

三苯基氯化锡对等鞭金藻细胞 超微结构的影响*

李正炎 李 钧 颜 天 周名江

(中国科学院海洋研究所)

有机锡对海洋微藻的毒性效应研究主要侧重于对各种微藻生长半抑制浓度的比较(赵丽英等,1990)和富集能力的测定(Beaumont and Newmen, 1986),以及对微藻固碳能力(Callow and Evans, 1981)和色素含量的影响(高尚德等, 1994),而对海洋微藻的细胞器损伤方面的研究相对较少。本文以半抑制浓度的 TPTC 处理等鞭金藻细胞,观察其超微结构的变化,为研究有机锡对海洋微藻的毒性效应提供了细胞学方面的基础资料。

一、材料与方 法

1. 藻种 实验藻种及培养条件同上篇。

2. 实验药品 三苯基氯化锡 (Triphenyltin, TPTC), 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。

3. 实验方法 培养容器为 3L 的三角烧瓶, 经 1:3 盐酸浸泡, 冲洗干净后用于实验。每瓶移入一定量新鲜、煮沸、冷却的海水, 加入营养盐, 将正处于指数生长期的等鞭金藻接种到各三角瓶中, 接种密度为 10^5 细胞/mL, 再加入一定量的 TPTC, 使各瓶中 TPTC 浓度分别为: 0, 1.2, 1.8, 2.4, 3.0 $\mu\text{g/L}$ 。培养条件为: 光暗比 L:D = 12h:12h, 光照强度为 3500Lx, 温度 $18 \pm 1^\circ\text{C}$ 。一次性培养 96h 后, 用血球计数板计数各培养瓶中的藻液密度, 测得指数生长常数的半影响浓度为 2.7 $\mu\text{g/L}$ 。将在半抑制浓度的 TPTC 培养液中培养 96h 的等鞭金藻细胞与对照组细胞分别通过透射电镜 (ETM) 进行细胞形态和超微结构的比较观察。电镜样品制备方法为: 实验材料离心后用冻粉预包埋, 5% 戊二醛固定, 1% 锇酸后固定, 酒精系列脱水, Epon 包埋, LKB 超薄切片机切片, 最后用铅铀双染色, 日立 H-500 型透射电镜观察。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 2741 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。

二、实验结果

经半抑制浓度 TPTC 处理的细胞在光镜下观察发现细胞发生肿胀,出现细胞团聚体,用电镜观察发现某些细胞器结构受到明显破坏,其中线粒体、叶绿体受损伤最严重,细胞双层膜结构也受到明显破坏。对照组等鞭金藻细胞轮廓清晰,细胞膜光滑完整(图版 1:1)。细胞内有一杯状叶绿体,叶绿体中有一淀粉核,叶绿体光合片层上下首尾相连成巨大的网状结构,充满在细胞的四周及底部。线粒体呈椭圆形,双层膜结构完整,线粒体内膜折叠形成嵴,线粒体基质均匀致密。细胞中央有一核,核仁清晰可见,核基质均匀,核膜完整。细胞顶部有数个液泡,椭圆形,液泡膜结构完整(图版 1:1)。

中毒等鞭金藻细胞外膜发生褶皱,双层结构部分破坏(图版 1:2),线粒体肿胀变形,中部出现凹陷,线粒体内嵴局部解体,基质出现空泡(图版 1:3)。叶绿体光合片层部分重叠成厚块状,网状结构被破坏,各光合片层之间不连续,基粒数量减少,叶绿体基质出现空泡(图版 1:2)。细胞核内出现电子致密斑,这可能是由于染色质凝聚引起的,核膜部分解体(图版 1:2)。液泡形状不规则,液泡膜部分解体。细胞质基质出现电子透明区(图版 1:3)。

三、讨论

(1) 本实验发现,有机锡污染能使等鞭金藻细胞线粒体肿胀,线粒体内嵴局部瓦解,基质出现空泡。Soyer & Prevot (1981), Smith (1983) 在研究汞、锌等重金属对海洋微藻的毒性效应时也发现线粒体水肿和内嵴局部瓦解现象。线粒体是藻体的重要能量转换器,线粒体受损伤意味着能量供应减少。李筠等(1993)在研究有机锡对扁藻细胞的毒性时也发现中毒细胞的 ATP 含量显著下降,这说明中毒细胞内异常的生理生化反应与细胞器超微结构的变化是互为因果的。

