

蒽与 UV-B 辐射共同作用对 2 种海洋微藻的毒性效应

于娟¹, 唐学玺¹, 田继远²

(1. 青岛海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 2. 青岛啤酒二厂, 山东 青岛 266100)

摘要: 为研究多环芳烃(PAHs)蒽单独胁迫以及与 UV-B 共同作用对小新月菱形藻(*Nitzschia closterium*)和亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*)的毒害作用, 对小新月菱形藻, 蒽质量浓度设为 0.0、20.0、35.0、62.5、113.0、200.0 $\mu\text{g/L}$ 以及辐射剂量 1.3 J/m^2 ; 对亚心形扁藻, 蒽质量浓度设为 0.0、35.0、62.5、113.0、200.0、350.0 $\mu\text{g/L}$ 以及辐射剂量 2.77 J/m^2 。结果表明, 蒽单独胁迫以及蒽与 UV-B 共同作用都使这 2 种海洋微藻受到伤害, 微藻的相对增长率、叶绿素-a 质量浓度、类胡萝卜素含量都有下降的趋势。但是, 蒽在 UV-B 辐射下发生的光致毒性使海洋微藻受到更大的伤害, 蒽对这 2 种海洋微藻生长的 48h- EC_{50} 分别为 167.9 $\mu\text{g/L}$ 和 141.3 $\mu\text{g/L}$, 而蒽 + UV-B 对这 2 种藻生长的 48h- EC_{50} 分别下降为 122.3 $\mu\text{g/L}$ 和 115.5 $\mu\text{g/L}$ 。2 种藻类叶绿素-a、类胡萝卜素含量在 UV-B 辐射存在下也比无 UV-B 辐射低。蒽的光致毒性直接受到蒽质量浓度的影响。

关键词: 蒽; UV-B; 小新月菱形藻; 亚心形扁藻; 毒性效应

中图分类号: S946

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737(2002)02-0157-04

多环芳烃(PAHs)是 1 种常见的环境污染物, 广泛存在于表层水、底泥、土壤、植物和空气中^[1]。基于其结构上的原因, PAHs 很容易吸收太阳光中的可见(400~700 nm)和紫外(290~400 nm)区光, 因而对紫外辐射引起的光化反应尤为敏感, 产生光致毒效应(phototoxicity)。光致毒效应又称光敏化作用, 定义为外来化合物吸收紫外光以后产生毒性或转变为毒物而引发生物体的损伤。越来越多的研究表明, PAHs 的真正危险性在于它们暴露于紫外光辐射时的光致毒效应^[2,3]。Bowling 等^[3]发现蒽与光在一起作用对蓝腮翻车鱼(*Lepomis macrochirus*)产生的毒性是以前所报道的蒽最大无作用浓度的 400 倍以上。

目前, 关于 PAHs 的光致毒效应国外研究比较多, 但大多是对鱼类的研究, 对于海洋微藻的研究较少。本文就 PAHs 中的线形、三环芳烃-蒽在 UV-B 辐射下对 2 种海洋微藻的光致毒效应作初步研究,

旨在为 UV-B 辐射和 PAHs 对海洋微藻的相互作用机理提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验藻种与培养条件

选用青岛海洋大学水产学院微藻中心提供的硅藻门的小新月菱形藻(*Nitzschia closterium*)和绿藻门的亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*)。

培养条件参照唐学玺等^[4]的方法进行, 其中明暗周期为 12:12。

1.2 UV-B 处理

采用北京曙光电源厂生产的紫外 B 灯处理实验材料, 北京师范大学生产的 UV-B 型紫外辐射强度仪测定辐射强度。紫外 B 灯外用乙酸纤维素薄膜包被, 以除去小于 280 nm 的短波照射, 整个装置在实验前需连续照射 72 h, 以减少薄膜滤过作用的不稳定性。

保持辐射强度为 1.2 $\mu\text{W/cm}^2$ 不变, 通过控制不同的辐射时间来调节辐射剂量。经过预备实验, 设定小新月菱形藻的辐射剂量为 1.3 J/m^2 ; 亚心形

