

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20190521002

王帅, 王玥, 梁英, 等. PVC 塑料浸出液对 3 种海洋微藻光合作用及生长的影响[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(2): 113-129

Wang S, Wang Y, Liang Y, et al. Effects of PVC plastic leachate on the photosynthesis and growth of three marine microalgae [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(2): 113-129 (in Chinese)

PVC 塑料浸出液对 3 种海洋微藻光合作用及生长的影响

王帅², 王玥¹, 梁英^{1, #}, 郑立^{2, 3, *}, 孙承君², 鞠鹏²

1. 中国海洋大学, 海水养殖教育部重点实验室, 青岛 266003

2. 自然资源部第一海洋研究所, 海洋生态环境科学与技术重点实验室, 青岛 266061

3. 青岛海洋科学与技术国家实验室, 海洋国家实验室海洋生态与环境科学功能实验室, 青岛 266071

收稿日期: 2019-05-21

录用日期: 2019-09-04

摘要: 海洋微塑料作为一类新型环境污染物已经成为全球性环境问题。运用水样叶绿素荧光仪(Water-PAM)研究了不同浓度软聚氯乙烯(polyvinyl chloride, PVC)和硬 PVC 浸出液(0、50、100 和 200 g·L⁻¹)胁迫下球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)、中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)和小球藻(*Chlorella* sp.) 3 种海洋微藻叶绿素荧光特性, 包括 PS II 最大量子产量(F_v/F_m)、PS II 实际量子产量(Yield)、光化学淬灭(qP)和 PS II 最大相对电子传递速率(rETR_{max})的变化, 同时检测微藻的生长状况。结果表明, 球等鞭金藻(金藻门)和中肋骨条藻(硅藻门)的 4 项光合作用参数在软 PVC 浸出液胁迫的 96 h 内均显著下降, 且随软 PVC 浸出液浓度增加, 下降幅度增大, 在实验后期(48 ~ 96 h)达到最小值, 表现为抑制作用。96 h 时, 球等鞭金藻和中肋骨条藻的细胞密度均在软 PVC 浸出液 200 g·L⁻¹处理组达到最小值, 分别占对照组的 3.20% 和 11.90%。硬 PVC 浸出液胁迫对球等鞭金藻和中肋骨条藻的 4 项光合作用参数具有显著影响($P < 0.05$), 球等鞭金藻的 4 项参数均显著高于对照组。中肋骨条藻的相关光合作用参数均显著低于对照组。72 h 时球等鞭金藻和中肋骨条藻的细胞密度分别在硬 PVC 浸出液 100 g·L⁻¹和 200 g·L⁻¹处理组达到最小值, 为对照组的 67.90% 和 82.50%, 表现为抑制作用。小球藻(绿藻门)的各光合作用参数和细胞密度在软 PVC 和硬 PVC 浸出液胁迫的 96 h 内未产生显著变化。该研究证实 PVC 浸出液对微藻光合系统具有干扰作用, 对海洋生态系统具有潜在风险。

关键词: PVC 浸出液; 球等鞭金藻; 中肋骨条藻; 小球藻; 光合作用参数

文章编号: 1673-5897(2020)2-113-17

中图分类号: X171.5

文献标识码: A

Effects of PVC Plastic Leachate on the Photosynthesis and Growth of Three Marine Microalgae

Wang Shuai², Wang Yue¹, Liang Ying^{1, #}, Zheng Li^{2, 3, *}, Sun Chengjun², Ju Peng²

1. Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

2. Key Laboratory of Marine Eco-Environmental Science and Technology, First Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Qingdao 266061, China

3. Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science, Qingdao Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology,

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(2017Q09); 国家自然科学基金资助项目(41806201, 41776176); 国家自然科学基金委员会-山东省人民政府海洋科学研究中心联合基金项目(U1606404); 国家海洋局双边海洋国际事务合作项目(QY0518011); 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋生态与环境科学功能实验室开放基金资助项目(LMEES201802)

作者简介: 王帅(1983—), 女, 博士, 研究方向为海洋微塑料的生态毒理效应, E-mail: wangshuai@fio.org.cn

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: zhengli@fio.org.cn

共同通讯作者(Co-corresponding author), E-mail: yliang@ouc.edu.cn

Qingdao 266071, China

Received 21 May 2019

accepted 4 September 2019

Abstract: Marine microplastics, as a new type of environmental pollutant, have become a global environmental problem. In this study, we investigated the changes in chlorophyll fluorescence characteristics (the maximum efficiency quantum yield of PS II (F_v/F_m), the actual photochemical efficiency of PS II in the light (Yield), photochemical quenching (qP) and the maximum relative electron transport rate ($rETR_{max}$)) and cell density of three marine microalgae, i.e., *Isochrysis galbana*, *Skeletonema costatum* and *Chlorella* sp. under different concentrations of soft and hard polyvinyl chloride (PVC) leachate stress (0, 50, 100, and 200 $g \cdot L^{-1}$) by using water-PAM fluorometer. The results showed that the photosynthesis parameters of *I. galbana* (Chrysophyta) and *S. costatum* (Bacillariophyta) significantly decreased within 96 h of soft PVC leachate stress, and the decreasing trend got gradually intensified with the concentration of soft PVC leachate increasing. The photosynthesis parameters reached the minimum value in the later stage of the experiment (48 ~ 96 h), which suggested an inhibitory effect. At 96 h, the cell density of *I. galbana* and *S. costatum* reached the minimum in the treatment group of 200 $g \cdot L^{-1}$ soft PVC leachate, which accounted for 3.20% and 11.90% of the control group, respectively. Hard PVC leachate stress had a significant effect on the four photosynthesis parameters of *I. galbana* and *S. costatum* ($P < 0.05$). The four photosynthesis parameters of *I. galbana* were significantly higher than those of the control group. The four photosynthesis parameters of *S. costatum* were significantly lower than those of the control group. At 72 h, the cell density of *I. galbana* and *S. costatum* reached the minimum value in the treatment group of 100 $g \cdot L^{-1}$ and 200 $g \cdot L^{-1}$ hard PVC leachate, which were 67.90% and 82.50% of the control group, respectively, showing an inhibitory effect. The photosynthesis parameters and cell density of *Chlorella* sp. (Chlorophyta) did not change significantly within 96 h of soft and hard PVC leachate stress. This study confirmed that PVC leachate has a disturbing effect on the microalgae photosystem, resulting in potential risks to the marine ecosystem.

Keywords: PVC leachate; *Isochrysis galbana*; *Skeletonema costatum*; *Chlorella* sp.; photosynthetic parameters

塑料因其优良的理化特性,在生产和生活中被广泛应用^[1-2]。每年全球塑料消费量已超过3亿t,其中约有5%~10%的塑料会进入海洋^[3-5]。目前,从赤道到极地的海水^[3,6]、沉积物^[7-8]以及生物链各层级生物^[9]中均检测到了塑料的存在,可见塑料已成为全球性的环境问题。有关微塑料的生态毒理学效应研究主要聚焦于鲸鱼^[10]、硬骨鱼类^[11-13]、棘皮动物^[2,5]、软体动物^[14-15]、环节动物^[16-17]和浮游动物^[18-19]等海洋动物,限制其运动和摄食等物理损伤是目前微塑料产生危害的主要原因。然而,塑料对海洋生物产生物理损伤的同时,还会对海洋生物产生化学毒性效应^[20]。塑料中的有毒添加剂,如增塑剂、阻燃剂和抗菌剂等,会被释放到海洋中,所带来的影响可能比微塑料从周围环境中吸附的持久性有机污染物的毒害作用更大^[21-23]。

微藻作为海洋中最主要的初级生产力,是维持海洋生态系统平衡不可或缺的一部分,与海洋中的塑料,特别是微塑料,具有巨大的相互作用潜力^[24]。

且微藻生长周期短、易培养、对有毒物质敏感并且无摄食过程,是生态毒理学研究中常用的测试生物^[25]。已有研究报道了微塑料对微藻的毒性效应,部分研究认为,微塑料的毒性较小,不会对海洋微藻构成危害^[25-27],然而也有学者认为,它能造成微藻细胞光合系统的损伤^[24,28-29]。目前,关于微塑料对海洋微藻毒性效应的报道较少,且对其毒性效应强弱等问题还存在一定的争议,研究多侧重于探讨物理作用为主的毒性,然而对其所含有的化学添加剂的毒性效应仍需要进一步的探索。

聚氯乙烯(polyvinyl chloride, PVC)作为世界第二大通用塑料,已经成为人们高度关注的海洋塑料污染物。在PVC生产过程中会添加不同种类的增塑剂,从而改善塑料的塑性和功能,特别是邻苯二甲酸酯类增塑剂,作为典型的环境内分泌干扰物会对水生生态系统造成严重危害。截至目前,国内外研究主要侧重于聚苯乙烯(polystyrene, PS)、PVC和聚乙烯(polyethylene, PE)等塑料微粒的物理作用对微

藻的影响^[25-26],PVC 本身的化学毒性对微藻带来的影响暂未见相关研究。本文选取 3 种不同门类的海洋微藻球包括等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)、中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)和小球藻(*Chlorella* sp.)作为实验对象,开展 PVC 浸出液对这 3 种微藻叶绿素荧光特性和细胞密度毒性效应的研究,并计算出叶绿素荧光参数和细胞密度的 EC₅₀,探究不同门类的微藻对 PVC 浸出液的敏感性,以期塑料对海洋微藻的化学毒性研究提供参考依据。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 PVC 塑料浸出液的制备

实验所用软 PVC(增塑剂>30%)和硬 PVC(增塑剂<10%)均购于上海阳励机电科技有限公司,将 2 种 PVC 剪成 2 ~ 5 mm 碎片后浸入灭菌海水,海水中塑料质量分别为 50、100 和 200 g·L⁻¹,在恒温(37℃)下浸泡 14 d,浸泡过程中不断搅动,过滤后获得 PVC 浸出液(浓度用海水中塑料的质量表示)。

