

研究简报

## DBP 对斜生栅藻及天然混合藻类致毒效应研究

况琪军 赵文玉 邓 萍

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

### STUDIES ON THE TOXIC EFFICIENCY OF DIBUTYLPHTHALATE TO *SCENEDESMUS OBLIQUUS* AND NATURAL ALGAE

KUANG Qi-jun, ZHAO Wenyu and Deng Ping

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

关键词: 邻苯二甲酸二丁酯 (DBP); 斜生栅藻; 天然藻类; 致毒效应

**Key words:** Dibutyl phthalate; *Scenedesmus obliquus*; Natural algae; Toxic efficiency

中图分类号: X17 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2003)01-0103-003

作为塑料和橡胶等化工产品的增塑剂, 邻苯二甲酸酯类化合物的生产量和使用量在我国和世界上均呈上升趋势, 其在环境中的广泛存在及其所产生的行为效应已引起人们的高度重视。中国环境监测总站根据有机化合物的污染特征及分布, 并结合国外的文献资料, 已将邻苯二甲酸酯类化合物列为中国优先控制的有机化合物之一<sup>[1]</sup>。有关邻苯二甲酸酯类化合物对浮游藻类、浮游动物、节肢动物和鱼类等的毒性作用均有报道<sup>[1-4]</sup>, 研究认为邻苯二甲酸酯类化合物在被试生物体内的积累对生物的正常生长繁殖, 甚至物种的延续都可能产生不可逆转的不利影响。本文试图通过研究邻苯二甲酸二丁酯 (DBP) 对斜生栅藻和天然混合藻类的影响, 为进一步评价邻苯二甲酸酯类化合物的环境行为和生物效应提供科学依据。

#### 1 材料与方法

**1.1 室内毒性试验** 室内藻类毒性生物测试按常规标准方法进行<sup>[5]</sup>。(被试)试剂: 邻苯二甲酸二丁酯 (DBP), 纯度  $\geq 99\%$  (上海试剂一厂), 以丙酮为助溶剂, 配成 400mg/L 母液备用; 试验生物: 斜生栅藻 [*Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kütz] 纯种培养物, 藻种斜面取自本所藻种室, 经扩大培养后用于试验; 培养基: 绿藻通用培养基 (HB-4 号), 主要组分:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.20g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.08g,  $\text{NaHCO}_3$  0.30g,  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  0.030g,  $\text{KCl}$  0.025g, 1%  $\text{FeCl}_3$  0.15mL, 土壤浸出

液 1.0mL, 蒸馏水 1000mL, pH7.30。容器: 100mL 三角瓶装量 50mL; 温度  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ; 3 支 40W 日光灯从容器底部提供光照, 光强约 4000lx, 光暗循环 14/10; 所有玻璃器皿试验前均洗净并经干热灭菌,  $180^\circ\text{C}$ , 2h。试验重复三次, 每次 5 个处理浓度: 10mg/L, 20mg/L, 40mg/L, 60mg/L 和 80mg/L DBP, 各浓度一式 3 份, 取平均值进行结果分析。藻类生长情况分别以吸光度、藻细胞数和叶绿素 a 含量为指标确定。吸光度每天测 1 次, 用 722 型分光光度计于波长 650nm 下测得, 用  $A_{650}$  表示; 藻细胞计数按常规血球计数法进行, 隔日一次; 叶绿素 a 含量则于 96h 急性毒性试验结束后, 取每种浓度中的 1 瓶, 用丙酮提取法测定。同时将相同浓度的另 2 瓶培养液合并, 置上述条件下继续培养, 以观察其慢性效果。用与对照相比的抑制百分率与浓度对数制图, 求 96h 半效应浓度  $\text{EC}_{50}$  值<sup>[6]</sup>。

**1.2 天然模拟试验** 设计天然模拟试验的目的在于探讨 DBP 对天然混合藻类的影响<sup>[7]</sup>。试验在露天基地进行, 自然日光, 温度波动在  $16-24^\circ\text{C}$  之间; 试剂同上; 于容量 50L 的 5 个试验桶内各注满武昌东湖郭郑湖湖区的水, 同时用 25 $\mu\text{m}$  绢网在原取水点周围反复网捞, 将所捞藻类置一烧杯内, 混合均匀, 平均加入 5 个试验桶内, 各桶单独取样计数试验桶内的初始藻类密度后添加 DBP; 1# 桶作空白对照, 不添加 DBP, 2—5# 桶添加 DBP 至浓度分别为 10.0mg/L, 20.0mg/L, 40.0mg/L 和 60.0mg/L。试验进行 2 次, 每次持续 1 周, 隔日取样定性、定量藻类的生长情况。

收稿日期: 2002-01-14; 修订日期: 2002-09-13

基金项目: 欧盟国际合作项目 (ERBII 18 CT 960059)