收稿日期: 2001-08-30.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39870146)。

作者简介: 于娟(1973-), 女, 在读博士, 从事生态毒理学研究。

扁藻的辐射剂量为 2.77 J/m^2 。

由于 UV-B 穿透力很弱, 实验中, 量取 30 ml 藻液倒于 500 ml 的烧杯中, 置于紫外灯下部正中央 30 cm 处。照射一定时间后, 转移至光强为 $2\,500 \sim 3\,000 \text{ lx}$ 、温度为 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的光照培养箱中培养 24 h, 每 1 实验剂量设 1 个平行组。

1.3 蒽

蒽溶于 80°C 热苯中, 配成蒽-苯溶液, 现用现配。根据周永欣等^[5]的急性毒性实验方法, 对小新月菱形藻, 蒽的质量浓度设为 0.0、20.0、35.0、62.5、113.0、200.0 $\mu\text{g/L}$; 对亚心形扁藻蒽的质量浓度为 0.0、35.0、62.5、113.0、200.0、350.0 $\mu\text{g/L}$ 。

1.4 细胞密度(N)和相对增长率(K)的测定

48 h 的细胞密度测定用 Lugol 碘液固定样品, 血球计数板计数。

48 h 相对增长率的测定按照公式 $K = \ln(N_t/N_0)/T$ 计算。

1.5 叶绿素 a(Chl-a)、类胡萝卜素(Car)定量测定

参照 Jensen^[6]方法进行, 90% 丙酮提取, 721 型分光光度计测定。

2 结果

2.1 蒽与 UV-B 辐射对 2 种海洋微藻相对增长率的影响

图 1、2 表明, 随着蒽质量浓度的增加, 无论有无 UV-B 辐射, 2 种海洋微藻的相对增长率都有下降的趋势。蒽质量浓度越大, 光致毒性就越强, 且实验测得蒽单独胁迫以及蒽在 UV-B 辐射下时, 对 2 种海洋微藻的 48 h 半数有效抑制质量浓度见表 1。

表 1 蒽与 UV-B 对 2 种海洋微藻的毒性效应

Table 1 Toxic effects of anthracene and UV-B on *N. closterlunum* and *P. subcordiformis*

条件 Condition	48 h EC_{50}	
	<i>N. closterlunum</i>	<i>P. subcordiformis</i>
An	167.9	141.3
An + UV-B	122.3	115.5

由表 1 可知, 蒽与 UV-B 的共同胁迫对 2 种海洋微藻的毒性比蒽单独胁迫的毒性大。

2.2 蒽与 UV-B 辐射对小新月菱形藻 Chl-a 含量的影响

由表 2 可知, 蒽单独胁迫时, 低质量浓度(20.0、35.0、62.5 $\mu\text{g/L}$), 可使小新月菱形藻 Chl-a、Car 含

量比对照组增加, 且 Car 含量增加极显著($P < 0.01$); 但当蒽质量浓度较高时, Chl-a、Car 含量比对照组减少, 但变化不显著; 蒽与 UV-B 共同作用时 Chl-a、Car 含量比蒽单独胁迫时低, 且 Chl-a 含量在蒽质量浓度为 20.0 $\mu\text{g/L}$ 时降低显著($P < 0.05$), 在蒽质量浓度为 113.0 $\mu\text{g/L}$ 时, 降低极显著($P < 0.01$)。说明由于 UV-B 的存在使蒽产生的毒性大于单独蒽的毒性。但本实验显示光致毒性不明显, 可能是由于本实验的 UV-B 辐射剂量不足。