1.2 PVC 塑料浸出液中 16 种邻苯二甲酸酯类的测定

采用 GC7890A-MS5975C 型 GC-MS 联用仪(美国 Agilent 公司)参照顾浩琦等^[30]GC-MS 方法检测软 PVC 和硬 PVC 浸出液(200 g·L⁻¹)中的邻苯二甲酸酯类增塑剂。表 1 列出了 16 种邻苯二甲酸酯类增塑剂,包括含有除邻苯二甲酸二苯酯外的 15 种成分的混标(美国 AccuStandard 公司),以及邻苯二甲酸二苯酯标准品(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司)。

1.3 藻种及培养方法

实验所用藻种为球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*) MACC/H59、中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)MACC/B129 和小球藻(*Chlorella* sp.)MACC/C95,均取自中国海洋大学微藻种质库。

实验在 250 mL 的三角烧瓶中进行,所用培养基为 f2 培养基^[31]。利用不同浓度的软 PVC 和硬 PVC 浸出液替代海水,分别对以上 3 种微藻进行胁迫实验,每个浓度设 3 个平行,以不添加 PVC 的空白样作为对照组。将处于指数生长期的球等鞭金藻、中肋骨条藻和小球藻分别以 3.00×10⁵、1.50×10⁵ 和 1.30×10⁵ 个·mL⁻¹ 的接种密度接入上述不同浓度和材质的 PVC 浸出液中进行胁迫处理。藻种培养条件为温度(20±1)℃,连续光照(光照强度 3 000 lx),盐度 31‰,每天摇动培养瓶 3 ~ 5 次,培养时间为 4 d。胁迫 24、48、72 和 96 h 后取样,测定叶绿素荧光各项参数和细胞密度。

1.4 叶绿素荧光参数和细胞密度的测定

叶绿素荧光各项参数,包括 PS II 最大量子产量(F_v/F_m)、PS II 实际量子产量(Yield)、光化学淬灭(qP)和 PS II 最大相对电子传递速率(rETR_{max})测定参照 Liang 等^[32]的方法,球等鞭金藻和小球藻细胞密度测定采用血球计数板法,中肋骨条藻细胞密度测定采用吸光度法。

表 1 16 种邻苯二甲酸酯类 (PAEs) 增塑剂标准品名称、缩写及纯度

Table 1 Chemical names, abbreviations and purities of standard materials of the sixteen phthalate esters (PAEs)

序号 Number	名称 Compound	缩写 Abbreviation	纯度/% Purity/%
1	邻苯二甲酸二甲酯 Dimethyl phthalate	DMP	≥98.00
2	邻苯二甲酸二乙酯 Diethyl phthalate	DEP	≥99.90
3	邻苯二甲酸二异丁酯 Diisobutyl phthalate	DIBP	100.00
4	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	DBP	≥98.40
5	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯 Bis (2-methoxy) ethyl phthalate	BMEP	≥97.70
6	邻苯二甲酸二-(4-甲基-2-戊基)酯 Bis (4-methyl-2-amyl) phthalate	BMPP	100.00
7	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯 Bis (2-ethoxy) ethyl phthalate	BEEP	100.00
8	邻苯二甲酸二戊酯 Dipentyl phthalate	DPP	≥98.50
9	邻苯二甲酸二己酯 Dihexyl phthalate	DHXP	≥99.00
10	邻苯二甲酸丁苄基酯 Butyl benzyl phthalate	BBP	≥98.40
11	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯 Di-(2-butoxy) ethyl phthalate	DBEP	≥99.00
12	邻苯二甲酸二环己酯 Dicyclohexyl phthalate	DCHP	100.00
13	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯 Di (2-ethyl) hexyl phthalate	DEHP	≥99.60
14	邻苯二甲酸二苯酯 Diphenyl phthalate	/	≥98.00
15	邻苯二甲酸二辛酯 Dioctyl phthalate	DNOP	≥99.10
16	邻苯二甲酸二壬酯 Dinonyl phthalate	DNP	≥97.00

1.5 EC_{50} 的测定

采用闫学平等^[33]的方法计算叶绿素荧光参数 F_v/F_m 的 EC_{50} , 采用赵玉艳和蔡磊明^[34]的生长速率法计算细胞密度的 EC_{50} 。

1.6 数据处理

采用 Origin(v. 8.5)进行绘图, 利用 SPSS(v. 19.0)软件, 运用双因素方差分析和多重比较方法($P < 0.05$ 表示差异显著)对检测结果进行统计分析。

2 结果 (Results)

2.1 不同种类 PVC 浸出液对球等鞭金藻光合作用参数和细胞密度的影响

图 1((a) ~ (d))和图 2(a)给出了球等鞭金藻光合作用相关参数和细胞密度在不同浓度软 PVC 浸出液及胁迫时间作用下的变化趋势。双因素方差分析结果表明, 软 PVC 浸出液浓度、胁迫时间及二者交互作用(浓度 $\times$ 时间)对球等鞭金藻的 4 项光合作用参数和细胞密度均有显著影响($P < 0.05$), 其中软 PVC 浸出液浓度对 F_v/F_m 、Yield 和 $rETR_{max}$ 影响最显著, 胁迫时间对细胞密度影响最显著(表 2)。多重比较结果显示, 随着软 PVC 浸出液浓度的上升, 球等鞭金藻的 4 项光合作用参数和细胞密度均呈下降趋势(表 2)。高浓度软 PVC 浸出液($100 \sim 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)处理组的 F_v/F_m 、Yield、qP、 $rETR_{max}$ 和细胞密度显著低于对照及 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组, 4 项光合作用参数和细胞密度均在 $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组达到最小值。 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组的球等鞭金藻光合作用参数(除 Yield 外)均在 $0 \sim 48 \text{ h}$ 迅速下降, 之后缓慢上升, 但仍明显低于对照及 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组相关参数。 96 h 时, $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组的细胞密度最低, 其次是 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组, 分别为对照组的 3.20% 和 3.90% 。

图 1((e) ~ (h))和图 2(b)给出了球等鞭金藻光合作用相关参数和细胞密度在不同浓度硬 PVC 浸出液及胁迫时间作用下的变化趋势。双因素方差分析结果表明, 硬 PVC 浸出液浓度和胁迫时间对球等鞭金藻的 4 项光合作用参数和细胞密度均有显著影响($P < 0.05$), 二者交互作用(浓度 $\times$ 时间)对 4 项光合作用参数有显著影响($P < 0.05$), 其中, 硬 PVC 浸出液浓度对 Yield 和 $rETR_{max}$ 的影响最显著, 胁迫时间对细胞密度影响最显著(表 2)。多重比较结果显示, 硬 PVC 浸出液胁迫下球等鞭金藻的 F_v/F_m 显著高于对照组, 但 3 个处理组间无显著差异; Yield、qP 和 $rETR_{max}$ 均在高浓度处理组($100 \sim 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)中达到

最大值, 且显著高于对照组及 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组; 而高浓度处理组($100 \sim 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)的细胞密度显著低于对照及 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组(表 2)。 72 h 时, 细胞密度在 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组中达到最小值, 为对照组的 67.90% 。

2.2 不同种类 PVC 浸出液对中肋骨条藻光合作用参数和细胞密度的影响

图 3((a) ~ (d))和图 2(c)给出了中肋骨条藻光合作用相关参数和细胞密度在不同浓度软 PVC 浸出液及胁迫时间作用下的变化趋势。双因素方差分析结果表明, 软 PVC 浸出液浓度、胁迫时间及二者交互作用(浓度 $\times$ 时间)对中肋骨条藻的 F_v/F_m 、Yield、qP、 $rETR_{max}$ 和细胞密度均有显著影响($P < 0.05$), 其中, 软 PVC 浸出液浓度对上述 4 项光合作用参数和细胞密度的影响最显著, 胁迫时间对 F_v/F_m 、qP、 $rETR_{max}$ 和细胞密度的影响最显著(表 3)。多重比较结果显示, F_v/F_m 、Yield、qP、 $rETR_{max}$ 和细胞密度随软 PVC 浸出液浓度上升而下降, 上述参数均在 $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组达到最小值, 且显著低于各处理组(表 3)。随着胁迫时间延长, F_v/F_m 、Yield、qP 和 $rETR_{max}$ 均呈先下降后上升的趋势。 96 h 时, $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组的细胞密度达到最小值, 占对照组的 11.90% 。

图 3((e) ~ (h))和图 2(d)给出了中肋骨条藻光合作用相关参数和细胞密度在不同浓度硬 PVC 浸出液及胁迫时间作用下的变化趋势。双因素方差分析结果表明, 硬 PVC 浸出液浓度、胁迫时间及二者交互作用(浓度 $\times$ 时间)对中肋骨条藻的 F_v/F_m 、Yield、qP 和 $rETR_{max}$ 和细胞密度均有显著影响($P < 0.05$), 其中, 硬 PVC 浸出液浓度对 $rETR_{max}$ 的影响最显著, 胁迫时间对细胞密度的影响最显著(表 3)。多重比较结果显示, 上述 4 项光合作用参数和细胞密度均在高浓度处理组($100 \sim 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)达到最小值, 且显著低于对照组(表 3)。 F_v/F_m 、qP 和 $rETR_{max}$ 随胁迫时间延长呈缓慢下降趋势, Yield 随胁迫时间延长先上升后下降。实验后期(72 h), $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组的细胞密度达到最小值, 为对照组的 82.50% 。

2.3 不同种类 PVC 浸出液对小球藻光合作用参数和细胞密度的影响

图 4((a) ~ (d))和图 2(e)给出了小球藻光合作用相关参数和细胞密度在不同浓度软 PVC 浸出液及胁迫时间作用下的变化趋势。双因素方差分析结果表明, 软 PVC 浸出液浓度对小球藻的 F_v/F_m 、Yield 和 qP 有影响($P < 0.05$), 胁迫时间对小球藻的 4 项光合作用参数和细胞密度均有影响($P < 0.05$), 二者交互

