

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20160912004

景江, 夏林军, 吴菊珍, 等. 0,0-二甲基-(2,2,2-三氯-1-羟基乙基)磷酸酯对4种藻类生长的影响[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(2): 94-101

Jing J, Xia L J, Wu J Z, et al. Toxic effects of 0,0-two-(2,2,2-three chloro-1-hydroxy ethyl) phosphate on four kinds of algae growth [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(2): 94-101 (in Chinese)

## 0,0-二甲基-(2,2,2-三氯-1-羟基乙基)磷酸酯对4种藻类生长的影响

景江<sup>1,\*</sup>, 夏林军<sup>2</sup>, 吴菊珍<sup>1</sup>, 孙磊<sup>1</sup>

1. 成都工业学院, 成都 611730

2. 泛华建设集团有限公司成都市市政规划设计院, 成都 610000

收稿日期: 2016-09-12 录用日期: 2017-01-04

**摘要:** 0,0-二甲基-(2,2,2-三氯-1-羟基乙基)磷酸酯(敌百虫)为广谱杀虫剂,用途广泛,但对藻类的毒理学效应研究还有待完善。采用4种受试藻样,设置5个敌百虫浓度组(1、5、10、50和100 mg·L<sup>-1</sup>)和对照组,实验周期40 d,藻细胞的初始接种密度10<sup>6</sup> cells·mL<sup>-1</sup>,光暗比12 h/12 h,24 h曝气,24 h磁力搅拌,实验温度25℃,pH 6.8,每隔24 h取样。结果表明:5 mg·L<sup>-1</sup>、10 mg·L<sup>-1</sup>、50 mg·L<sup>-1</sup>浓度的敌百虫对铜绿微囊藻和小球藻的生长有促进作用,其中以50 mg·L<sup>-1</sup>浓度组的促进作用最为显著,促进作用主要表现在生长峰值的延后以及生长对数期的延长,而高剂量(100 mg·L<sup>-1</sup>)的敌百虫则有抑制藻生长的作用。取50 mg·L<sup>-1</sup>敌百虫浓度组以及铜绿微囊藻和小球藻作进一步深入研究,结果表明:50 mg·L<sup>-1</sup>敌百虫浓度组的叶绿素a含量峰值比对照组高30%,细胞体内的SOD、ATP含量都高于对照组。敌百虫的使用浓度通常在0.1~1.0 mg·L<sup>-1</sup>,低于本实验最佳浓度。本实验中1 mg·L<sup>-1</sup>敌百虫对藻生长影响效果不明显。

**关键词:** 敌百虫;铜绿微囊藻;小球藻;细胞密度;叶绿素a;SOD;ATP

文章编号: 1673-5897(2017)2-094-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Toxic Effects of 0,0-Two-(2,2,2-Three Chloro-1-Hydroxy Ethyl) Phosphate on Four Kinds of Algae Growth

Jing Jiang<sup>1,\*</sup>, Xia Linjun<sup>2</sup>, Wu Junzhen<sup>1</sup>, Sun Lei<sup>1</sup>

1. Chengdu Technological University, Chengdu 611730, China

2. Chengdu Municipal Planning and Design Institute, FanHua Construction Group Limited Company, Chengdu 610000, China

Received 12 September 2016 accepted 4 January 2017

**Abstract:** 0,0-two-(2,2,2-three chloro-1-hydroxy ethyl) phosphate (trichlorfon) is widely used as pesticides, while its toxic effect on algae is still not well understood. The experiment adopts four algal species to be exposed to 5 different trichlorfon concentration groups (1, 5, 10, 50, 100 mg·L<sup>-1</sup>) and 0 mg·L<sup>-1</sup> as control group. The experimental period is 40 days, and the initial inoculation density of algal cells is 10<sup>6</sup> cells·mL<sup>-1</sup> with the light dark ratio 12 h/12 h, 24 h aeration, 24 h magnetic stirring, the experimental temperature 25℃, pH 6.8. Samples are taken in every 24 h. Results show that 5 mg·L<sup>-1</sup>, 10 mg·L<sup>-1</sup> and 50 mg·L<sup>-1</sup> of trichlorfon has a promoting effect on the growth of *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella* sp. CHX-1, and thereinto 50 mg·L<sup>-1</sup> group has the most significant

基金项目: 四川省科技厅重点项目(2011ZR0139); 四川省教育厅项目(15ZB0309)

作者简介: 景江(1982-),男,讲师,硕士,研究方向为地表水环境、蓝藻水华治理, E-mail: 25859260@qq.com;

effect. The promoting effect is mainly manifested in the delay of the growth peak and the extension of the exponential phase, and high doses of trichlorfon ( $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) inhibit the growth of algae. The further study shows that the peak of algal Chl a in  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  trichlorfon group is 30% higher than the control group, and the SOD content and ATP content in the cells are higher than control group. Working concentration of trichlorfon is  $0.1\text{-}1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , which is lower than the concentration of this study. The  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  trichlorfon group has no obvious effect on the growth of algae.

