

不同海洋微藻对石油污染的响应差异

耿沙沙, 刘晨, 张少宁, 周成旭, 叶央芳, 骆其君, 严小军

(宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 微藻对油污染物的不同响应, 势必造成其群落种类组成和结构的变化, 进一步影响海洋生态系统的变迁。由于油污染对于浮游植物的影响具有污染源及生物响应的多样性、多维度性和复杂性, 产生影响的时效长但可显示度低等特点, 造成该研究领域的极大限制。作者以石油标准品 20-3 和 3 种石油化学品(双酚、对苯二甲酸、对二甲苯)作为油污染源, 利用多孔板高通量检测方法及大数据处理分析软件 Simca-P, 对中国沿海常见单种微型藻类的种群消长受油污染影响进行了研究。以石油标准品 20-3 为油污染源, 分析了 31 株微藻增殖对不同油标浓度的不同响应; 利用 Simca-P 软件对 3 种不同浓度的石油化学品对 4 种典型微藻(柔弱角刺藻(*Chaetoceros debilis*)、球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)、东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)、剧毒卡罗藻(*Karlodinium veneficum*))增殖的影响进行了比较分析。研究结果显示: 不同种类微藻因油污种类及其浓度不同, 其响应存在显著差异。利用多孔板以及微藻的吸光特征, 可以高通量快速筛查不同微藻对不同油污及其不同浓度的响应差异, 并利用计算机软件对大数据的分析能力, 挖掘和比较不同微藻与不同油污之间的相互关系, 从而就油污对微藻影响这种多维度复杂关系进行研究。

关键词: 海洋微藻; 油污染; 种群增殖; 大数据

中图分类号: Q89

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2016)06-0062-10

doi: 10.11759/hyxx20150812003

来源于生活污水、石油及其化学制品等的油污是海洋富营养化重要的有机污染源^[1-2]。微型藻类构成了海洋初级生产力, 其种类组成、生物量、种群消长以及群落结构与海区生态系统的稳定和健康密切相关。石油污染影响多种海洋浮游生物的生长、分布、营养吸收、光合作用以及其他重要生理代谢过程^[3-7]。不同种类的微藻, 受复杂多样的油污染源影响时, 其生理生化响应是不同的, 并且在不同季节^[8]、不同营养盐环境条件下^[9], 微藻群落中不同种类对油污污染的响应差异也显著不同, 从而形成了不同微藻种间竞争能力的差异, 因此可能造成群落结构演变进而影响海洋生态系统^[10]。在石油污染严重的海区, 赤潮的发生概率增加, 虽然不同种类赤潮的发生机理各异, 但应考虑海域油污污染的影响^[11-12]。

与其他生物种类受油污污染而发生显著的可见度反应不同, 油污对于浮游植物的影响具有污染源、生物响应的多样性、多维度性和复杂性等特点, 而且产生影响的时效性长和可显示度低^[13-16]。

海洋富营养化问题中, 相对于无机营养盐的大量研究而言, 关于油污对海洋浮游植物影响的研究, 则在方法学、生理指标、易感和耐受种类差异等方面都具有显著的复杂性^[17-19]。究其原因, 主要在于

石油污染或其他油污是一类复杂的多源性污染物, 其组成成分在各时间各案例中都可能各不相同; 另一方面, 微藻种类繁多, 且彼此相互作用。油污和微藻都属于多维度变动, 研究其相互关系常出现大量复杂数据关系, 因此造成该领域的基础研究及方法学方面的极大困难。

作者利用自养微藻具有在可见光区吸光特征, 在多孔培养板上对大量不同微藻进行同期高通量检测, 分析不同微藻种类受油污影响的种群消长情况; 利用 Simca-P 软件进行多变量主成分分析, 研究不同微藻对典型油污的响应特征及彼此差异, 以期为油

收稿日期: 2015-08-12; 修回日期: 2015-10-27

基金项目: 中国国家科技部星火计划项目(2015GA701001); 浙江省自然科学基金资助项目(LY12D06001); 国家公益性行业(海洋)科研专项经费项目(201105009); 海洋可再生能源专项资金项目(GHME2001SW02); 国家“万人计划”(财教[2014] 412 号)

[Foundation: China Spark Program of National Ministry of Science and Technology, No.2015GA701001; Natural Science Foundation of Zhejiang Province, No. LY12D06001; National Marine Research Special Funds for Public Welfare Projects, No. 201105009; Marine Renewable Energy Special Project, No. GHME2001SW02; National High-level Personnel of Special Support Program, No. 2014-412]

作者简介: 耿沙沙(1990-), 女, 河南周口人, 硕士研究生, 主要从事渔业研究, E-mail: 1370112095@qq.com; 周成旭, 通信作者, E-mail: zhouchengxu@nbu.edu.cn

污染影响海洋生态系统的研究提供典型微藻案例以及方法学上的参考。

1 材料与方法

1.1 石油标准品及石油化学品

石油标准品为 20-3 石油标准, 购自国家海洋局环境监测中心, 产品规格为 1 g/L。石油化学品为双酚、对苯二甲酸、对二甲苯(分析纯, Sigma, USA)。

1.2 藻种及其培养条件

微藻藻种取自宁波大学微藻种质库, 均为中国沿海分离纯化种。室内保种的微藻培养在 *f/2* 培养液中, 均为单种培养。用于检测的微藻均为各微藻适宜条件下经新鲜培养液培养至指数生长期时取样研究的。微藻培养于光照培养室, 温度 18~20℃, 光照 35~85 μmol/(m²·s)(L : D=12h : 12h)。本研究中所用微藻藻株信息见表 1。