作者简介: 况琪军 (1952—), 女, 湖南省攸县人; 主要从事污水生物净化与藻类生态毒理学方面的研究

2 结果与讨论

2.1 室内条件下 DBP 对斜生栅藻的致毒效应

不同浓度 DBP 条件下斜生栅藻  $A_{650}$  值的日变化和抑制百分率示于图 1 和图 2, 由图可知, 随培养时间的延长和处理浓度的增加藻类的吸光度值呈直线下降, 抑制率上升。利用 96h 的试验结果, 比较  $Chl. a$  含量、细胞数和  $A_{650}$  三项指标受抑制的程度示于图 3, 结果表明, 当浓度  $\leq 40\text{mg/L}$  时, DBP 对藻类细胞数的抑制率最高; 高于此浓度时, 对三项指标的抑制率基本无差异。DBP 对斜生栅藻细胞数、 $A_{650}$  和叶绿素  $a$  含量的 96h  $EC_{50}$  值分别为:  $30.2\text{mg/L}$ ,  $39.8\text{mg/L}$  和  $44.7\text{mg/L}$ 。细胞数对 DBP 最敏感, 这是因为在计数时, 死亡细胞可人为辨别, 而比色时, 死细胞亦可吸光所致。据报道, DBP 对水生生物的急性毒性值波动在  $1\text{--}10\text{mg/L}$  之间<sup>[8]</sup>, 本试验结果与早期报道的数据略有差异。将图 3 中点之间的连线换用拟合曲线, 对试验结果进行拟合得:

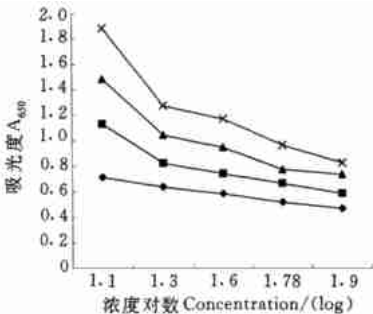


图 1 不同浓度条件下斜生栅藻吸光度的变化  
Fig. 1 Changes of  $A_{650}$  of *Scenedesmus obliquus*

—◆— 24h; —■— 48h;  
—▲— 72h; —×— 96h

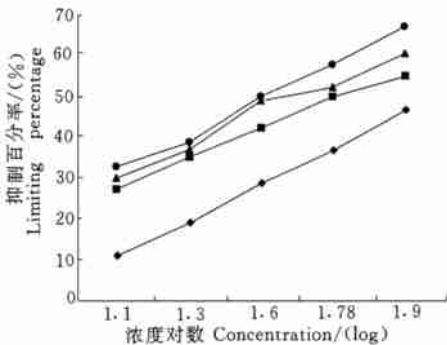


图 2 DBP 对斜生栅藻吸光度抑制曲线

Fig. 2 Inhibition curves of DBP on  $A_{650}$  of *S. obliquus*

—◆— 24h; —■— 48h;  
—▲— 72h; —●— 96h

细胞数拟合方程:  $y = 15.78\ln(x) - 2.5056$   $R^2 = 0.9747$   
叶绿素拟合方程:  $y = 20.797\ln(x) - 24.509$   $R^2 = 0.9622$   
 $A_{650}$  拟合方程:  $y = 0.4684x + 28.882$   $R^2 = 0.9946$

可见, 3 个拟合方程的  $R^2$  均达 0.96 以上, 证明试验结果可信。

慢性试验发现, 各处理组培养液外观的色泽自第 3 周开始逐渐加深; 到第 4 周, 肉眼与对照组基本无差异, 吸光度

值略低于对照。但显微镜下仍可观察到被处理藻类细胞老化、壁增厚, 内含物粗, 个体大, 细胞分裂受阻等受损迹象。根据试验结束后对培养液 DBP 残留量的测定结果认为, 藻类对被试药物的吸附降解、培养灯光照对 DBP 的光解作用使 DBP 的实际浓度随培养时间的延长而降低, 是受损藻细胞逐渐恢复的关键因素。

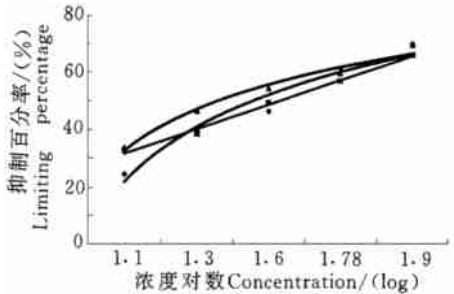


图 3 斜生栅藻 96h 细胞数、 $A_{650}$  和  $Chl. a$  的比较

Fig. 3 Comparison of cells,  $A_{650}$  and  $Chl. a$  contents of *S. obliquus*

▲CNs; ■ $A_{650}$ ; ◆ $Chl. a$

2.2 露天模拟条件下 DBP 对天然混合藻类的影响

露天模拟试验于 2001 年 10 月进行, 先后 2 批, 每批持续 1 周。试验期间秋高气爽, 天气无雨, 确保了试验的顺利进行。试验结果示于图 4。由图 4 可知, 在露天模拟条件下, DBP 对天然混合藻类的影响十分明显, 各浓度中藻细胞数随暴露时间的延长而减少。与室内纯藻种试验结果相比, 同样处理时间、相同浓度的 DBP 对室内藻类的抑制率比对天然藻类的要高, 说明天然藻类对 DBP 的忍耐力较人工培养的单一藻类强, 这是因为不同藻种对 DBP 毒性的响应不同, 尤其是天然藻类, 在长期接触生境中各种有机、无机、有毒、无毒化合物的过程中, 对逆境具有极强的适应能力, 甚至对某类毒物产生了抗性。