**Keywords:** trichlorfon; *Microcystis aeruginosa*; *Chlorella* sp; cell density; Chl a; SOD; ATP

0,0-二甲基-(2,2,2-三氯-1-羟基乙基)磷酸酯,商品名为敌百虫,主要成分为90%敌百虫原粉,80%可溶性粉剂,属低毒、广谱杀虫剂<sup>[1]</sup>。通过抑制机体乙酰胆碱酯酶使乙酰胆碱在突触处积累,从而抑制神经传导,引起生物功能紊乱,导致死亡<sup>[2]</sup>。不但可以在水稻、棉花等大田作物上防治多种害虫,也可用于治疗鱼类的细菌性疾病,防治体外寄生虫,杀灭寄生在鱼体肠道内的寄生虫及浮游动物<sup>[3]</sup>,在水产养殖中, $0.1\text{-}1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 敌百虫通常用于防治水生昆虫对养殖对象的疾病感染和蠕虫的体外寄生,同时也可用于控制水体中的浮游生物。但长期反复使用敌百虫,将导致杀虫剂残留在水体及淤泥中富集,造成水域化学污染,对鱼、蟹、虾类等非靶标生物中的有益生物产生直接毒性<sup>[4]</sup>。目前有关敌百虫的水生态毒理学研究多以水生甲壳类、鱼类以及养殖生物为主,藻类毒理学方面则以淡水藻类为研究重点<sup>[5-6]</sup>,而有关海洋微藻研究较少。敌百虫对鱼类和水生动物的毒性很高,半数致死浓度( $\text{LC}_{50}$ )一般为 $0.05\text{-}1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。相对于鱼类及水生甲壳类动物,敌百虫对藻类的毒性较低,72 h或96 h的半效应浓度( $\text{EC}_{50}$ )一般大于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[7]</sup>;并且环境中低浓度的敌百虫等有机磷农药可作为营养源,促进藻类生长<sup>[8]</sup>。

蓝藻是水生生态系统中的重要组成部分,平衡稳定着整个水生生态系统的。而蓝藻的大量生长可以

恶化水体的通风及光照条件,抑制水体中浮游生物有益种类的生长繁殖,阻碍水中植物的光合作用,挤占其他水生生物的生存空间<sup>[9]</sup>。蓝藻生命力强,越冬期生活在湖泊的底泥中,遇到适合其生长的外部环境条件时,再次复苏<sup>[10]</sup>。

本文选用4种藻类作为受试对象,分别为铜绿微囊藻、鱼腥藻、普通小球藻、念珠藻,其中小球藻属于绿藻,是养殖水体中常见的主要藻类之一,且与一些蓝藻形成一定的竞争效应<sup>[11-12]</sup>。如表1所示,所选藻类都属于常见藻,但特征、习性、分布都具有一定的差异性<sup>[13-17]</sup>。本文通过实验,研究不同浓度的敌百虫对4种藻类是否有影响,是否能够促进或者抑制藻类的生长,以及在藻类的对数期、稳定期和衰亡期等生命周期中有何影响。

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 实验材料

藻种:鱼腥藻 PCC 7120 (*Anabaena* sp. PCC 7120), Allen's 培养基;普通小球藻 CHX-1 (*Chlorella* sp. CHX-1)、念珠藻 106 (*Nostoc* sp. 106)、铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*), BG11 培养基;藻种由中国科学院典型培养物保藏委员会淡水藻种库 (FACHB) 提供,培养温度为  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 可见光照强度  $2\ 000 \text{ Lux}$ , pH 6.8, 实验前,在对数生长期接种 2~3 次,使藻种保持良好的活性,并达到同步生长。

表1 实验藻种

Table 1 Experimental algae

藻种 Algae	特征 Characteristics
铜绿微囊藻 <i>Microcystis aeruginosa</i>	“水华”优势藻种,藻毒素,多分布于水体 Water bloom dominant species, releasing algae toxin, distributed in water
鱼腥藻 <i>Anabaena</i> sp. PCC 7120	“水华”优势藻种,多分布于水体 Water bloom dominant species, distributed in water
普通小球藻 <i>Chlorella</i> sp. CHX-1	具营养价值,多分布于水体 Having nutrient value, distributed in water
念珠藻 <i>Nostoc</i> sp. 106	土壤藻种,多分布于底泥 Soil algae, distributed in sediment

Allen's 培养基:  $1.50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaNO}_3$ ,  $0.038 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.013 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.03 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  柠檬酸,  $0.04 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_2\text{HPO}_4$ ,  $0.02 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{CO}_3$ ,  $0.029 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ,  $1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  金属元素溶液 PIV。

BG11 培养基:  $1.50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaNO}_3$ ,  $0.04 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.075 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.036 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.001 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{EDTA}$ ,  $0.02 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{CO}_3$ ,  $0.006 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  柠檬酸,  $0.006 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  柠檬酸铁铵,  $1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  微量元素 A5 溶液。

0,0-二甲基-(2,2,2-三氯-1-羟基乙基)磷酸酯(敌百虫),由成都科龙化工试剂公司提供,分析纯(AR);其余所用试剂均为分析纯(AR),由成都科龙化工试剂公司提供。

实验仪器包括:高速台式离心机 H3—18KR(重庆松朗仪器有限公司),超声波细胞粉碎机 JY92—II(宁波新芝生物科技有限公司),可见分光光度计 721G(上海精密科学仪器有限公司),生化培养箱 LRH—250(上海一恒科学仪器有限公司)。