表 1 本研究所用微藻信息

Tab.1 Microalgae species used in this study

| | 品系编号 | 采样地 | |
|---------------------------------------|--|--------------------------------------|-----------------------|
| 硅藻 | 三角褐指藻(<i>Phaeodactylum tricorutum</i>) | NMBguh001, 未知 | |
| | 小新月菱形藻(<i>Nitzschia closterium f. minutissima</i>) | NMBguh002, 未知 | |
| | 尖刺拟菱形藻(<i>Pseudo-nitzschia pungens</i>) | NMBguh002-1-1, 朱家尖 | |
| | 中肋骨条藻(<i>Skeletonema costatum</i>) | NMBguh004-2, 厦门 | |
| | 冠盘藻(<i>Stephanodiscus sp.</i>) | NMBguh017, 乐清 | |
| | 柔弱角刺藻(<i>Chaetoceros debilis</i>) | NMBguh003-1, 未知 | |
| | 圆海链藻(<i>Thalassiosira rotula</i>) | NMBguh0010, 南麂岛 | |
| | 直链藻(<i>Melosira sp.</i>) | NMBguh009-1, 象山港 | |
| | 海毛藻(<i>Thalassiothrix frauenfeldii</i> Grunow) | NMBguh023, 南麂岛 | |
| | 双眉藻(<i>Amphora sp.</i>) | NMBguh007, 大西洋 | |
| | 中华盒形藻(<i>Bidduphia sinensis</i>) | NMBguh018, 南麂岛 | |
| | 几内亚藻(<i>Guinardia sp.</i>) | NMBguh022, 未知 | |
| | 针胞藻 | 赤潮异弯藻(<i>Heterosigma akashiwo</i>) | NMBRah03-2, H1, 南田岛 |
| | | 赤潮异弯藻 | NMBRah03-2-2, H2, 胶州湾 |
| 赤潮异弯藻 | | NMBRah03-2-3, H3, 渔山 | |
| 甲藻 | 微小亚历山大藻(<i>Alexandrium minutum</i>) | NMBjah042, 香港 | |
| | 海洋原甲藻(<i>Prorocentrum micans</i>) | NMBjah041, 青岛 | |
| | 无纹环沟藻(<i>Gyrodinium instriatum</i>) | NMBjah046, 洞头 | |
| | 塔玛亚历山大藻(<i>Alexandrium tamarense</i>) | NMBjah048, 香港 | |
| | 东海原甲藻(<i>Prorocentrum donghaiense</i>) | NMBjah045, 洞头 | |
| | 锥状斯克里普藻(<i>Scrippsiella trochoidea</i>) | NMBjah044, 象山港 | |
| | 剧毒卡罗藻(<i>Karlodinium veneficum</i>) | NMBjah047, 洞头 | |
| | 米氏凯伦藻(<i>Karenia mikimotoi</i>) | NMBjah052, 洞头 | |
| | 微小原甲藻(<i>Prorocentrum minimum</i>) | NMBjah049, 渔山 | |
| | 定鞭藻 | 球等鞭金藻(<i>Isochrysis galbana</i>) | NMBjih021-2, 未知 |
| 金色巴夫藻(<i>Pavlova gyrans</i> Butcher) | | NMBjih025, 未知 | |
| 颗石藻(<i>Pleurochrysis caterae</i>) | | NMBjih026, 象山港 | |
| 颗石藻(<i>Pleurochrysis sp.</i>) | | NMBjih026-1, 象山港 | |
| <i>Apedinella radians</i> | | NMBjih028, 象山港 | |
| 绿藻 | 青岛大扁藻(<i>Tetraselmis helgolandica</i>) | NMBluh011, 未知 | |
| | 小球藻(<i>Chlorella sp.</i>) | NMBluh015-1, 未知 | |

1.3 不同浓度油标准 20-3 对不同微藻增殖影响的实验设置

在 24 孔组织培养板上进行小体积高通量的检测, 分析表 1 中海洋微藻对不同浓度油标准的响应差异。

不同浓度油标培养液的制备: 取 120 μL 石油标准品 20-3 于 200 mL 容量瓶中, 用 $f/2$ 培养液定容, 用力摇晃 0.5 h 后转入三角瓶中, 用 $f/2$ 培养液进行 2 次 10 倍稀释, 获得含有油标浓度分别为 0.6、0.06 和 0.006 mg/L 的 $f/2$ 油水培养液。

取培养至指数期各微藻, 将油水培养液与藻液按照 1:1 比例置于 24 孔板中, 形成对微藻作用的油标工作浓度为: 0.003、0.03、0.3 mg/L。设置无油污 $f/2$ 培养液空白对照组各 3 平行。将各 24 孔板置于培养室对应微藻适宜培养环境中, 培养 72 h。利用多功能酶标仪(Thermo, USA)在 680 nm 波长处检测实验始(0 h)末(72 h)吸光值($A_{680\text{nm}}$)。

微藻生物量及其变化的分析: 根据始末吸光值相对变化, 分析藻液增殖所受的影响:

$$\text{相对增殖百分比} = (A_{72\text{h}} - A_{0\text{h}}) / A_{0\text{h}} \times 100\%$$

1.4 不同浓度石油化学品对不同微藻增殖影响的实验设置

石油化学品为双酚、对苯二甲酸、对二甲苯。微藻为柔弱角刺藻、球等鞭金藻、东海原甲藻、剧毒卡罗藻。

不同浓度石油化学品培养液及藻液的制备: 以 $f/2$ 培养液为溶剂, 根据实验预定工作终浓度, 分别配制质量浓度为 1000 $\mu\text{g/L}$ 或 100 $\mu\text{g/L}$ 的 3 种石油化学品母液。分别对应定量取 3 种石油化学品母液, 分别加入到培养至指数生长期的 80 mL 各微藻藻液中, 最终制成含石油化学品工作终质量浓度分别为 5、0.5、0.05 $\mu\text{g/L}$ 的受油污影响藻液。以不添加任何石油化学品的 4 种微藻分别为各自对照组。因全部实验非同时进行, 故各处理分别设置对应的空白对照组, 全部处理 3 平行, 培养环境条件同上述。

每天定时分别取各组藻样 2 mL, 置于洁净的 24 孔培养板上, 使用多功能酶标仪(Thermo, USA)检测各藻液在 680 nm 波长处吸光值。实验进行 7d, 各藻对照组均进入指数增殖阶段时结束实验。

