

斜生栅藻对乙酰甲胺磷的急慢性毒性响应

陈敏东^{1,2} 葛顺^{1,2} 宋玉芝^{1,2} 邱伟健^{1,2} 周军英³

摘要

为了解有机磷农药乙酰甲胺磷污染对本土水生敏感性物种斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 的毒性效应,在实验室条件下采用静态毒性试验,研究了乙酰甲胺磷对斜生栅藻 96 h 急性毒性效应,并在急性试验基础上进行慢性试验,分析了斜生栅藻连续染毒 14 d 的叶绿素质量浓度、可溶性蛋白质质量分数以及丙二醛 (MDA) 质量摩尔浓度的变化。结果表明:乙酰甲胺磷的 96 h EC_{50} 为 482.9 mg/L,属低毒农药,但在 1 mg/L 低质量浓度下可促进藻细胞生长;乙酰甲胺磷对栅藻光合作用无明显影响,但可通过干扰藻细胞代谢活动和引起膜脂过氧化反应,对斜生栅藻产生毒性作用;可溶蛋白和 MDA 可作为有效的生物标志物对农药引起的毒性做出评价。研究结果可为本土水生敏感性物种的保护和农药安全使用标准的制定提供理论依据。

关键词

乙酰甲胺磷;斜生栅藻; EC_{50} ;叶绿素 a;可溶蛋白;丙二醛

中图分类号 X173

文献标志码 A

收稿日期 2012-03-28

资助项目 公益性行业(环保)科研专项(2010-09033)

作者简介

陈敏东,男,教授,主要研究方向为大气化学及生态毒理。chenmd@nuist.edu.cn

1 南京信息工程大学 环境科学与工程学院,南京,210044

2 南京信息工程大学 江苏省大气环境监测与污染控制高技术重点实验室,南京,210044

3 环保部南京环境科学研究所,南京,210042

0 引言

我国水生态基准的制定研究零星、分散,《地表水环境质量标准》的标准值主要是参考美国各州、日本、前苏联、欧洲等国家及地区的水质基准值和标准值来确定,没有考虑我国水生态系统的区域性特征^[1-2]。因此从维护我国水生态系统的长远利益来看,根据区域水体的实际水质特性与水生态系统的结构特征制定相应的区域性水生态基准或标准^[3],开展我国水质基准的研究意义重大^[4-5]。

目前,越来越多的农药污染的报道已引起人们对水环境的关注,特别是近几年来发生比较多的有机磷农药污染^[6],使得针对农药的水环境基准研究已迫在眉睫。

藻类是水生生态系统的初级生产者,是评价水环境质量的重要指标。斜生栅藻是一种广泛分布于温暖地区池塘、沟渠及河流中的淡水单细胞绿藻,其生命力强、繁殖快,对环境条件变化反应敏感,在检测污染物对水环境的影响时,通常把污染物对斜生栅藻的影响作为测试的一项重要指标^[7]。本文通过对重点流域(长江三角洲流域)农药生产及使用状况调查、农药暴露水平的模型预测和实际监测,选择一种高效低毒有机磷农药——乙酰甲胺磷(acephate),在对斜生栅藻急性毒性基础上,进一步对斜生栅藻进行系统完整的慢性毒性效应试验,旨在为开展本土水生生物和有机磷农药品种筛选研究提供理论和科学数据支持,为下一步开展毒性评价终点的深入研究和完成重点有机磷农药品种水生态基准的制定工作提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

斜生栅藻购自中国科学院水生生物研究所,编号为 FACHB416,经实验室驯化培养后,选取对数生长期的藻种进行试验。

乙酰甲胺磷(体积分数 41%),由环保部南京环境科学研究所提供。

1.2 试验方法

1.2.1 急性毒性试验

试验参照 OECD^[8] 标准方法,以 BG11 为培养基,置于恒温光照培养箱培养(光照强度 3 000 lx 左右,光暗时间比 12 h:12 h,温

度 25 ℃)^[9-10],每天定时摇动 4 次.正式试验采用国际通用“瓶法”,500 mL 锥形瓶中接 200 mL 处于对数生长期的藻液.根据预试验的结果,确定试验的质量浓度范围,设置 5 个等差质量浓度梯度和一个空白对照,每个处理设 3 个平行,然后向锥形瓶中添加农药至相应质量浓度,空白 A 的质量浓度为 0,处理 B、C、D、E、F 的质量浓度分别为 1、200、400、600 和 800 mg/L.

每天早上 9 点定时取样,一次取样 2 份,每隔 24 h 取样 1 次,连续取样 5 d,分别记为 0、24、48、72 和 96 h.每份 1 mL,加水稀释定容至 10 mL,采用浮游计数框^[11-12]测定藻细胞密度,做藻细胞个数测定,以 Trimmed Spearman-Kärber 软件计算 24、48、72 和 96 h 的 EC₅₀.