## 1.2 敌百虫对藻生长影响实验

将生长至对数期的铜绿微囊藻接种于 6 个 1 000 mL 锥形瓶中,藻液接满 1 000 mL。设置 5 个敌百虫浓度组(1、5、10、50 和  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )和 1 个对照组,实验周期 40 d。藻细胞的初始接种密度  $10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。光暗比 12 h/12 h、24 h 曝气、24 h 磁力搅拌,实验温度  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , pH 6.8,每隔 24 h 取样分析。其他 3 种藻样的实验方法、条件相同。

实验采用 2 种培养基,其中营养盐总氮(TN)、总磷(TP)起始浓度相同,均为  $245 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  与  $7.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。实验周期中保证 TP、TN 浓度始终维持在超富营养状态。总氮和总磷的测定分别采用硫酸肼还原法和钼蓝法(国家海洋局,2007)<sup>[18]</sup>。

## 1.3 藻密度的吸光度值测定

参照刘加慧等<sup>[19]</sup>和郝聚敏等<sup>[20]</sup>的方法,取对数生长期藻细胞培养液,稀释成不同藻细胞数量,用分光光度计测 680 nm 下的光密度值( $\text{OD}_{680}$ ),每天定时取样测定,每组设 3 个平行样。得到 680 nm 的光密度值与藻细胞数量的相关关系,相应的回归方程为:小球藻细胞浓度(万个  $\cdot \text{mL}^{-1}$ ) =  $1557\text{OD}_{680} - 34.716$ ,以光密度值代表小球藻的生长情况。

4 种藻类的相关关系有差异性,其他 3 种藻类也通过此实验方法得到 680 nm 与藻细胞数量的

关系。

## 1.4 叶绿素 a(Chl a)测定实验

采用分光光度法,根据 Hall 和 Rao<sup>[21]</sup>的方法略做改进。每隔 24 小时取 5 mL(定为  $V_1$ )藻液于 10 mL 离心管中,超声破碎 30 s(工作时间 1 s,间隔 2 s),在样品中加入  $20 \mu\text{L}$  1%(质量分数)的  $\text{MgCO}_3$  溶液,  $8\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  下离心 15 min,弃去上清液。在沉淀中加入 3 mL 丙酮溶液,于  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱中过夜萃取 18~24 h,于  $7\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  下离心 10 min,取上清液,分别测定 750、663、645 和 630 nm 的 OD 值,取上清液的体积为  $V_2$ ,利用下式计算 Chl a( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ):

$$\text{Chl a} = [11.64 \times (\text{OD}_{663\text{nm}} - \text{OD}_{750\text{nm}}) - 2.16 \times (\text{OD}_{645\text{nm}} - \text{OD}_{750\text{nm}}) + 0.1(\text{OD}_{630\text{nm}} - \text{OD}_{750\text{nm}})] \times V_2(\text{mL}) / V_1(\text{mL})$$

## 1.5 C-PC 藻蓝蛋白含量的测定

参照 Padgett 和 Krogmann<sup>[22]</sup>的方法,在分光光度计下测量藻蓝蛋白在 620 nm 和 650 nm 的 OD 值,用以下公式计算:

$$\text{C-PC}(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}) = (166 \times \text{OD}_{620\text{nm}}) - (108 \times \text{OD}_{650\text{nm}})$$

## 1.6 超氧化物歧化酶(SOD)的测定

SOD 的测定根据 Stewert(1980)的方法<sup>[23]</sup>,在  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,在 4.5 mL 的  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$  缓冲液中加入待测样品的 SOD 粗酶液,再加入  $10 \mu\text{L}$   $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  连苯三酚,迅速摇匀,将摇匀的反应液立即倒入光径为 1 cm 的比色杯内,分光光度计 325 nm 波长下每隔 30 s 测 OD 值(A)一次,要求连苯三酚的自氧化速率控制在  $0.07 \text{ A} \cdot \text{min}^{-1}$  左右,对照管取  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HCl}$  代替。测得数据按下式计算:

$$\text{酶活性}(\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}) = [0.07 - \text{OD}_{325\text{nm}} / \text{时间}(\text{min})] / 0.07 \times 100\% / 50\% \times \text{反应液总体积}(\text{mL}) \times \text{样液稀释倍数} / \text{样液体积}(\text{mL})$$

## 1.7 ATP 含量的间接测定法

ATP 含量的测定采用《环境工程微生物检验手册》<sup>[24]</sup>中的方法,取  $1 \text{ cm}^2$  的藻样,将其加入装有 1 mL 蒸馏水的比色管中,完全混合,加入 2.5 mL 质量分数为 95% 的硫酸,然后用纱布盖上用绳扎紧,置高压锅加压,  $128 \text{ }^\circ\text{C}$ , 15 min 后取出。室温下冷却后,加 1~2 滴过氧化氢液,摇匀,用去离子水稀释,此为消化液。取 2 支试管,其中 1 支加入消化液 3 mL,摇匀,另 1 支加蒸馏水 3 mL,各管加定磷试剂 3 mL 后,同置  $45 \text{ }^\circ\text{C}$  水浴 25 min,取出冷却至室温,在 721G 分光光度计上 660 nm 处比色测定。

## 2 结果 (Results)

### 2.1 敌百虫对4种受试藻生长速度的影响

由图1所示,敌百虫加入后,4种藻样的生长均受到了不同程度的影响,其中以铜绿微囊藻和小球藻最为明显。在铜绿微囊藻的实验中,敌百虫浓度为 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,藻受到的影响最大,对数生长期持续时间比对照样品长, $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组的藻在25 d后进入生长稳定期,并且一直保持着高活性,对照组第40天已经进入衰亡期,细胞密度持续减少,而 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组细胞密度达到 $32\times 10^6\text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,比对照组高出80%,生长稳定,没有进入衰亡期。在小球藻的实验中,不同浓度组的敌百虫均对小球藻的生长产生了影响,其中 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组对小球藻生长有较明显的促进作用,而高浓度组 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 对小球藻的生长有抑制作用,在40 d的实验周期中,最高细胞密度达到 $15\times 10^6\text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,仅为对照组的75%,说明高浓度的敌百虫对小球藻有毒害作用,抑制了藻的生长;但进入衰亡期后,细胞衰减速

度较缓慢,第40天时,细胞密度为对照组的85%,相对而言有所上升,说明随着实验时间的延长,敌百虫产生生物降解或者水解,小球藻发生补偿生长,而同样的情况也出现在鱼腥藻和念珠藻的实验中。王秀红等<sup>[25]</sup>发现丁草胺浓度在 $4\sim 20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内可促进3种鱼腥藻生长,大于 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时抑制生长。此结果与本文实验现象有一定的相似性,说明一定浓度的有敌百虫对藻的生长有促进作用,而浓度高于临界点后就就会出现抑制作用,本文结果显示, $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 敌百虫超出了临界浓度,对藻前期生长抑制力度很强,对藻有明显的致害作用,生命周期内的藻活性较低,与其他浓度组差异性较大。

蓝藻的生命周期一般为30 d,而由于有机磷农药敌百虫的加入,影响了蓝藻的生命周期,由传统的适应期、对数期、稳定期、衰亡期的规律性生命周期变得不规律,整个生命周期有所延长是实验中较明显的特征。因此,选择铜绿微囊藻和小球藻以及敌百虫 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组,做进一步研究实验。

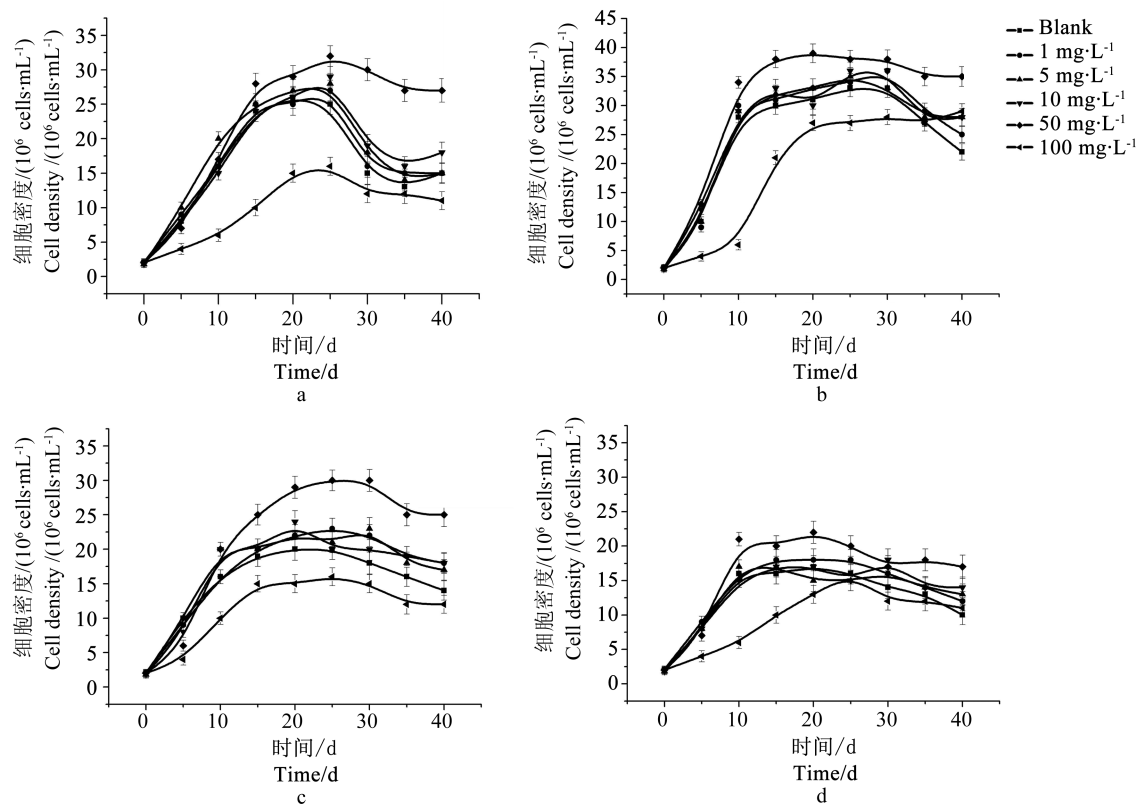


图1 敌百虫对藻生长的影响

注: a-铜绿微囊藻; b-鱼腥藻; c-小球藻; d-念珠藻。

Fig. 1 Effect of trichlorfon on the growth of algae

Note: a-*Microcystis aeruginosa*; b-*Anabaena* sp. PCC 7120; c-*Chlorella* sp. CHX-1; d-*Nostoc* sp.106.

## 2.2 叶绿素 a 含量影响

在藻的光合作用中叶绿素 a 是不可缺少的催化剂, 绿素 a 的含量直接反应了藻生长代谢的活性<sup>[26]</sup>。由图 2 所示, 在铜绿微囊藻的实验中, 敌百虫  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度组在进入生长稳定期后绿素 a 含量在 25 d 时达到峰值, 同期比对照组高出 30%, 在衰亡期时, 敌百虫  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度组叶绿素 a 含量呈现缓慢的下降趋势, 但仍然保持着一定的活性。相似的情况也出现在小球藻的实验中, 由此可见,  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  敌百虫浓度组对藻的生长有正面刺激作用, 细胞生长代谢活性较高, 峰值延后说明延长了藻的生长对数期时间。

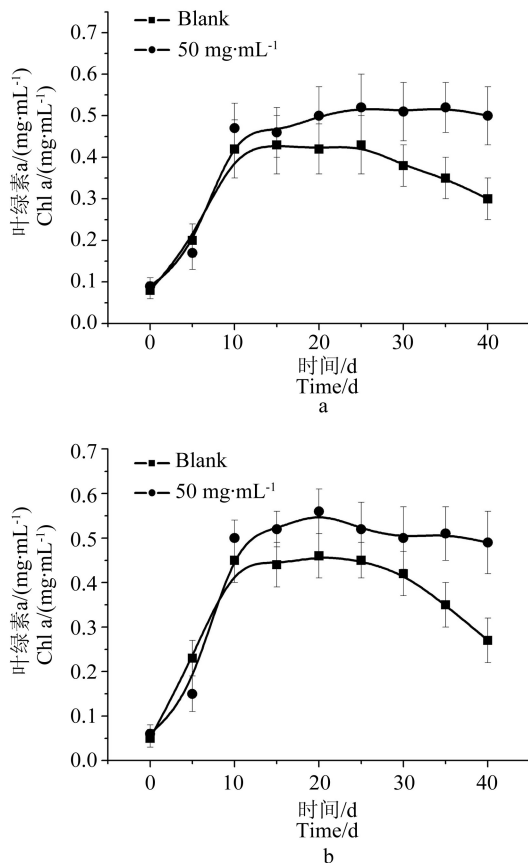


图 2 敌百虫对藻叶绿素 a 的影响

注: a-铜绿微囊藻; b-小球藻。

Fig. 2 Effect of trichlorfon on the algal Chl a  
Note: a-*Microcystis aeruginosa*; b-*Chlorella* sp. CHX-1.

## 2.3 藻蓝蛋白 (C-PC) 含量的影响

藻蓝蛋白与叶绿素 a 在藻的光合作用中起着同等重要的作用, 在藻类细胞中光合作用的一部分, 将捕获的光能传递给叶绿素 a<sup>[27]</sup>。

由图 3 所示, 铜绿微囊藻对照组 C-PC 含量在 20 d 达到峰值, 而敌百虫  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度组延迟到第 25 天达到峰值, 且高出对照组 30%, 其生长对数期持续时间更长。在小球藻的实验中, 生命周期延长的现象明显, 峰值延迟。40 d 时, 敌百虫  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度组藻细胞内 C-PC 含量仍较高, 说明其体内活性蛋白较多, 补光系统、光合作用系统完整。

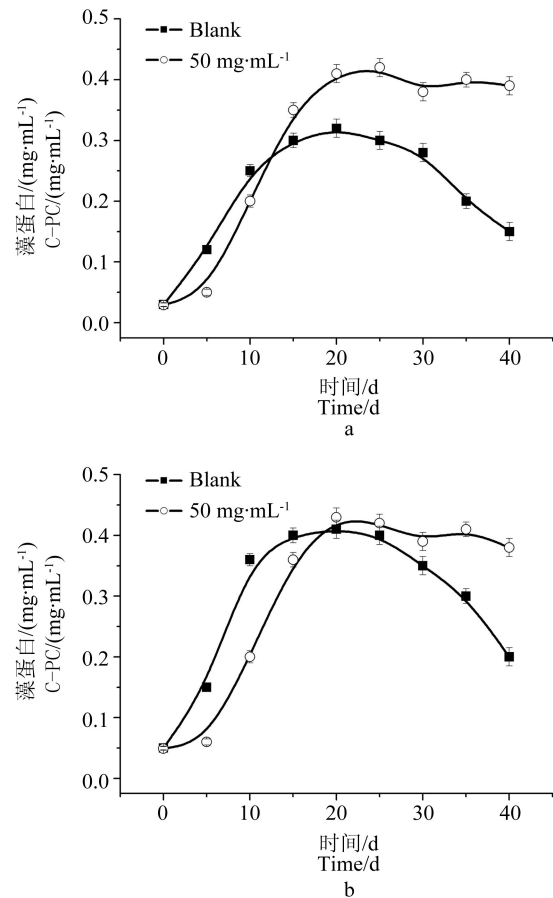


图 3 敌百虫对藻蓝蛋白 (C-PC) 含量的影响

注: a-铜绿微囊藻; b-小球藻。

Fig. 3 Effect of trichlorfon on the phycocyanin (C-PC)

Note: a-*Microcystis aeruginosa*; b-*Chlorella* sp. CHX-1.

## 2.4 ATP 含量的影响

微生物体内 ATP 可以指示其生物活性<sup>[28]</sup>。线粒体产生 ATP 为细胞内进行的大多数生命过程提供了能量, ATP 合成复杂, 主要是由包埋在线粒体内膜中的一系列的分子复合物, 借助  $\text{O}_2$  从营养物获取能量制造 ATP, 不幸的是线粒体从营养物中获得能量的同时作为副产物产生了自由基 (如  $\text{O}_2 \cdot^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\cdot\text{OH}$ )。为了清除这些游离的自由基, 以防止细胞发

生脂质过氧化反应,由 SOD 作出的抗氧化动态平衡使细胞得到了保护,但周期末期正常藻细胞发生衰亡,导致上述的动态平衡失衡,膜脂质过氧化,从而破坏叶绿体结构,致使叶绿素含量下降,细胞生长受阻<sup>[29]</sup>。图 4 所示,铜绿微囊藻在进入生长稳定期后,敌百虫 50 mg·L<sup>-1</sup>浓度组生长活性一直高于对照组,且下降趋势较对照组缓慢。小球藻在对数生长期 ATP 含量,敌百虫 50 mg·L<sup>-1</sup>浓度组低于对照组,但是对数期延续时间长,且峰值含量高于对照组,说明小球藻在初期可能受到敌百虫的致害影响,而后期敌百虫含量降低后,出现了超补偿生长。

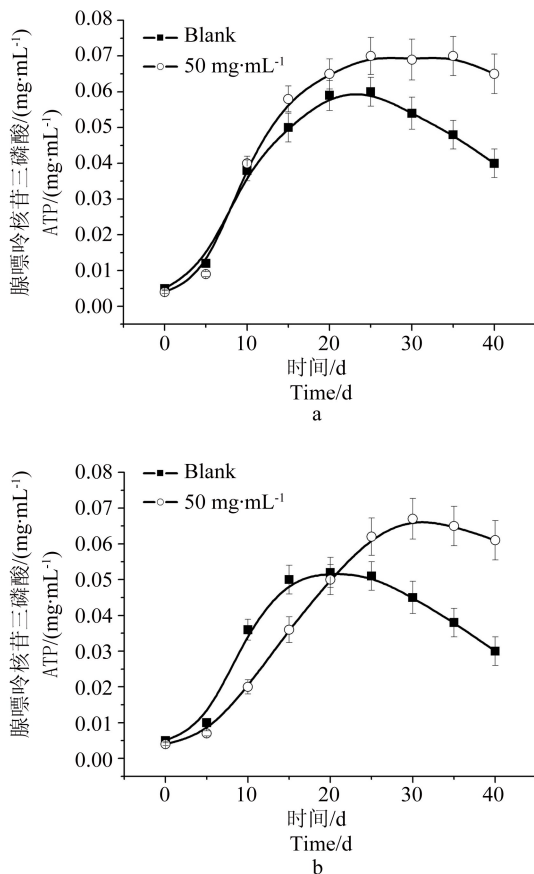


图 4 敌百虫对藻 ATP 含量的影响  
注:a-铜绿微囊藻;b-小球藻。

Fig. 4 Effect of trichlorfon on the algal ATP  
Note: a-*Microcystis aeruginosa*; b- *Chlorella sp. CHX-1*.

### 2.5 SOD 含量的影响

在叶绿体中, O<sub>2</sub>· 活性氧的清除是通过 SOD 酶来催化完成的,当这种清除体系遭到破坏时,导致 O<sub>2</sub>· 积累,进而引起 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 积累,就会导致膜脂质过氧化,从而破坏叶绿体结构,致使叶绿素含量下降,

细胞生长受阻<sup>[30]</sup>,因此 SOD 含量的高低代表了藻细胞抗氧化功能的强弱,也反应了藻细胞的抵抗能力,图 5 可见,铜绿位囊藻与小球藻在生长末期细胞体内的 SOD 含量,敌百虫 50 mg·L<sup>-1</sup>浓度组均高于对照组,同比其生长对数期分别降低了 14% 和 10%,对照组 SOD 含量正常下降约 60%,说明藻细胞内抗氧化系统不能保持平衡,藻细胞的抵抗力较差,死亡率大于生长率。Wu 等<sup>[31]</sup>研究表明,蓝藻在铜的作用下,SOD 和过氧化氢酶活性均比空白显著增加,其增加的 SOD 活力用于对抗增加的氧化压力。与本实验结果有很大的相似性,说明敌百虫浓度组细胞体内基本能够维持抗氧化功能,抗氧化压力明显高于对照组,在生长末期的抗逆能力显著增加。