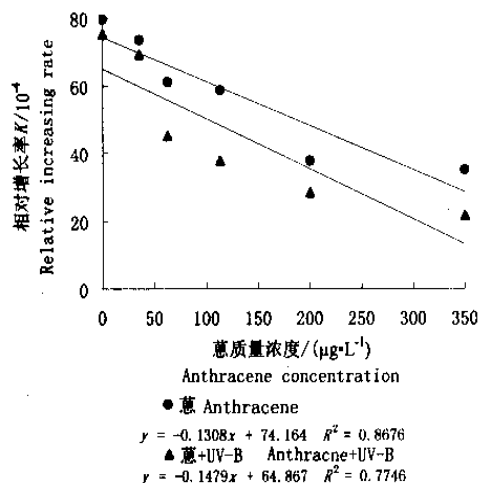


图 1 蒽与 UV-B 对小新月菱形藻相对增长率的影响

Fig.1 Effects of anthracene and UV-B on relative increasing rate (K) of *N. closterlunum*

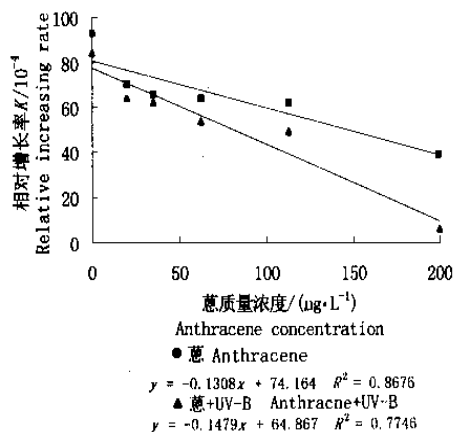


图 2 蒽与 UV-B 对亚心形扁藻相对增长率的影响

Fig.2 Effects of anthracene and UV-B on relative increasing rate (K) of *P. subcordiformis*

2.3 蒽与 UV-B 相互作用对亚心型扁藻 Chl-a 含量的影响

(1) 由表 3 可知, 在较低的蒽质量浓度 (如 35.0 $\mu\text{g/L}$) 时可刺激亚心型扁藻 Chl-a 含量增加, 且经 t -检验差异极显著 ($P < 0.01$), 随着蒽质量浓度的不断增加, 亚心型扁藻的 Chl-a 含量开始下降, 在蒽质量浓度为 200.0、350.0 $\mu\text{g/L}$ 时, Chl-a 含量比对照组降低极显著 ($P < 0.01$); 蒽与 UV-B 共同作用时, 随着蒽质量浓度的增加, Chl-a 含量不断下降, 在蒽

质量浓度为 62.5、200.0、350.0 $\mu\text{g/L}$ 时, 降低极显著 ($P < 0.01$); 在质量浓度为 113.0 $\mu\text{g/L}$ 时, 降低显著 ($P < 0.05$); 蒽与 UV-B 的共同作用与蒽单独胁迫相比, Chl-a 含量降低, 且在蒽质量浓度为 35.0、62.5 $\mu\text{g/L}$ 时, Chl-a 含量降低极显著 ($P < 0.01$)。说明蒽在 UV-B 辐射下产生的毒性比无 UV-B 辐射时的毒性大。且当 UV-B 辐射剂量一定, 蒽的光致毒性受到蒽的浓度的影响, 即蒽的浓度越大, 光致毒性越大。

表 2 不同蒽质量浓度在有或无 UV-B 时对小新月菱形藻 Chl-a、Car 含量的影响

Table 2 Effects of different concentrations of anthracene with or without UV-B on contents of chl-a and Car in *N. closterium*

蒽质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) An concentration	Chl-a 含量 Chl-a content /($\mu\text{g}\cdot 10^{-7}\text{cells}$)		Car 含量 Car content /($\mu\text{g}\cdot 10^{-7}\text{cells}$)	
	An	An + UV-B	An	An + UV-B
0.0	1.579 $\pm$ 0.116	1.549 $\pm$ 0.100	1.148 $\pm$ 0.032	1.143 $\pm$ 0.071
20.0	1.884 $\pm$ 0.058	1.548 $\pm$ 0.104 ^c	1.378 $\pm$ 0.015 ^b	1.141 $\pm$ 0.087
35.0	1.985 $\pm$ 0.177	1.854 $\pm$ 0.103	1.543 $\pm$ 0.077 ^b	1.423 $\pm$ 0.091
62.5	1.870 $\pm$ 0.043	1.822 $\pm$ 0.018	1.379 $\pm$ 0.022 ^b	1.165 $\pm$ 0.083
113.0	1.513 $\pm$ 0.007	1.395 $\pm$ 0.013 ^d	1.230 $\pm$ 0.035	1.142 $\pm$ 0.196
200.0	1.460 $\pm$ 0.037	1.287 $\pm$ 0.083	1.014 $\pm$ 0.099	1.006 $\pm$ 0.097

