DOI:10.15928/j.1674-3075.2019.02.005

两种微藻对分散橙S-4RL胁迫的光合活性响应

李雪妍,李 玲,王焕双

(华侨大学 化工学院,福建 厦门 361021)

摘要:探究环境中分散橙S-4RL对水生藻类的污染胁迫,为评估合成染料对水生生态环境的风险提供参考依据。分散橙S-4RL(C.I.分散橙30)纯度≥95%,水华微囊藻(*Microcystis flos-aquae*)、蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)按照OECD 201藻类生长试验规定培养。最终染毒浓度分别为0.625、1.25、2.5、5、10 mg/L,使用多脉冲调制叶绿素荧光仪每24 h测定叶绿素a含量1次,其他叶绿素荧光参数每隔48 h测定1次。结果表明:(1)在试验浓度范围内,分散橙S-4RL对蛋白核小球藻的叶绿素a含量具有促进作用,其中最低浓度(0.625 mg/L)处理组在第6天达到了空白对照组的115%;而分散橙S-4RL对水华微囊藻的叶绿素a含量均呈现抑制作用。(2)分散橙S-4RL对蛋白核小球藻和水华微囊藻光合反应过程最大光能转换效率(F_v/F_m),PSⅡ的潜在活性(F_v/F_0)以及初始斜率(α)影响不大;但蛋白核小球藻和水华微囊藻的最大电子传递速率(ETR_{max})和半饱和光强点(I_k)均随着分散橙S-4RL浓度增加而增加,在试验第5天,水华微囊藻的ETR_{max}和I_k均为空白对照组的119%。2种微藻对分散橙S-4RL的胁迫敏感性不同,但都能提高光合活性来缓解胁迫。

关键词:分散橙S-4RL;胁迫;小球藻;水华微囊藻;光合活性

中图分类号:X503.23,X791 **文献标志码**:A **文章编号**:1674-3075(2019)02-0035-09

染料是一种在水溶液或其他介质中能使纤维染色的有机化合物,全球年产量高达80多万t,但是由于水处理技术有限,10%~20%的染料随着废水被排放到水环境中,因此全球很多水体及沉积物中都有检测到染料存在(Mcmullan et al,2001;Jinseok & Harold,2007;Guilherme & Glauco,2015;李晓等,2006)。染料的毒性大小取决于化学结构式,取代基不同可能导致的毒性效应完全不同。Ferraz等(2011)发现分散红13和分散红1具有相同的结构式,但是没有氯取代基的分散红1的致突变性比有氯取代基的分散红13高14倍,而后者对大型蚤的急性毒性远远大于前者。因此对于各种染料可能产生的环境风险效应应该单独研究。

合成染料中占比例最高的是偶氮染料,为60%~70%。它是偶氮基两端连接芳基的一类有机化合物,化学稳定性强,可生物降解性较低。研究发现偶氮染料可能会导致基因毒性、细胞毒性、致突变性和致癌性(Vander et al,2000;Fabio et al,2015)。分散橙S-4RL是一种常见的偶氮染料,对浮游动物大型蚤具有极强的毒性(王焕双等,2014),但是对于浮游植物的毒性效应几乎没有报道。浮游藻类是水生生态系统的初级及主要生产者,是生态系统食物网的基础,近年来在水体安全评价方面得到了广泛的应用。蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)、水华微囊藻(*Microcystis flos-aquae*)等淡水藻类具有分布广、对毒物敏感以及可在较短时间内评价化学物质对其世代及种群水平上影响的特性,被广泛作为生物指示剂监测化合物的毒性及水环境受污染程度(Diana et al,2005)。

为了探究环境中分散橙S-4RL对水生藻类的污染胁迫,本研究以蛋白核小球藻和水华微囊藻分别作为试验生物,探讨了低浓度范围内的分散橙S-4RL对2种微藻光合作用的影响,为评估合成染料对水生生态环境的风险提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

分散橙S-4RL(C.I.分散橙30)购于浙江吉华集团,纯度≥95%,CAS号为12223-23-3。结构式见图1。蓝藻水华微囊藻(FACHB-1028)、绿藻蛋白核小球藻(FACHB-9)均购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库。按照OECD 201藻类生长试验规定培养微藻(OECD,2006)。

收稿日期:2017-12-09 **修回日期**:2019-02-18

基金项目:福建省中青年教师教育科研项目(JAT160029);石狮市科技计划项目(2016FS21)。

作者简介:李雪妍,1994年生,女,硕士研究生,主要研究方向为污染物的环境化学行为。E-mail:15205032698@163.com

通信作者:李玲,女,博士,讲师,主要从事生态毒理学研究。E-mail:liling19830826@hqu.edu.cn

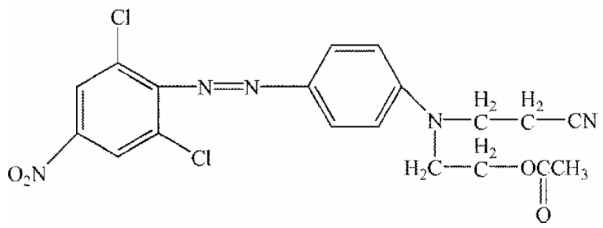


图1　分散橙S-4RL的化学结构式

Fig.1　Chemical structure of Disperse Orange S-4RL

1.2　试验方法

1.2.1　微藻的培养及分散橙S-4RL的染毒处理　蛋白核小球藻采用SE培养液培养，水华微囊藻采用BG11培养液培养。培养条件为：温度25℃，湿度60%，光暗比16 h∶8 h，光强为3 700 lx左右，静置培养，每天定时人工摇动3～4次。在藻密度1×10^6～3×10^6个/mL时藻细胞进入对数生长期，投加分散橙S-4RL进行染毒。根据《纺织染整工业水污染物排放标准》(GB4287－2012)中污染物排放浓度的限值，本试验设置的分散橙S-4RL对蛋白核小球藻藻液及水华微囊藻藻液的最终染毒浓度分别为：0.625、1.25、2.5、5、10 mg/L，同时设置空白对照组。每组设置3个平行。叶绿素a含量每24 h测定1次，其他叶绿素荧光参数每隔48 h测定1次，试验共进行了6 d。

