# 三苯基氯化锡对扁藻细胞超微结构的影响\*

陈国蔚 李 筠 姜 明† 刘晓云†

(青岛海洋大学生物系,青岛 266003) (<sup>†</sup>青岛海洋大学测试中心,青岛 266003)

**提要** 于 1992 年 4 月—1992 年 6 月以扁藻为材料进行半抑制浓度三苯基氯化锡处 理 72h 实验,用透射电镜观察中毒状态扁藻细胞超微结构的变化。结果表明,线粒体发生水肿,内 脊局部瓦解,基质内出现由双层膜包围的同心质膜轮;叶绿体内光合片层的网状结构被破坏, 光合片层上下重叠成厚块状;蛋白核中央髓部肿胀,淀粉鞘破裂成多角形淀粉板,并分散在髓 部周围;叶绿体基质中出现大量淀粉粒,眼点因受淀粉粒挤压而由藻体中下部移至藻体底部。 比较各细胞器对 TPTC 的反应,线粒体和叶绿体最为敏感,细胞核则表现得相当稳定。

关键词 三苯基氯化锡 半抑制浓度 扁藻 超微结构

毒性较强的三苯基氯化锡,因其显著的防污性能被广泛应用于配制海洋防污涂料,但 在船舶防污中起积极作用的同时也不可避免地污染周围环境,危害非目标生物(程作联, 1989)。由有机锡形成的海洋污染已引起环境生物学家的普遍关注,并开展大量工作。其 中有关海洋微藻的研究报道,较多地侧重于对各种微藻半抑制浓度的比较和富集能力的 测定,以及在半抑制浓度下生理生化的异常反应(赵丽英等,1990; Beaumant et al., 1986; Walsh, 1985)。本文报告扁藻在半抑制浓度三苯基氯化锡处理后,细胞超微结构 的变化,为研究有机锡对海洋微藻的毒性效应提供细胞学方面的基础资料。

#### 1 材料与方法

**1.1** 藻种 本实验所用扁藻 (*Platymonas* sp.) 取自青岛海洋大学生物系 微 藻 培 养 室。

**1.2** 实验步骤和方法 实验所用三苯基氯化锡 (TPTC)[(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>),SnCl] 母液 (丙酮溶 剂)由青岛海洋大学化学系提供。用 f/2 营养盐配方配制成含 锡 量 依 次 为 4.2 × 10<sup>-9</sup>, 5.0 × 10<sup>-9</sup>, 5.9 × 10<sup>-9</sup>, 6.7 × 10<sup>-9</sup>, 7.6 × 10<sup>-9</sup> 和 8.4 × 10<sup>-9</sup>mol/L 培养液,对照组不含 TPTC。扁藻在温度为 24.5±1℃,光照为 2 000—3 250lx,光:暗 = 14:10, pH = 8.0± 0.1,盐度在 30.0±1.0 等条件下,一次性培养 72h。用血球计数板通过细胞个体计数,测得 半抑制浓度为 6.7 × 10<sup>-9</sup>mol/L。

将培养在半抑制浓度中扁藻细胞与对照组分别通过透射电镜进行超微结构的比较观 察。

电镜样品制备,实验材料用 2.5% 戊二醛固定后,再用锇酸固定,常规脱水, Epon 包埋,以 LKB 超薄切片机切片,最后用铅铀双染色。日立 H-7000 型透射电镜观察。

<sup>\*</sup> 国家自然科学基金资助,48970274 号。 收稿日期: 1992 年 7 月 28 日,接受日期: 1993 年 9 月 30 日。

### 2 结果

经半抑制浓度 TPTC 处理的中毒细胞在光镜下观察,细胞内原生质已开始收缩,各 细胞器因界限不清晰而无法分辨。用电镜观察的结果表明,某些细胞器中毒显著,其中尤 以线粒体和叶绿体最为明显;而对另一些重要细胞器,如细胞核、高尔基体等,却没有产生 作用。详细描述如下:对照组扁藻细胞内在靠近深沟底部鞭毛基部附近,有一大而明显 的细胞核,核内有一核仁(图版 I:1N)。高尔基体位于鞭毛基部两侧,细胞核附近(图版 I:1G)。叶绿体的光合片层大多含 2--6条类囊体,上下片层首尾相连成巨大的网状结构, 充满在细胞的四周及底部(图版 I:1L)。叶绿体内有一蛋白核,中央有一较大的电子稠密 区,是蛋白核的髓部(图版 I:1P),其外有一淀粉鞘包围;淀粉鞘因有细胞质素伸人髓部而 呈开口的马蹄形(图版 I:1,箭头所示)(Mantom et al., 1965; Malachlan et al., 1967), 通常藻类细胞凡具淀粉鞘的种类,其淀粉鞘均是封闭的环状,马蹄形淀粉鞘为扁藻特具性 状。线粒体细长管状,内脊长且数量多(图版 I:3M)。眼点由多数类脂类小体排列成两列 而成,位于藻体中下部蛋白核附近(图版 I:2E)。