1.5 数据分析

数据结果为取样平均值, 利用 SPSS 程序进行显著性统计分析。利用 Simca-P 软件分析不同微藻对不

同石油化学品油污的相应差异。

2 结果与讨论

2.1 不同浓度油标准对不同微藻增殖的影响

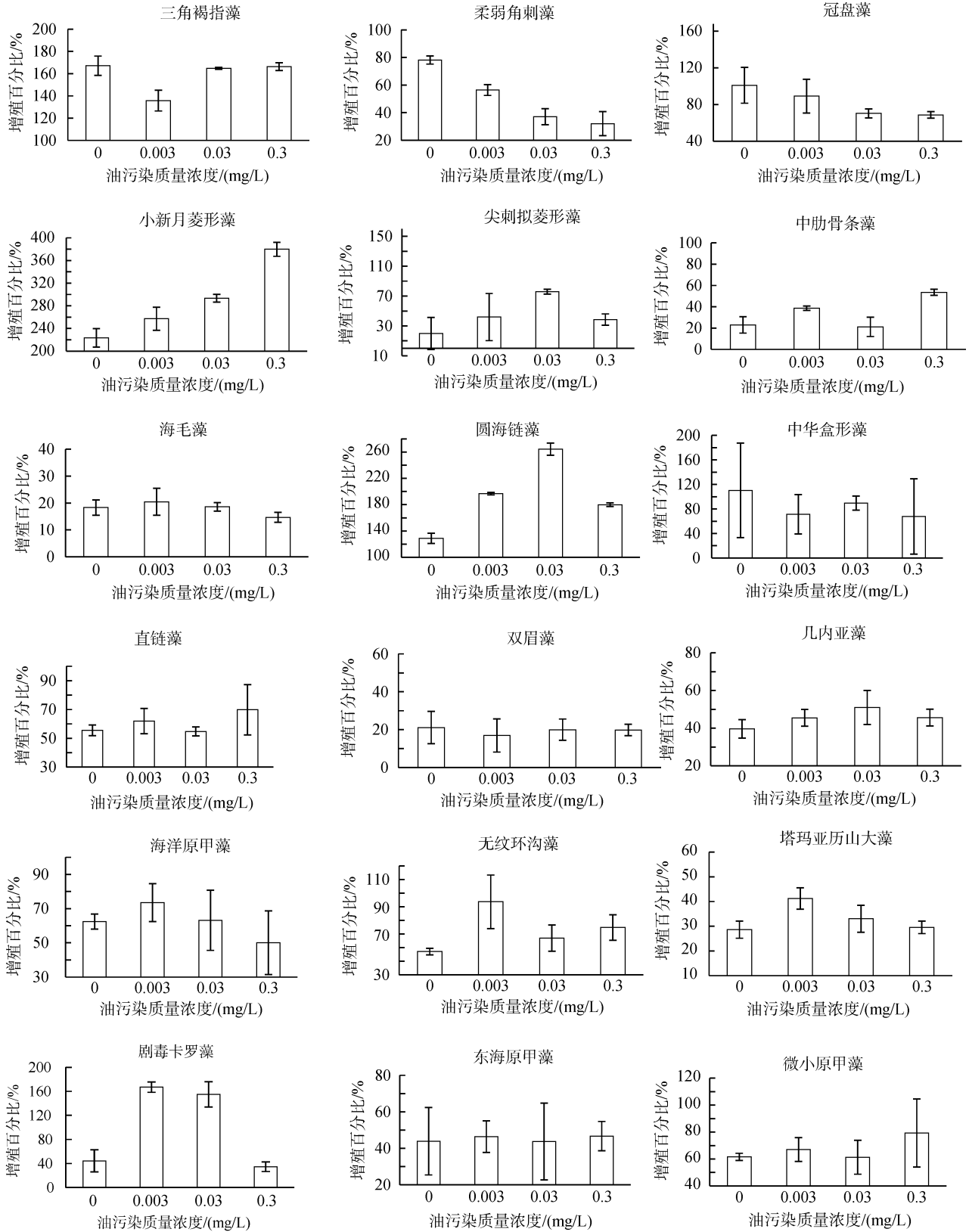
本实验利用 24 孔板小体积高通量的特点, 结合多功能酶标仪检测技术, 对多种不同微藻受不同浓度油标准的影响进行了分析。

图 1 显示了多种微藻在不同浓度油污染状态下, 培养 72 h 后各藻液在 680nm 处吸光值相对于起始值变化百分比。

由图 1 可见, 不同微藻对同一种油污染的响应各异, 且微藻增殖差异因不同油污浓度而异。微藻受 72 h 不同浓度油标准作用后, 呈现出显著的效应多样性特征: 相对于对照组, 其增殖或受到显著抑制或得到促进; 抑制或促进作用与油污浓度相关或不相关; 一些微藻则表现出低浓度促进高浓度抑制的特点。典型的微藻响应显示, 硅藻中, 柔弱角刺藻的增殖随油标浓度增大而受抑制作用越大; 小新月菱形藻随着油标浓度增大受促进作用越显著; 圆海链藻受油标影响有促进作用, 但在低、中浓度下, 随其浓度增大促进作用越大, 并在实验的中等浓度达到最大, 在更高浓度影响下, 其促进作用降低, 但增殖率仍大于对照组。甲藻中, 剧毒卡罗藻在低、中浓度油标下的促进作用显著且相似, 但在高浓度时, 其增殖相对于对照组则无显著差异; 中国东海典型赤藻原因种东海原甲藻受不同浓度油标影响下, 其种群增殖与对照组均无显著差异; 麻痹性贝毒原因种微小亚历山大藻的增殖随着油标浓度增大受抑制作用越大; 而另一种 PSP 产毒种塔玛亚力山大藻则不受油污影响, 其增殖与对照组没有显著差异。定鞭藻中, 常见水产养殖用的饵料微藻球等鞭金藻与金色巴夫藻受油标浓度影响效果不显著; 围塘养殖环境以及沿海水域中常见定鞭藻颗石藻在油标低、中浓度下无显著影响, 但高浓度时受到促进, 与对照组有显著差异; 同属的另一颗石藻品系 *Pleurochrysis* sp.(cocco2)在低、中浓度中无显著影响, 但在高浓度时受到抑制, 与对照组有显著差异。典型鱼毒性赤潮种类赤藻异弯藻的 3 个不同地理品系受油污影响的结果显示, 其中两个地理品系(H1, H2)受油标影响效果不显著, 但另一个地理品系(H3)则表现出低油污情况下增殖受到显著促进, 随着油污浓度增加, 其促进作用减少。3 株赤藻异弯藻没有基因型差异, 但是不同地理株对油污影响的响应存在差异, 说明