1.2.2　微藻的叶绿素含量及相关荧光参数测定　试验使用多脉冲调制叶绿素荧光仪(Phyto-PAM，德国Walz)直接测得2种藻细胞的叶绿素a含量、初始斜率(α)、最大电子传递速率(ETR_{max})，而光合反应过程光系统(PSⅡ)过程最大光能转换效率(F_v/F_m)、PSⅡ的潜在活性(F_v/F_0)、快速光响应曲线(RLCs)及其最大电子传递速率(ETR_{max})和半饱和光强点(I_k)的变化情况则由公式计算得出。

具体操作为：取1 mL藻液置于样品杯中，暗适应10 min后，在2 μmol/(m²·s)(以…Photons…计，下同)光强下测得最小荧光产量(F_0)、最大荧光产量(F_m)，在32 μmol/(m²·s)(以Photons计)光强下测定叶绿素a含量(陈元等，2009)，最后进行rETR(光合速率)的测定及快速光响应曲线的拟合，测定时每个荧光强度的光照时间为20 s。根据测定结果计算F_v/F_m以及F_v/F_0，其中：F_v/F_m是通过使用饱和脉冲猝灭方法计算(Schreiber et al，1994)。F_v/F_m和F_v/F_0的值根据公式计算得到：

$$F_v/F_m=(F_m-F_0)/F_m \quad (1)$$

$$F_v/F_0=(F_m-F_0)/F_0 \quad (2)$$

rETR随光合有效辐射(PAR)的变化图即为光响应曲线，快速光响应曲线可以反映不同试验条件下浮游植物光合活性的相对变化(Ihnken et al，2010)。拟合模型公式为：

$$rETR = ETR_{max} \cdot (1 - e^{-\alpha \cdot PAR/ETR_{max}}) \cdot e^{-\beta \cdot PAR/ETR_{max}} \quad (3)$$

为了分析分散橙S-4RL胁迫下2种淡水微藻的快速光响应曲线，分别在第1天、第3天和第5天测定了光化光持续时间为20 s时不同光照强度下[0～1200 μmol·photons/(m²·s)]的rETR值。其中rETR是光合速率，即相对电子传递速率；ETR_{max}是光抑制时的最大潜在相对电子传递速率，可作为一定光强下单位生物量内光合作用速率的探针(Genty et al，1989)。PAR是光照强度；α是RLCs曲线的初始斜率，反映了对光能的利用率；β是光抑制参数。

I_k表示对强光的耐受能力，反映了浮游植物光适应能力的指标(Jones，1978)，公式如下：

$$I_k=ETR_{max}/\alpha \quad (4)$$

1.3　数据处理

试验数据采用SPSS 17.0软件DUNCAN法进行多重分析，$P<0.05$表示有显著性差异。利用Origin 8.5作图。

2　结果与分析

2.1　淡水微藻叶绿素a含量响应

蛋白核小球藻和水华微囊藻在不同浓度分散橙S-4RL胁迫下叶绿素a含量随时间的变化如图2。

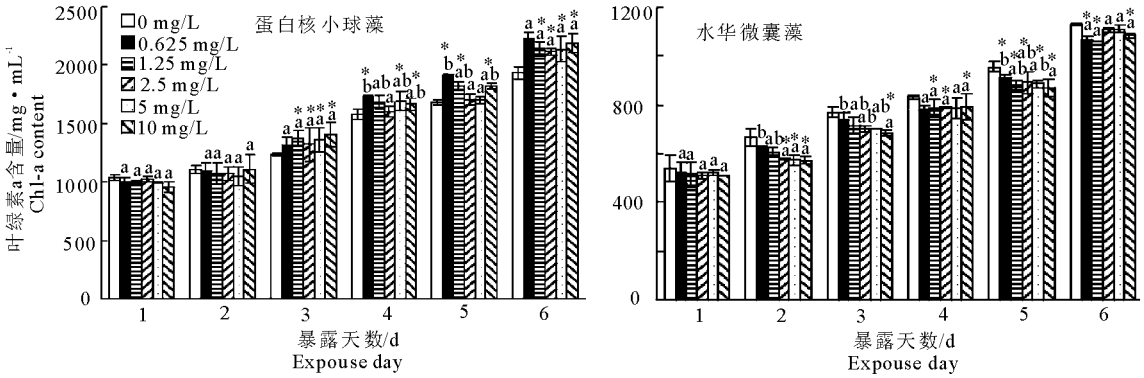
2.1.1　蛋白核小球藻　第3天，分散橙S-4RL 1.25、2.5、5、10 mg/L处理组蛋白核小球藻叶绿素含量显著高于空白对照组($P<0.05$)；第6天，所有浓度组的蛋白核小球藻的叶绿素a含量都显著高于空白对照。分散橙S-4RL对蛋白核小球藻生长表现为促进作用，其中最低浓度0.625 mg/L处理组促进作用最明显，叶绿素a含量在第3～6天分别达到了空白对照组的106%、109%、113%、115%。

2.1.2　水华微囊藻　分散橙S-4RL各浓度组的水华微囊藻叶绿素a含量与空白对照组相比均呈现下降的趋势，分散橙S-4RL对水华微囊藻生长表现为抑制作用。在染毒的第2、第3和第5天，10 mg/L处理组叶绿素a含量显著低于0.625 mg/L处理组($P<0.05$)。