1.2.2 慢性毒性试验

根据急性毒性试验结果,以 $\frac{1}{2}Q(96 \text{ h EC}_{50})$ ^[13] 为试验最高质量浓度,设置 5 个农药质量浓度等差梯度组和 1 个空白对照组,并做空白试验,共设 3 个平行组.然后向锥形瓶中添加农药至相应质量浓度,空白 G 的质量浓度为 0,处理 H、I、J、K 的质量浓度分别为 48.3、96.6、144.9、193.1,处理 L 为 $\frac{1}{2}Q$,单位 mg/L.每天早上 9 点定时取样,一次取样 4 份,每份 5 mL,每隔 48 h 取样 1 次,连续取样 14 d,分别记为 0、2、4、6、8、10、12 和 14 d.其中第 1 份采用滤膜差重法精确称量藻液的干质量,再按鲜藻含水量质量分数 90% 换算藻的鲜质量^[14].

1.2.2.1 叶绿素 a 测定

第 2 份,用 47 mm 玻璃纤维滤膜过滤后对折放入 10 mL 离心管,保存在 -20 ℃ 的冰柜中(此样品最长冷冻 3 个月),叶绿素 a 质量浓度测定采用热乙醇萃取法^[15].

1.2.2.2 可溶蛋白测定

第 3 份,冷冻离心(12 000 r/min) 20 min,弃上清液加 5 mL pH = 7.8 磷酸缓冲液,采用冰浴下超声破碎^[16-17](超声 3 s 停止 3 s,每 99 次换 1 次自制带有离心管槽的冰杯,每次破碎 2 个),破碎完再次冷冻离心(12 000 r/min) 20 min 取上清液即为粗酶液,粗酶液用于可溶蛋白质量分数的测定,其可溶蛋白测定采用 G-250 染色法^[18].

1.2.2.3 MDA 测定

第 4 份,用 10% (质量分数) 的三氯乙酸代替 pH = 7.8 磷酸缓冲液作为酶液提取液,其余步骤同

1.2.2.2,粗酶液用于丙二醛(MDA)的测定,其丙二醛测定采用硫代巴比妥酸法^[18].

2 结果与分析

2.1 乙酰甲胺磷对斜生栅藻的急性毒性效应

用不同质量浓度乙酰甲胺磷分别处理藻类培养液,以藻细胞密度为指标做生长曲线(图 1).由图 1 可见:对于农药乙酰甲胺磷,在低质量浓度 1 mg/L 条件下,藻细胞数目呈增长趋势,且高于空白样,这种现象与 Wong 等^[19]发现澳谷隆在低于 1 mg/L 时能刺激栅藻的生长,2,4-D 和杀螟松在低浓度(1 mg/L)时能促进莱哈衣藻生长,Doggett 等^[20]发现二嗪磷在 1 mg/L 时促进蛋白核小球藻和羊角月芽藻的生长是一致的,可能原因是毒物在低质量浓度下对微藻有“毒物兴奋效应”^[21],同时也可能是因为本文选取的培养液 BG11 pH 值在 7.5 ~ 8.5 之间,呈弱碱性,对乙酰甲胺磷有一定的分解作用;可提供藻细胞生长需要的营养元素 P,从而起一定的促进作用;当农药质量浓度达到 600、800 mg/L 时,发现在 24 h 出现一低点,然后随处理时间延长藻细胞密度上升,可以看出斜生栅藻仍能得到较好的恢复.但可以发现:随着农药质量浓度的增大,藻细胞受到一定的抑制作用,且随着农药质量浓度的升高,抑制现象越来越明显,呈良好的浓度-剂量效应.此外在显微镜观察藻细胞形态结构过程中,发现当农药质量浓度高时,可以观察到部分藻细胞体积增大,子细胞发生畸形分裂,出现人字形和裤型,这种现象与其他研究者发现 DBP 对栅藻细胞形态所产生的影响有相似之处,说明它们均使斜生栅藻的生长与分裂产生一定的解偶联作用^[22].