不同地理株的微藻可能由于其不同生态适应而表现不同表型。对盐藻的耐油污基因突变研究显示, 盐藻耐油污遗传突变是发生在油污前的随机突变而非获

得性的遗传特征^[20]。由此可见, 油污并没有形成类似极端环境的生物种类, 而只是广泛分布种类的环境筛选。这种来源于长期耐受过程中逆境对随机突



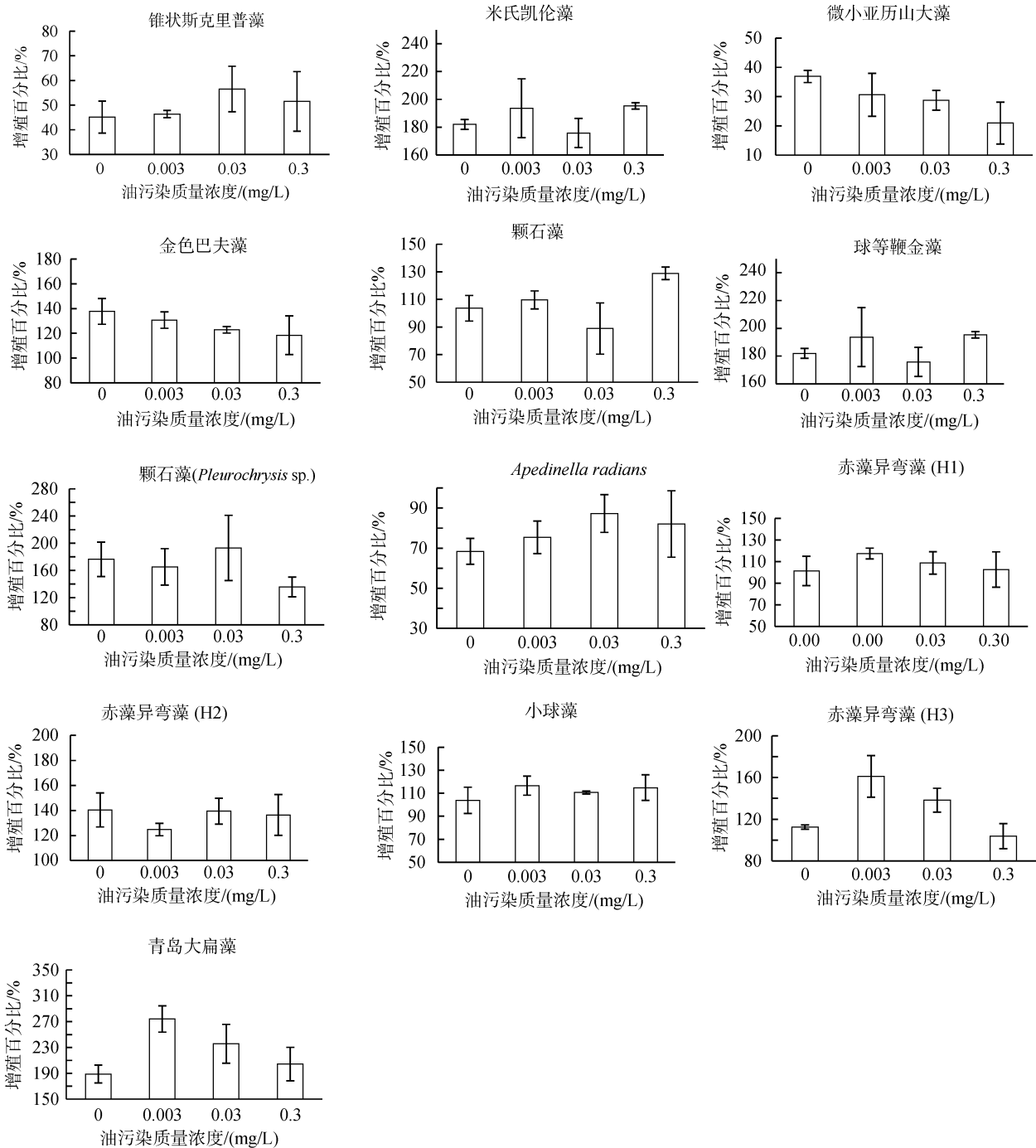


图 1 不同浓度油标准 20-3 对不同微藻细胞增殖的影响

Fig. 1 Variation in population growth rate of different microalgae as a function of the concentration of Standard Oil 20-3

变基因的筛选过程，是否在浮游植物界具有普遍的生物学基础尚待解决。综合分析不同浓度油标影响下微藻增殖受影响的信息总结如表 2 所示。

研究结果显示，不同海洋微藻在石油标准品 20-3 不同实验浓度下都有不同程度的种群增殖，并未出现种群增殖完全被抑制或种群消亡的现象，说

明该石油标准品对微藻没有显著毒性。油污的存在对浮游植物的生长来说并非都是有害的^[21]。Fábregas^[22]等的研究显示低浓度的烃类能够刺激绿藻 *Tetraselmis suecica* 的生长，而高浓度则起抑制作用。Megharaj^[23]等在一个利用烃类污染的泥土浸出液做的生长抑制实验中也得到了相似的结论：在低度