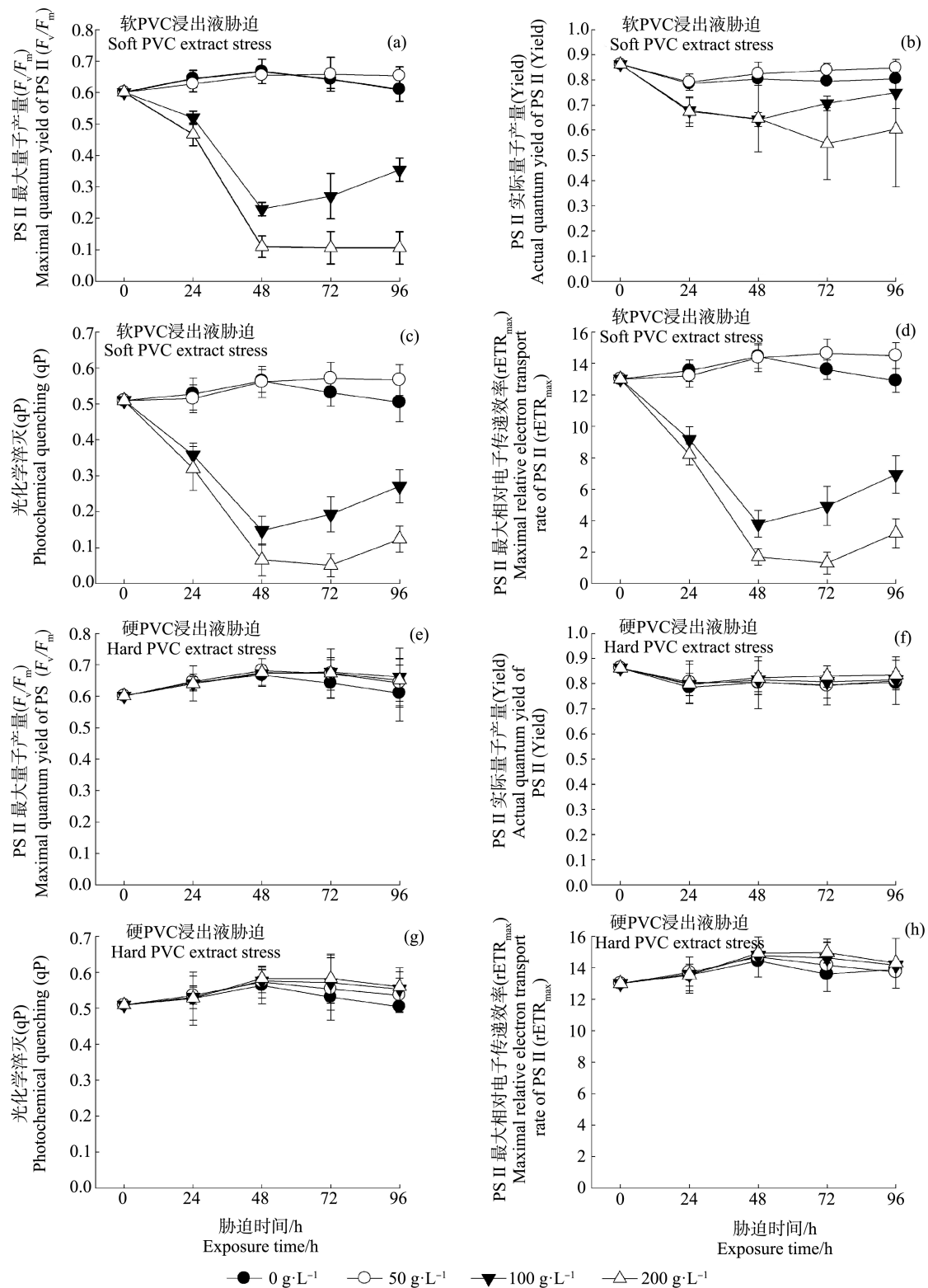


图1 软聚氯乙烯(PVC)和硬PVC浸出液胁迫对球等鞭金藻光合作用参数(F_v/F_m 、Yield、qP和 $rETR_{max}$)的影响

注: F_v/F_m 、Yield、qP和 $rETR_{max}$ 分别表示PSⅡ最大量子产量、PSⅡ实际量子产量、光化学淬灭和PSⅡ最大相对电子传递速率。

Fig. 1 Effects of soft and hard polyvinyl chloride (PVC) extract stress on the photosynthetic parameters (F_v/F_m , Yield, qP and $rETR_{max}$) of *I. galbana*

Note: F_v/F_m , Yield, qP and $rETR_{max}$ stand for the maximum efficiency quantum yield of PSⅡ, the actual photochemical efficiency of PSⅡ in the light, photochemical quenching and the maximum relative electron transport rate, respectively.

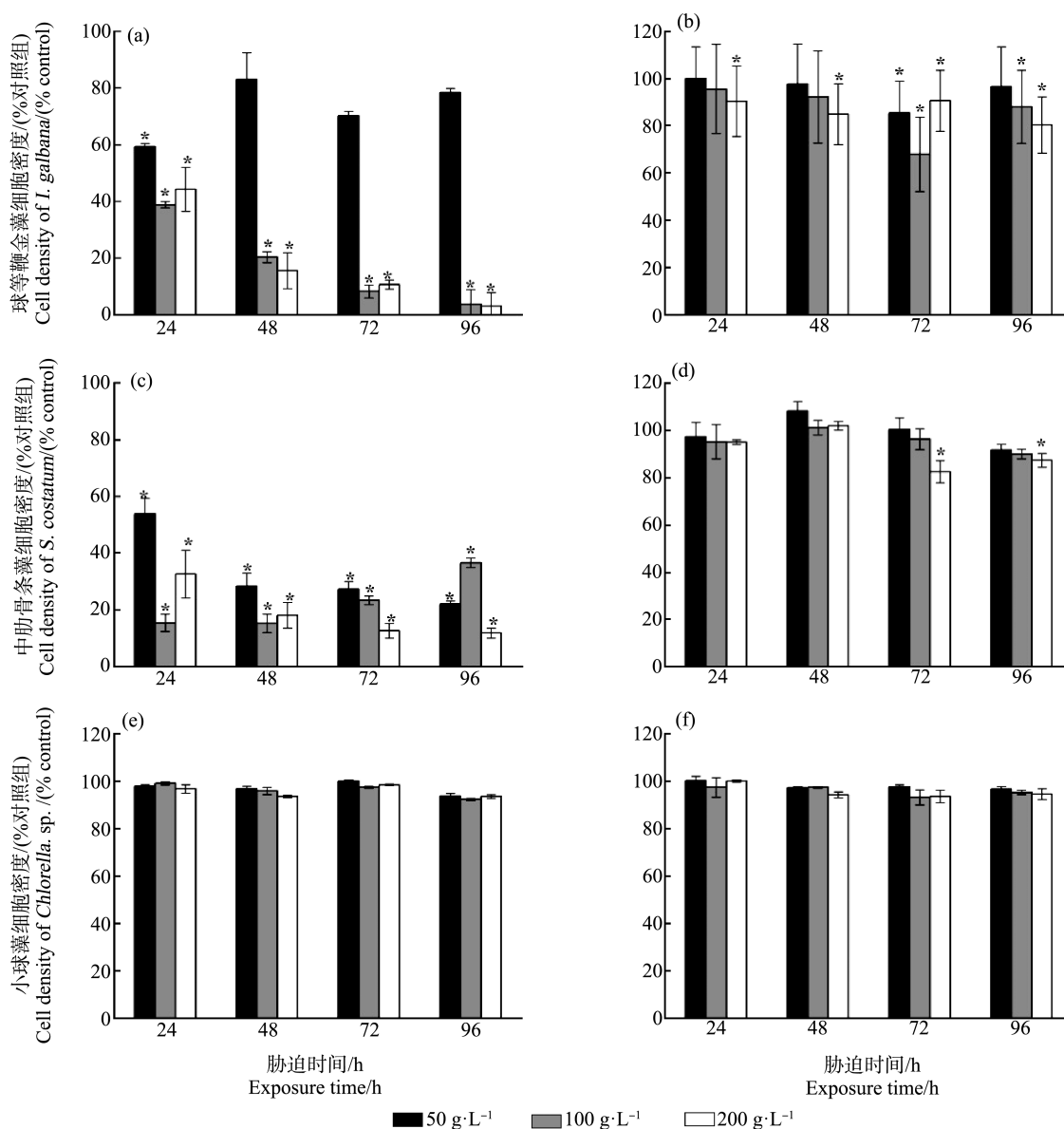


图2 软PVC浸出液((a)、(c)、(e))和硬PVC浸出液((b)、(d)、(f))胁迫对3种海洋微藻细胞密度的影响

注: *表示与对照组(100%)差异显著。

Fig. 2 Effects of soft PVC extract ((a), (c), (e)) and hard PVC extract ((b), (d), (f)) stress on cell density of three marine microalgae strains

Note: * represents significant difference ($P<0.05$) with control (100%).

作用(浓度×时间)仅对该藻株的Yield和qP有影响($P<0.05$),其中胁迫时间对Yield和qP的影响最显著(表4)。多重比较结果显示,高浓度处理组(100~200 g·L⁻¹)的 F_v/F_m 、Yield、qP和 $rETR_{max}$ 值低于对照组;200 g·L⁻¹处理组的细胞密度低于对照组,其他处理组与对照组无显著差异(表4)。随着胁迫时间延长,上述4项光合作用参数总体呈现先上升后下降的趋势。在96 h时,100 g·L⁻¹处理组的细胞密度达到最小值,是对照组的92.50%。

图4((e)~(h))和图2(f)给出了小球藻光合作用相关参数和细胞密度在不同浓度硬PVC浸出液及胁迫时间作用下的变化趋势。双因素方差分析结果表明,硬PVC浸出液浓度对小球藻 F_v/F_m 和Yield有影响($P<0.05$),胁迫时间对小球藻的4项光合作用参数和细胞密度均有影响($P<0.05$),二者交互作用(浓度×时间)对该藻株的 F_v/F_m 、Yield和qP有影响($P<0.05$),其中胁迫时间对Yield和qP的影响最显著(表4)。多重比较结果显示,硬PVC浸出液各处

理组的 F_v/F_m 略高于对照组,但组间差异不显著;各处理组的 Yield 略低于对照组,组间差异亦不显著; qP 、 $rETR_{max}$ 和细胞密度随浓度变化不明显(表 4)。

各光合作用参数随胁迫时间延长呈先轻微上升后有所下降趋势。72 h 时,细胞密度在 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组最低,为对照组的 93.30%。

