

0[#]柴油和原油的水溶性成分对小球藻 (*Chlorella vulgaris*)生长的影响^{*}

李 磊 沈新强 王云龙 蒋 玫^①

(中国水产科学研究院东海水产研究所 上海 200090)

摘要 采用室内培养方法,研究了不同浓度 0[#]柴油和原油的水溶性成分(Water accommodated fraction, WAF)对小球藻(*Chlorella vulgaris*)的生长影响及其差异。结果显示,低浓度的 0[#]柴油 WAF(0.30、0.10 mg/L)和原油 WAF(1.17、0.58 mg/L)能够促进小球藻的生长,且 0[#]柴油 WAF 的 0.10 mg/L 实验组和原油 WAF 的 0.58 mg/L 实验组在 96 h 时,小球藻细胞密度显著高于对照组($P < 0.05$);而高浓度的 0[#]柴油 WAF(8.10、2.70、0.90 mg/L)和原油 WAF(9.36、4.68、2.34 mg/L)会抑制小球藻的生长。0[#]柴油和原油 WAF 对小球藻的 96 h- EC_{50} 分别为 3.34、6.54 mg/L, $NOEC$ 分别为 0.30、1.71 mg/L, $LOEC$ 分别为 0.90、2.34 mg/L。0[#]柴油 WAF 的毒性高于原油 WAF, 0[#]柴油和原油水溶性成分的组分差异是影响二者毒性强弱的主要因素。

关键词 小球藻; 0[#]柴油水溶性成分; 原油水溶性成分; 生长

中图分类号 X171 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2016)01-0135-05

石油是一种化学组成极其复杂的混合物,主要组成部分是烃类,约占总组分的 95%–99%,人类活动过程是其进入海洋水体的主要途径(Zakaria *et al.*, 2000)。石油进入海洋环境后,在外界环境物理、化学和生物活动等因素的影响下,其化学组成和物理性质以及含量都会随着时间的延长而不断改变,但大部分最终以水溶性成分(Water accommodated fraction, WAF)的形式存在于海洋中,其中对海洋生物毒性最大的部分为低分子量烷烃以及芳香烃组分(Mackay *et al.*, 1980)。石油污染物能干扰海-气界面间正常的气体、能量和水分交换(Lee *et al.*, 1997),对各类海洋生物产生毒害(Gilde *et al.*, 2012; Bejarano *et al.*, 2006; Rodrigues *et al.*, 2010)。浮游植物属于海洋生态环境中的初级生产者,可以为食物链上高营养级别的海洋生物提供基础饵料,其生物量的变动会引起食物链高级环节上生物量的变动(Wang *et al.*, 1998)。石油污染物对海洋浮游植物生长的影响是多方面的,目前国内外针对石油污染的水溶性成分对不同种类海洋浮游植物的毒性

效应研究已经见诸报道,评价石油污染的指标包括叶绿素含量、细胞粒度(王修林等, 2004)、抑制率 EC_{50} 值、酶活性、脂质过氧化损伤、DNA 损伤等(Parab *et al.*, 2008; Chao *et al.*, 2012; Desai *et al.*, 2010)。但由于各个地区的油品存在差异,特别是原油,不同产地的性质差异明显。因此,针对不同种类石油污染对海洋浮游植物生长影响的差异研究依然需要进一步补充。

本研究以小球藻(*Chlorella vulgaris*)为研究对象,通过不同暴露浓度下 0[#]柴油、原油 WAF 小球藻的生长情况,探讨分析两种石油污染物 WAF 对小球藻生长的影响差异,为进一步研究和评价海洋水环境中石油污染对海洋浮游植物的潜在生态风险评价提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 小球藻培养