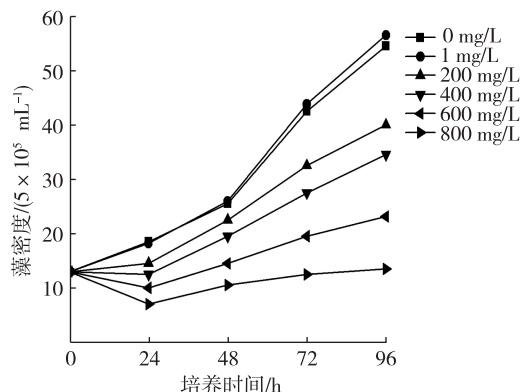


图 1 乙酰甲胺磷对斜生栅藻生长的影响

Fig. 1 Influence of acephate on growth of *Scenedesmus obliquus*

以 Trimmed Spearman-Kärber 分析计算,确定各时间(24、48、72 和 96 h)的 EC_{50} 值及其 95% 置信区间,如表 1 所示。

表 1 乙酰甲胺磷对斜生栅藻的 EC_{50}

Table 1 EC_{50} of acephate to *Scenedesmus obliquus*

时间/h	$EC_{50}/(mg/L)$	95% 置信区间/ (mg/L)
24	613.0	550.7 ~ 682.3
48	667.7	571.3 ~ 780.5
72	523.0	488.4 ~ 561.1
96	482.9	452.2 ~ 515.6

由表 1 可知:乙酰甲胺磷对斜生栅藻 24、48、72 和 96 h EC_{50} 分别为 613.0、667.7、523.0 和 482.9 mg/L,其 EC_{50} 值随处理时间先升后降,说明斜生栅藻在染毒作用下短时间内有少许恢复,但最终仍体现出受农药的胁迫作用。

2.2 乙酰甲胺磷对斜生栅藻的慢性毒性效应

2.2.1 乙酰甲胺磷对斜生栅藻叶绿素 a 的影响

用不同质量浓度乙酰甲胺磷分别处理藻类培养液,经暴露 14 d,以叶绿素 a 质量浓度为指标做生长曲线(图 2)。由图 2 可见:乙酰甲胺磷对叶绿素 a 的影响在同一质量浓度上,其叶绿素 a 质量浓度随着染毒时间的增加呈递增趋势,但在同一时间段上,随着农药质量浓度的增大,即增大到 1/2 急性 EC_{50} 时,也无明显的变化趋势,且实验值均与对照样接近,整体表现出无明显的毒物效应,但是在质量浓度 1 mg/L

处理条件下,叶绿素 a 有微弱上升的趋势,表现出轻微的诱导效应,这一现象与前面的低浓度下促进藻细胞生长是一致的。

2.2.2 乙酰甲胺磷对斜生栅藻可溶蛋白的影响

经暴露 14 d,以可溶蛋白质质量分数为指标做生长曲线(图 3)。由图 3 可知:在处理 2 d 后,斜生栅藻的可溶蛋白质质量分数与对照组相比,均有显著增高,呈先上升的趋势,当乙酰甲胺磷质量浓度为 241.4 mg/L 时,可溶蛋白质质量分数为 10.6 mg/g 达到最高点;处理 4 d 变化趋势与 2 d 相似,亦呈上升趋势,且也在 241.4 mg/L 质量浓度时,可溶蛋白质质量分数达到最高点为 16.3 mg/g,表现出很好的浓度诱导效应,这与卢晶等^[23]发现四羟甲基硫酸磷促进铜绿微囊藻可溶性蛋白质质量分数升高一致;随着处理时间的延长,当处理质量浓度为中等水平时,可溶蛋白质质量分数已达到最高点,其后有下降趋势;当处理时间为 14 d 时,发现可溶蛋白质质量分数曲线较 12 d 升高,本文认为可能是因为农药降解,毒性降低所引起的促进作用。

2.2.3 乙酰甲胺磷对斜生栅藻 MDA 的影响

图 4 研究发现,在乙酰甲胺磷农药处理条件下,每个时间段内栅藻 MDA 质量摩尔浓度呈上升的趋势,与对照组相比,均有显著提高,表现出很好的浓度诱导效应。在处理时间 6 d 时,不同质量浓度处理后 MDA 质量摩尔浓度均达到该浓度点的最高值,且在 6 d,处理 J 时,达到整个实验中最大值

