

三苯基氯化锡对海洋微藻群落结构的影响*

李正炎 李 钧 颜 天 滕文法 周名江

(中国科学院海洋研究所)

有机锡从 60 年代开始曾被广泛用作海洋防污涂料的活性成分,它是人为引入海洋环境中的毒性最大的物质之一。近十年来,国外关于有机锡对海洋动物的毒性已作了大量的研究 (Bryan *et al.*, 1986; Alzieu, 1991; Triebkorn, 1994), 有机锡对海洋藻类影响的研究相对较少,且多集中于有机锡对单种藻的生长、光合、营养吸收、毒性积累等方面 (Evans and Smith, 1975; Wong *et al.*, 1982; Thain, 1983)。到目前为止还没有人从海藻群落的角度来研究有机锡的毒性效应,本文试图在这方面做些探讨,了解有机锡对海洋生态系统中微藻群落结构变动和优势种演替的影响,为在我国制订有机锡海水水质标准提供实验依据。

一、材料和方法

(1) 实验用等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*), 新月菱形藻 (*Nitzschia closterium*) 和扁藻 (*Platymonas* sp.) 为材料。藻种由中科院海洋研究所藻类室提供,在生物培养室中进行无锡污染单种培养。所用光源为 40W 白色荧光灯,光强 2000—2500Lx,光暗周期 L:D = 12h:12h,温度 16—18℃。培养用海水 (pH = 8.1, 盐度 = 32) 取自青岛近岸,经四层纱布过滤,煮沸消毒,冷却后按一定比例加入 N、P、K、微量元素、维生素等营养盐后用作培养液。

鉴于国内防污涂料活性成分中的有机锡主要是三苯基氯化锡 (TPTC),因而本文用三苯基氯化锡做试验。三苯基氯化锡分子式 (C_6H_5)₃SnCl, 分子量为 385.5, 含锡量为 30.4%, 纯度在 99.99% 以上,白色粉末,日本进口,用分析纯丙酮配成 500mg/L 母液,稀释后用于实验。

(2) 实验用 100mL 三角烧瓶经 1:3 盐酸浸泡 12h, 去污粉洗涤, 冲净后于 100℃ 烘箱内消毒 6 h 用于实验。待微藻生长至对数期时, 各取一定量的藻液混合后用培养液稀释一定倍数, 使藻液中总细胞浓度约为 4×10^4 细胞/mL。在每个三角烧瓶中移入 80mL 混合藻液, 再加入一定量的 TPTC, 使培养介质中的 TPTC 浓度分别为 0, 0.01, 0.1, 1, 10, 50μg/L, 设置两个重复。在藻类培养室中培养, 每两天取样固定, 在 Olympus 倒置

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 2739 号。

本课题为国家自然科学基金资助项目, 99290600 号。

收稿日期: 1995 年 9 月 7 日。

显微镜下计数混合藻液中各种藻细胞的数量,12天后结束实验。

二、实验结果

1. TPTC 对海洋单细胞藻生长的影响 在实验浓度范围内, TPTC 能抑制等鞭金藻细胞的生长和分裂,且 TPTC 浓度越高,抑制作用越强;当 TPTC 浓度达到 $1\mu\text{g/L}$ 时,等鞭金藻细胞分裂速度下降近 50%;当 TPTC 浓度达 $10\mu\text{g/L}$ 时,等鞭金藻停止生长,并且有部分细胞被杀死(表 1)。

表 1 TPTC 对海洋单细胞藻 96h 指数生长常数 K 的影响

TPTC 浓度 ($\mu\text{g/L}$)	0	0.01	0.1	1	10
等鞭金藻	0.999	0.951	0.894	0.545	-0.019
新月菱形藻	0.997	1.101	1.007	0.942	0.351
扁藻	1.042	1.053	1.034	0.815	0.329

浓度为 $1\mu\text{g/L}$ 以下的 TPTC 对新月菱形藻的生长无明显影响, $0.01\mu\text{g/L}$ 和 $0.1\mu\text{g/L}$ 的 TPTC 能轻微促进新月菱形藻的细胞分裂;当 TPTC 浓度达到 $10\mu\text{g/L}$ 时,新月菱形藻生长受到明显抑制,细胞分裂速度下降 65% (表 1);但在实验进行 4 天后,其生长有所恢复(图 1)。