小球藻属于世界范围内的普生性种属,生长条件相对简单,环境耐受性较强,适宜在实验室中开展毒

* 农业部应对溢油关键技术专项(2012-NZ-5739)资助。李 磊, E-mail: zheyilee@126.com

① 通讯作者: 蒋 玫, 研究员, E-mail: jiangrose73@163.com

收稿日期: 2015-01-24, 收修改稿日期: 2015-03-12

理实验,因此,本研究选择其作为受试藻类。小球藻购自中国海洋大学藻种室,采用 f/2 培养液(Guillard *et al.*, 1962)在光照培养箱里培养至指数生长期,培养温度为 $(21 \pm 1)^\circ\text{C}$,光照度为 2500 lx,光暗周期 12 h : 12 h,每天定时摇动两次。海水取自江苏省启东海域(盐度为 21, pH 为 8.1),经 0.45 μm 醋酸纤维滤膜抽滤、高压蒸汽灭菌,冷却后配制培养液。

1.2 实验母液的制备

将 0#柴油、原油分别与过滤海水按 1 : 10(V : V) 配制,置于磁力搅拌机上,连续高速搅拌 24 h 后,静置 3 h 分离出水相,注入玻璃瓶中作为母液储备(贾晓平等, 1998)。使用 752N 型紫外分光光度计(上海三科仪器有限公司)测定石油烃的含量(国家质量监督检验检疫总局, 2008)。0#柴油为市售,原油为东海平湖原油。

1.3 0#柴油、原油 WAF 组分分析

分别取 2 L 的 0#柴油、原油 WAF,用 60 ml 正己烷(色谱级, Thermo Fisher Scientific, USA)分 4 次萃取,每次用振荡器(KS-2, 江苏省金坛市恒丰仪器制造有限公司)振荡 2 min 后静置分层,共获得约 60 ml 正己烷萃取液,用氮吹仪(3 L/min)浓缩至 1 ml 后吸取上层正己烷,上机进样进行 GC-MS(5977E, Agilent Technologies, USA)分析。进样方式:自动、不分流;载气:氦气(1 ml/min);进样量:0.12 μl ;进样口温度为 290 $^\circ\text{C}$;传输线温度为 280 $^\circ\text{C}$;柱温程序:初始 50 $^\circ\text{C}$,恒温 1 min 后以 6 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 280 $^\circ\text{C}$,恒温保持 10 min;离子源:EI;离子源温度:70 eV,离子化电流:300 Pa;离子源温度:200 $^\circ\text{C}$;扫描范围:50–550 amu 自动调谐;质谱检索:采用 NIST98 谱库检索。

1.4 实验设计

移取 200 ml 处于指数增长期(36.23×10^5 个/ml)的藻液转移到 250 ml 的锥形瓶中并封口。根据预实验的结果,按照等对数比例间距将 0#柴油 WAF 的实验浓度设为 0.10、0.30、0.90、2.70、8.10 mg/L;原油 WAF 浓度分别设为 0.58、1.17、2.34、4.68、9.36 mg/L。摇匀后置于光照培养箱中培养,以不加入 0#柴油、原油 WAF 的藻液做作为对照,每个浓度设置 3 个重复。实验共进行 96 h,分别于第 0、24、48、96 小时取样。取样量为 1 ml,先用 Lugol 碘液固定,再用血球计数板计数,根据计数结果计算藻细胞密度。

1.5 数据分析

1.5.1 96 h- EC_{50} 计算 采用概率单位-浓度对数法(熊丽等, 2002)计算出 96 h- EC_{50} ,以生物量为实验终点计算的 50%抑制浓度记为 EC_{50} 。相对增长率(K)按以下公式计算:

$$K = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{T} \quad (1)$$

式中, N_t 为培养 t 时刻的藻细胞密度; N_0 为起始藻细胞密度; T 为培养时间(h)。

相对抑制率计算公式如下:

$$I = \frac{K_c - K_i}{K_c} \quad (2)$$

式中, K_c 为对照组相对增长率; K_i 为处理组相对增长率。

根据抑制率的几率单位和相应的浓度对数,用直线回归法得到浓度效应方程,计算出 96 h- EC_{50} 。

1.5.2 NOEC、LOEC 计算 为了确认 0#柴油和原油 WAF 对小球藻生长影响的效应节点,分别计算 NOEC 和 LOEC 值。NOEC(No observed effect concentration)是指毒性效应与对照组无显著差异的最大处理浓度,LOEC(Lowest observed effect concentration)是指毒性效应与对照组有显著差异的最小浓度。采用方差分析(One-Way ANOVA)中的 Dunnett 多重比较检验确定 0#柴油和原油 WAF 对小球藻产生效应的 NOEC 和 LOEC 值。

1.6 数据统计与分析

采用 SPSS 19.0 进行数据分析与处理,采用 t 检验法统计分析实验组与同期对照组间的差异。 $P < 0.05$ 时为显著差异,同时对剂量反应方程进行 χ^2 检验,以验证其可靠性。

2 结果与分析

2.1 0#柴油和原油 WAF 的组分分析

分别对 0#柴油和原油 WAF 中的芳香烃及其取代物、烷烃的峰面积进行计算,得到其各自所占比例(表 1)。从表 1 可以看出,相同处理方式下,0#柴油 WAF 中芳香烃及其取代物、烷烃比例均高于原油 WAF。

2.2 0#柴油和原油 WAF 对小球藻生长的影响

实验过程中,对照组的小球藻均处于指数生长期,细胞密度在实验周期内快速增长,而 0#柴油和原油 WAF 对小球藻的细胞密度变化则产生了不同程度的影响(图 1)。与对照组相比较,在 0#柴油 WAF 影响

表 1 0[#]柴油和原油 WAF 组分比例
Tab.1 Proportion of components of WAFs of No.0 fuel oil and the crude oil

油品 Oil	组分百分比 Proportion of component(%)	
	芳香烃 Aromatic hydrocarbon	烷烃 Alkane
0 [#] 柴油 WAF No.0 fuel oil WAF	22.1	50
原油 WAF Crude oil WAF	18.5	48

下, 小球藻的细胞密度表现为 3 种不同的变化趋势(图 1-a)。8.10 mg/L 实验组小球藻细胞密度在整个实验过程中表现为持续下降; 2.70、0.90 mg/L 实验组小球藻细胞密度则分别在第 24、48 小时达到峰值后持续下降, 与 8.10 mg/L 实验组变化趋势相反; 0.30、0.10 mg/L 实验组小球藻细胞密度在整个实验过程中表现为持续上升, 且 96 h 时 0.10 mg/L 实验组小球藻细胞密度显著高于同期对照组($P<0.05$); 0.30 mg/L 实验组小球藻细胞密度则略高于同期对照组($P>0.05$)。与对照组相比较可见, 在原油 WAF 影响下, 小球藻的细胞密度也表现为 3 种不同的变化趋势(图 1b)。9.36 mg/L 实验组小球藻细胞密度表现为持续下降; 4.68 mg/L 实验组小球藻细胞密度在第 48 小时达到峰值后持续下降。