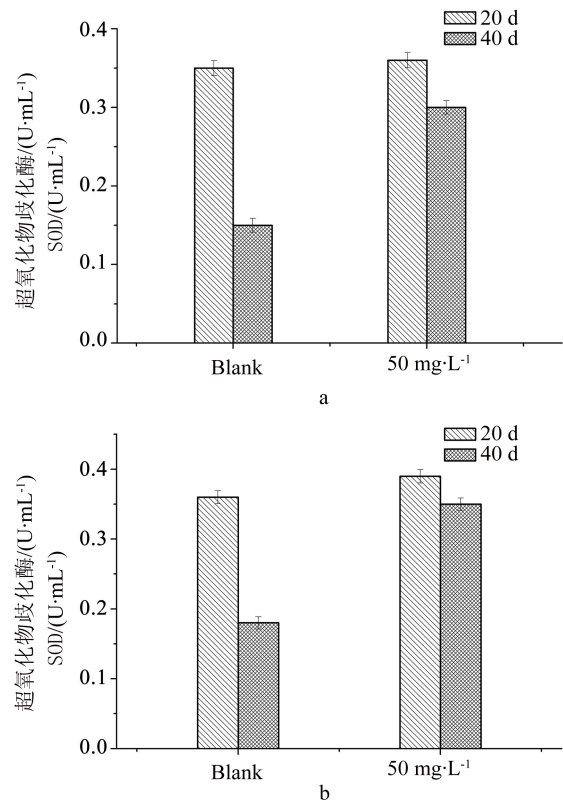


图 5 敌百虫对藻 SOD 含量的影响  
注:a-铜绿微囊藻;b-小球藻。

Fig. 5 Effect of trichlorfon on the algal SOD activity  
Note: a-*Microcystis aeruginosa*; b- *Chlorella sp. CHX-1*.

### 参考文献 (References):

[1] 朱丽霞, 陈素香, 陈清森, 等. 敌百虫对南方农田土壤动物多样性的影响[J]. 土壤, 2011, 43(2): 264-269  
 Zhu L X, Chen S X, Chen Q S, et al. Effects of dipterex insecticide on soil animal diversity in South China [J]. Soils, 2011, 43(2): 264-269 (in Chinese)

- [2] 王丽红, 张林, 陈欢林. 有机磷农药酶生物传感器研究进展[J]. 化学进展, 2006, 18(4): 440-442  
Wang L H, Zhang L, Chen H L. Enzymatic biosensors for detection of organophosphorus pesticides [J]. Progress in Chemistry, 2006, 18(4): 440-442 (in Chinese)
- [3] 杨先乐, 陆承平, 战文斌, 等. 新编鱼药手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 242-244
- [4] 马瑜, 李勃, 张育辉, 等. 敌百虫对中国林蛙蝌蚪生长发育的毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(3): 531-537  
Ma Y, Li B, Zhang Y H, et al. Toxicity effect of trichlorfon on the growth and development of tadpoles *Rana chensinensis* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(3): 531-537 (in Chinese)
- [5] 吴妹英. 鳗鱼养殖常用药物对铜绿微囊藻繁殖的影响[J]. 福建水产, 2009, 12(4): 15-21  
Wu M Y. The effects of common pesticide in eel culture on the growth of *Microcystis aeruginosa* [J]. Journal of Fujian Fisheries, 2009, 12(4): 15-21 (in Chinese)
- [6] Chen H, Jiang J G. Toxic effects of chemical pesticides (trichlorfon and dimehypo) on *Dunaliella salina* [J]. Chemosphere, 2011, 84: 664-670
- [7] 王朝晖, 尹伊伟. 常见拟除虫菊酯(原药、商品)及助溶剂对水生生物毒性的比较[J]. 暨南大学学报, 1997, 18(1): 99-103  
Wang Z H, Yin Y W. Studies of the toxicity of pyrethroid insecticides (crude product and commodity grades) and solvents to aquatic organisms [J]. Journal of Jinan University, 1997, 18(1): 99-103 (in Chinese)
- [8] Tian S Z, Liu Z, Weng J H, et al. Growth of *Chlorella vulgaris* in cultures with low concentration dimethoate as source of phosphorus [J]. Chemosphere, 1997, 35(11): 2713-2718
- [9] 盛建武, 何苗, 施汉昌, 等. 水环境中微囊藻毒素检测技术研究进展[J]. 环境污染与防治, 2006, 28(2): 132-137  
Sheng J W, He M, Shi H C, et al. Review on detection technologies of microcystins in aquatic environment [J]. Environmental Pollution & Control, 2006, 28(2): 132-137 (in Chinese)
- [10] 郑宾国, 罗兴章, 张继彪, 等. 湖泊底泥中蓝藻越冬和复苏行为研究进展[J]. 环境污染与防治, 2011, 33(2): 85-89  
Zheng B G, Luo X Z, Zhang J B, et al. Advances on the research of overwintering and recruitment of cyanobacteria [J]. Environmental Pollution & Control, 2011, 33(2): 85-89 (in Chinese)
- [11] 王菁, 裘丽萍, 孟顺龙, 等. 温度对普通小球藻和鱼腥藻生长竞争的影响[J]. 水生生物学报, 2014, 38(6): 1128-1132  
Wang J, Qiu L P, Meng S L, et al. Effect of temperature on growth and competition of *Chlorella vulgaris* and *Anabaena* sp. strain PCC [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(6): 1128-1132 (in Chinese)
- [12] 薛凌展, 陈小晨, 黄种持, 等. 温度和磷交互作用对铜绿微囊藻和小球藻生长的影响[J]. 安徽农学通报, 2011, 17(13): 23-25  
Xue L Z, Chen X C, Huang Z C, et al. Interactive effects of temperature and phosphorus on the growth of *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella vulgaris* [J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2011, 17(13): 23-25 (in Chinese)
- [13] 周庆, 韩士群, 严少华, 等. 凤眼莲对铜绿微囊藻生长及藻毒素与营养盐释放的影响[J]. 环境科学, 2014, 35(2): 597-604  
Zhou Q, Han S Q, Yan S H, et al. Impacts of *Eichhornia crassipes* (Mart) Solms stress on the growth characteristics, microcystins and nutrients release of *Microcystis aeruginosa* [J]. Environmental Science, 2014, 35(2): 597-604 (in Chinese)
- [14] 谢晓玲, 周蓉, 邓自发. 光、温限制后铜绿微囊藻和斜生栅藻的超补偿生长与竞争效应[J]. 生态学报, 2014, 34(5): 1224-1234  
Xie X L, Zhou R, Deng Z F. Overcompensation and competitive effect of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus* after low temperature and light stresses [J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(5): 1224-1234 (in Chinese)
- [15] 骆科枢, 王志红, 刘立凡, 等. 水华鱼腥藻型富藻水源藻增殖过程中的磷铁协同作用[J]. 给水排水, 2016, 42(5): 57-61
- [16] 陈家长, 王菁, 裘丽萍, 等. pH对鱼腥藻和普通小球藻生长竞争的影响[J]. 生态环境学报, 2014, 23(2): 289-294  
Chen J Z, Wang J, Qiu L P, et al. Effect of pH on growth and competition of *Chlorella vulga* and *Anabaena* sp. strain PCC [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2014, 23(2): 289-294 (in Chinese)
- [17] 齐飞, 刘晓媛, 徐冰冰, 等. 营养盐水平对念珠藻胞外有机物产生的影响[J]. 环境科学, 2012, 33(5): 1556-1563  
Qi F, Liu X Y, Xu B B, et al. Effect of nutrition level of phosphorus and nitrogen on the metabolism of the extracellular organic matter of *Nostoc flagelliforme* [J]. Environmental Science, 2012, 33(5): 1556-1563 (in Chinese)
- [18] 国家海洋局. 海洋调查规范第4部分: 海水化学要素调查 GB/T 12763.4-2007[M]. 北京: 中国标准出版社, 2007: 1-65
- [19] 刘加慧, 杨洪帅, 王辉, 等. 温度、盐度和 pH 对小球藻