浓度为 $0.1\mu\text{g/L}$ 以下的 TPTC 对扁藻生长无明显影响, $0.01\mu\text{g/L}$ 的 TPTC 对其生长略有促进作用;当 TPTC 浓度达到 $1\mu\text{g/L}$ 时,扁藻生长显著受抑,细胞分裂速度比对照组下降 20%;当 TPTC 浓度达到 $10\mu\text{g/L}$ 时,扁藻细胞分裂速度只有对照组的 30% (表 1)。

在 $50\mu\text{g/L}$ 的 TPTC 处理组中,3 种藻细胞均停止生长,大量细胞解体,4 天后未检出活细胞,在实验时间范围内未出现恢复现象。

从表 1 可以看出,在 $0.01-10\mu\text{g/L}$ 的 TPTC 浓度范围内,等鞭金藻、新月菱形藻和扁藻的 96h 相对指数生长常数 K_i/K_0 值与 TPTC 浓度之间的关系可以用二次曲线拟合,拟合曲线方程为:

$$\text{等鞭金藻: } Y = -0.1269X^2 + 0.3082X + 0.7745 \quad r^2 = 0.9995$$

$$96\text{hEC}_{50} = 1.32\mu\text{g/L}$$

$$\text{扁藻: } Y = -0.1220X^2 + 0.3308X + 0.7886 \quad r^2 = 0.9993$$

$$96\text{hEC}_{50} = 4.55\mu\text{g/L}$$

$$\text{新月菱形藻: } Y = -0.1246X^2 + 0.3909X + 0.8102 \quad r^2 = 0.9954$$

$$96\text{hEC}_{50} = 6.21\mu\text{g/L}$$

式中: $Y = K_i/K_0$

$$X = \lg C + 3$$

C 为 TPTC 浓度 ($\mu\text{g/L}$)