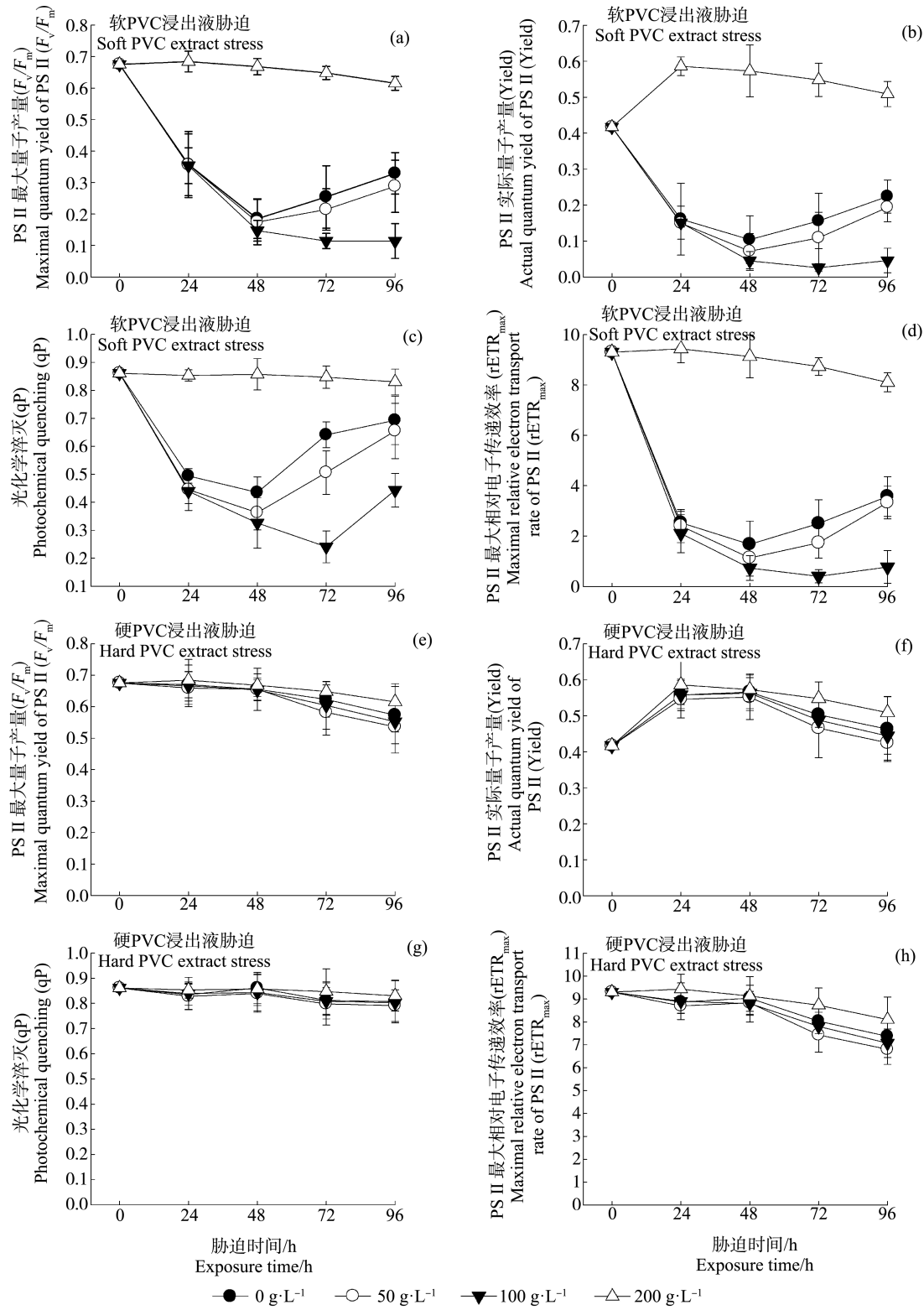


图 3 软 PVC 和硬 PVC 浸出液胁迫对中肋骨条藻光合作用参数 (F_v/F_m 、Yield、 qP 和 $rETR_{max}$) 的影响
Fig. 3 Effects of soft and hard PVC extract stress on the photosynthetic parameters (F_v/F_m , Yield, qP and $rETR_{max}$) of *S. costatum*

表 2 软 PVC 和硬 PVC 浸出液浓度和胁迫时间对球等鞭金藻光合作用参数和细胞密度的双因子方差分析 (a) 和多重比较 (b) 结果
Table 2 Summary of multiple factors analysis of variance (MANOVA) (a) and S-N-K multiple comparison test (b) results on the photosynthetic parameters and cell density of *I. galbana* exposed to different concentrations of soft and hard PVC extract for different time

		F_v/F_m	Yield	qP	rETR _{max}	细胞密度 Cell density
软 PVC 浸出液胁迫 Soft PVC extract stress	浓度 Concentration	496.54	871.15	4.53	877.42	303.02
	时间 Time	75.21	102.30	15.83	100.18	950.69
	浓度×时间 Concentration×Time	53.56	82.28	8.97	82.77	67.89
	浓度 Concentration	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	时间 Time	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	浓度×时间 Concentration×Time	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	浓度 Concentration	200 ^a 100 ^b 0 ^c 50 ^c	200 ^a 100 ^b 0 ^c 50 ^c	200 ^a 100 ^b 0 ^c 50 ^c	200 ^a 100 ^b 0 ^c 50 ^c	200 ^a 100 ^a 50 ^b 0 ^c
	时间 Time	48 ^a 72 ^a 96 ^b 24 ^b	48 ^a 72 ^a 96 ^b 24 ^c	48 ^a 72 ^a 96 ^b 24 ^c	48 ^a 72 ^a 96 ^b 24 ^c	24 ^a 48 ^b 72 ^c 96 ^d
	浓度×时间 Concentration×Time	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^c	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^c	200 ^a 100 ^b 0 ^c 50 ^c	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^a 50 ^b 0 ^c
	浓度 Concentration	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^c	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^c	100 ^a 200 ^a 0 ^a 50 ^a	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^c	200 ^a 100 ^a 50 ^b 0 ^c
硬 PVC 浸出液胁迫 Hard PVC extract stress	浓度×时间 Concentration×Time	200 ^a 100 ^b 0 ^c 50 ^c	200 ^a 100 ^b 0 ^c 50 ^c	200 ^a 100 ^b 0 ^c 50 ^b	200 ^a 100 ^b 0 ^c 50 ^c	200 ^a 100 ^a 50 ^b 0 ^c
	时间 Time	200 ^a 100 ^b 0 ^c 50 ^c	200 ^a 100 ^b 0 ^c 50 ^c	100 ^a 50 ^a 200 ^b	200 ^a 100 ^b 0 ^c 50 ^c	200 ^a 100 ^a 50 ^b 0 ^c
	浓度 Concentration	11.19	41.98	16.87	38.39	6.92
	时间 Time	182.83	266.27	181.03	252.27	518.70
	浓度×时间 Concentration×Time	4.11	9.79	3.64	9.19	2.05
	浓度 Concentration	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	时间 Time	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	浓度×时间 Concentration×Time	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.03
	浓度 Concentration	0 ^a 200 ^b 50 ^b 100 ^b	0 ^a 50 ^b 100 ^c 200 ^d	0 ^a 50 ^{ab} 100 ^b 200 ^c	0 ^a 50 ^b 100 ^c 200 ^c	200 ^a 100 ^a 50 ^b 0 ^b
	时间 Time	24 ^a 96 ^a 72 ^b 48 ^c	24 ^a 96 ^b 72 ^c 48 ^d	24 ^a 72 ^b 48 ^{bc} 96 ^c	24 ^a 96 ^b 72 ^c 48 ^d	24 ^a 48 ^b 72 ^c 96 ^d
(b)	浓度×时间 Concentration×Time	200 ^a 100 ^a 0 ^a 50 ^a	0 ^a 200 ^a 100 ^a 50 ^b	0 ^a 100 ^{ab} 200 ^{ab} 50 ^b	0 ^a 200 ^a 100 ^a 50 ^{ab}	200 ^a 100 ^a 0 ^a 50 ^a
	浓度 Concentration	0 ^a 100 ^{ab} 200 ^{ab} 50 ^b	0 ^a 50 ^b 100 ^b 200 ^b	0 ^a 50 ^a 100 ^{ab} 200 ^{ab}	0 ^a 50 ^b 100 ^{bc} 200 ^c	200 ^a 100 ^a 50 ^b 0 ^a
	时间 Time	0 ^a 50 ^b 200 ^b 100 ^b	0 ^a 50 ^b 100 ^c 200 ^c	50 ^a 0 ^a 100 ^a 200 ^a	0 ^a 50 ^b 100 ^c 200 ^c	100 ^a 200 ^{ab} 50 ^b 0 ^c
	浓度×时间 Concentration×Time	0 ^a 50 ^b 200 ^b 100 ^b	0 ^a 50 ^b 100 ^b 200 ^b	0 ^a 50 ^a 100 ^a 200 ^b	0 ^a 50 ^b 100 ^b 200 ^b	200 ^a 100 ^a 50 ^b 0 ^a

注：多重比较结果按升序排列，即 a<b<c<d，相同上标字母表示组间平均值无显著差异。
Note: Multiple comparison test results are arranged in increasing order from left to right a<b<c<d; the identical superscript letter means that the average value is no significant difference.