2.2　淡水微藻F_v/F_m和F_v/F_0响应

蛋白核小球藻和水华微囊藻在不同浓度的分散

橙 S-4RL 胁迫下 F_v/F_m 和 F_v/F_0 的响应见图 3 和图 4。蛋白核小球藻 F_v/F_m 值波动在 0.64～0.70，水华微囊藻 F_v/F_m 值波动在 0.48～0.54。蛋白核小球藻和水华微囊藻 F_v/F_m 和 F_v/F_0 响应值大部分试验组与空白对照组相比均无显著性差异（$P>0.05$）。在染毒的第 1、2、3 天，蛋白核小球藻的 $F_v/$

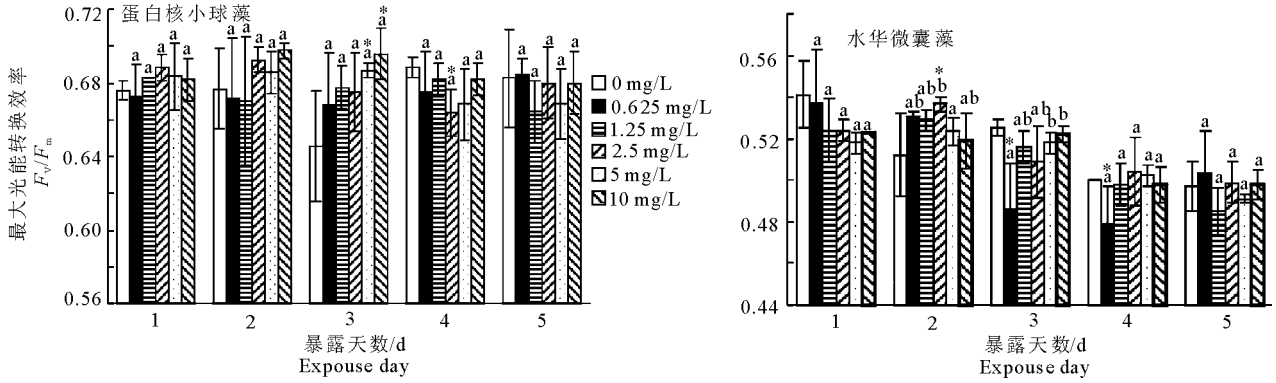


不同处理组的显著差异用不同字母表示，与空白对照组有显著性差异用 * 表示（$P<0.05$，$n=3$）

图 2　分散橙 S-4RL 对 2 种微藻叶绿素 a 含量的影响

Different letters above adjacent bars indicate a significant difference, and significant differences among exposure treatments and the control group after ANOVA are followed by * ($P<0.05$, $n=3$)

Fig.2　Effects of Disperse Orange S-4RL on the Chlorophyll a content of two freshwater algae

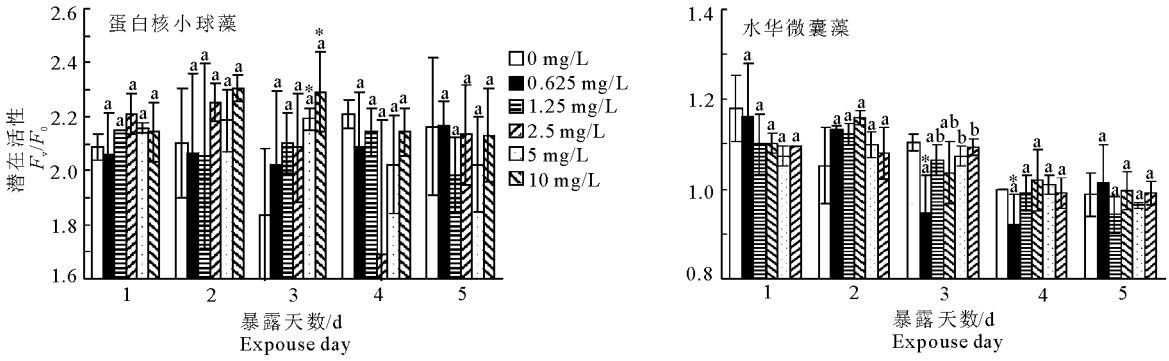


不同处理组的显著差异用不同字母表示，与空白对照组有显著性差异用 * 表示（$P<0.05$，$n=3$）

图 3　分散橙 S-4RL 对 2 种微藻 F_v/F_m 的影响

Different letters above adjacent bars indicate a significant difference, and significant differences among exposure treatments and the control group after ANOVA are followed by * ($P<0.05$, n=3)

Fig.3　Effects of Disperse Orange S-4RL on F_v/F_m of two freshwater algae



不同处理组的显著差异用不同字母表示，与空白对照组有显著性差异用 * 表示（$P<0.05$，$n=3$）

图 4　分散橙 S-4RL 对蛋白核小球藻和水华微囊藻 F_v/F_0 的影响

Different letters above adjacent bars indicate a significant difference, and significant differences among exposure treatments and the control group after ANOVA are followed by * ($P<0.05$, $n=3$)