K_i, K_0 为处理组和对照组中藻细胞的指数生长常数

指数生长常数 K 的计算公式为 $K = (\ln C_t - \ln C_0)/t$, 其中 C_t 和 C_0 分别为 t 时刻

和零时刻的藻细胞密度。

2. TPTC 对海洋微藻群落结构组成和生物演替的影响

从图1可以看出, 在

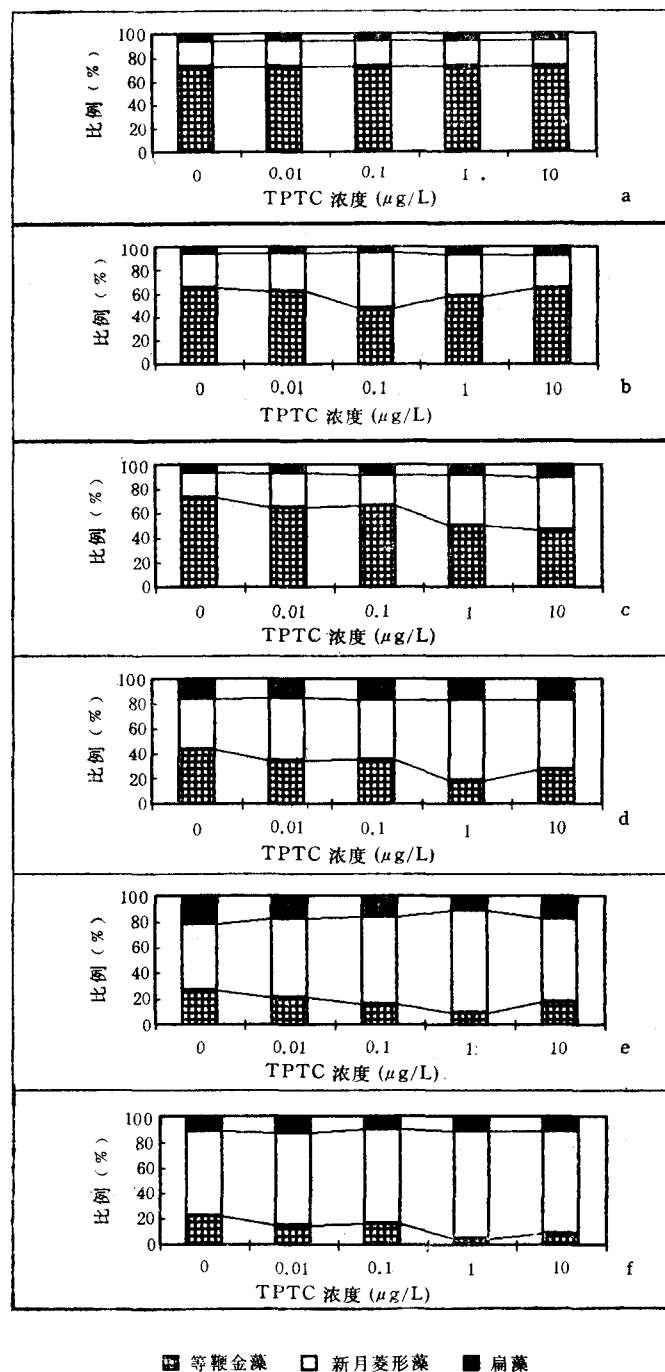


图1 三苯基氯化锡对海洋微藻群落结构组成的影响

a. 0 天; b. 2 天后; c. 4 天后; d. 6 天后; e. 8 天后; f. 12 天后

0.01—1 $\mu\text{g/L}$ 的 TPTC 浓度范围内,总的趋势是:在实验过程中,等鞭金藻细胞数量占群落总细胞数的比例逐渐下降,且 TPTC 浓度越高,下降越显著;在 10 $\mu\text{g/L}$ 的 TPTC 处理组中,与对照组相比,等鞭金藻比例也呈下降趋势,但下降速度有所减缓。在 0.01—1 $\mu\text{g/L}$ 浓度的 TPTC 范围内,新月菱形藻比例有上升的趋势,且 TPTC 浓度越大,上升越明显;在 10 $\mu\text{g/L}$ 的 TPTC 处理组中,与对照组相比,新月菱形藻比例也呈上升趋势,但上升速度有所减慢。扁藻的变动比较复杂,在实验 4 天内,扁藻比例基本保持不变,处理组与对照组无明显差异,实验进行 6 天后,在 0.01—1 $\mu\text{g/L}$ 的 TPTC 浓度范围内,随着 TPTC 浓度的升高,扁藻比例略有下降趋势。

3. TPTC 对海洋微藻群落细胞总数的影响 实验发现,0.1 $\mu\text{g/L}$ 以下的 TPTC 对群落细胞总数无显著影响,0.01 $\mu\text{g/L}$ 的 TPTC 处理组中,细胞总数略有上升;当 TPTC 浓度达到 1 $\mu\text{g/L}$ 时,4 天后细胞总数下降 50% 以上,8 天后有所回升;当 TPTC 浓度达到 10 $\mu\text{g/L}$ 时,4 天后细胞总数下降 90% 以上;在 50 $\mu\text{g/L}$ 的 TPTC 处理组中,4 天后细胞全部死亡(图略)。

三、结语与讨论

(1) 等鞭金藻细胞圆形,直径 3—3.5 μm ,属金藻门;扁藻细胞略呈扁形,长 15—18 μm ,宽 7—10 μm ,属绿藻门;新月菱形藻细胞呈镰刀形,长 12—23 μm ,属硅藻门。它们在海湾、浅海养殖场及海滨养殖虾池中大量分布,其中等鞭金藻和扁藻是常见的单细胞饵料藻,有较高的经济价值,所以本实验选取这 3 种藻分别作为金藻门、绿藻门及硅藻门的代表,在实验室内模拟建立海洋微藻群落,研究 TPTC 对微藻群落结构变动和优势种演替的影响。

(2) 实验发现,不同种类的微藻对 TPTC 的敏感性不同,等鞭金藻最敏感,扁藻次之,新月菱形藻对 TPTC 的忍耐性最强。这是因为等鞭金藻细胞个体较小,并且细胞表面只有一层细胞膜包裹,没有细胞壁的保护,TPTC 分子更易进入细胞内部,破坏叶绿体、线粒体等细胞器的功能,从而抑制细胞的生长和分裂;而新月菱形藻属硅藻类,细胞外部覆盖着一层坚实的细胞壁,对 TPTC 分子有一定的防御作用,因而其耐受性较强;扁藻细胞外表虽然也有细胞壁,但不如硅藻类细胞壁致密,因而扁藻对 TPTC 的耐受性不如新月菱形藻强。另外,TPTC 对浮游植物的毒性还与其生长环境和生理生态条件有关。