(2) 有机锡污染能使等鞭金藻细胞叶绿体光合片层上下脱节、网状结构不连续、基粒数量减少。Lee (1980) 认为藻类处于不利环境中,叶绿体内部会出现团块,本实验结果与该结论是一致的。叶绿体是藻类细胞的另一种能量转换器,它能将吸收的光能转换为化学能储存在体内,叶绿体光合片层的网状结构大大增加了光合作用的受光面积,类囊体膜中包含各种光合色素,光合片层基质中含有光合作用暗反应所需的酶系统,当等鞭金藻受有机锡毒害时,藻细胞叶绿体结构受损伤,这就影响到藻体的光合过程,降低光合能力。据此推测,自然水体中有机锡污染能减少浮游植物的初级生产量,进而影响浮游动物,乃至鱼类等高等动物种类的产量,从而干扰海洋生态系统正常的结构与功能。

(3) 李正炎等(1995)实验证实,有机锡污染能导致等鞭金藻细胞中 P 含量显著下降。P 是磷脂的重要构件,而磷脂又是细胞膜的重要组成部分,也是细胞质基质的组成成分。本实验发现受有机锡毒害的等鞭金藻细胞。双层膜结构被破坏,线粒体基质、叶绿体基质和细胞质基质均出现空泡,因此有机锡对等鞭金藻线粒体、叶绿体及膜结构的损伤很可能与中毒细胞中 P 含量的下降有直接关系。

参 考 文 献

- 高尚德等, 1994, 有机锡对海洋微藻的生理效应 I. 三苯基锡和三丁基锡对光合色素含量的影响, *海洋与湖沼*, **25**(3): 259—265。
- 李筠等, 1993, 三苯基氯化锡 (TPTC) 对海洋微藻的毒性效应 II. 对扁藻 (*Platymonas* sp.) ATP 含量的影响, *青岛海洋大学学报*, **23**(4)。
- 李正炎等, 1996, 三苯基氯化锡对等鞭金藻生理功能的影响, *海洋科学集刊*, **37**: 115—120。
- 赵丽英等, 1990, 有机锡对海洋微藻的毒性效应, *青岛海洋大学学报*, **20**(4): 125—131。
- 周名江等, 1994, 海洋环境中的有机锡及其对海洋生物的影响, *环境科学进展*, **2**(4): 67—76。
- Beaumont, A. R. & P. B. Newman, 1986, Low levels of tributyltin reduce 'growth of marine microalgae, *Mar. Pollut. Bull.*, **17**(10): 457—461。
- Callow, M. E. & L. V. Evans, 1981, Some effects of tributyltin chloride on *Achnanthes subsessilis*, *Botanica Marina*, **124**: 201—205。
- Lee, R. E., 1980, *Phycology*, Cambridge University Press (London), 1—19。
- Smith, M. A., 1983, The effect of heavy metals on the cytoplasm fine structure of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyta), *Protoplasma*, **116**: 14—23。
- Soyer, M. O. & P. Prevot, 1981, Ultrastructure damage by cadmium in a marine dinoflagellate *Procerentrum micans*, *J. Protozool.*, **28**(3): 308—313。