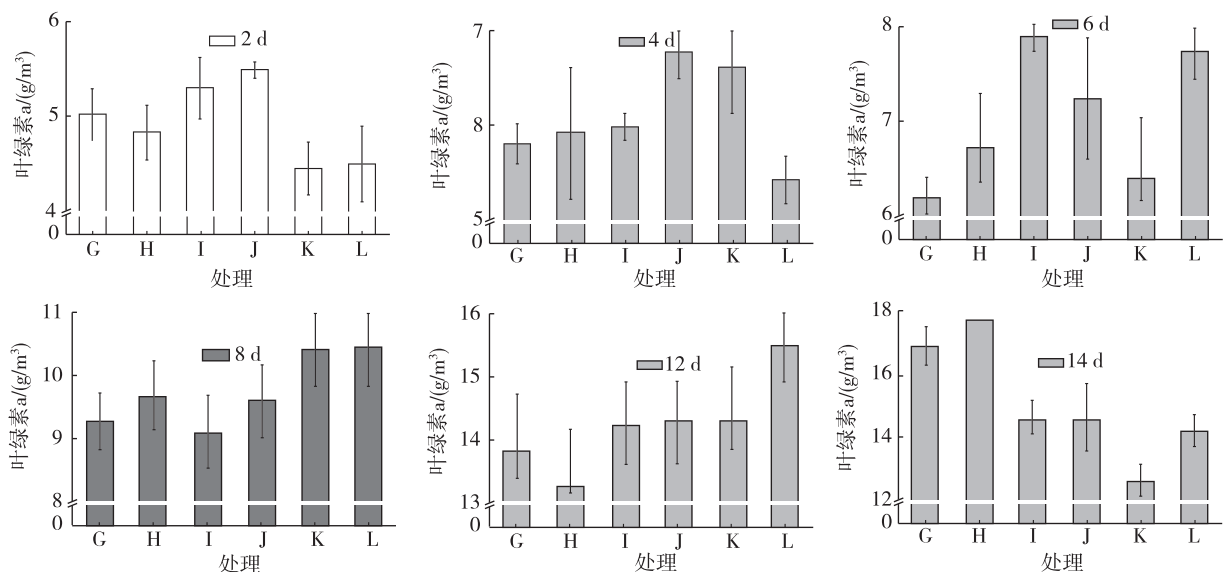


图 2 乙酰甲胺磷对斜生栅藻叶绿素 a 的影响(2~14 d)

Fig. 2 Influence of acephate on content of chlorophyll a (2-14 d)

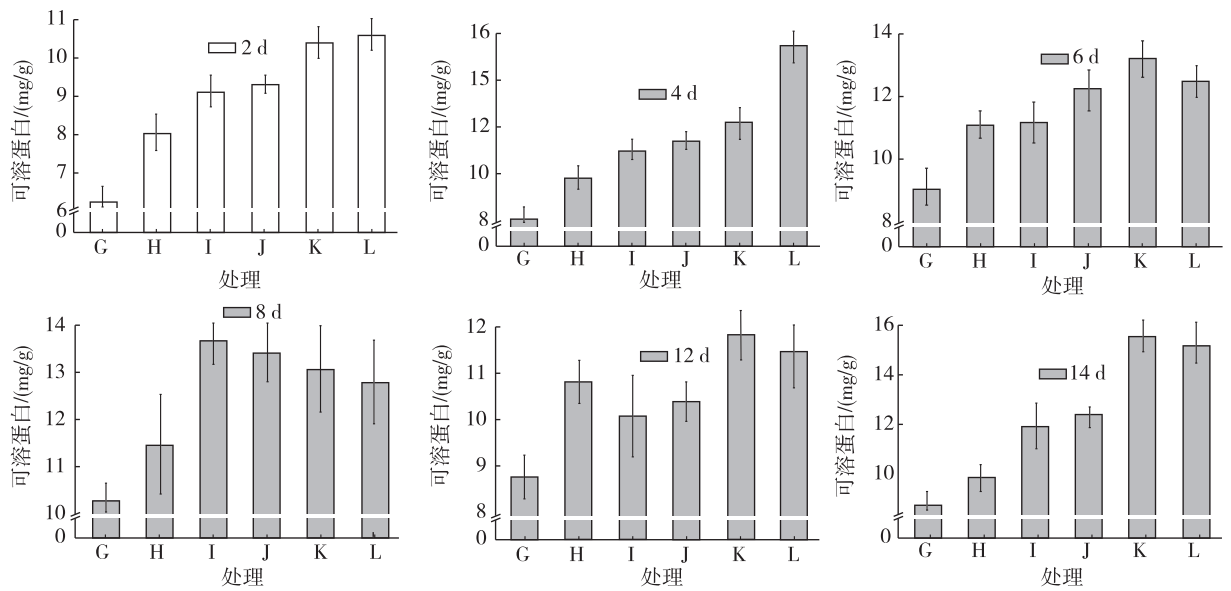


图3 乙酰甲胺磷对斜生栅藻可溶蛋白的影响(2~14 d)

Fig. 3 Influence of acephate on content of soluble protein(2-14 d)