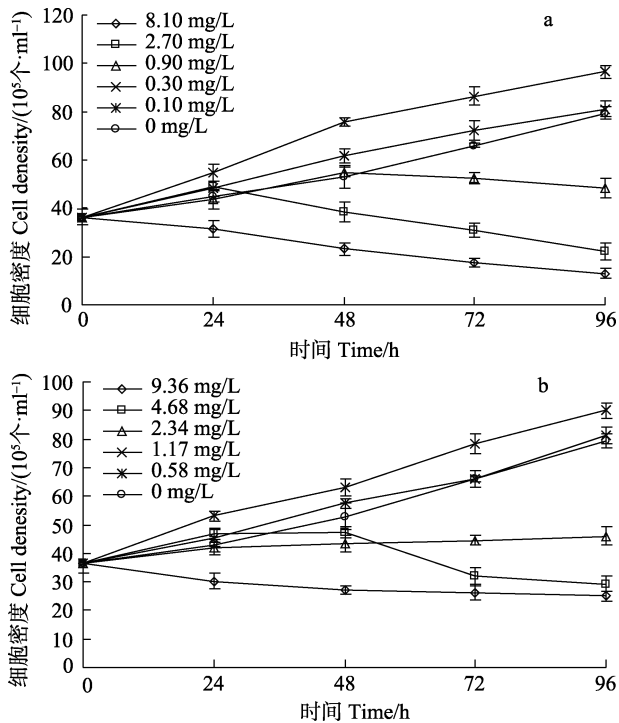


图 1 0[#]柴油(a)和原油(b)WAF 作用下小球藻的生长曲线
Fig.1 Growth curves of *C. vulgaris* treated with WAFs of No.0 fuel oil (a) and crude oil (b) WAF

2.34、1.17、0.58 mg/L 实验组小球藻细胞密度均表现为持续上升, 但 2.34 mg/L 实验组小球藻细胞密度增长缓慢, 且细胞密度在第 96 小时显著低于同期对照组($P<0.05$)。1.17、0.58 mg/L 实验组小球藻细胞密度在整个实验过程中表现为持续上升, 且 96 h 时, 0.58 mg/L 实验组小球藻细胞密度显著高于同期对照组($P<0.05$), 1.17 mg/L 实验组小球藻细胞密度则略高于同期对照组($P>0.05$)。

2.3 0[#]柴油和原油 WAF 对小球藻的 96 h- EC_{50} 、 $NOEC$ 、 $LOEC$

根据公式(1)、(2)计算得到 0[#]柴油和原油 WAF 对小球藻的剂量反应关系及 96 h- EC_{50} (表 2), 结果表明, 0[#]柴油 WAF 对小球藻的 96 h- EC_{50} 值为 3.34 mg/L, $NOEC$ 值为 0.30 mg/L, $LOEC$ 值为 0.90 mg/L; 原油 WAF 对小球藻的 96 h- EC_{50} 值为 6.54 mg/L, $NOEC$ 值为 1.71 mg/L, $LOEC$ 值为 2.34 mg/L, 小球藻对 0[#]柴油 WAF 胁迫的敏感性高于原油 WAF。为了验证计算 96 h- EC_{50} 的可靠性, 对 0[#]柴油、原油 WAF 的剂量反应方程进行 χ^2 检验, 查 χ^2 表得 $\chi^2_{0.05}=23.685$, 本研究结果显示, 0[#]柴油、原油 WAF 的 χ^2 均小于 $\chi^2_{0.05}$ (表 2), 说明剂量反应方程符合精度要求。

表 2 0[#]柴油和原油 WAF 对小球藻的 96 h- EC_{50} 值、回归方程及 $NOECs$ 、 $LOECs$

Tab.2 EC_{50} values, $NOECs$, $LOECs$ and regression equations for *C. vulgaris* treated with WAFs of No.0 fuel oil and the crude oil

项目 Items	油品 Oil	
	0 [#] 柴油 WAF No.0 fuel oil WAF	原油 WAF Crude oil WAF
回归方程 Regression equation	$y=0.421x+1.01$	$y=0.181x+0.84$
R^2	0.98	0.92
χ^2	0.33	0.15
96 h- EC_{50} (mg/L)	3.34	6.54
95%置信区间(mg/L) 95% confidence interval	2.90–4.51	4.35–8.03
$NOEC$ (mg/L)	0.30	1.71
$LOEC$ (mg/L)	0.90	2.34

3 讨论

石油烃对海洋浮游植物生长的影响既可以表现为促进作用, 也可以表现为抑制作用, 促进或者抑制作用与石油烃的浓度有关(Pereira *et al*, 2012)。本研究, 在石油烃胁迫下小球藻表现出了较为明显的浓度效

应相关性,当石油烃暴露浓度较低时,0[#]柴油(0.30、0.10 mg/L 实验组)和原油(1.17、0.58 mg/L 实验组)WAF 均能促进小球藻的生长。两个实验组小球藻的密度在 96 h 内持续上升,在 96 h 时均显著高于同期对照组($P < 0.05$)(图 1),这与其他研究中低浓度石油条件对浮游植物的生长具有促进作用的结果一致(Nayar *et al.*, 2005; El-Sheekh *et al.*, 2000)。其原因是有毒物质在较低浓度下出现的增益现象(Stimulatory effects),即“毒物的兴奋效应”(Hormesis)所引起的(Stebbing, 1982)。在“毒物的兴奋效应”作用下,即在低浓度石油烃暴露条件下,小球藻细胞内活性氧自由基(ROS)会有一定程度的升高;而 ROS 的适当上升能够刺激藻体的细胞生长、密度升高;同时也能增强藻体内某些酶的活性,或者促进藻体细胞中的 DNA、RNA 和蛋白质的合成量增加(El-Sheekh *et al.*, 2000; Cerutti *et al.*, 1989),从而促进藻体的生长。此外,由于石油烃是由大量的碳氢化合物组成,这些碳氢化合物在藻体自身或者生活水体环境中微生物的降解作用下,可以转化为其生长所需的有机碳源和氮源等营养物质(Nayar *et al.*, 2005; Semple *et al.*, 1999),从而间接促进藻体的生长。但“毒物的兴奋效应”对浮游植物的生长促进作用,具有一定的浓度范围限制。由图 1 可以看出,石油烃对小球藻生长的促进作用随着石油烃浓度的增加而减弱,甚至对小球藻的生长产生抑制作用。0[#]柴油 WAF 2.70、0.90 mg/L 实验组能够在 24 h、48 h 之前促进小球藻的生长;原油 WAF 4.68 mg/L 实验组能够在 48 h 之前促进小球藻的生长,但这个促进生长的过程维持时间不长。0[#]柴油 WAF 2.70、0.90 mg/L 实验组小球藻的生长分别在 24 h、48 h 后受到抑制,细胞密度由增长变为下降;原油 WAF 4.68 mg/L 实验组小球藻的生长也在 48 h 后受到抑制,细胞密度也由增长变为下降。而在高浓度石油烃暴露时,0[#]柴油 8.10 mg/L 实验组和原油 9.36 mg/L 实验组 WAF 的小球藻生长直接受到抑制,实验一开始小球藻的细胞密度即开始下降(图1)。这是因为在高浓度石油烃暴露条件下,石油烃对小球藻生长的抑制作用占主导地位,过高浓度的石油烃首先会干扰小球藻的光合作用过程,降低小球藻对 CO₂ 的吸收、阻止细胞分裂、降低光合作用和呼吸作用速率(Singh *et al.*, 1990),同时使藻体细胞中的叶绿素 a、类脂色素、糖脂、甘油三酸酯等含量降低(Morales-Loo *et al.*, 1990),并且能够干扰抗氧化防御系统的正常运转(Aksmann *et al.*, 2008),从而对藻体产生毒性作用,抑制藻体的生长(Pereira *et al.*, 2012)。同时,表 2 的结果显示,0[#]柴油 WAF 对小球藻的 96 h-EC₅₀ 值低于原油 WAF,

即 0[#]柴油 WAF 对小球藻的毒性效应高于原油 WAF。这是因为石油烃的毒性主要来源于芳香烃组分及其衍生物(如苯、萘、菲)以及低分子量烷烃及烷基衍生物,且毒性与其含量呈正比关系(Pulich *et al.*, 1974)。而在本研究所用的两种石油污染物中,0[#]柴油 WAF 中芳香烃含量以及烷烃占总成分的比例均高于原油 WAF,因而 0[#]柴油 WAF 的毒性更高,对小球藻的生长抑制效应也比原油 WAF 更强。