Fig.4　Effects of Disperse Orange S-4RL on F_v/F_0 of two freshwater algae

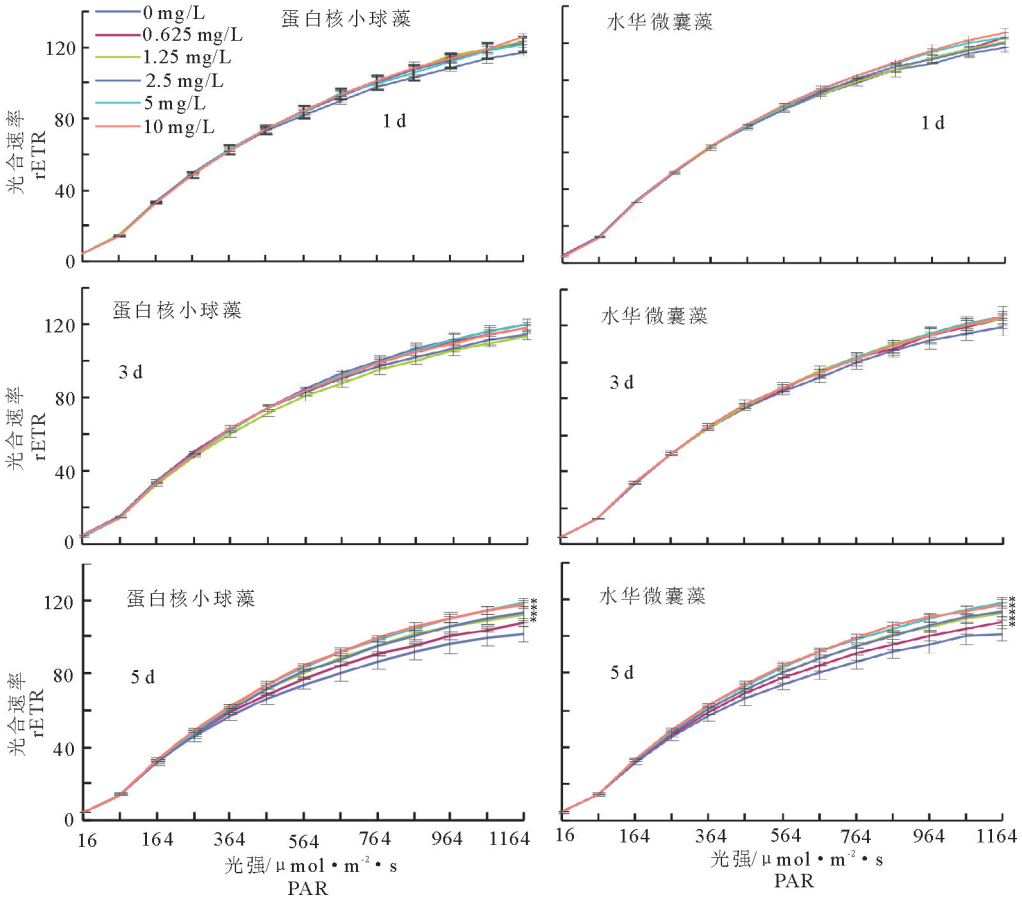
F_m 和 F_v/F_0 与空白组比有略微上升的趋势($P>0.05$),在第4、5天又回落至空白水平;水华微囊藻的 F_v/F_m 和 F_v/F_0 没有明显变化趋势。

2.3　淡水微藻快速光响应曲线的响应

2.3.1　淡水微藻的快速光响应曲线　2种微藻的快速光响应曲线(RLCs)见图5。rETR均随着光照强度的增强而增加,且随着染毒时间的增加,各暴露组的rETR比空白组增加得更快,因此在分散橙S-4RL胁迫下2种淡水微藻的快速光响应曲线均在空白组之上。在染毒第1天和第3天,蛋白核小球藻和水华微囊藻的快速光响应曲线与空白对照组均无显著差异($P>0.05$);但是在染毒第5天,所有浓度的分散橙S-4RL处理组(0.625～10 mg/L)2种藻细胞的RLCs相对于空白对照组均显著增高($P<0.05$)。

2.3.2　淡水微藻的光合作用拟合参数变化　分散橙S-4RL胁迫下蛋白核小球藻和水华微囊藻的α、I_k 和 ETR_{max} 随时间的变化情况见图6。

2.3.2.1　α　蛋白核小球藻在染毒的第1天和第3天,各浓度组的α与空白组相比无显著差异($P>0.05$);染毒第5天,1.25 mg/L浓度组的α值相对于空白组下降了6%,且存在显著差异($P<0.05$)。水华微囊藻在染毒期间内各浓度组的α与空白组相比无显著差异($P>0.05$),且各浓度组之间也不存在显著差异($P>0.05$)。



* 代表与空白对照组有显著性差异($P<0.05$, $n=3$)

图5　分散橙S-4RL对2种微藻RLCs的影响

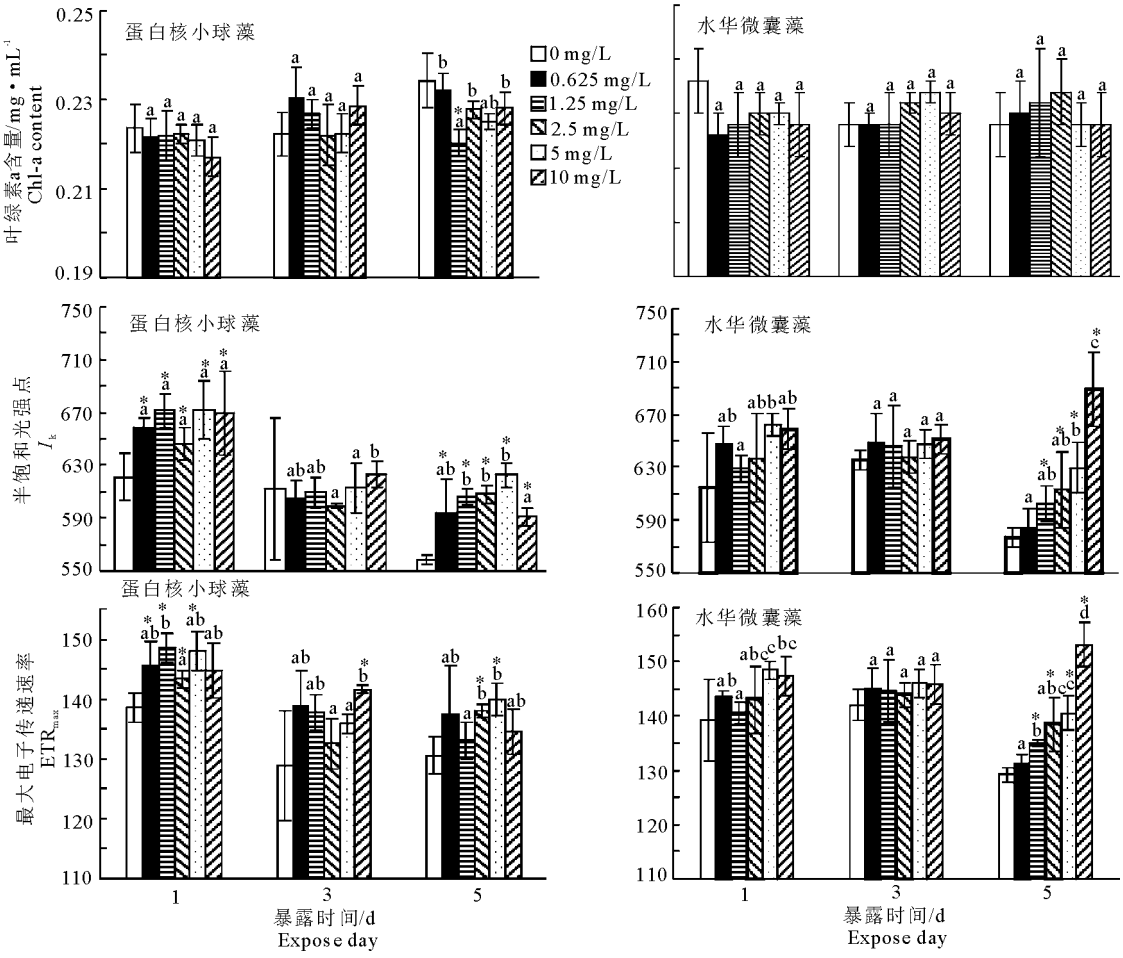
* Significant differences ($P<0.05$, $n=3$) among exposure treatments and the control group after ANOVA are followed by