表 2 海洋微型藻类种群增殖受石油标准品 20-3 影响下的响应特征

Tab. 2 The population growth of marine microalgae affected by Standard Oil 20-3

| 中文名 | 响应特征 | | |
|---------------------------|------|----|-------|
| | 促进 | 抑制 | 无明显作用 |
| 三角褐指藻 | | | + |
| 小新月菱形藻 | + | | |
| 尖刺拟菱形藻 | + | | |
| 中肋骨条藻 | + | | |
| 冠盘藻 | | + | |
| 柔弱角刺藻 | | + | |
| 圆海链藻 | + | | |
| 直链藻 | | | + |
| 海毛藻 | | | + |
| 双眉藻 | | | + |
| 中华盒形藻 | | | + |
| 几内亚藻 | | | + |
| 赤潮异弯藻 H1 | | | + |
| 赤潮异弯藻 H2 | | | + |
| 赤潮异弯藻 H3 | + | | |
| 微小亚历山大藻 | | + | |
| 海洋原甲藻 | | | + |
| 无纹环沟藻 | + | | |
| 塔玛亚历山大藻 | + | | |
| 东海原甲藻 | | | + |
| 锥状斯克里普藻 | | | + |
| 剧毒卡罗藻 | + | | |
| 米氏凯伦藻 | + | | |
| 微小原甲藻 | | | + |
| 球等鞭金藻 | | | + |
| 金色巴夫藻 | | + | |
| 颗石藻 | + | | |
| 颗石藻 | | + | |
| <i>Apedinella radians</i> | + | | |
| 青岛大扁藻 | + | | |
| 小球藻 | | | + |

注: +为具有该响应特征

污染的泥土浸出液中 *Chlorococcum* sp.的生长得到了刺激,而在污染更严重的泥土浸出液中 *Chlorococcum* sp.的生长则受到了抑制。

2.2 不同浓度石油化学品对不同微藻增殖影响

每天定时取样检测各藻液在 680nm 波长处的吸光值。本实验进行了 7d,待各藻对照组进入指数增殖以后结束实验。4 种微藻在 3 种石油化学品不同浓

度下的 7d 种群增殖如图 2 所示。

结果显示,在不同实验浓度的 3 种石油化学品影响下,4 种微藻均有不同程度的种群增殖。其中双酚对微藻种群增殖的胁迫作用最为明显,其质量浓度为 0.5 μg/L 时,显著抑制东海原甲藻和剧毒卡罗藻的种群增殖。可以看出,实验浓度为 0.5 和 0.05 μg/L 的中低质量浓度时,微藻种群增殖状态相对稳定,有利于比较不同石油化学品对微藻种群增殖的影响。例如,柔弱角刺藻和球等鞭金藻在中低浓度的 3 种石油化学品作用下其种群增殖变化的规律性较强,对进一步研究和建立石油污染下微藻生理生化反应模型有潜在应用价值。由于硅藻是海洋初级生产力的主要组成,因此,关于油污染对硅藻的影响研究工作较多^[24-25]。油污染可以影响硅藻细胞致死或细胞分裂停止。西班牙科学家通过对硅藻的研究,得出油污染对硅藻的影响取决于藻类的大小。直径小于 20 μm 的硅藻在油污染中生长加快;但超过 20 μm 的会受到抑制。这是由于光合途径和对多环芳香烃 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) 的敏感度决定的^[19, 26]。硅藻中布氏双尾藻 (*Ditylum brightwellii*) 被认为是对油污染最敏感的指示种^[27]。但是,Özhan^[28]等的研究显示,布氏双尾藻对原油污染的耐受性大于甲藻等其他微藻,该研究发现大型微藻较小型微藻耐受原油油污的能力强。由此可以看出浮游植物对油污染响应特征研究问题的复杂性。

本研究结果显示,高质量浓度下(5μg/L),微藻种群增殖状态不稳定,变动幅度差异较大。由于石油化学品的挥发性特点各异,水中溶解性也有差异,并且本实验时间相对较长(7d),期间石油化学品的变化未知,其稳定性尚待查明,上述原因可能造成高浓度的影响波动较大。

为了利用微藻种群增殖数据挖掘与比较不同石油化学品对 4 种海洋微藻的影响效应以及微藻对不同石油化学品的响应差异,将实验结果的数据群导入 Simca-P 软件,分别就不同微藻受不同浓度石油化学品影响以及同一微藻受不同浓度石油化学品影响进行分析,结果如图 3,图 4 所示。

相对于对照组而言,同一种微藻对不同石油化学品响应存在差异(图 3),柔弱角刺藻受对苯二甲酸影响与对照组无明显差异,而双酚、对二甲苯则影响明显;球等鞭金藻受对二甲苯影响与对照组无明显差异,而双酚、对苯二甲酸则影响显著,不与对照聚在一起。东海原甲藻受对二甲苯影响与对照组无明