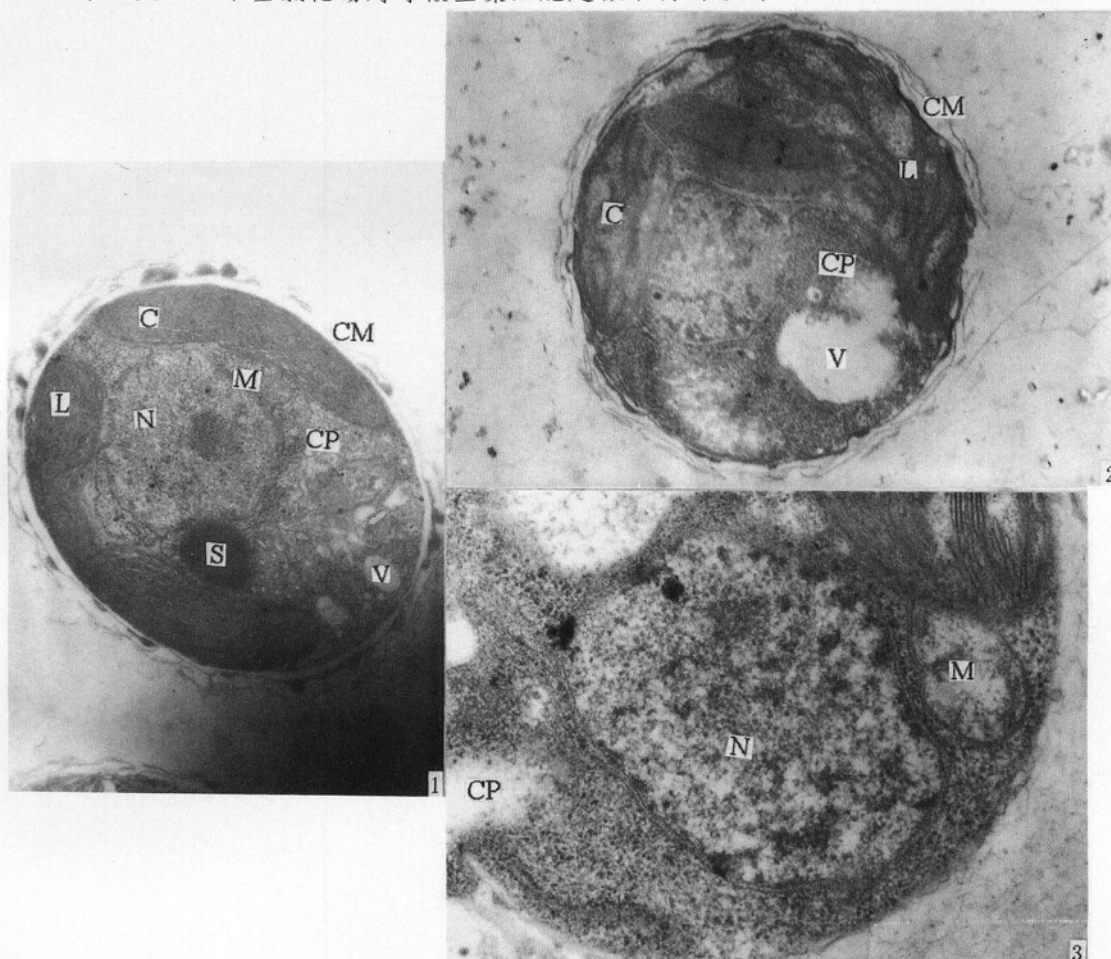
ULTRASTRUCTURAL DAMAGE OF *ISOCHRYSIS GALBANA* CELLS BY TRIPHENYLTIN CHLORIDE (TPTC)*

Li Zhengyan, Li Jun, Yan Tian and Zhou Mingjiang
(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences)

ABSTRACT

Electron Transmission examination of the ultrastructure of *Isochrysis galbana* cells exposed to TPTC at half effective concentration (EC_{50}) showed that the mitochondria was swollen, and that ridge was damaged. In the chloroplast, the thylakoids were piled up and the reticulate structure of the photosynthetic lamellae was damaged. The nuclear and vacuole membrane was partially damaged, the cytoplasm was vacuolated. Cell membrane was folded and partially damaged.

* Contribution No. 2741 from the Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences.



1. 正常细胞 ($\times 12,000$) C. 叶绿体; CM. 细胞膜; CP. 细胞质; L. 光合片层; M. 线粒体; N. 细胞核; S. 淀粉粒; V. 液泡 2. 经半抑制浓度的 TPTC 处理的等鞭金藻细胞 ($\times 12,000$) C. 叶绿体 (基粒数量减少); CM. 细胞膜 (轮廓模糊、双层膜结构部分破坏); CP. 细胞质 (出现空泡); L. 光合片层 (出现重叠); V. 液泡 (膜部分解体) 3. 经半抑制浓度的 TPTC 处理的等鞭金藻细胞 ($\times 27,000$) M. 线粒体 (肿胀、内嵴破坏、基质部分空泡化)