4 结 论

(1) 0[#]柴油 WAF 中芳香烃及其取代物、烷烃比例均高于原油 WAF。

(2) 0.30、0.10 mg/L 的 0[#]柴油 WAF 和 1.17、0.58 mg/L 的原油 WAF 能够促进小球藻的生长,8.10、2.70、0.90 mg/L 的 0[#]柴油 WAF、9.36、4.68、2.34 mg/L 的原油 WAF 会抑制小球藻的生长。

(3) 0[#]柴油 WAF 对小球藻的 96 h-EC₅₀ 值为 3.34 mg/L, NOEC 为 0.30 mg/L, LOEC 为 0.90 mg/L;原油 WAF 对小球藻的 96 h-EC₅₀ 值为 6.54 mg/L, NOEC 为 1.71 mg/L, LOEC 为 2.34 mg/L。

参 考 文 献

- 王修林, 杨茹君, 祝陈坚. 石油烃污染物存在下旋链角毛藻生长的粒度效应初步研究. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2004, 34(5): 849-853
- 国家质量监督检验检疫总局. GB 17378-2007 海洋监测规范. 北京: 中国标准出版社, 2008
- 贾晓平, 林钦. 南海原油和燃料油对仔虾和仔鱼的急性毒性试验. 热带海洋, 1998, 17(1): 93-98
- 熊丽, 吴振斌, 况琪军, 等. 氯氰菊酯对斜生栅藻的毒性研究. 水生生物学报, 2002, 26(1): 66-73
- Aksmann A, Tukaj Z. Intact anthracene inhibits photosynthesis in algal cells: a fluorescence induction study on *Chlamydomonas reinhardtii* cw92 strain. Chemosphere, 2008, 74(1): 26-32
- Bejarano AC, Chandler GT, He L, *et al.* Individual to population level effects of South Louisiana crude oil water accommodated hydrocarbon fraction (WAF) on a marine meiobenthic copepod. J Exp Mar Biol Eco, 2006, 332(1): 49-59
- Cerutti P, Larsson R, Krupitza G, *et al.* Pathophysiological mechanisms of active oxygen. Mutat Res, 1989, 214(1): 81-88
- Chao M, Shen X, Lun F, *et al.* Toxicity of fuel oil water accommodated fractions on two marine microalgae, *Skeletonema costatum* and *Chlorella* spp. Bull Environ Contam Toxicol, 2012, 88(5): 712-716
- Desai SR, Verlecar XN, Ansari ZA, *et al.* Evaluation of genotoxic responses of *Chaetoceros tenuissimus* and *Skeletonema costatum* to water accommodated fraction of petroleum hydrocarbons as biomarker of exposure. Water Res, 2010, 44(7): 2235-2244