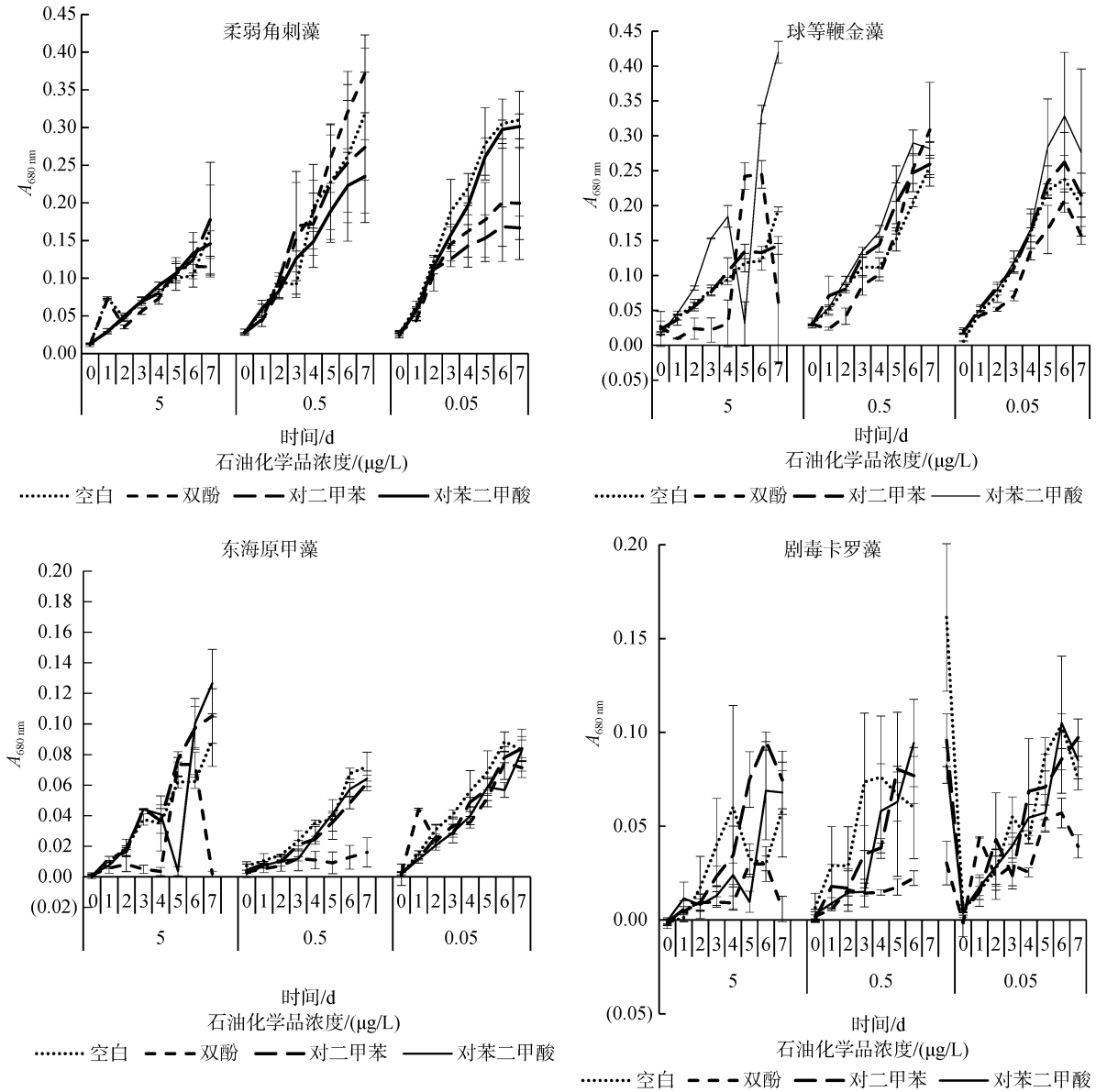


图 2 4 种微藻在 3 种不同浓度石油化学品作用下的种群增殖

Fig. 2 Population growth of 4 species of microalgae in the presence of 3 kinds of oil products as the function of the concentration

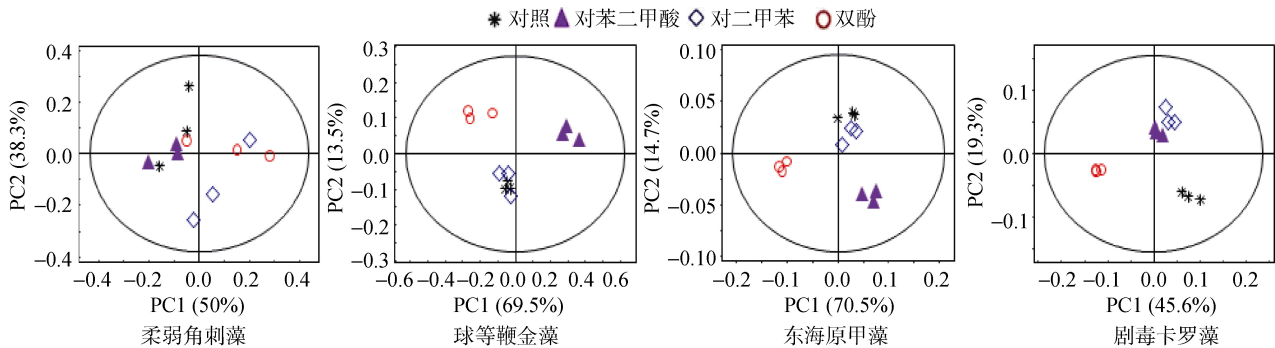


图 3 4 种微藻对 3 种石油化学品的响应差异

Fig. 3 Difference in the response of 4 species of marine microalgae to 3 different oil chemical products (PCA results)

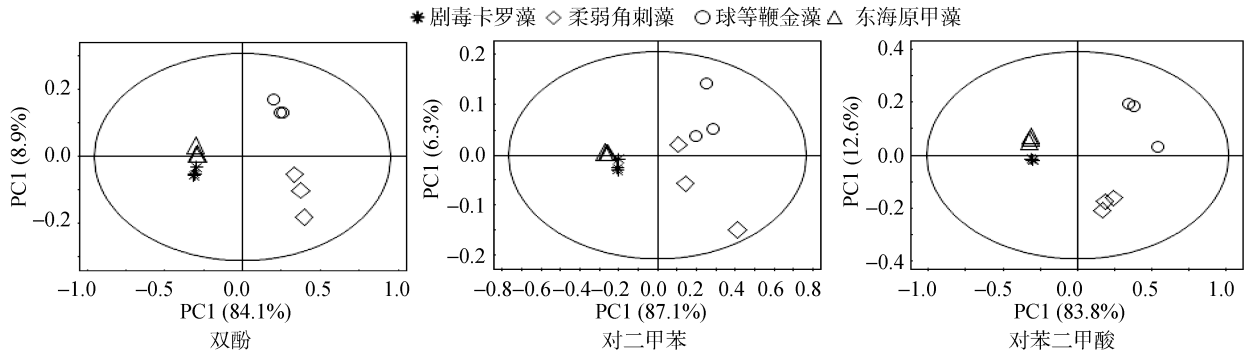


图 4 4 种微藻对 3 种石油化工产品的响应差异

Fig. 4 Difference in the response of 4 species of marine microalgae to 3 different oil chemical products (PCA results)