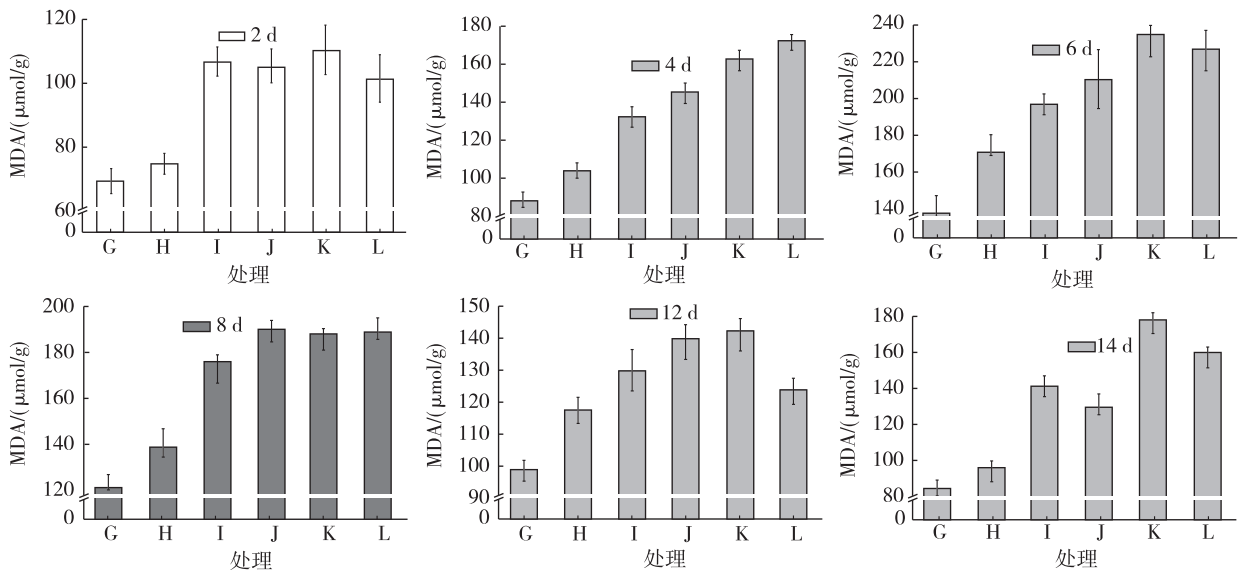


图4 乙酰甲胺磷对斜生栅藻 MDA 的影响(2~14 d)

Fig. 4 Influence of acephate on content of MDA(2-14 d)

为 235.5 $\mu\text{mol/g}$. 从前后时间上纵向分析 MDA 质量摩尔浓度曲线, 表现出其随时间的延长呈先上升后下降的趋势. 前期上升的原因可能是脂质过氧化反应造成其产物 MDA 的大量积累引起的, 而后期下降可能是因为长时间的胁迫作用造成生物膜的损伤, 乃至引起藻细胞的大量死亡引起的, 这与马剑敏等^[24] 溴化 1-己基-3-甲基咪唑对斜生栅藻 MDA 质量摩尔浓度影响是一致的.

3 讨论

本文选择栅藻起始密度约为 $4 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$, 培养 96 h 后藻细胞密度与初始密度相比增值比例约为 4 倍, 其栅藻细胞密度能达到 $1.5 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$, 说明栅藻在该初始密度较高的条件下仍能很好地繁殖生长. 牟文等^[25] 也以藻细胞约为 $3.9 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 的初始密度进行重金属对斜生栅藻的毒性研究. 藻细胞初始密度较低会导致后期试验中其他生化指标测定不明显.

国内外藻类毒性试验中需要提交杀虫剂对绿藻的实验材料,故本文选择长江三角洲地区使用残留较多、污染较重的杀虫剂乙酰甲胺磷为目标农药。目前,已有大量关于农药对斜生栅藻毒性研究的报道,农药对藻类细胞造成的损害,主要表现为对藻类的杀灭性和对生长的抑制作用,以 EC_{50} 值表示。根据《水和废水检测分析方法》^[26] 中规定,乙酰甲胺磷对斜生栅藻的 96 h $EC_{50} = 482.9 \text{ mg/L} > 100 \text{ mg/L}$,属于低毒农药。

叶绿素是各种浮游藻类中广泛存在的天然色素,其中叶绿素 a 存在于所有的浮游藻类中,大约占有机物干质量的 1% ~ 2%,是估算浮游植物生物量的重要指标^[27]。本文选择误差较小的热乙醇法萃取法测定叶绿素 a 质量浓度,保证了实验数据的可靠性。同时叶绿素质量浓度也是客观反映植物利用光照能力的一种重要指标,往往作为判断植物光合能力强弱,反映环境胁迫状况的依据^[28],但从实验中发现杀虫剂乙酰甲胺磷对斜生栅藻叶绿素 a 的抑制并不明显,可以说明该农药对栅藻的光合作用无明显影响,叶绿素 a 在该毒性试验中不能作为一个有效的毒性效应敏感指标。