表 3 软 PVC 和硬 PVC 浸出液浓度和胁迫时间对中肋骨条藻光合作用参数和细胞密度的双因子方差分析 (a) 和多重比较 (b) 结果
Table 3 Summary of MANOVA (a) and S-N-K multiple comparison test (b) results on the photosynthetic parameters and cell density of *S. costatum* exposed to different concentrations of soft and hard PVC extract for different time

		F_v/F_m	Yield	qp	rETR _{max}	细胞密度 Cell density
软 PVC 浸出液胁迫 Soft PVC extract stress	浓度	1 803.42	4 677.59	1 814.08	5 899.41	2 464.29
	时间					
	时间	<i>F</i>	933.01	1 113.41	3 872.16	1 019.49
	浓度×时间					
	浓度×时间		338.02	187.85	425.92	399.36
	浓度					
	浓度		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	时间					
	时间	<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	浓度×时间					
	浓度×时间		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
(b)	浓度					
	浓度		200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d
	时间					
	时间		48 ^a 72 ^b 96 ^c 24 ^d	48 ^a 24 ^b 72 ^c 96 ^d	48 ^a 72 ^b 96 ^c 24 ^d	24 ^a 48 ^b 72 ^c 96 ^d
	浓度×时间					
	浓度×时间	24 h	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^b	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^b	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^b	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^b
	浓度×时间	48 h	200 ^a 100 ^{ab} 50 ^b 0 ^c	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^{ab} 50 ^b 0 ^c
	浓度×时间	72 h	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d
	浓度×时间	96 h	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d
	浓度					
(a)	浓度		82.11	54.28	115.14	42.95
	时间					
	时间	<i>F</i>	1 069.75	182.05	634.39	5 159.69
	浓度×时间					
	浓度×时间		13.22	7.47	15.11	18.97
	浓度					
	浓度		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	时间					
	时间	<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	浓度×时间					
	浓度×时间		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
硬 PVC 浸出液胁迫 Hard PVC extract stress	浓度					
	浓度		100 ^a 200 ^b 50 ^c 0 ^d	100 ^a 200 ^b 50 ^c 0 ^d	100 ^a 200 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d
	时间					
	时间		96 ^a 72 ^b 48 ^c 24 ^d	96 ^a 72 ^b 24 ^c 48 ^d	96 ^a 72 ^b 48 ^c 24 ^d	24 ^a 48 ^b 72 ^c 96 ^d
	浓度×时间					
	浓度×时间	24 h	100 ^a 200 ^b 50 ^c 0 ^d	100 ^a 50 ^b 200 ^c 0 ^b	100 ^a 50 ^b 200 ^c 0 ^b	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^a
	浓度×时间	48 h	200 ^a 50 ^a 100 ⁰ 0 ^a	100 ^a 200 ^a 0 ^b 50 ^b	200 ^a 100 ^a 50 ^{ab} 0 ^b	0 ^a 200 ^a 100 ^{ab} 50 ^b
	浓度×时间	72 h	100 ^a 200 ^b 50 ^c 0 ^d	100 ^a 200 ^b 50 ^c 0 ^b	100 ^a 200 ^b 50 ^c 0 ^b	200 ^a 100 ^b 50 ^c 0 ^d
	浓度×时间	96 h	100 ^a 200 ^{ab} 50 ^b 0 ^c	50 ^a 100 ^a 200 ⁰ 0 ^b	100 ^a 200 ^b 50 ^c 0 ^d	200 ^a 100 ^{ab} 50 ^b 0 ^c
	浓度					

注: 多重比较结果按升序排列, 即 a<b<c<d, 相同上标字母表示组间平均值无显著差异。

Note: Multiple comparison test results are arranged in increasing order from left to right a<b<c<d; the identical superscript letter means that the average value is no significant difference.

表 4 软 PVC 和硬 PVC 浸出液浓度和胁迫时间对小球藻光合作用参数和细胞密度的双因子方差分析 (a) 和多重比较 (b) 结果
Table 4 Summary of MANOVA (a) and S-N-K multiple comparison test (b) results on the photosynthetic parameters and cell density of *Chlorella* sp. exposed to different concentrations of soft and hard PVC extract for different time

		F_v/F_m	Yield	qp	rETR _{max}	细胞密度 Cell density
软 PVC 浸出液胁迫 Soft PVC extract stress	(a)	浓度 Concentration	109.97	90.39	108.39	5.02
		时间 Time	613.88	2 458.31	9 379.49	533.56
		浓度×时间 Concentration×Time	1.98	12.53	19.05	0.33
		浓度 Concentration	<0.01	<0.01	<0.01	0.02
	(b)	时间 Time	<0.01	<0.01	<0.01	<0.001
		浓度×时间 Concentration×Time	0.08	<0.01	<0.01	0.96
		浓度 Concentration	200 ^a 100 ^b 50 ^{b0c}	100 ^a 200 ^b 50 ^{b0c}	200 ^a 100 ^b 50 ^{b0c}	100 ^a 200 ^{ab} 50 ^{bc0c}
		时间 Time	96 ^a 24 ^b 72 ^c 48 ^d	96 ^a 72 ^b 48 ^c 24 ^d	72 ^a 96 ^b 48 ^c 24 ^d	96 ^a 24 ^b 48 ^b 72 ^b
		浓度×时间 Concentration×Time	200 ^a 50 ^a 100 ^{a0b}	200 ^a 100 ^{ab} 50 ^{b0c}	200 ^a 100 ^b 50 ^{b0c}	100 ^a 200 ^a 50 ^{a0a}
		时间 Time	200 ^a 50 ^a 100 ^{a0b}	100 ^a 200 ^{ab} 50 ^{b0c}	100 ^a 200 ^{ab} 50 ^{b0c}	100 ^a 200 ^b 50 ^{b0c}
		浓度×时间 Concentration×Time	200 ^a 100 ^a 50 ^{b0c}	100 ^a 50 ^a 200 ^{a0b}	100 ^a 50 ^a 200 ^{a0a}	100 ^a 200 ^b 50 ^{b0c}
		时间 Time	200 ^a 100 ^a 50 ^{b0c}	100 ^a 50 ^a 200 ^{a0b}	100 ^a 50 ^a 200 ^{a0a}	100 ^a 200 ^b 50 ^{b0c}
硬 PVC 浸出液胁迫 Hard PVC extract stress	(a)	浓度 Concentration	22.35	17.48	11.73	1.38
		时间 Time	119.28	1 976.83	9 813.08	557.36
		浓度×时间 Concentration×Time	16.64	4.63	9.53	0.44
		浓度 Concentration	<0.01	<0.01	0.02	0.27
	(b)	时间 Time	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		浓度×时间 Concentration×Time	<0.01	<0.01	<0.01	0.90
		浓度 Concentration	0 ^a 200 ^b 100 ^b 50 ^b	100 ^a 50 ^a 200 ^{a0b}	0 ^a 50 ^a 100 ^b 200 ^a	100 ^a 200 ^{a0b} 50 ^{a0a}
		时间 Time	96 ^a 72 ^b 24 ^b 48 ^c	96 ^a 72 ^b 48 ^c 24 ^d	72 ^a 96 ^b 48 ^c 24 ^d	96 ^a 72 ^b 48 ^c 24 ^d
		浓度×时间 Concentration×Time	200 ^a 100 ^{ab} 50 ^{bc0c}	200 ^a 100 ^b 50 ^{b0c}	100 ^a 200 ^a 50 ^{b0c}	100 ^a 200 ^{a0a} 50 ^{a0a}
		时间 Time	50 ^a 200 ^{a0a} 100 ^a	100 ^a 50 ^a 200 ^{a0b}	100 ^a 200 ^a 50 ^{a0a}	100 ^a 200 ^b 50 ^{b0c}
		浓度×时间 Concentration×Time	200 ^a 100 ^{ab} 50 ^{ab0b}	100 ^a 50 ^a 200 ^{b0c}	0 ^a 200 ^{ab} 100 ^{bc} 50 ^c	100 ^a 200 ^a 50 ^{ab0b}
		时间 Time	200 ^a 100 ^a 50 ^{b0c}	50 ^a 100 ^a 200 ^a	100 ^a 200 ^b 50 ^{b0c}	100 ^a 200 ^a 50 ^{b0b}

注: 多重比较结果按升序排列, 即 a<b<c<d, 相同上标字母表示组间平均值无显著差异。
Note: Multiple comparison test results are arranged in increasing order from left to right a<b<c<d; the identical superscript letter means that the average value is no significant difference.

2.4 EC_{50}

表5给出了不同种类和浓度的PVC浸出液胁迫下,3种海洋微藻 F_v/F_m 和细胞密度在72~96 h

的 EC_{50} 变化情况,其大小与PVC浸出液种类和微藻种类有关。软PVC浸出液抑制3种海洋微藻所得的 EC_{50} 为:球等鞭金藻 $4.46 \sim 113.14 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,中肋

