylum tricornutum</i> Bohlin	(0.7)	(0.4)	(0.09)	(0.23)
小新月菱形藻				
<i>Nitzschia closterium minutissima</i>	34.1	4.95	1.69	0.73
	(0.4)	(0.8)	(0.03)	(0.21)
中肋骨条藻	36.7	6.53	3.67	0.83
<i>Skeletonema costatum</i> Greville	(3.2)	(0.75)	(0.35)	(0.20)
小球藻	98.6	5.59	2.75	1.11
<i>Chlorella vulgaris</i>	(58.8)	(0.27)	(0.24)	(0.28)
亚心形扁藻	114.0	7.3	3.03	1.92
<i>Platymonas subcordiformis</i> (Will) Hazen	(54.3)	(0.3)	(0.32)	(0.36)

72 h-EC₅₀ 值。结果表明, 根据对数模型计算的 72 h-EC₅₀ 值与 EC₅₀ 定义作图法相比, 所得结果更为准确和合理, 特别是当低浓度污染有机物对浮游植物生长有促进效应以及实验上无法根据定义作图法直接测定 EC₅₀ 值时, 其更具优势。

参考文献

- 1 王 悠、唐学玺、杨 震等。萘对扁藻和盐藻的毒性效应, 海洋通报, 1999, 18(6): 84~86
- 2 国家海洋局。1997 年中国海洋环境年报。1998。
- 3 赵云英、马永安。天然环境中多环芳烃的迁移转化及其对生态环境的影响, 海洋环境科学, 1998, 17(2): 68~72
- 4 阎 海、叶常明、雷志芳。酚类化合物抑制斜生栅藻生长的毒性效应, 环境化学, 1998, 17(2): 127~130
- 5 Dennis F.Kalf, Trudie Crommentuijn and Erik J. Van De Plassche. Environmental Quality Objectives for 10 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1997, 36(1): 89~97
- 6 Guillard R.R.L. . Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: W. L. Smith and M. H. Chaney (ed). *Culture of Marine Invertebrate Animals*. New York: Plenum Press, 1975, 29~61
- 7 Ma Yan-jun, Wang Xiu-lin, Yu Wei-jun. Toxicity of Chlorinated Benzenes to Marine Algae, *Chin. J. (Oceanol. Limnol.* 1997, 15(4): 308~313
- 8 Pierre-Yves caux, A spreadsheet program for estimating low toxic effects, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1997, 16(4): 802~806

研究报告 REPORTS

TOXICITY OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS(PAHs) TO MARINE ALGAE

JIANG Yu WU Zhi-hong HAN Xiu-rong ZHANG Lei WANG Xiu-lin
(College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of Qingdao, 266003)

Received: Dec., 4, 2000

Key Words: PAHs, Phytoplankton, Acute toxicity, EC₅₀

Abstract

The kinetic method was applied in testing the acute toxicity of four kinds of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) to six species of marine algae, and a logistic regression model was used to calculate the value of EC₅₀. It showed that the values of EC₅₀ obtained from the model were in good agreement with those from its definition and this model revealed the correct and reasonable trait when the subtoxic stimulus was present. The value of 72 h - EC₅₀ was 34.1 - 114 mg/L for toluene, 3.9 - 7.3 mg/L for naphthalene, 1.69 - 3.03 mg/L for 2-methylnaphthalene, 0.6 - 1.92 mg/L for phenanthrene to the phytoplankton. The order of the toxicity of four kinds of PAHs to six species of algae was: *Nitzschia closterium minutissima* > *Zooxanthella microadrix tica* > *Pheodactylum tricorutum* Bohlin > *Skeletonema costatum* Greville > *Chlorella vulgaris* > *Platymonas subcordiformis* (Wille) Hazen. In addition, the results showed that it has a log-log correlation between the values of EC₅₀ of four kinds of PAHs and of their K_{ow} . (本文编辑:张培新)