- EI-Sheekh MM, El Naggat AH, Osman MEH, *et al.* Comparative studies on the green algae *Chlorella homosphaera* and *Chlorella vulgaris* with respect to oil pollution in the river Nile. *Water Air Soil Poll*, 2000, 124(1–2): 187–204
- Gilde K, Pinckney JL. Sublethal effects of crude oil on the community structure of estuarine phytoplankton. *Estuar Coast*, 2012, 35(3): 853–861
- Guillard RR, Ryther JH. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can J Microbiol*, 1962, 8: 229–39.
- Lee RF, Page DS. Petroleum hydrocarbons and their effects in subtidal regions after major oil spills. *Mar Pollut Bull*, 1997, 34(11): 928–940
- Mackay D, Buist IA, Mascarenhas R, *et al.* Oil spill processes and models. Ottawa: Environment Canada, 1980
- Morales-Loo MR, Goutx M. Effects of water-soluble fraction of the Mexican crude oil “Isthmus Cactus” on growth, cellular content of chlorophylla, and lipid composition of planktonic microalgae. *Mar Biol*, 1990, 104(3): 503–509
- Nayar S, Goh BP, Chou LM. Environmental impacts of diesel fuel on bacteria and phytoplankton in a tropical estuary assessed using in situ mesocosms. *Ecotoxicology*, 2005, 14(3): 397–412
- Parab SR, Pandit RA, Kadam AN. Effect of Bombay high crude oil and its water-soluble fraction on growth and metabolism of diatom *Thalassiosira* sp. *Indian J Mar Sci*, 2008, 37(3): 251–255
- Pereira SA, Araújo VQ, Reboucas MV, *et al.* Toxicity of biodiesel, diesel and biodiesel/diesel blends: comparative sub-lethal effects of water-soluble fractions to microalgae species. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2012, 88(2): 234–238
- Pulich Jr WM, Winters K, Van Baalen C. The effects of a No. 2 fuel oil and two crude oils on the growth and photosynthesis of microalgae. *Mar Biol*, 1974, 28(2): 87–94
- Rodrigues RV, Miranda-Filho KC, Gusmão EP, *et al.* Deleterious effects of water-soluble fraction of petroleum, diesel and gasoline on marine pejerrey *Odontesthes argentinensis* larvae. *Sci Total Environ*, 2010, 408(9): 2054–2059
- Semple KT, Cain RB, Schmidt S. Biodegradation of aromatic compounds by microalgae. *Fems Microbiol Lett*, 1999, 170(2): 291–300
- Singh AK, Gaur JP. Effects of petroleum oils and their paraffinic, asphaltic, and aromatic fractions on photosynthesis and respiration of microalgae. *Ecotoxicol Environ Saf*, 1990, 19(1): 8–16
- Stebbing AR. Hormesis—the stimulation of growth by low levels of inhibitors. *Sci Total Environ*, 1982, 22(3): 213–234
- Wang JS, Chou HN, Fan JJ, *et al.* Uptake and transfer of high PCB concentrations from phytoplankton to aquatic biota. *Chemosphere*, 1998, 36(6): 1201–1210
- Zakaria MP, Horinouchi AI, Tsutsumi S, *et al.* Oil pollution in the Straits of Malacca, Malaysia: Application of molecular markers for source identification. *Environ Sci Technol*, 2000, 34(7): 1189–1196

(编辑 江润林)

Effects of Water Accommodated Fraction of No.0 Fuel Oil and Crude Oil on the Growth of *Chlorella vulgaris*

LI Lei, SHEN Xinqiang, WANG Yunlong, JIANG Mei^①

(East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090)

Abstract We performed 96 h growth tests in a batch-culture system to study the effects of water accommodated fraction (WAF) of No.0 fuel oil and the crude oil on the growth of *Chlorella vulgaris*. The results showed that the growth of algal cells was inhibited by WAF of No.0 fuel oil at the concentrations of 8.10 mg/L, 2.70 mg/L and 0.90 mg/L. As for WAF of the crude oil, the inhibiting concentrations were 9.36 mg/L, 4.68 mg/L, and 2.34 mg/L. After 96 h, the densities of algal cells in the 0.10 mg/L No.0 fuel oil group and the 0.58 mg/L crude oil group were significantly higher than that in the control groups. In the contrast, the growth of algal cells was promoted by WAF of No.0 fuel oil at 0.30 mg/L and 0.10 mg/L, and by WAF of the crude oil at 1.17 mg/L and 0.58 mg/L. The 96 h median effect concentrations (EC_{50}) of WAFs of No.0 fuel oil and the crude oil were 3.34 mg/L and 6.54 mg/L respectively. The no observed effect concentrations ($NOECs$) of WAFs of No.0 fuel oil and crude oil were 0.30 mg/L and 1.71 mg/L respectively. The lowest observed effect concentrations ($LOECs$) of the two were 0.90 mg/L and 2.34 mg/L respectively. The toxicity of WAF of No.0 fuel oil was higher than that of the crude oil, which mainly resulted from the differences in the components of the two WAFs.

Key words *Chlorella vulgaris*; No.0 fuel oil water accommodated fraction; Crude oil accommodated fraction; Growth

① Corresponding author: JIANG Mei, E-mail:jiangrose73@163.com