- 生长率的联合效应[J]. 水生生物学报, 2014, 38(3): 446-451
- Liu J H, Yang H S, Wang H. Combined effects of temperature salinity and pH on the specific growth rate of *Chlorella* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(3): 446-451 (in Chinese)
- [20] 郝聚敏, 郑江, 黎中宝, 等. 3种微藻在特定波长下的光密度与其单位干重细胞浓度间的关系研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(28): 17399-17401
- Hao J M, Zheng J, Li Z B, et al. Study on the relationships between optical density at certain wavelength and cell dry weight and cell concentration of three microalgae [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(28): 17399-17401 (in Chinese)
- [21] Hall D O, Rao K K. Photosynthesis [M]. Cambridge: Press Syndicate of Cambridge, 1994: 43
- [22] Padgett M P, Krogmann D W. Large scale preparation of pure phycobiliproteins [J]. Photosynthesis Research, 1987, 11: 225-235
- [23] Stewert R C, Bewley J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes [J]. Plant Physiology, 1980, 65(3): 245-248
- [24] 俞毓馨, 吴国庆, 孟宪庭. 环境工程微生物检验手册[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990: 179-180
- [25] 王秀红, 沈健英, 陆贻通. 稻田除草剂对固氮蓝藻的毒性研究[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2004, 22(4): 400-405
- Wang X H, Shen J Y, Lu Y T. Study on herbicides in rice fields to toxicity of fixing blue green algae [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University, 2004, 22(4): 400-405 (in Chinese)
- [26] 向丽, 邹华, 黄亚元, 等. 稻秆对铜绿微囊藻抑制作用的研究[J]. 环境工程学报, 2011, 5(2): 279-283
- Xiang L, Zou H, Huang Y Y, et al. Study on inhibitory effects of rice straw on *Microcystis aeruginosa* growth [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2011, 5(2): 279-283 (in Chinese)
- [27] 景江, 周明, 汪星, 等. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>与UV-C灭藻的协同效果研究及工程实验[J]. 环境科学研究, 2006, 6(19): 59-63
- Jing J, Zhou M, Wang X, et al. Engineering experiment and investigation of effect on degradation of cyanobacteria by the combined of UV-C and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [J]. Research of Environmental Sciences, 2006, 6(19): 59-63 (in Chinese)
- [28] 汪星, 周明, 廖兴盛, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对蓝藻生长的影响[J]. 武汉理工大学学报, 2006, 28(12): 48-51
- Wang X, Zhou M, Liao X S, et al. The effects of dibutyl phthalate (DBP) on the growth of blue green algae [J]. Journal of Wuhan University of Technology, 2006, 28(12): 48-51 (in Chinese)
- [29] 刘凌云, 薛绍白, 柳惠图. 细胞生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 342
- [30] 靳翠丽, 周晓见, 李楠, 等. 广玉兰提取物对铜绿微囊藻抑制作用的机制研究[J]. 环境污染与防治, 2011, 33(5): 50-53
- Jin C L, Zhou X J, Li N, et al. The inhibitory mechanism of *Magnolia grandiflora linn* extracts on *Microcystis aeruginosa* [J]. Environmental Pollution & Control, 2011, 33(5): 50-53 (in Chinese)
- [31] Wu Z X, Gan N Q, Huang Q, et al. Response of microcystis to copper stress—Do phenotypes of *Microcystis* make a difference in stress tolerance [J]. Environmental Pollution, 2007, 147(2): 324-330