Fig.5　Effects of Disperse Orange S-4RL on the Rapid light-response curves (RLCs) of two freshwater algae

2.3.2.2　I_k　蛋白核小球藻 I_k 值在染毒的第1天和第5天与空白对照组相比均呈现显著性增加,且5 mg/L处理组的 I_k 分别达到了空白对照组的108%和111%。水华微囊藻,当染毒浓度高于1.25 mg/L时,I_k 值在染毒第5天也较空白对照组呈现显著性增加($P<0.05$),且随着染毒浓度的升高,I_k 值越高;当染毒浓度为10 mg/L时,其 I_k 值为空白对照组的119%,且与其他浓度组均存在显著差异($P<0.05$)。

2.3.2.3　ETR_{max}　蛋白核小球藻在染毒的第1天,

除 10 mg/L 处理组外，其余各处理组 ETR_{max} 值与空白对照组相比显著性增加（$P<0.05$）；当染毒浓度为 5 mg/L 时，ETR_{max} 相对空白组增加最多，在第 1、3、5 天分别达到了空白对照组的 107%、105%、107%。水华微囊藻各浓度组的 ETR_{max} 值在染毒的前 3 天变化不明显，到染毒第 5 天，ETR_{max} 值出现显著性增加（$P<0.05$）。与 I_k 值的趋势相似，随着染毒浓度的升高，ETR_{max} 越高，其中 10 mg/L 处理组的 ETR_{max} 值增加最多，达到空白对照组的 119%。



* 代表与空白对照组有显著性差异（$P<0.05$，$n=3$）

图 6　分散橙 S-4RL 对蛋白核小球藻和水华微囊藻的光合参数 α，ETR_{max}，I_k 的影响

Significant differences（$P<0.05$，$n=3$）among exposure treatments and the control group after ANOVA are followed by

Fig.6　Effects of Disperse Orange S-4RL on α，ETR_{max} and I_k photosynthetic parameters of two freshwater algae

3　讨论

3.1　分散橙 S-4RL 对淡水微藻叶绿素 a 的影响

叶绿素 a 是植物进行光合作用的主要色素，其含量可以反映出光合作用水平的高低和可浮游植物的存活情况，是衡量植物生长状况的重要指标之一（石英等，2007；廖柏寒等，2010）。本研究发现，在试验浓度范围内，分散橙 S-4RL 对蛋白核小球藻的叶绿素 a 含量表现为促进作用，而对水华微囊藻的叶绿素 a 含量表现为抑制作用。毒物在较低浓度下出现的增益现象，被称为“毒物的兴奋效应”（Stebbing，1982）。毒物促进藻类生长可能是因为：1）毒物给藻类提供了营养源；2）毒物增加了藻类中某些酶的活性，从而促进了藻类的生长；3）营养源作用和毒性作用同时存在，但是在低浓度范围内营养源作用起主导地位，综合表现为促进（沈宏和周培疆，2002）。本研究，分散橙 S-4RL 对蛋白核小球藻表现为生长促进，可能是因为分散橙 S-4RL 中的 N 元素作为营养源，比其带来的毒性、遮光效应、影响营养物质的吸收和消耗水中的溶解氧等其他负面影响要强，从而促进了蛋白核小球藻的生长。Tom 和 Sara（1999）就曾发现铜绿微囊藻、红球藻等可以将自然水体中的有机氮作为氮源进行利用；王朝晖等（2015）也发现赤潮异弯藻可利用苏氨酸、尿素、丙氨

酸和谷氨酸等中的有机氮来促进其自身生长。同理,分散橙S-4RL对水华微囊藻的叶绿素a含量表现为抑制作用,可能是因为毒性作用的影响取代了染料营养源作用的主导地位。以上结果与很多文献研究结果类似。如,Perona(1991)发现磷胺在较低浓度下可以促进颤藻细胞增加;Wang等(2017)的研究表明,0.001～1 μg/L的氟苯尼考和甲砜氯霉素均能促进水华微囊藻的生长,但超过40 μg/L的氟苯尼考和甲砜氯霉素会抑制它的生长;Wan等(2015)的研究表明0.001～0.1 μg/L的红霉素会促进水华微囊藻的生长,但超过0.1 μg/L的红霉素会抑制它的生长。