蛋白质是细胞中重要的结构物质,其功能是细胞代谢过程中的催化剂。蛋白质质量分数变化可以反映细胞内代谢活动是否正常^[29],经不同质量浓度的乙酰甲胺磷处理后,各组斜生栅藻细胞可溶性蛋白质质量分数较对照组均有提高,说明乙酰甲胺磷能够刺激藻细胞蛋白合成,干扰藻细胞蛋白代谢平衡。

MDA 作为脂质过氧化反应的产物之一,可以用来度量过氧化反应的程度^[30]。因此可以认为,农药的胁迫造成了自由基的大量产生,从而在分子水平上快速而高效地动员了藻细胞的防御反应。本文的试验结果表明:MDA 质量摩尔浓度在短时间的农药处理下均有极显著增高,说明农药胁迫已经引起了自由基的大量产生,对细胞的膜系统造成了广泛的损伤,引起膜脂的过氧化反应,从而造成了 MDA 质量摩尔浓度的显著增高;同时,长时间处理下,藻 MDA 质量摩尔浓度的普遍降低很可能暗示长时间的胁迫已经对斜生栅藻的细胞造成了实质性的损伤,已接近藻细胞负荷的极限,以至藻细胞功能无法完全恢复,这与前面发现乙酰甲胺磷干扰藻细胞代谢活动,从而对藻细胞产生毒性作用是相一致的。

本实验是在室内模拟条件下进行的,没有考虑生物体组织、细胞或基因水平的改变,拟继续开展农药对斜生栅藻组织水平和分子水平的评价终点研究。另

外,关于农药品种的性质及对水生藻类作用机理还有待进一步研究和探讨。

4 结论

1) 乙酰甲胺磷的 96 h EC_{50} 为 482.9 mg/L,为低毒农药,在 1 mg/L 质量浓度下可促进藻细胞生长。

2) 慢性毒性试验中,乙酰甲胺磷对栅藻光合作用无明显影响,但通过干扰藻细胞代谢活动和引起膜脂过氧化反应,对斜生栅藻产生毒性作用。

3) 可溶蛋白和 MDA 可作为有效的生物标志物对农药引起的毒性做出评价。

参考文献

References

- [1] 赵娜,朱琳,冯鸣凤. 不同 pH 条件下 Cr^{6+} 对 3 种藻的毒性效应[J]. 生态毒理学报,2010,5(5):657-665
ZHAO Na, ZHU Lin, FENG Mingfeng. The toxicological effects of Cr^{6+} on *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Microcystis aeruginosa* at different pH values[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, 5(5): 657-665
- [2] 赵娜,冯鸣凤,朱琳. 不同 pH 值条件下 Cr^{6+} 对小球藻和斜生栅藻的毒性效应[J]. 东南大学学报:医学版,2010,29(4):382-386
ZHAO Na, FENG Mingfeng, ZHU Lin. Toxic effects of chromium(Cr^{6+}) on *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* at different pH[J]. Journal of Southeast University: Medical Science Edition, 2010, 29(4): 382-386
- [3] 周启星,罗义,祝凌燕. 环境基准值的科学研究与我国环境标准的修订[J]. 农业环境科学学报,2007,26(1):1-5
ZHOU Qixing, LUO Yi, ZHU Lingyan. Scientific research on environmental benchmark values and revision of national environmental standards in China [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2007, 26(1): 1-5
- [4] 孟伟,张远,郑丙辉. 水环境质量基准、标准与流域水污染物总量控制策略[J]. 环境科学研究,2006,19(3):1-6
MENG Wei, ZHANG Yuan, ZHENG Binghui. The quality criteria, standards of water environment and the water pollutant control strategy on watershed [J]. Research of Environmental Sciences, 2006, 19(3): 1-6
- [5] 吴丰昌,孟伟,宋永会,等. 中国湖泊水环境基准的研究进展[J]. 环境科学学报,2008,28(12):2385-2393
WU Fengchang, MENG Wei, SONG Yonghui, et al. Research progress in lake water quality criteria in China [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2008, 28(12): 2385-2393
- [6] 李永玉,洪华生,王新红,等. 厦门海域有机磷农药污染现状与来源分析[J]. 环境科学学报,2005,25(8):1071-1077
LI Yongyu, HONG Huasheng, WANG Xinhong, et al. Estimation of the sources of organophosphorus pesticides in Xiamen sea area [J]. Acta Scientiae Circumstantiae,