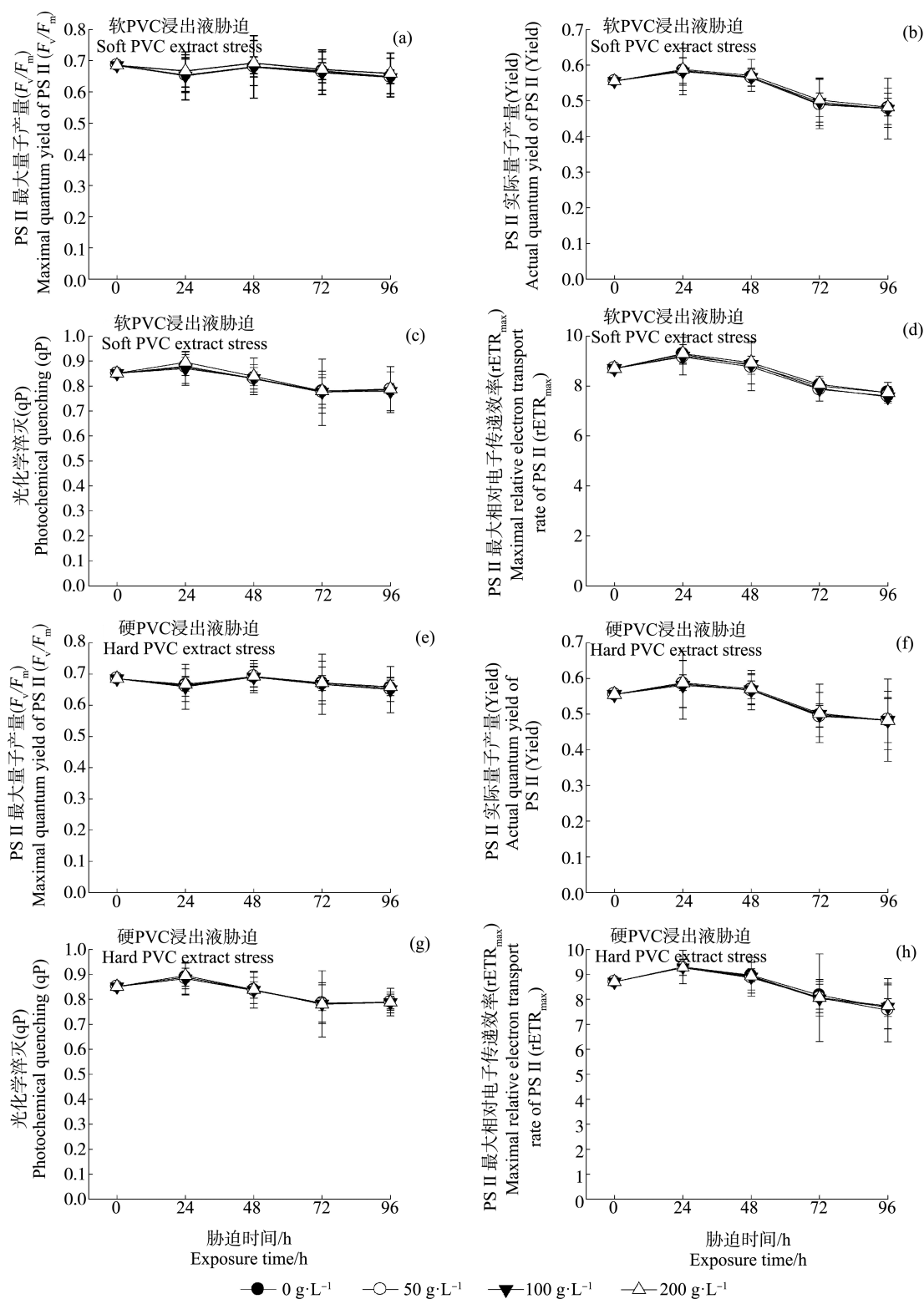


图4 软PVC和硬PVC浸出液胁迫对小球藻光合作用参数(F_v/F_m 、Yield、qP和 $rETR_{max}$)的影响

Fig. 4 Effects of soft and hard PVC extract stress on the photosynthetic parameters (F_v/F_m , Yield, qP and $rETR_{max}$) of *Chlorella* sp.

骨条藻 $30.72 \sim 89.44 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 小球藻未达到半致死浓度。硬 PVC 浸出液胁迫下, 3 种海洋微藻均未达到半致死浓度。因此, 3 种海洋微藻对软 PVC 浸出液的敏感性顺序为球等鞭金藻(金藻门)>中肋骨条藻(硅藻门)>小球藻(绿藻门)。

2.5 软 PVC 和硬 PVC 浸出液的 GC-MS 检测结果

图 5 给出了软 PVC 和硬 PVC 浸出液中所含塑化剂的类型和含量。软 PVC 中邻苯二甲酸二辛酯(dioctyl phthalate, DNOP)浓度为 $41.05 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate, DBP)浓度为

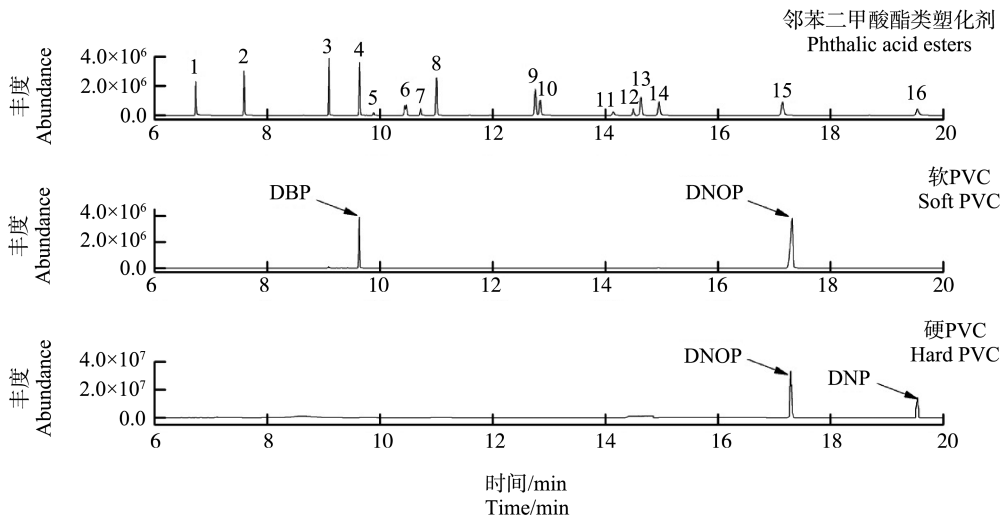


图 5 软 PVC 和硬 PVC 浸出液中所含塑化剂的类型和含量

注:软 PVC 中 DNOP 浓度为 $41.05 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, DBP 浓度为 $175.70 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$;硬 PVC 中 DNOP 浓度为 $97.74 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, DNP 浓度为 $56.03 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Fig. 5 Types and contents of plasticizers in soft PVC and hard PVC extract

Note: The concentrations of DNOP and DBP are 41.05 and $175.70 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ in the soft PVC extract; the concentrations of DNOP and DNP are 97.74 and $56.03 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ in the hard PVC extract.

表 5 PVC 浸出液对 3 种海洋微藻 F_v/F_m 和细胞密度的半数效应浓度(EC_{50})变化

Table 5 Half-effective concentration (EC_{50}) for F_v/F_m and cell density of 3 marine microalgae strains exposed to PVC extract

藻种 Species	PVC 浸出液 PVC extract	指标 Parameters	$EC_{50}/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	
			72 h	96 h
球等鞭金藻 <i>I. galbana</i>	软 PVC 浸出液 Soft PVC extract	F_v/F_m	83.55	113.14
		细胞密度 Cell density	5.79	4.46
	硬 PVC 浸出液 Hard PVC extract	F_v/F_m	Ns	Ns
		细胞密度 Cell density	Ns	Ns
中肋骨条藻 <i>S. costatum</i>	软 PVC 浸出液 Soft PVC extract	F_v/F_m	30.72	65.91
		细胞密度 Cell density	87.39	89.44
	硬 PVC 浸出液 Hard PVC extract	F_v/F_m	Ns	Ns
		细胞密度 Cell density	Ns	Ns
小球藻 <i>Chlorella</i> sp.	软 PVC 浸出液 Soft PVC extract	F_v/F_m	Ns	Ns
		细胞密度 Cell density	Ns	Ns
	硬 PVC 浸出液 Hard PVC extract	F_v/F_m	Ns	Ns
		细胞密度 Cell density	Ns	Ns

注:Ns 表示数据未得出。

Note: Ns indicates that the data is not detected.

175.70 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;硬 PVC 中 DNOP 浓度为 97.74 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,邻苯二甲酸二壬酯(dinonyl phthalate, DNP)浓度为 56.03 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

3 讨论 (Discussion)

叶绿素荧光是评估胁迫环境下微藻光合作用特征的有效方法,其时变信息与光合反应进程密切偶联,可以快速准确地反映出外界环境变化对微藻光合作用过程的影响,近年来叶绿素荧光技术正在逐渐取代传统的分光光度法,在植物逆境生理研究中得到快速的发展和应用。借助叶绿素荧光动力学变化,可深入了解污染物对微藻光合系统(特别是 PS II)的影响及微藻对逆境的响应机理^[35-37]。本实验结果表明,软 PVC 浸出液胁迫后,球等鞭金藻和中肋骨条藻的光合作用参数 F_v/F_m 、Yield、qP 和 $rETR_{\max}$ 均随 PVC 浸出液浓度增大显著降低,在高浓度处理组(100 ~ 200 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)达到最小值,小球藻则无显著变化。 F_v/F_m 下降表明,软 PVC 浸出液使球等鞭金藻和中肋骨条藻的 PS II 反应中心活性降低,阻碍了光合电子传递过程。Yield 下降说明软 PVC 浸出液阻碍上述 2 种微藻的藻细胞同化力的形成。qP 下降表示上述 2 种微藻在软 PVC 浸出液胁迫下电子传递受阻,进行光合作用的电子减少,以热或其他形式耗散的光能增加。 $rETR_{\max}$ 下降则说明软 PVC 浸出液使上述 2 种藻的电子传递效率降低。硬 PVC 浸出液对 3 种微藻光合作用参数的影响因藻种不同有所差异。硬 PVC 浸出液胁迫下,球等鞭金藻各处理组的光合作用参数 F_v/F_m 、Yield、qP 和 $rETR_{\max}$ 均高于对照组;中肋骨条藻的 4 项光合作用参数显著降低;小球藻的上述光合作用参数则与对照组无显著差异。其中,低浓度(50 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)硬 PVC 浸出液能够促进球等鞭金藻的光合能力的这一结果,与胡芹芹等^[29]和刘伟杰等^[38]的所得结论一致,原因可能是微藻对环境胁迫具有一定的耐受能力,低浓度的毒性物质可诱导藻细胞超氧化物歧化酶(SOD)活性迅速增加,从而增强对活性氧的清除能力以保持自由基平衡,最终降低了塑料浸出液的毒性。综合上述结果可以看出,软 PVC 浸出液胁迫对球等鞭金藻、中肋骨条藻和小球藻的影响大于硬 PVC 浸出液,这可能是因为软 PVC 中增塑剂含量大于硬 PVC。有研究表明,当 PVC 的增塑剂含量 <10%,其制品为硬质(即硬 PVC);若 >30%,其制品为软质(即软 PVC)^[39]。增塑剂是 PVC 主要毒性来源,如邻苯二甲酸酯类,其相对分子质量少,通过氢