不同物种对相同环境胁迫会产生不同的应激反应(王帅等,2009;Azizullah et al,2015)。本研究所用的水华微囊藻属于蓝藻门,是原核生物,没有细胞壁;而蛋白核小球藻属于绿藻门,是真核生物,含有细胞壁;2种藻细胞在分散橙S-4RL胁迫下的叶绿素a变化表现出相反的综合效应。研究表明,绿藻的细胞壁能够充分且精密地将营养物质和代谢物运进和运出细胞,多层的细胞壁对许多大分子形成了机械而又具有通透性的屏障,因而在相同浓度的污染物质下,蛋白核小球藻更不容易因为受到外界胁迫而发生生长抑制现象(董妍玲和潘学武,2010)。郤安琪(2016)研究发现重金属Cd^{2+}对绿藻门小球藻的EC_{50}是蓝藻门微囊藻的10倍左右,说明受到胁迫时,蓝藻比绿藻更为敏感。另外还有许多文献表明,蓝藻与绿藻相比,对抗生素的敏感度也会高2～3个数量级(Halling-Sorensen,2000;Boxall et al,2003)。以上分析结果表明,分散橙S-4RL进入到水体中可能改变水体中藻类的群落结构,而群落结构的改变可能进一步导致浮游动物乃至整个生态系统发生变化,这种连锁的毒害生态效应值得重视。

3.2 分散橙S-4RL对淡水微藻F_v/F_m和F_v/F_0的影响

通过荧光参数的分析,可以得到光合作用过程中光能吸收、激发传递光化学能过程,以及电子传递、质子梯度建立、ATP合成以及CO_2固定等过程信息,从一定程度上可以反应藻类在外源性有毒物质影响下光合作用的变化(王帅等,2011)。F_v/F_m是植物逆境条件下产生光抑制的敏感指标,代表植物PSⅡ原初光能转换效率;F_v/F_0反映PSⅡ实际光强下的表观电子传递效率,用于度量光化学反应导致碳固定的电子传递情况,代表PSⅡ的潜在活性(潘国权等,2007)。在正常生理状态下,它们都是相对稳定的值,但当植物受到胁迫,PSⅡ反应中心会发生失活,植物的光合电子传递过程会被阻碍,F_v/F_m和F_v/F_0下降(李晓征等,2005;刘兴剑等,2005;Baker, 2008;Khalida et al,2012;Xia et al,2018)。本研究发现,蛋白核小球藻和水华微囊藻的F_v/F_m和F_v/F_0与空白对照组无显著差异,说明试验浓度内分散橙S-4RL没有阻碍2种藻的光合电子传递过程,也没有破坏藻类光合作用的原初反应。党亚爱等(2003)研究发现红色染料与叶绿素a吸收峰波长互补,抑制作用小,毒性也相对较小。本试验选取的分散橙S-4RL本身呈橙色,因而对微藻细胞荧光参数的影响不大。Azizullah等(2015)在测定工业废水对纤细裸藻的F_v/F_m时也发现个别浓度组与空白对照组几乎无显著差异。此外,本研究蛋白核小球藻F_v/F_m和F_v/F_0在染毒期间呈现略微上升后回落的趋势,可能是由于分散橙S-4RL提高了电子经过电子传递链在PSⅡ和PSⅠ之间的传递效率,以及光合活性缓解了外界的胁迫,从而提高了机体的耐受性。王帅等(2009)研究发现,在胁迫初期,在一定浓度范围内藻体可以有效调节外界对机体的胁迫作用。

3.3 分散橙S-4RL对淡水微藻快速光响应曲线的影响

快速光响应曲线是利用调制荧光原理,通过测量相对电子传递速率随光合有效辐射的变化绘制的曲线,一般用于阐明样品的光合特征(White & Critchley,1999)。rETR用来反映实际光强下藻类表观电子传递速率,可以用来度量光化学反应导致碳固定的电子传递情况(Wang et al,2008)。而根据快速光响应曲线又可以得出3个光合参数:α(光响应曲线的初始斜率,反映样品对光能的利用率)、ETR_{max}(最大光合速率,即最大相对电子传递速率)、I_k(半饱和光强,反映待测样品对强光的耐受能力大小)(Estrada et al,2015)。已有研究表明,当藻类受到较重胁迫时,光响应曲线会低于其空白对照组,表明光合作用受到抑制(钱永强等,2011;王锦旗等,2015; Santra et al,2015)。然而在本研究中蛋白核小球藻和水华微囊藻的各浓度组的快速光响应曲线在第5天均显著高于空白对照组,显示了试验浓度内分散橙S-4RL对藻类的光合作用产生一定的刺激作用。很多文献的研究结果与本文一致:例如,Azizullah等(2011)研究发现纤细裸藻在Sardar工业废水的短期染毒下,快速光响应曲线也显著高于空白对照组;纤细裸藻分别在纸浆废水和木灰溶

液的短期染毒下，其快速光响应曲线均显著高于空白对照组（Danilov & Ekelund，1999；Ekelund & Aronsson，2007）。分散橙 S-4RL 对蛋白核小球藻和水华微囊藻的 α 基本没有影响，说明其对藻细胞的光能利用率上没有显著影响；而对 ETR_{max} 和 I_k 的促进作用较为显著，说明它增加了 2 种藻的电子传递速率和对强光的耐受力。此外，本研究中部分浓度组的 ETR_{max} 和 I_k 在染毒第 1 天就显著高于空白对照组，而 F_v/F_m 和 F_v/F_0 在染毒期间与空白组没有显著性差异，说明快速光响应曲线及光合参数在一定程度上比 F_v/F_m 和 F_v/F_0 更敏感。Sandra 等（2015）也研究发现快速光响应曲线在染毒的第 1 天就与空白对照组差异显著，比 F_v/F_m 和 F_v/F_0 更为敏感，是一个藻类受到胁迫的早期信号，此结果与本文一致。除此之外，在染毒第 5 天，水华微囊藻的 ETR_{max} 和 I_k 随浓度的升高而增大。这可能是由于分散橙 S-4RL 染毒下使微藻受到胁迫，导致微藻建立相应的保护措施，增加了 2 种藻的电子传递速率和强光的耐受力来减轻损伤。付翔等（2014）发现藻类在受到外界胁迫时，会通过各种途径耗散过多的激发能，提升自身的强光耐受力。

参考文献

陈元，赵洋甬，潘双叶，等，2009. PHYTO-PAM 对浮游植物中叶绿素的分类测定[J]. 现代科学仪器，(4)：100－103.