- 2005, 25(8):1071-1077
- [7] Lewis M A. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: A review [J]. *Environmental Pollution*, 1995, 87(3): 319-336
- [8] OECD. OECD guidelines for testing of chemicals. Section 2: Effects on biotic systems. Test No 201: Freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test [S]. Paris: Organization for Economic Cooperation and Development Publishing, 2004
- [9] 许海, 杨林章, 刘兆普. 铜绿微囊藻和斜生栅藻生长的氮营养动力学特征 [J]. *环境科学研究*, 2008, 21(1): 69-73
XU Hai, YANG Linzhang, LIU Zhaopu. Dynamics study on the effect of nitrogen on the growth of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus* [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2008, 21(1): 69-73
- [10] 张莹, 李宝珍, 屈建航, 等. 斜生栅藻对低浓度无机磷去除和生长情况的研究 [J]. *环境科学*, 2010, 31(11): 2661-2665
ZHANG Ying, LI Baozhen, QU Jianhang, et al. Effect of low phosphorus concentration on the growth of *Scenedesmus obliquus* and phosphorus removal [J]. *Environmental Science*, 2010, 31(11): 2661-2665
- [11] 刘娅琴, 邹国燕, 宋祥甫, 等. 富营养水体浮游植物群落对新型生态浮床的响应 [J]. *环境科学研究*, 2011, 24(11): 1233-1241
LIU Yaqin, ZOU Gouyan, SONG Xiangfu, et al. Response of phytoplankton community to a new Ecological Floating Bed System (EFBS) in enclosures with eutrophicated water [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2011, 24(11): 1233-1241
- [12] 苏玉萍, 林慧, 钟厚璋, 等. 富营养化山仔水库沉积物微囊藻复苏的受控因子 [J]. *生态学报*, 2011, 31(20): 6167-6173
SU Yuping, LIN Hui, ZHONG Houzhang, et al. Factors regulating recruitment of *Microcystis* from the sediments of the eutrophic Shanzai Reservoir [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(20): 6167-6173
- [13] 周启星, 孔繁翔, 朱琳. 生态毒理学 [M]. 北京: 科学出版社, 2005
ZHOU Qixing, KONG Fangxiang, ZHU Lin. *Ecological toxicology* [M]. Beijing: Science Press, 2005
- [14] 张宝玉, 李夜光, 李中奎, 等. 温度、光照强度和 pH 对雨生红球藻光合作用和生长速率的影响 [J]. *海洋与湖沼*, 2003, 34(5): 558-565
ZHANG Baoyu, LI Yeguang, LI Zhongkui, et al. Effects of temperature, light intensity and pH on photosynthesis and growth rate of *Haematococcus pluvialis* [J]. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2003, 34(5): 558-565
- [15] 陈宇炜, 陈开宁, 胡耀辉. 浮游植物叶绿素 a 测定的“热乙醇法”及其测定误差的探讨 [J]. *湖泊科学*, 2006, 18(5): 550-552
CHEN Yuwei, CHEN Kaining, HU Yaohui. Discussion on possible error for phytoplankton chlorophyll-a concentration analysis using hot-ethanol extraction method [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2006, 18(5): 550-552
- [16] 陈伟平, 陈必链, 张艳燕. 三种微藻细胞破碎方法的比较 [J]. *生物技术*, 2008, 18(1): 55-58
CHEN Weiping, CHEN Bilian, ZHANG Yanyan. Evaluation of different cell disruption processes on microalgae [J]. *Biotechnology*, 2008, 18(1): 55-58
- [17] 孙利芹, 王长海, 江涛. 紫球藻细胞破碎方法研究 [J]. *海洋通报*, 2004, 23(4): 71-74
SUN Liqin, WANG Changhai, JIANG Tao. Research on the methods of *Porphyridium cruentum* cells fragmentation [J]. *Marine Science Bulletin*, 2004, 23(4): 71-74
- [18] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2001
LI Hesheng. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 2001
- [19] Wong P K, Chang L. The effect of 2, 4-D herbicide and organophosphorus insecticides on growth, photosynthesis and chlorophyll a synthesis of *Chlamydomonas reinhardtii* (m +) [J]. *Environmental Pollution*, 1988, 55(3): 179-189
- [20] Doggett S M, Rhodes R G. Effects of a diazinon formulation on unialgal growth rates and phytoplankton diversity [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1991, 47(1): 36-42
- [21] Stebbing A R. Hormesis-the stimulation of growth by low levels of inhibitors [J]. *Sci Tot Environ*, 1982, 22: 213-234
- [22] 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 Qinqin, XIONG Li, TIANPEI Xiuzi, et al. Toxic effects of Dibutyl Phthalate (DBP) on *Scenedesmus obliquus* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2008, 3(1): 87-92
- [23] 卢晶, 钟国华, 郝卫宁, 等. 四羟甲基硫酸磷去除铜绿微囊藻效果及其机制研究 [J]. *环境污染与防治*, 2010, 32(6): 60-64
LU Jing, ZHONG Guohua, HAO Weining, et al. Mechanism of *Microcystis aeruginosa* removal by THPS [J]. *Environmental Pollution & Control*, 2010, 32(6): 60-64
- [24] 马剑敏, 蔡林林, 靳同霞, 等. 溴化 1-己基-3-甲基咪唑对斜生栅藻抗氧化酶和膜脂过氧化的影响 [J]. *武汉植物学研究*, 2008, 26(5): 509-513
MA Jianmin, CAI Linlin, JIN Tongxia, et al. Effects of 1-hexyl-3-methylimidazolium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation of *Scenedesmus obliquus* [J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2008, 26(5): 509-513
- [25] 牟文, 熊丽, 胡芹芹, 等. HgCl₂ 对斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 生理生化特性的影响 [J]. *生态毒理学报*, 2009, 4(6): 854-859
MU Wen, XIONG Li, HU Qinqin, et al. Effect of HgCl₂ on physiological and biochemical characteristics of *Scenedesmus obliquus* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2009, 4(6): 854-859
- [26] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 715-721
State Environmental Protection Administration of China. *Monitoring and analytic methods of water and wastewater* [M]. 4th Ed. Beijing: China Environmental Science