键或范德华力而非化学键连接到 PVC 高分子链上,很容易向外部迁移,污染微藻生存环境^[40-41]。

目前,有关增塑剂对水生生物毒性的研究多集中于对鱼虾的生长抑制作用及致死率等方面^[12,42-43],而对微藻的毒性研究还相对较少^[44-45]。有研究结果表明,单一增塑剂能够抑制藻细胞增殖,且随浓度升高,抑制作用增强^[37,46-47],可见增塑剂作为一种具有生态毒性效应的环境激素对微藻的生长具有明显的干扰作用。而有关多种增塑剂联合毒性对海洋微藻的影响较少报道,李英^[48]研究了邻苯二甲酸二乙酯(diethyl phthalate, DEP)和邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate, DBP)联合暴露对角毛藻(*Chaetoceros* sp.)、盐生杜氏藻(*Dunaliella salina*)和新月柱鞘藻(*Cylindrotheca closterium*)的影响,王晶晶等^[49]探讨了 DEP 和壬基酚(nonylphenol, NP)对杜氏盐藻(*D. salina*)的联合毒性效应,结果表明,增塑剂在等浓度联合作用下对微藻的生长具有显著抑制效应。本实验所用 PVC 浸出液是含有多种 PAEs 的混合液,软 PVC 浸出液中主要含有 DBP 和 DNOP 这 2 种塑化剂成分,硬 PVC 浸出液中主要含有 DNP 和 DNOP 这 2 种塑化剂成分。本研究结果表明,软 PVC 浸出液对球等鞭金藻和中肋骨条藻的生长均具有显著胁迫作用;硬 PVC 浸出液对中肋骨条藻的生长具有显著胁迫作用。特别是不同浓度软 PVC 浸出液作用下,上述微藻的细胞密度均受到不同程度的抑制,且抑制程度与软 PVC 浸出液的浓度呈正相关,在高浓度处理组(100 ~ 200 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)达到最小值。这与胡芹芹等^[29]、黄博珠等^[44]、况琪军等^[45]和别聪聪等^[46]的研究结果一致。上述研究结果表明,PVC 浸出液的毒性效应表现在可影响微藻的光合作用,从而抑制细胞生长,同时引起藻细胞的膜质过氧化程度增强,进而导致细胞膜及类囊体膜的结构损伤和功能丧失,从而抑制藻细胞生长和代谢^[28-29]。微藻在受到化学物质胁迫时,在胁迫早期阶段可能会出现对微藻的生长及其生化指标具有促进作用的现象^[50]。杨慧丽和段舜山^[47]在研究 DBP 对三角褐指藻的生态毒性效应时发现,在胁迫 12 h 时,在浓度为 5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 DBP 处理条件下,三角褐指藻的 PS II 的潜在活性(F_v/F_o)、 F_v/F_m 、Yield 和光合电子传递效率(ETR)等光合作用参数逐渐上升,这与本实验中硬 PVC 浸出液对球等鞭金藻的研究结果一致,该机理到目前为止尚未阐明,还需要实验来进一步证实。

有关 PVC 浸出液对海洋微藻叶绿素荧光特性

和生长的影响目前还未见报道,但关于其他外源性因子,如重金属^[34,51-53]、抗生素^[54-55]和持久性有机污染物^[56-57]对海洋微藻光合作用和生长的报道已有不少。一般来说,微藻对外源性因子的敏感性顺序为金藻门>硅藻门>绿藻门。本实验结果与上述研究结果一致,3种海洋微藻对软PVC浸出液的敏感性顺序为球等鞭金藻>中肋骨条藻>小球藻,由此推测海水中塑料持续增多可能会影响海洋生态系统中微藻的种群群落结构。此外,本研究发现球等鞭金藻和中肋骨条藻的 F_v/F_m 和细胞密度对硬PVC浸出液的敏感性不强。小球藻的 F_v/F_m 和细胞密度对软、硬PVC浸出液的敏感性不强,均未达到半致死浓度,说明硬PVC浸出液对3种微藻的毒性效应相对较低,PVC浸出液对微藻的胁迫作用具有种间差异性。PVC浸出液对3种微藻的 EC_{50} 值与PVC浸出液种类、微藻种类有关。

本研究结果表明,球等鞭金藻和中肋骨条藻的4项光合作用参数和细胞密度对软PVC浸出液胁迫更为敏感,而对硬PVC浸出液敏感性较弱,且其光合作用参数和细胞密度均受到软PVC浸出液不同程度的抑制,抑制程度与软PVC浸出液的浓度呈正相关,在高浓度处理组(100~200 g·L⁻¹)时达到最低值。小球藻的抗逆性较强,其光合作用参数和细胞密度对软、硬PVC浸出液胁迫均不敏感。

通讯作者简介:梁英(1967—),女,水产养殖学博士,教授,主要研究方向为微藻学。

共同通讯作者简介:郑立(1976—),男,海洋生物学博士,研究员,主要研究方向为海洋生物学。

参考文献(References):

- [1] 刘强,徐旭丹,黄伟,等.海洋微塑料污染的生态效应研究进展[J].生态学报,2017,37(22): 7397-7409
Liu Q, Xu X D, Huang W, et al. Research advances on the ecological effects of microplastic pollution in the marine environment [J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37 (22): 7397-7409 (in Chinese)
- [2] Wright S L, Thompson R C, Galloway T S. The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review [J]. Environmental Pollution, 2013, 178(1): 483-492
- [3] 孙承君,蒋风华,李景喜,等.海洋中微塑料的来源、分布及生态环境影响研究进展[J].海洋科学进展,2016,34(4): 449-461
Sun C J, Jiang F H, Li J X, et al. The research progress in source, distribution, ecological and environmental effect of marine microplastics [J]. Advances in Marine Science, 2016, 34(4): 449-461 (in Chinese)
- [4] Jambeck J R, Geyer R, Wilcox C, et al. Marine pollution. Plastic waste inputs from land into the ocean [J]. Science, 2015, 347(6223): 768-771
- [5] Kaposi K L, Mos B, Kelaher B P, et al. Ingestion of microplastic has limited impact on a marine larva [J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(3): 1638-1645
- [6] 贾芳丽,孙翠竹,李富云,等.海洋微塑料污染研究进展[J].海洋湖沼通报,2018(2): 146-154
Jia F L, Sun C Z, Li F Y, et al. Progresses in the studies on oceanic microplastic pollution [J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2018(2): 146-154 (in Chinese)
- [7] Bergmann M, Sandhop N, Schewe I, et al. Observations of floating anthropogenic litter in the Barents Sea and Fram Strait, Arctic [J]. Polar Biology, 2016, 39(3): 553-560
- [8] Van C L, Vanreusel A, Mees J, et al. Microplastic pollution in deep-sea sediments [J]. Environmental Pollution, 2013, 182(6): 495-499
- [9] Dantas D V, Barletta M. The seasonal and spatial patterns of ingestion of polyfilament nylon fragments by estuarine drums (Sciaenidae) [J]. Environmental Science & Pollution Research, 2012, 19(2): 600-606
- [10] Fossi M C, Panti C, Guerranti C, et al. Are baleen whales exposed to the threat of microplastics? A case study of the Mediterranean fin whale (*Balaenoptera physalus*) [J]. Marine Pollution Bulletin, 2012, 64(11): 2374-2379
- [11] Lönnstedt O M, Eklöv P. Environmentally relevant concentrations of microplastic particles influence larval fish ecology [J]. Science, 2016, 352(6290): 1213-1216
- [12] Rochman C M, Kurobe T, Flores I, et al. Early warning signs of endocrine disruption in adult fish from the ingestion of polyethylene with and without sorbed chemical pollutants from the marine environment [J]. Science of the Total Environment, 2014, 493(1): 656-661
- [13] Lusher A L, McHugh M, Thompson R C. Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel [J]. Marine Pollution Bulletin, 2013, 67(1-2): 94-99
- [14] Li J, Qu X, Su L, et al. Microplastics in mussels along the coastal waters of China [J]. Environmental Pollution, 2016, 214: 177-184
- [15] Sussarellu R, Suquet M, Thomas Y, et al. Oyster reproduction is affected by exposure to polystyrene microplastics [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2016, 113(9): 2430-2435