党亚爱，王国栋，辛宝平，等，2003. 几种染料抑制斜生栅藻生长的毒性效应[J]. 西北植物学报，23(2)：332－335.

董妍玲，潘学武，2010. 从基因角度解读蓝藻细胞壁的结构和功能[J]. 生物学通报，(12)：14－17.

付翔，翟红昌，刘诚刚，等，2014. 应用非光化学淬灭初始变化率作为浮游植物光保护能力指标的可行性[J]. 生态学报，34(14)：3859－3865.

郤安琪，2016. 重金属 Cd^{2+} 对五种常见淡水浮游藻类的毒性效应研究[D].武汉：长江科学院.

李晓，冯伟，曾晓春，等，2006. 叶绿素荧光分析技术及应用进展[J]. 西北植物学报，26(10)：2186－2196.

李晓征，彭峰，徐迎春，等，2005. 不同遮荫下多脉青冈和金叶含笑幼苗叶片的气体交换日变化[J]. 浙江林学院学报，22(4)：380－384.

刘兴剑，刘小巍，孙起梦，2005. 阔瓣含笑种内类型划分及苗期试验[J]. 江苏林业科技，32(4)：15－17.

廖柏寒，刘俊，周航，等，2010. Cd 胁迫对大豆各发育阶段生长及生理指标的影响[J]. 中国环境科学，30(11)：1516－1521.

潘国权，王国祥，李强，等，2007. 浊度对苦草（*Vallisneri-anatans*）幼苗生长的影响[J]. 生态环境，16(3)：762－766.

沈宏，周培疆，2002. 环境有机污染物对藻类生长作用的研究进展[J]. 水生生物学报，(5)：529－535.

钱永强，周晓星，韩蕾，等，2011.3 种柳树叶片 PSⅡ叶绿素荧光参数对 Cd^{2+} 胁迫的光响应[J]. 北京林业大学学报，33(6)：8－14.

石英，杜青平，谢树莲，2007. 1，4-二氯苯对蛋白核小球藻的毒性效应[J]. 环境科学研究，20(3)：133－136.

王焕双，李玲，吴贵江，等，2014. 分散紫 HFRL 和分散橙 S-4RL 对大型溞的单一与联合急性毒性效应[J]. 环境与健康杂志，31(6)：483－485.

王锦旗，宋玉芝，薛艳，2015. 紫外辐射对菹草（*Potamogeton crispus*）成株快速光响应曲线的影响[J]. 湖泊科学，27(3)：451－458.

王帅，梁英，田传远，2009. Cd^{2+} 胁迫对 6 株微藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 海洋湖沼通报，(3)：155－166.

王帅，梁英，姜伟，2011. 不同 Cd^{2+} 浓度与磷酸盐浓度交互作用对小球藻和微绿球藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 海洋湖沼通报，(1)：50－62.

王朝晖，杨雪，梁瑜，2015. 赤潮异弯藻对有机氮的利用能力[J]. 海洋环境科学，34(3)：343－346.

Azizullah A，Peter R，Donat-Peter H，2011. Ecotoxicological Evaluation of Wastewater Samples from Gadoon Amazai Industrial Estate (GAIE)，Swabi，Pakistan[J]. International Journal of Environmental Science，5(1)：996－983.

Azizullah A，Peter R，Donat-Peter H，2015. Effects of long-term exposure to industrial wastewater on photosynthetic performance of *Euglena gracilis* measured through chlorophyll fluorescence[J]. Journal of Applied Phycology，27：303 － 310.

Baker N R，2008. Chlorophyll fluorescence：a probe of photosynthesis in vivo[J]. Annual Review of Plant Biology，59：89－113.

Boxall A B A，Kolpin D W，Halling S B，et al，2003. Peer reviewed：are veterinary medicines causing environmental risks[J]. Environmental Science and Technology，37(15)：286A－294A.

Danilov R A，Ekelund N G A，1999. Influence of waste water from the paper industry and UV-B radiation on the photosynthetic efficiency of *Euglena gracilis*[J]. Journal of Applied Phycology，11：157－163.

Diana M E，Slijkerman，Moreira-Santos M，2005. Functional and structural impact of linuron on a freshwater community of primary producers：the use of immobilized al-

gae [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 24 (10): 2477 - 248.

Ekelund, N G A, Aronsson K A, 2007. Changes in chlorophyll a fluorescence in *Euglena gracilis* and *Chlamydomonas reinhardtii* after exposure to wood-ash[J]. Environmental and Experimental Botany, 59:92 - 98.

Ferraz E R A, Umbuzeiro G A, Almeida G D, et al, 2011. Differential toxicity of Disperse Red 1 and Disperse Red 13 in the Ames test, HepG2 cytotoxicity assay, and Daphnia acute toxicity test[J]. Environmental Toxicology, 26(5):489 - 497.

Estrada F, Escobar A, Romero-Bravo S, et al, 2015. Fluorescence phenoltyping in blueberry breeding for genotype selection under drought conditions, with or without heat stress[J]. Scientia Horti-culturae, 181: 147 - 161.

Fabio H F, Eduardo B, Daisy M F S, et al, 2015. Disperse Red 1 (textile dye) induces cytotoxic and genotoxic effects in mouse germ cells[J]. Reproductive Toxicology, 53(1):75 - 81.

Genty B, Briantais J M, Baker N R, 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -General Subjects, 990(1): 87 - 92.