中毒扁藻细胞内线粒体数量未见明显减少,双层膜结构也尚未受到伤害,但线粒体直 径与长度之比明显加大,表明线粒体已出现水肿;内脊局部解体,表现在数量减少和长度 变短;同时基质内出现由双层膜包围的电子透明区(图版 I:4,箭头所示)。叶绿体光合片 层结构被破坏,开始从首尾相连处脱开,各自呈游离状态,继而上下重叠成厚块状(图版 I:6L)。蛋白核髓部肿胀(图版 I:5P);淀粉鞘破裂成多数大小不等、形状不一的淀粉板分 散在髓部周围(图版 I:5,箭头所示)。此外,在叶绿体基质中,出现大量淀粉粒;眼点因受 淀粉粒挤压,从细胞中下部蛋白核附近移至细胞底部(图版 I:6S,E)。

#### 3 讨论与结语

3.1 线粒体的毒性效应 在经半抑制浓度 TPTC 处理的中毒扁藻细胞内,线粒体形态结构发生明显的变化,其中线粒体的水肿及内脊局部瓦解是对生命活动最具影响的变化。在 Silverberg (1976),Smith (1983)和 Soyer 等(1981)用镉、汞、锌等重金属对淡水和海洋微藻的毒性效应实验中,均发现线粒体水肿和内脊局部瓦解现象。线粒体是藻体的重要换能器,主要是通过氧化磷酸化获得大量能量供机体。内脊膜表面包含与氧化磷酸化有关的酶系统,内脊数量减少,长度变短即意味供能减少。经李筠等<sup>30</sup>实验证实,扁藻经 6.7 × 10<sup>-9</sup>mol/L 处理 72h,测得腺苷三磷酸 (ATP)含量仅为对照组的 1/10,这一结果必然对生长产生抑制作用,而氧化磷酸化过程的抑制又导致钾、钠离子平衡破坏,使线粒体发生水肿。因此,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。同时,基质内出现的由双层膜包围的电子透明区,在 Silverberg (1976)和 Soyer 等 (1981)的实验中均有报道,前者称它为同心质膜轮 (concentric membrans whorls);后者认为,基质中出现这一现象是线粒体被破坏的初始阶段,继而双层膜被单层膜取代,当基质内仅出现电子透明区而无任何膜包被时,表明线粒体已发生空泡化而濒临解体。本实验在扁藻线粒体内出现的电子透明区是由双层膜结构所包被,表明 TPTC 的半抑制浓度是对扁藻细胞器产生影响的起始浓度。

<sup>1)</sup> 李筠、陈国蔚等, 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。(待刊)

**3.2** 叶绿体的毒性效应 叶绿体是藻类细胞的另一种能量转换器。 主要功能是将 吸收的光能转换成化学能贮存在碳水化合物内。扁藻叶绿体属于高级进化类型,具有同高等植物相似的结构,网状光合片层总面积远超过叶绿体表面积,从而扩大了光合作用受光面积。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,在正常情况下,叶绿体各部分密切配合,保证光合作用正常进行;当扁藻受 TPTC 毒害时,光合片层的网状结构被破坏,上下重叠成厚块状,这与 Lee (1980) 提出的藻类细胞处于不利环境时,叶绿体内部会出现团块的结论是一致的。团块结构使光合作用受光面积大为减少,同时 TPTC 也影响光合作用酶系统的活动,最后导致光合作用受 阳"。

在微藻对重金属毒性效应的细胞学研究中,不同种类微藻的叶绿体对不同重金属的 敏感程度不尽相同,有的较为敏感(Sicko-Goad,1982;Smith,1983),而有的却极为 稳定,如在 Soyer 的实验中,海洋原甲藻 Prorocentrum micans 在 0.2 × 10<sup>-6</sup>mol/L(原 文为 20ppb)镉溶液内处理 6d,在线粒体产生结构变化时,却未对叶绿体产生影响;当镉 浓度增至 0.4 × 10<sup>-6</sup>mol/L(原文为 40ppb)处理时间延长至 2 个月时,叶绿体才发生膨 胀甚至解体。因此 Soyer 认为,海洋原甲藻的叶绿体是一种稳定的细胞器。本研究观察 表明,扁藻的叶绿体和线粒体的超微结构在半抑制浓度作用 72h 时均发生变化,这就意味 着扁藻是对 TPTC 敏感的种类。

**3.3** 细胞核等其他细胞器的毒性效应 在 Soyer (1981)的报道中认为,细胞核是稳定的细胞器。高尔基体在重金属毒害下,扁囊常会发生空泡化。 本实验未见细胞核和高尔基体出现任何中毒的迹象,但这并不意味着它们未受到 TPTC 的毒害。因为李筠等<sup>2,3)</sup> 研究表明,此时生理活性的多项指标如: ATP、氨基酸、脂肪酸含量的测定结果与对照组相比均有明显下降,说明生理功能受阻;即使在刺激细胞增长的低浓度 TPTC 中[(4.2-5.9)×10<sup>-9</sup>mol/L],细胞内所有细胞器的超微结构尚未受到影响时,所测试的各项指标也已产生了不同程度的变化。上述现象表明,在一定的毒性强度内,通常在小于半抑制浓度情况下,藻体可通过改变生物大分子属性,调节生理功能来适应和抵抗不良环境;环境胁迫一旦超过藻体耐受限度,如在本实验中超过半抑制浓度时,则代谢严重紊乱,进而引起相应细胞器结构的改变甚至破坏。