- [16] Besseling E, Wang B, Lüring M, et al. Nanoplastic affects growth of *S. obliquus* and reproduction of *D. magna* [J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48 (20): 12336-12343
- [17] Browne M A, Niven S J, Galloway T S, et al. Microplastic moves pollutants and additives to worms, reducing functions linked to health and biodiversity [J]. Current Biology, 2013, 23(23): 2388-2392
- [18] Setälä O, Fleming-Lehtinen V, Lehtiniemi M. Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web [J]. Environmental Pollution, 2014, 185(4): 77-83
- [19] Cole M, Lindeque P, Fileman E, et al. Microplastic ingestion by zooplankton [J]. Environmental Science & Technology, 2013, 47(12): 6646-6655
- [20] 李富云, 贾芳丽, 涂海峰, 等. 海洋中微塑料的环境行为和生态影响[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(6): 11-18
Li F Y, Jia F L, Tu H F, et al. Environmental behavior and ecological effects of microplastics in the ocean [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(6): 11-18 (in Chinese)
- [21] Law K L, Thompson R C. Oceans. Microplastics in the seas [J]. Science, 2014, 345(6193): 144-145
- [22] 孙晓霞. 海洋微塑料生态风险研究进展与展望[J]. 地球科学进展, 2016, 31(6): 560-566
Sun X X. Progress and prospect on the study of the ecological risk of microplastics in the ocean [J]. Advances in Earth Science, 2016, 31(6): 560-566 (in Chinese)
- [23] 周倩, 章海波, 李远, 等. 海岸环境中微塑料污染及其生态效应研究进展[J]. 科学通报, 2015, 60(33): 3210-3220
Zhou Q, Zhang H B, Li Y, et al. Progress on microplastics pollution and its ecological effects in the coastal environment [J]. Marine Science Bulletin, 2015, 60(33): 3210-3220 (in Chinese)
- [24] Bhattacharya P, Lin S, Turner J P, et al. Physical adsorption of charged plastic nanoparticles affects algal photosynthesis [J]. Journal of Physical Chemistry C, 2010, 114 (39): 16556-16561
- [25] Zhang C, Chen X H, Wang J T, et al. Toxic effects of microplastic on marine microalgae *Skeletonema costatum*: Interactions between microplastic and algae [J]. Environmental Pollution, 2017, 220: 1282-1288
- [26] Sjöllema S B, Redondo-Hasselerharm P, Leslie H A, et al. Do plastic particles affect microalgal photosynthesis and growth? [J]. Aquatic Toxicology, 2016, 170: 259-261
- [27] Lagarde F, Olivier O, Zanella M, et al. Microplastic interactions with freshwater microalgae: Hetero-aggregation and changes in plastic density appear strongly dependent on polymer type [J]. Environmental Pollution, 2016, 215: 331-339
- [28] Liu N, Wen F, Li F, et al. Inhibitory mechanism of phthalate esters on *Karenia brevis* [J]. Chemosphere, 2016, 155: 498-508
- [29] 胡芹芹, 熊丽, 田裴秀子, 等. 邻苯二甲酸二丁酯(DBP)对斜生栅藻的致毒效应研究[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(1): 87-92
Hu Q Q, Xiong L, Tianpei X Z, et al. Toxic effects of dibutyl phthalate (DBP) on *Scenedesmus obliquus* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2008, 3(1): 87-92 (in Chinese)
- [30] 顾浩琦, 梅蕾, 王坚, 等. PVC塑料中16种邻苯二甲酸酯类增塑剂的测定[J]. 中国医药工业杂志, 2013, 44(4): 386-388
Gu H Q, Mei L, Wang J, et al. Determination of sixteen kinds of phthalic acid esters plasticizer in PVC plastic [J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2013, 44(4): 386-388 (in Chinese)
- [31] Guillard R R L, Ryther J H. Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella nana* (Hustedt) and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1962, 8(2): 229-239
- [32] Liang Y, Sun M H, Tian C Y, et al. Effects of salinity stress on the growth and chlorophyll fluorescence of *Phaeodactylum tricornutum* and *Chaetoceros gracilis* (Bacillariophyceae) [J]. Botanica Marina, 2014, 57(6): 469-476
- [33] 闫学平, 张前前, 梁生康, 等. 钻井液及其组分对中肋骨条藻的毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(3): 368-374
Yan X P, Zhang Q Q, Liang S K, et al. Toxic effects of water-based drilling fluid and its components on *Skeletonema costatum* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, 5(3): 368-374 (in Chinese)
- [34] 赵玉艳, 蔡磊明. 几种藻类毒性试验统计方法的差异[J]. 农药, 2004, 43(7): 298-299
Zhao Y Y, Cai L M. Statistical methods in algal toxicity test of pesticide [J]. Chinese Journal of Pesticides, 2004, 43(7): 298-299 (in Chinese)
- [35] 王帅, 梁英. 重金属胁迫对塔胞藻细胞密度及叶绿素荧光特性的影响[J]. 海洋湖沼通报, 2011(3): 8-20
Wang S, Liang Y. Effects of heavy metal exposure on the cell density and chlorophyll fluorescence of *Pyramidomonas* sp. [J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2011(3): 8-20 (in Chinese)
- [36] Kevin O. Imaging of chlorophyll a fluorescence: Theoretical and practical aspects of an emerging technique for the monitoring of photosynthetic performance [J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(400): 1195-1205
- [37] Marwood C A, Smith R E H, Furgal J A, et al. Photoinhi-

- bition of natural phytoplankton assemblages in Lake Erie exposed to solar ultraviolet radiation [J]. Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, 2000, 57(2): 371-379
- [38] 刘伟杰, 吴孝情, 鄢佳英, 等. 壬基酚对羊角月牙藻的毒性效应研究[J]. 中国环境科学, 2018, 38(6): 2329-2336
- Liu W J, Wu X Q, Yan J Y, et al. Toxic effects of nonylphenol on *Selenastrum capricornutum* [J]. China Environmental Science, 2018, 38(6): 2329-2336 (in Chinese)
- [39] 陶宇, 左玲. 增塑剂在软质 PVC 中的发展[J]. 当代化工, 2008, 37(6): 647-650
- Tao Y, Zuo L. Applications and development of plasticizer in soft PVC [J]. Contemporary Chemical Industry, 2008, 37(6): 647-650 (in Chinese)
- [40] 梁智. 不同增塑剂对短凯伦藻的生长抑制作用及其机理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015: 1-61
- Liang Z. Mechanism of the inhibitory effects of phthalate esters on *Karenia brevis* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015: 1-61 (in Chinese)
- [41] 徐杨, 熊英, 郭少云. 软质 PVC 制品中增塑剂迁移带来的问题及应对[J]. 化学进展, 2015, 27(2): 286-296
- Xu Y, Xiong Y, Guo S Y. Issues caused by migration of plasticizers from flexible PVC and its countermeasures [J]. Progress in Chemistry, 2015, 27(2): 286-296 (in Chinese)
- [42] 李文英, 熊丽, 刘荣, 等. 邻苯二甲酸二丁酯(DBP)对斑马鱼(*Brachydanio rerio*)生理生化特性的影响[J]. 生态毒理学报, 2007, 2(1): 117-122
- Li W Y, Xiong L, Liu R, et al. Effects of DBP on physiological and biochemical characteristics of *Brachydanio rerio* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2007, 2(1): 117-122 (in Chinese)
- [43] 王兴强, 曹梅, 阎斌伦, 等. 塑料增塑剂对凡纳滨对虾存活、生长和免疫的影响[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(1): 69-75
- Wang X Q, Cao M, Yan B L, et al. Effects of plastic plasticizers on survival, growth and immune factors of *Litopenaeus vannamei* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, 5(1): 69-75 (in Chinese)
- [44] 黄博珠, 何瑞, 孙凯峰, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对海洋微藻生长的影响[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(2): 292-299
- Huang B Z, He R, Sun K F, et al. Effects of dibutyl phthalate (DBP) on the growth of marine microalgae [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(2): 292-299 (in Chinese)
- [45] 况琪军, 赵文玉, 邓萍. DBP 对斜生栅藻及天然混合藻类致毒效应研究[J]. 水生生物学报, 2003, 27(1): 103-105
- Kuang Q J, Zhao W Y, Deng P. Studies on the toxic efficiency of dibutylphthalate to *Scenedesmus obliquus* and natural algae [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2003, 27(1): 103-105 (in Chinese)
- [46] 别聪聪, 李锋民, 李媛媛, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对短裸甲藻活性氧自由基的影响[J]. 环境科学, 2012, 33(2): 442-447
- Bie C C, Li F M, Li Y Y, et al. Effects of allelochemical dibutyl phthalate on *Gymnodinium breve* reactive oxygen species [J]. Environmental Science, 2012, 33(2): 442-447 (in Chinese)
- [47] 杨慧丽, 段舜山. 邻苯二甲酸二丁酯对三角褐指藻的生态毒性效应[J]. 生态环境学报, 2010, 19(9): 2155-2159
- Yang H L, Duan S S. The ecological toxic effects of dibutyl phthalate on *Phaeodactylum tricornutum* [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2010, 19(9): 2155-2159 (in Chinese)
- [48] 李英. 近岸水域中海洋微藻对酞酸酯的耐受性及其净化作用[D]. 天津: 天津大学, 2014: 1-139
- Li Y. The tolerance of marine microalgae to phthalate acid esters and their purification in inshore waters [D]. Tianjin: Tianjin University, 2014: 1-139 (in Chinese)
- [49] 王晶晶, 钱晓佳, 安民, 等. 邻苯二甲酸二乙酯和壬基酚联合暴露对杜氏盐藻生长的影响[J]. 生态科学, 2012, 31(4): 370-376
- Wang J J, Qian X J, An M, et al. Effects of combined exposure of diethylphthalate and nonylphenol on growth of *Dunaliella salina* [J]. Ecological Science, 2012, 31(4): 370-376 (in Chinese)
- [50] 姜恒, 吴斌, 阎冰, 等. 微藻叶绿素荧光技术在环境监测中的应用[J]. 环境工程技术学报, 2012, 2(2): 172-178
- Jiang H, Wu B, Yan B, et al. Application of microalgae chlorophyll fluorescence technique in environment monitoring [J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2012, 2(2): 172-178 (in Chinese)
- [51] 王丽平, 郑丙辉, 孟伟. 重金属 Cu 对两种海洋微藻的毒性效应[J]. 海洋环境科学, 2007, 26(1): 6-9
- Wang L P, Zheng B H, Meng W. Toxicity effects of heavy metal copper on two marine microalgae [J]. Marine Environmental Science, 2007, 26(1): 6-9 (in Chinese)
- [52] Akira S, Qalokece V L, Norihide K, et al. Evaluation of the sensitivity of marine microalgal strains to the heavy metals, Cu, As, Sb, Pb and Cd [J]. Environment International, 2005, 31(5): 713-722
- [53] Melor I, Siew-Moi P, Soo-Loong T, et al. A modified toxicity testing method using tropical marine microalgae [J].

- Environmental Monitoring & Assessment, 2002, 75 (2): 145-154
- [54] 周文礼, 乔秀亭, 肖慧, 等. 三种抗生素对几种海洋微藻叶绿素 a 含量影响的初步研究[J]. 海洋环境科学, 2009, 28(3): 268-271
- Zhou W L, Qiao X T, Xiao H, et al. Effects of antibiotics on chlorophyll-a level in marine microalga [J]. Marine Environmental Science, 2009, 28(3): 268-271 (in Chinese)
- [55] 陈淑吟, 吉红九, 周亚文. 青霉素应用于三种海洋微藻保存培养的研究[J]. 水产养殖, 2004, 25(3): 31-33
- Chen S Y, Ji H J, Zhou Y W. Study of penicillin on the culture and preservation of three marine microalgae [J]. Journal of Aquaculture, 2004, 25(3): 31-33 (in Chinese)
- [56] 孙禾琳, 蔡恒江, 姚子伟. 微板法测试 12 种 POPs 对新月菱形藻的毒性[J]. 海洋科学进展, 2011, 29(4): 529-536
- Sun H L, Cai H J, Yao Z W. Toxic effects of 12 persistent organic pollutants on *Nitzschia closterium* determined using micro-plate assay [J]. Advances in Marine Science, 2011, 29(4): 529-536 (in Chinese)
- [57] 李卓娜, 孟范平, 赵顺顺, 等. 2,2',4,4'-四溴联苯醚 (BDE-47) 对 4 种海洋微藻的急性毒性[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(3): 435-439
- Li Z N, Meng F P, Zhao S S, et al. Acute toxic effects of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) on four marine microalgae [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(3): 435-439 (in Chinese) ◆