注: An—Anthracene. 表内值为平均值标准差, $n = 3$ 。a、b 分别表示处理组与对照组之间 t -检验分别在 0.05、0.01 水平上存在显著差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); c、d 分别表示蒽和 UV-B 共同作用与蒽单独胁迫之间 t -检验分别在 0.05、0.01 水平上存在显著差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 以下同。a and b mean significant difference between treatment groups and control ($P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively); c and d mean significant difference between An treated groups and An + UV-B treated groups ($P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively). The same below.

表 3 不同蒽质量浓度在有或无 UV-B 时亚心型扁藻 Chl-a、Car 含量的影响

Table 3 Effects of different concentrations of anthracene with or without UV-B on contents of Chl-a and Car in *P. subcordiforming*

蒽质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) An concentration	Chl-a 含量 Chl-a content /($\mu\text{g}\cdot 10^{-7}\text{cells}$)		Car 含量 Car content /($\mu\text{g}\cdot 10^{-7}\text{cells}$)	
	An	An + UV-B	An	An + UV-B
0.0	3.21 $\pm$ 0.064	3.10 $\pm$ 0.065	4.24 $\pm$ 0.198	3.47 $\pm$ 0.142 ^c
35.0	3.97 $\pm$ 0.086 ^b	3.07 $\pm$ 0.065 ^d	2.98 $\pm$ 0.099 ^b	2.95 $\pm$ 0.104 ^a
62.5	3.13 $\pm$ 0.080	2.44 $\pm$ 0.114 ^{bd}	2.71 $\pm$ 0.105 ^b	2.60 $\pm$ 0.115 ^b
113.0	2.77 $\pm$ 0.148	2.41 $\pm$ 0.146 ^a	2.60 $\pm$ 0.153 ^b	2.45 $\pm$ 0.087 ^b
200.0	1.97 $\pm$ 0.309 ^b	1.92 $\pm$ 0.347 ^b	2.45 $\pm$ 0.207 ^b	2.37 $\pm$ 0.091 ^b
350.0	1.83 $\pm$ 0.187 ^b	1.81 $\pm$ 0.199 ^b	2.28 $\pm$ 0.076 ^b	2.10 $\pm$ 0.058 ^b

(2) 由表 3 可知, 随着蒽质量浓度的不断增加, 蒽单独胁迫对亚心型扁藻的毒性不断加大, 所有处理组的 Car 含量都比对照组的 Car 含量降低极显著 ($P < 0.01$); 蒽与 UV-B 的共同作用下的 Car 含量也随着蒽质量浓度的增加而降低, 在蒽质量浓度为 35.0 $\mu\text{g/L}$ 时, Car 含量比对照组的降低显著 ($P < 0.05$), 在蒽质量浓度为 62.5、113.0、200.0、350.0 $\mu\text{g/L}$ 时, Car 含量比对照组的降低极显著 ($P <$

0.01); 有 UV-B 的比无 UV-B 的 Car 含量都有所降低, 但除了在蒽质量浓度为 0 时 Car 含量降低显著 ($P < 0.05$) 外, 其余处理组降低都不显著。可能是在本实验 UV-B 辐射剂量范围内, 蒽的光致毒性不明显。