综上所述,在 TPTC 对扁藻的毒性效应中,生理功能反应远较细胞器变化敏感;而 在各细胞器中,线粒体和叶绿体反应最为敏感,细胞核则表现得相当稳定。

#### 参考文献

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。
程作联,1989,有机锡的海洋环境化学。海洋环境科学,8(4): 41—47。
Lee, R, E., 1980, Phycology, Cambridge University Press (London), pp. 1—19.
Beaumant, A. R. & Newman, P. B., 1986, Low levels of Tribulyl Tin reduce growth of marine mic-
roalgae, Mar. Pollut. Bull., 17(10): 457-461.

<sup>1)</sup> 高尚德、吴以平等,1994,有机锡对海洋微藻光合作用的影响,海洋与湖沼。(待刊)

<sup>2)</sup>李筠、陈国蔚等,1993,三苯基氯化锡(TPTC)对海洋微藻的毒性效应 1. 对四种微藻生长和氨基检含量的 影响,青岛海洋大学学报。(侍刊)

<sup>3)</sup> 李筠、陈国蔚等,1993,三苯基氯化锡 (TPTC) 对海洋微藻的毒性效应 111. 对扁藻 (Platymonas sp.) 脂肪酸含量的影响,青岛海洋大学学报。(待刊)

- Mantom, I. & Park, M., 1965, Observation on the fine structure of two species of *Platymonas* with special reference to flagellar scales and the mode of origin of the theca, J. Mar. Biol. Ass. U. K., 45: 743-754.
- Malachlan, J. & Parke, M., 1967, Platymonas impellucida sp. nov. from Puerto Rico, J. Mar. Biol. Ass. U. K., 47: 723-733.
- Sicko-Goad, L., 1982, A morphometric analysis of algal response to low dose, short term heavy metal exposure, *Protoplasma*, 110: 75-86.
- Silverberg, B. A., 1976, Cadmium induced ultrastructure changes in mitochondria of freshwater green algae, *Phycologia*, **15**(2): 155-159.
- Smith, M. A., 1983, The effect of heavy metals on the cytolasmic fine structure of Skeletonema castatum (Bacillariophyta), Protoplasma, 116: 14-23.
- Soyer, M.-O. & Prevot, P., 1981, Ultrastructure damage by cadmium in a marine dinoflagellate Prorocentrum micans, J. Protozool., 28(3): 308-313.
- Walsh, G. E., 1985, Effects of organotins on growth and survival of two marine diatoms Skeletonema castatum and Thalassiosira pseudonana, Chemosphere, 14(3-4): 383-392.

## EFFECTS OF TRIPHENYLTIN CHLORIED (TPTC) ON ULTRASTRUCTURES OF CELL OF *PLATYMONAS* sp.

Chen Guowei, Li Yun, Jiang Ming<sup>†</sup>, Liu Xiaoyun<sup>†</sup>

(Department of Biology, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003) ("Centre of Analysis, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003)

#### Abstract

Electron microscope examination of treated cells of *Platymonas* sp. cultured in medium contamination by TPTC at concentration of  $6.7 \times 10^{-9}$  mol/L (EC<sub>50</sub>) revealed fine structure changes in that cells. The results were as follows: The mitochondria swelled up and its cristae were disintegrated in parts, the concentric membranous worls appeared in the matrix and it was bounded by double membranes; in the chloroplast the reticulate structure of photosynthetic lamellae were damaged and instead of lumping structure due to the lamellae were piled up; the pith of the pyrenoid distended and the starch shell splited up in the several polygonal starch plates around the pith; a large number of starch grains appeared in strome of chloroplast; the stigma moved from the position in the sub-middle of the cell to the bottom of it by the press of starch grains. The nucleus was not morphologically affected.

The mitochondria and chloroplast were the most sensitive in their cytological response to TPTC in the cell; in most cases, the nucleus did not change at all.

Key words TPTC EC<sub>50</sub> Platymonas sp. Ultrastructure



经半抑制浓度 TPTC 处理与对照组的扁藻的超微结构

Fine structure of cells of Platymonas sp. treated and untreated by TPTC(EC3a)

1-3.未经处理的扁藻细胞:1.细胞核(N)、高尔基体(G)、鞭毛基部(F)、网状光合片层(L)、蛋白核髓部(P)和 马蹄形淀粉鞘(箭头所示),×10000;2.眼点(E),位于藻体下部,×10000;3.线粒体(M),×18000。4-6.受 奉害细胞;4.膨胀的线粒体内出现同心质膜轮(箭头所示),×30000;5.膨胀的蛋白核髓部及破裂的淀粉鞘(箭 头所示),×8000;6.量厚块状光合片层及盖质中出现的大量淀粉粒(5),眼点移至藻体底部,×12000。