- Press, 2002: 715-721
- [27] 戴荣继, 佟斌, 黄春, 等. HPLC 测定饮用水中藻类叶绿素含量[J]. 北京理工大学学报, 2006, 26(1): 87-89
DAI Rongji, TONG Bin, HUANG Chun, et al. Determination of chlorophylls in drinking water by HPLC [J]. Transactions of Beijing Institute of Technology, 2006, 26(1): 87-89
- [28] 刘碧云, 周培疆, 李佳洁, 等. 丙体六六六对斜生栅藻生长及光合色素和膜脂过氧化影响的研究[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(1): 204-207
LIU Biyun, ZHOU Peijiang, LI Jiajie, et al. Effects of γ -HCH on the growth and photosystem and lipid peroxidation of *Scenedesmus obliquus* Kütz [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2006, 25(1): 204-207
- [29] 秦洪伟, 陈柳芳, 鲁楠, 等. 氧氟沙星对斜生栅藻的毒性效应[J]. 环境化学, 2011, 30(4): 885-886
QIN Hongwei, CHEN Liufang, LU Nan, et al. The toxicity effect of ofloxacin on *Scenedesmus obliquus* [J]. Environmental Chemistry, 2011, 30(4): 885-886
- [30] 何桢, 胡晓静, 牟文, 等. 三聚氰胺对斜生栅藻的毒性研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(8): 1455-1459
HE Zhen, HU Xiaojing, MU Wen, et al. Melamine toxicity of *Scenedesmus obliquus* Kütz [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2010, 29(8): 1455-1459

Acute and chronic response of *Scenedesmus obliquus* to acephate

CHEN Mindong^{1,2} GE Shun^{1,2} SONG Yuzhi^{1,2} QIU Weijian^{1,2} ZHOU Junying³

1 School of Environmental Science and Engineering, Nanjing University of Information Science & Technology, Nanjing 210044

2 Jiangsu Key Laboratory of Atmospheric Environment Monitoring and Pollution Control, Nanjing University of Information Science & Technology, Nanjing 210044

3 Nanjing Institute of Environmental Sciences, SEPA, Nanjing 210042

Abstract In order to understand the toxic effects of the pollution by organophosphorus pesticide as acephate on the local aquatic sensitive species as *Scenedesmus obliquus*, under laboratory conditions, based on the static toxicity test, the acute toxic effects of acephate on *Scenedesmus obliquus* for 96 hours were investigated in this paper. And based on the acute test, the chronic experiments including the 14 days changes of chlorophyll a, soluble protein and MDA in *Scenedesmus obliquus* were analyzed. It shows that: the 96 h EC_{50} of acephate is 482.9 mg/L, which belongs to the low-toxic pesticide and the growth of *Scenedesmus obliquus* could be promoted with 1 mg/L of acephate; no significant effect is showed on the photosynthesis of *Scenedesmus obliquus*, but the toxic effects are exposed by acephate through interfering the algae's metabolic activities and causing membrane lipid peroxidation; the soluble protein and MDA could be used as valid biological markers for evaluating the toxicity of pesticide. The results in this paper could be considered as the theoretical basis for protecting local aquatic sensitive species and establishing the criterion on safe use of pesticide.

Key words acephate; *Scenedesmus obliquus*; EC_{50} ; chlorophyll a; soluble protein; MDA