显差异，而双酚、对苯二甲酸则影响明显。剧毒卡罗藻受双酚、对二甲苯、对苯二甲酸影响与对照组均有明显差异，说明 3 种石油化学品对该藻均具有显著影响。

同一石油化学品作用下 4 种微藻响应差异关系如图 4 所示：双酚影响下，两种甲藻(东海原甲藻，剧毒卡罗藻)响应相似，PCA 分析聚在一起，与定鞭藻中球等鞭金藻和硅藻中柔弱角刺藻响应均有明显差异；对二甲苯影响下，2 种甲藻(东海原甲藻，剧毒卡罗藻)响应相似，与球等鞭金藻和柔弱角刺藻明显分开，后两者没有明显区分；对苯二甲酸影响下，2 种甲藻(东海原甲藻，剧毒卡罗藻)响应相似，与球等鞭金藻和柔弱角刺藻响应均明显差异，显著分成 3 组。由以上结果显示，在同一种石油化学品影响下，分属于甲藻、定鞭藻和硅藻的各类微藻响应存在显著差异：同属于甲藻的东海原甲藻和剧毒卡罗藻的响应相似，与定鞭藻中球等鞭金藻和硅藻中柔弱角刺藻都存在显著差异，而定鞭藻和硅藻对油污染的响应也存在显著差异。

王摆^[29]等研究了儿种石油化学品对球等鞭金藻和新月菱形藻的影响，结果显示儿种石油化学品对两种微藻的增殖都有明显的抑制作用，并且两种对污染物的响应有显著差别。本研究所用化学品浓度较该研究中所使用浓度低，但微藻的响应差异能显著区分。油污染与微型藻类相互关系是时间、空间上的多维度效应，因此，对这种关系的研究需要借助不断发展更新的分析手段，从而能从中挖掘并确证关键的规律^[30]。

3 结论

本研究的结果显示，石油及其化学制品对不同种类以及不同地理株的海洋微藻种群增殖的影

响不同。

基于多孔培养板上微藻多重条件下的增殖技术，Simca-P 主成分分析软件可应用于微藻对油污染响应差异的大数据规律的挖掘。

参考文献:

- [1] 李艳梅, 曾文炉, 余强, 等. 海洋溢油污染的生态与健康危害[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(4): 345-351.
Li Yanmei, Zeng Wenlu, Yu Qiang, et al. Adverse effect of marine oil spills on human health and ecosystem: a review[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2011, 6(4): 345-351.
- [2] 李贵珍, 赖其亮, 闫培生, 等. 海洋石油污染及其微生物修复研究进展[J]. 生物技术进展, 2015, 5(3): 164-169.
Li Guizhen, Lai Qiliang, Yan Peisheng, et al. Advance on marine petroleum pollution and microbial remediation[J]. Current Biotechnology, 2015, 5(3): 164-169.
- [3] 王修林, 李克强. 渤海主要化学污染物海洋环境容量[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 12-113.
Wang Xiulin, Li Keqiang. The marine environmental capacity of mainly chemical pollutants in the Bohai Sea[M]. Beijing: Science Press, 2006: 12-113.
- [4] 沈南南, 李纯厚, 王晓伟. 石油污染对海洋浮游生物的影响[J]. 生物技术通报, 2006 (增刊): 95-99.
Shen Nannan, Li Chunhou, Wang Xiaowei. Effects of oil pollution on marine planktons[J]. Biotechnology Bulletin, 2006(s): 95-99.
- [5] 黄逸君, 陈全震, 曾江宁, 等. 石油污染对海洋浮游植物群落生长的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(2): 513-521.
Huang Yijun, Chen Quanzhen, Zeng Jiangning, et al. The impact of oil pollution on marine phytoplankton community growth chang[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(2): 513-521.
- [6] Smith J E. Torrey canyon pollution and marine life[M]. London: Cambridge University Press, 168-196.