3 讨论

研究表明, 蒽单独胁迫以及蒽与 UV-B 共同作

用都使2种海洋微藻受到伤害,微藻的相对增长率、叶绿素-a含量、类胡萝卜素含量都有下降的趋势,但是,蒽在UV-B辐射下发生的光致毒性使海洋微藻受到更大的伤害,48h·EC₅₀降低。Oris^[7]在蒽的光致毒性对翻车鱼幼鱼(Juvenile Sunfish)的致毒性研究表明,翻车鱼幼鱼随UV-B强度的增大而半数有效致死剂量下降。实验还表明,蒽的光致毒性直接受到蒽的浓度的影响,蒽的浓度越大,光致毒性越强,这与Hatch^[8]研究结果接近。Hatch研究表明,当紫外线以足够强度存在时,一些PAHs对水生生物的急性毒性会大大增加。PAHs的光致毒性直接受到PAHs的量和水生环境中存在的UV强度的影响^[9]。因而光致毒性会影响水生生物接触UV及PAHs的行为反应及习性。

参考文献:

- [1] 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[J].海洋环境科学,1998,17(2):68-72.
- [2] Oris J T, Giesy J P. The Photo-induced toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to larvae of the fathead minnow (*Pimephales promelas*) [J]. Chemosphere, 1987, 16 (7): 1 395-1 404.
- [3] Bowling J W, Leversee G J, Landrum P F, et al. Acute mortality of anthracene contaminated fish exposed to sunlight [J]. Aquatic Toxicology, 1983, 3: 79-90.
- [4] 唐学玺,李永祺,李存雁,等.有机磷农药对海洋微藻致毒性的生物学研究 I. 四种海洋微藻对久效磷的耐受性与其SOD活性的相关性[J].海洋环境科学,1995,14(2):1-5.
- [5] 周永欣,章宗涉.水生生物毒性实验方法[M].北京:农业出版社,1979.84-90.
- [6] Jensen A. Handbook of Physiological Methods [M]. New York: Cambridge University Press, 1978. 59-70.
- [7] Oris T, Giesy J R P. The photoenhanced toxicity of anthracene to juvenile sunfish (*Lepomis* spp.) [J]. Aquatic Toxicology, 1985, 6: 133-146.
- [8] Hatch A C. Photo induced toxicity of PAHs to *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans*: effects of mixtures and behavior [J]. Environ Pollut, 1999, 106(2): 157-167.
- [9] Newsted J L, Giesy J P. Predictive models for photoinduced acute toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to *Daphnia magna*, Strauss (Cladocera, Crustacea) [J]. Environ Toxicol Chem, 1987, 6: 445-462.

Joint toxic effects of anthracene and UV-B radiation on *Nitzschia closterlum* and *Platymonas subcordiforming*

YU Juan¹, TANG Xue-xi¹, TIAN Ji-yuan²

(1. College of Marine Life Sciences, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China;

2. No.2 Beer Factory of Qingdao, Qingdao 266100, China)

Abstract: Two species of marine microalgae *Nitzschia closterlum* and *Platymonas subcordiforming* were employed to the experiment. The concentrations of anthracene were designed for *N. closterlum* at 0.0, 25.0, 35.0, 62.5, 113.0 and 200.0 $\mu\text{g/L}$, and for *P. subcordiforming* at 0.0, 35.0, 62.5, 113.0, 200.0 and 350.0 $\mu\text{g/L}$. The radiation dose of UV-B for *N. closterlum* was 1.3 J/m² and for *P. subcordiforming* 2.77 J/m². The results show that the two species are both injured by different concentrations of anthracene together with or without UV-B radiation; and the relative growth rate, Chl-a content and Car content of the microalgae all decline. But anthracene together with UV-B radiation at sufficient intensity has more acute toxicity to the two species. When anthracene is singly used, its 48h·EC₅₀ to *N. closterlum* and *P. subcordiforming* are 167.9 $\mu\text{g/L}$ and 141.3 $\mu\text{g/L}$, while the 48h·EC₅₀ of anthracene with UV-B radiation to the two are 122.3 $\mu\text{g/L}$ and 115.5 $\mu\text{g/L}$, respectively. The contents of Chl-a and Car in the two species are lower under anthracene + UV-B radiation condition than those under single anthracene condition. Anyway, the photoinduced toxicity of anthracene is directly affected by the concentration of anthracene.

Key words: anthracene; UV-B; *Nitzschia closterlum*; *Platymonas subcordiforming*; toxic effects