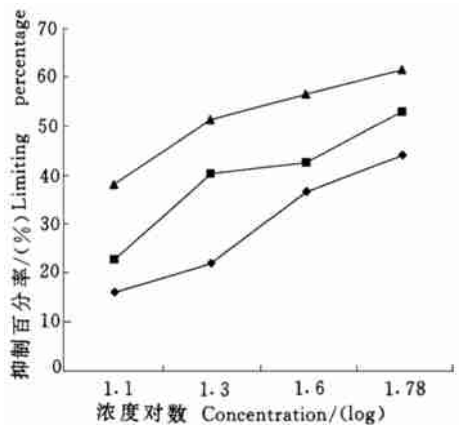


图 4 DBP 对天然藻类细胞密度的影响

Fig. 4 Effects of DBP on cells of natural algae

—◆— 48h; —■— 96h; —▲— 144h

对试验桶内藻类定性鉴定的结果表明, DBP 影响藻类的种类组成。未添加药物前, 1# 对照, 2#, 3#, 4# 和 5# 处理桶中的本底藻类分别有 40, 39, 39, 41 和 39 种, 涉及 6 门 34 属, 以绿藻为主, 蓝藻、硅藻次之, 裸藻、隐藻各出现 2 种, 黄

藻 1 种,与作者早期对东湖的调查结果无本质差异<sup>[9]</sup>。添加 DBP 后,各处理组藻类的总种类数均随培养时间的延长而逐渐减少。96h 取样,2~ 5# 桶内的种类数分别只有 29,24,22 和 19 种,减少率分别达 25.6%,38.5%,46.3% 和 51.3%,主要是一些鞭毛种类和黄藻消失了,说明这些藻类对 DBP 十分敏感。

以上结果表明,在所试浓度条件下,DBP 对藻类的生长具有抑制作用,无论是人工培养的纯藻种,还是天然藻类,当 DBP 的浓度  $\geq 40.0\text{mg/L}$  时,被测指标 96h 的减少率均达 40% 以上。DBP 对斜生栅藻的致毒效应具体表现在:降低藻类的叶绿素 a 含量,破坏细胞内含物,阻止藻细胞分裂等;对天然藻类则主要影响其细胞数量和种类数。

参考文献:

[ 1 ] Yan H, Ye C M, Yin C Q. Kinetics of phthalate ester biodegradation by *Chlorella pyrenoidosa* [J]. *Environ Toxic Chem*, 1995, **14**: 931—938

[ 2 ] Huang G L, Sun H G, Song Z H. Interactions between dibutyl phthalate and aquatic organisms [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1999, **63**: 759—765

[ 3 ] Thuren A. Effects of phthalate esters on the locomotor activity of the fresh water amphipod *Gammarus Pulex* [J]. *Bull. Environ. Contam.*

*Toxicol.*, 1991, **46**: 159—166

[ 4 ] Defoe D L. Solubility and toxicity of eight phthalate esters to four aquatic organisms [J]. *Environmental Toxicity and Chemistry*, 1990, **9**: 623—636

[ 5 ] APHA, AWWA, WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater. (Ed. 15th), Washington: American Public Health Association. 1980

[ 6 ] Zhou Y X, Wang S D, Xia Y C. Hydrobiology and environmental protection [M]. Beijing: Scientific press. 1983. [周永欣,王士达,夏宜.水生生物与环境保护.北京:科学出版社,1983]

[ 7 ] Kuang Q J, Xia Y C, Wu Z B, et al. Study on the correlations between macrophytes and algae in artificial simulated ecosystem [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1997, **21**(1): 90—93. [况琪军,夏宜,吴振斌,等.人工模拟生态系统中水生植物与藻类的相关性研究.水生生物学报,1997, **21**(1): 90—93]

[ 8 ] Adams W J, Biddinger G R, Robillard K A, et al. A summary of the acute toxicity of 14 Phthalate Esters to representative aquatic organisms [J]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1995, **14**(9): 1569—1574

[ 9 ] Kuang Q J, Xia Y C. Algae and trophic status of Donghu Lake (Wuhan) with reference to their changes during the past 40 years [J]. *Journal of Lake Sciences*, 1995, **7**(4): 351—356. [况琪军,夏宜.东湖主要湖区的藻类与营养型评价.湖泊科学,1995, **7**(4): 351—356]