Guilherme J Z, Glauco P S, 2015. Using SPE-LC-ESI-MS/MS Analysis to Assess Disperse Dyes in Environmental Water Samples [J]. Journal of Chromatographic Science, 53(8):1 - 8.

Halling-Sorensen B, 2000. Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming[J]. Chemosphere, 40 (7): 731 - 739.

Ihnken S, Eggert A, Beardall J, 2010. Exposure times in rapid light curves affect photosynthetic parameters in algae [J]. Aquatic Botany, 93(3): 185 - 194.

Jinseok B, Harold S F, 2007. Aquatic toxicity evaluation of new direct dyes to the *Daphnia magna* [J]. Dyes and Pigments, 73(1):81 - 85.

Jones R I, 1978. Adaptations to fluctuating irradiance by natural phytoplankton communities [J]. Limnology and Oceanography, 23(5): 920 - 926.

Khalida A Z, Youcef B, Zitouni, Z, et al, 2012. Use of chlorophyll fluorescence to evaluate the effect of chromium on activity photosystem II at the alga *Scenedesmus obliquus*[J]. IJRRAS, 12(2):304 - 314.

Mcmullan G, Meehan C, Conneely A, et al, 2001. Microbial decolourisation and degradation of textile dyes[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 56(1 - 2):81 - 88.

OECD, 2006. Alga, OECD Guideline 201 for the Testing of Chemicals. Growth Inhibition Test[S]. Paris, France: 201(1):1 - 25.

Perona E, 1991. Alteration of dinitrogen fixing and metabolism in cyanobacterium Anabaena PCC7119 by phospharmidon [J]. Environmental and Botany, 31(4): 479 - 488.

Santra K T, Martin L, Agnès F M, 2015. Herbicide toxicity on river biofilms assessed by pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry[J]. Aquatic Toxicology, 165:160 - 171.

Schreiber U, Bilger W, Neubaucer C, 1994. Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis [M]//Schulze E D. Ecophysiology of photosynthesis. Berlin: Springer Berlin Heidelberg: 49 - 70.

Stebbing A R D, 1982. Hormesis-the stimulation of growth by low levels of inhibitors[J]. Science of Total Environment, 22(3):213 - 234.

Tom B, Sara C, 1999. Algal growth on organic compounds as nitrogen sources[J]. Journal of Plankton Research, 21(8):1423 - 1437.

Vander Z F, Lettinga G, Field J, et al, 2000. Azo dye decolourisation by anaerobic granular sludge[J]. Chemosphere, 44(2001):1169 - 1176.

Wan J J, Guo P Y, Peng, X, et al, 2015. Effect of erythromycin exposure on the growth: antioxidant system and photosynthesis of *Microcystis flos-aquae*[J]. Journal of hazardous materials, 283:778 - 786.

Wang G, Chen K, Chen L, et al, 2008. The involvement of the antioxidant system in protection of desert *Cyanobacterium nostoc* sp. against UV-B radiation and the effects of exogenous antioxidants[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 69(1):150 - 157.

Wang M X, Zhang Y X, Guo P Y, 2017. Effect of florfenicol and thiamphenicol exposure on the photosynthesis and antioxidant system of *Microcystis flos-aquae*[J]. Aquatic Toxicology, 186:67 - 76.

White A J, Critchley C, 1999. Rapid light curves: A new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus[J]. Photosynthesis Research, 59(1): 63 - 72.

Xia Y L, Liu D D, Ying D, et al, 2018. Effect of ionic liquids with different cations and anions on photosystem and cell structure of *Scenedesmus obliquus*[J]. Chemosphere, 195:437 - 447.

(责任编辑 张俊友)

Effect of Disperse Orange S-4RL on the Photosynthetic Activity of Two Freshwater Algae

LI Xue-yan, LI Ling, WANG Huan-shuang

(College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, P.R.China)

Abstract: Dyes are increasingly selected based on resistance to light, washing and perspiration, and to meet consumer demand for color diversity. However, dyes inevitable enter the aquatic environment during production and use, resulting in risk to aquatic ecosystems. To evaluate the toxicity of Disperse Orange S-4RL (DO S-4RL) to freshwater algae, we investigated the effects of low level exposure to DO S-4RL on the photosynthetic activity of *Chlorella pyrenoidosa* (green alga) and *Microcystis flos-aquae* (Cyanophyta) using a color pulse amplitude modulation chlorophyll fluorimeter (Phyto-PAM). The study provides a reference for risk evaluation of dyes in the aquatic environment. *Chlorella pyrenoidosa* and *Microcystis flos-aquae* were cultured following OECD guidelines and algae in logarithmic phase were exposed to different concentrations of DO S-4RL (0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 mg/L). Each treatment and a control were run in triplicate. The test duration was six days and the content of chlorophyll-a in each group was measured each 24 hours and chlorophyll fluorescence parameters were determined each 48 hours. Exposure to DO S-4RL increased the chlorophyll-a content of *Chlorella pyrenoidosa*, especially in the low concentration (0.625 mg • L^{-1}) group, in which the chlorophyll-a content was 115% of that in the control group on day 6. However, DO S-4RL decreased the chlorophyll-a content of *Microcystis flos-aqua*. Exposure to DO S-4RL had no significant effect on the maximum photochemical quantum yield (F_v/F_m), the potential activity (F_v/F_0) or the initial slope (α) of *Chlorella pyrenoidosa* and *Microcystis flos-aquae*. With increased DO S-4RL concentration, the values of ETR_{max} and I_k of Chlorella pyrenoidosa and *Microcystis flos-aquae* increased. The values of ETR_{max} and I_k of *Microcystis flos-aquae* in all treatments were 119% of those in the control group on day 5. The sensitivities of the two microalgae species to DO S-4RL were different, but both increase photosynthetic activity to relieve the stress.

Key words: Disperse Orange S-4RL; stress; *Chlorella vulgaris*; *Microcystis flos-aquae*; photosynthetic activity