- [7] 高尚德. 集油对几种海藻光合作用、呼吸作用影响的初步研究[J]. 环境科学学报, 1986, 6(8): 11.
Gao Shangde. Oil to the influence of several kinds of algal photosynthesis, respiration, a preliminary study[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 1986, 6(8): 11.
- [8] 陈中伟, 徐韧, 刘材材, 等. 不同季节轻质油浓度对浮游植物的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2015, 24(2): 272-279.
Chen Zhongwei, Xu Ren, Liu Caicai, et al. The effect of light oil concentration on microalgae in different season[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2015, 24(2): 272-279.
- [9] Ozhan K, Bargu S. Distinct responses of Gulf of Mexico phytoplankton communities to crude oil and the dispersant corexit®Ec9500A under different nutrient regimes[J]. Ecotoxicology, 2014, 23: 370-385.
- [10] Selala C, Botha A M, Klerk L P de, et al. Using phytoplankton diversity to determine wetland resilience, one year after a vegetable oil spill[J]. Water Air Soil Pollut, 2014, 225: 2051.
- [11] 程振波. 渤海饵料生物培养[M]. 北京: 农业出版社, 1992: 69-75.
Cheng Zhenbo. The Bohai Sea bait biological cultivation[M]. Beijing: Agriculture Press, 1992: 69-75.
- [12] 王伟杰, 吴长江. 我国海洋石油污染对渔业的危害及其防治[J]. 海洋信息, 1993, 3: 2-27.
Wang Weijie, Wu Changjiang. China's marine oil pollution and its prevention countermeasures to the harm of fisheries[J]. Marine Information, 1993, 3: 2-27.
- [13] 王晓伟, 李纯厚, 沈南南. 石油污染对海洋生物的影响[J]. 南方水产, 2006, 2(2): 76-80.
Wang Xiaowei, Li Chunhou, Shen Nannan. Effect of oil pollution on marine organism[J]. South China Fisheries Science, 2006, 2(2): 76-80.
- [14] 倪朝辉, 翟良安. 石油对鱼类等水生生物的毒性[J]. 淡水渔业, 1997, 27(6): 38-40.
Ni Zhaohui, Zhai Liangan. Oil toxicity to fish and other aquatic organisms[J]. Fresh Water Fisheries, 1997, 27(6): 38-40.
- [15] 宋光彪, 王伟洪, 张杰, 等. 石油烃污染对海洋浮游植物的影响[J]. 环境科学与管理, 2013, 38(3): 84-87.
Song Guangbiao, Wang Weihong, Zhang Jie, et al. Influence of petroleum hydrocarbon pollution on marine phytoplankton[J]. Environmental Science and Management, 2013, 38(3): 84-87.
- [16] 王君丽, 刘春光, 冯剑丰, 等. 石油烃对海洋浮游植物生长的影响研究进展[J]. 环境污染与防治, 2011, 4(4): 81-86.
Wang Junli, Liu Chunguang, Feng Jianfeng, et al. Literature review of the effects of petroleum hydrocarbons on marine phytoplankton[J]. Environmental Pollution & Control, 2011, 4(4): 81-86.
- [17] 张雷, 王修林, 韩秀荣, 等. 石油烃污染对海洋浮游植物生长的影响——实验与模型[J]. 青岛海洋大学学报, 2002, 32(5): 804-810.
Zhang Lei, Wang Xiulin, Han Xiurong, et al. Effects of petroleum hydrocarbon on the growth of marine algae experiment versus model[J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 2002, 32(5): 804-810.
- [18] Hing L S, Ford T, Finch P, et al. Laboratory stimulation of oil-spill effects on marine phytoplankton[J]. Aquatic Toxicology, 2011, 103: 32-37.
- [19] Hjorth M. Plankton stress responses from PAH exposure and nutrient enrichment[J]. Marine Ecology Progress Series, 2008, 363: 121-130.
- [20] Carrera-martinez D, Mateos-sanz A, López-rodas V, et al. Microalgae response to petroleum spill: An experimental model analyzing physiological and genetic response of *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) to oil samples from the tanker Prestige[J]. Aquatic Toxicology, 2010, 97: 151-159.
- [21] Siron R, Pelletier E R, Roy S. Effects of dispersed and adsorbed crude oil on microalgal and bacterial communities of cold seawater[J]. Ecotoxicology, 1996, 5(4): 229-251.
- [22] Fabregas J, Herrero C, Veiga M. Effect of oil and dispersant on growth and chlorophyll a content of the marine microalga *Tetraselmis suecica*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1984, 47(2): 445-447.
- [23] Megharej M, Singleton I, McClure N C, et al. Influence of petroleum hydrocarbon contamination on microalgae and microbial activities in a long-term contaminated soil[J]. Archives of Environmental Contamination Toxicology, 2000, 38: 439-445.
- [24] 黄逸君, 江志兵, 曾江宁, 等. 石油烃污染对海洋浮游植物群落的短期毒性效应[J]. 植物生态学报, 2010, 34(9): 1095-1106.
Huang Yijun, Jiang Zhibing, Zeng Jiangning, et al. Short-term toxic effects of crude oil pollution on marine phytoplankton community[J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2010, 34(9): 1095-1106.
- [25] 刘瑀, 姚敬元, 李颖, 等. 溢油胁迫下海洋微藻脂肪酸合成过程中碳稳定同位素分馏效应[J]. 海洋环境科学, 2015, 34(1): 54-65.
Liu Yu, Yao Jingyuan, Li Ying. Carbon stable isotopic fractionation associated with biosynthesis of fatty acids by marine microalgae under the stress of oil spills[J]. Marine Environmental Science, 2015, 34(1): 54-65.
- [26] Radix P, Leonard M, Papantoniou C, et al. Comparison of four chronic toxicity tests using algae, bacteria, and invertebrates assessed with sixteen chemicals[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2000, 47:

- 186-194.
- [27] O'Brien P Y, Dixon P S. The effects of oils and oil-components on algae: A review[J]. *British Phycological Journal*, 1976, 11: 115-142.
- [28] Özhan K, Miles S M, Gao H, et al. Relative phytoplankton growth responses to physically and chemically dispersed South Louisiana sweet crude oil[J]. *Environ Monit Assess*, 2014, 186: 3941-3956.
- [29] 王摆, 高士博, 董颖, 等. 6种苯系物对球等鞭金藻和新月菱形藻的生长抑制[J]. *生态毒理学报*, 2014, 9(2): 233-238.
- [30] Pareons M L, Turner R E, Overton E B. Sediment-preserved diatom assemblages can distinguish a petroleum activity signal separately from the nutrient signal of the Mississippi River in coastal Louisiana[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 85: 164-171.

Differences in the response of different marine microalgae to oil pollution

GENG Sha-sha, LIU Chen, ZHANG Shao-ning, ZHOU Cheng-xu, YE Yang-fang, LUO Qi-jun, YAN Xiao-jun

(The School of Marine Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Received: Aug. 12, 2015

Key words: Marine microalgae; oil pollution; population growth; big data

Abstract: Microalgae are a fundamental component of aquatic food web. Oil spills or the release of other sources of hydrocarbons into the marine environments account for most of the organic pollution that occurs in coastal areas. Different species of microalgae will respond differently to oil pollution, producing different downstream effects on phytoplankton communities and possibly reshaping marine ecosystems. Research into the response of different marine microalgae to oil pollution has largely been held back by the high degree of complexity that exists in the relationship between various phytoplankton species and the many different oil pollution scenarios that are possible. The present study uses a high-throughput screening method to examine the responses of different microalgae to oil pollution. This is accomplished using oil standard 20-3 and 3 oil chemical products: bisphenol, terephthalic acid, and paraxylene, as sources of oil pollution together with 30 strains of microalgae isolated from the coastal area of China. For the first time, principle component analysis (PCA) based on Simca-P software was used to analyze a large data set measuring population growth of microalgae over 72 h in the presence of various oil pollutants. The results show that the growth of different strains of microalgae was affected differently by the oil pollutants and the effect of oil pollutants was concentration-dependent. Multiwell culture plates, e.g., 24-well plate, were efficient growth vehicles for algae growth when used in the high-throughput screening procedure. Analysis of this large data set showing microalgal population growth in response to various oil pollutants of different concentration can be performed effectively by applying the method of PCA based on the computer software Simca-P.

(本文编辑: 谭雪静)