(3) 本实验中,0.01—1 $\mu\text{g/L}$ 的 TPTC 能导致海洋微藻群落中等鞭金藻比例下降,新月菱形藻比例上升,且 TPTC 浓度越高,等鞭金藻与新月菱形藻下降或上升的幅度越大。但 TPTC 浓度达到 10 $\mu\text{g/L}$ 时,与对照组相比,等鞭金藻比例虽然仍有下降,新月菱形藻比例仍有上升,但下降或上升的幅度反而比低浓度的 TPTC 处理组小。这是由于在低浓度的 TPTC 处理组中,等鞭金藻的生长已受到一定的抑制,而新月菱形藻则基本不受影响,因而新月菱形藻比例急剧上升;当 TPTC 浓度达到 10 $\mu\text{g/L}$ 时,虽然等鞭金藻已停止生长,甚至有部分细胞解体,但同时新月菱形藻的生长也受到强烈的抑制作用,因而新月菱形藻比例上升的幅度反而比低浓度的 TPTC 处理组小。

(4) 由本实验可知, TPTC 能干扰海洋微藻群落的结构变动和生物演替过程。TPTC 的作用使金藻类、绿藻类等对 TPTC 较敏感的种类出现衰退, 或者能加速这种衰退过程, 而硅藻等对 TPTC 耐受性较强的种类则上升成为优势种。以上现象在养殖水域中尤其应该受到重视, 因为等鞭金藻、扁藻都是鱼、虾、贝类的优质饵料, 营养成分较高, 而硅藻类因其壁厚, 营养价值较低, 养殖水域中硅藻上升成为优势种必然会影响到养殖产量的提高。

(5) 自 80 年代以来, 国际上英国、美国、日本、加拿大及西班牙等许多国家都相继制订了有机锡污染的控制措施, 并颁布了相应的有机锡海水水质标准, 而我国到目前为止还没有这方面的措施。鉴于国内对外开放的进一步深入, 国际货运交流量的增大, 我国部分港口海域正面临着有机锡污染的威胁, 因而在我国迫切需要进一步开展有机锡污染的研究, 制订有机锡的海水水质标准或渔业水质标准, 这对保护我国沿海海域环境, 发展海水养殖事业具有战略性的意义。

参 考 文 献

- Alzieu, C., 1991, Environmental problems caused by TBT in France: Assessment, Regulations & Prospects, *Mar. Environ. Res.*, **32**: 7—17.
- Bryan, G. W. *et al.*, 1986, The decline of the gastropod, *Nucella lapillus* around Southwest England: Evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints, *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **66**: 611—640.
- Evans, C. J. & P. J. Smith, 1975, Organotin-based antifouling systems, *J. Oil Colour. Chem. Assoc.*, **58**(5): 160—168.
- Thains, J. E., 1983, The acute toxicity of bis(tributyltin) oxide to the adults and larvae of some marine organisms, *Int. Counc. Explor. Sea, Mar. Environ. Qual. Comm.*, **13**: 5.
- Triebkern, R., 1994, Evaluation of bis(tri-n-butyltin) oxide (TBTO) neurotoxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) II. Ultrastructural diagnosis and tin localization by energy filtering transmission electromicroscopy (EFTEM), *Aquaticology*, **30**: 199—213.
- Wong, R. T. S. *et al.*, 1982, Structure-toxicity relationship of tin compounds on algae, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **39**: 483—488.

THE EFFECTS OF TPTC ON STRUCTURAL VARIATION OF MARINE MICROALGAE COMMUNITY*

Li Zhengyan, Li Jun, Yan Tian, Teng Wenfa and Zhou Mingjiang

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences)

ABSTRACT

Use of *Isochrysis galbana*, *Nitzschia closterium*, *Platymonas* sp., studies of the effects of TPTC on structural variation and biosuccessive process of marine microalgae community showed that the toxicity of TPTC to them was in the order of *Isochrysis galbana*, *Platymonas* sp. and *Nitzschia closteriu* and that their 96 h EC₅₀ of exponential growth coefficients were 1.32, 4.55 and 6.21 µg/L, respectively. At concentration of 0.01—1 µg/L, TPTC will accelerate the decline of *Isochrysis galbana* while promote *Nitzschia closterium* to become the dominant species. TPTC at 10 µg/L will break down the microalgae community.

* Contribution No. 2739 from the Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences.