

# 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

高尚德 吴以平 赵心玉

(青岛海洋大学生物系, 青岛 266003)

**提要** 于 1991 年 4 月—1992 年 1 月, 以金藻和扁藻为材料, 用室内一次培养法研究三苯基锡(TPTC)和三丁基锡(TBTC)化合物对光合色素含量的影响。结果表明, 两种有机锡对两种藻均有影响, 在 0.2—0.4 $\mu\text{g/L}$  的浓度时有轻微毒性; 浓度大于 0.5 $\mu\text{g/L}$  时, 能使光合色素明显减少。对于两种藻叶绿素 *a* 72hEC<sub>50</sub>, 影响结果: TBTC 和 TPTC 对金藻的均为 0.59 $\mu\text{g/L}$ ; 对扁藻的, TBTC 是 0.87 $\mu\text{g/L}$ , 而 TPTC 未出现半效应浓度。对于两种藻的类胡萝卜素 72hEC<sub>50</sub>, 影响结果: 金藻, TPTC 是 0.57 $\mu\text{g/L}$ , TBTC 是 0.49 $\mu\text{g/L}$ ; 扁藻, TBTC 是 0.89  $\mu\text{g/L}$ , TPTC 也未出现半效应浓度。认为, 两种有机锡对光合色素有明显的破坏作用。

**关键词** 三苯基锡 三丁基锡 湛江叉鞭金藻 扁藻 光合色素

由于有机锡在工农业和船舶防污中广泛使用, 它对环境的污染已逐渐引起人们的关注。近十年来, 国外对有机锡对海洋动物的毒性效应已作了不少研究(Hall, 1988), 然而在藻类方面研究较少, 而且多偏向于有关生长、营养盐吸收和有机锡在体内累积等的研究(Beaumont et al., 1986; Thomas et al., 1986; Chiles et al., 1989)。在我国, 仅赵丽英(1990)做过有机锡对微藻生长影响的研究。

本文试图从光合色素的变化了解有机锡对生态系统中一级食物链的破坏作用。

### 1 材料和方法

实验用湛江叉鞭金藻(*Dicrateria zhanjiangensis*, 下称金藻)和扁藻(*Platymonas* sp.)为材料。藻种于 1991 年 4 月由本系微藻培养室提供。在进行毒性实验前, 两种藻先在 20 $\pm$ 2 $^{\circ}\text{C}$ , 光强 5000lx, 光暗周期 L:D = 14:10 条件下进行无锡污染单种培养。光源为 40W 白色日光灯; 培养介质为 f/2 培养液。所用海水为取自青岛近岸鲁迅公园的天然海水, 经孔径小于 1 $\mu\text{m}$  的玻璃纤维滤膜过滤, 煮沸消毒。在培养期间经常摇动三角瓶, 到藻种处于对数生长期时用于有机锡毒性实验。

实验用有机锡为三苯基氯化锡(TPTC)和三丁基氯化锡(TBTC)。贮备液由本校化学系提供, 浓度为 20mg/L。

\* 国家自然科学基金资助, 48970274 号。

收稿日期: 1992 年 10 月 4 日, 接受日期: 1993 年 8 月 17 日。

有机锡毒性实验采用 500ml 三角瓶培养,所有三角瓶均用 1:3 的盐酸浸泡 1 天,再用去离子水充分洗净。为避免瓶壁吸附作用的影响,正式实验前均用相应浓度的有机锡的培养介质预平衡两次,每次 24h。有机锡浓度依次为 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 $\mu\text{g/L}$ 。金藻接种密度为  $23 \times 10^4 \text{cell/ml}$ , 扁藻为  $10 \times 10^4 \text{cell/ml}$ 。两种微藻接种后仍在原光照和温度条件下培养,于 24h, 48h 和 72h 分别取样测定光合色素含量。每个锡浓度下的实验均分两组进行,做平行测定。

光合色素的测定:每次每份取 10ml 藻液,用玻璃纤维滤膜( $< 1\mu\text{m}$ )过滤,以 90% 丙酮提取。叶绿素和类胡萝卜素分别用三色法(UNES-CO, Strickland et al., 1968)和 Jensen (1978) 法测定并计算单位水体中的含量。所用仪器为 751G 型分光光度计。为比较两种锡的毒性大小,用平行插入法计算半效应浓度。

## 2 实验结果

### 2.1 TPTC 和 TBTC 对金藻光合色素的影响结果

**2.1.1 对金藻叶绿素  $a$  含量的影响结果(图 1a,b)** TPTC 对金藻叶绿素  $a$  含量的影响结果见图 1a。金藻在 5 种不同浓度的 TPTC 中在 3 天内叶绿素  $a$  的变化表明,第一天,在 0.4 $\mu\text{g/L}$  TPTC 浓度中叶绿素  $a$  的含量高于对照组,出现了促进作用;浓度大于 0.6 $\mu\text{g/L}$  的各组,叶绿素  $a$  含量均低于对照组, TPTC 表现出毒性效应。第二天,0.2 $\mu\text{g/L}$  浓度组出现促进作用;其他各组均出现了毒性效应,叶绿素  $a$  含量明显减少,并且 TPTC 浓度越大,减少幅度越大。第三天,各组的叶绿素  $a$  含量比第二天进一步减少。此实验中, TPTC 对金藻 Chl $a$  的 48h  $\text{EC}_{50}$  为 0.92 $\mu\text{g/L}$ , 72h  $\text{EC}_{50}$  为 0.59 $\mu\text{g/L}$ 。

TBTC 对金藻叶绿素  $a$  含量的影响结果见图 1b。3 天内叶绿素  $a$  的变化表明,第一天用不同浓度锡处理的各组叶绿素  $a$  含量均有所减少,锡浓度越大减少幅度越大;第二天, TBTC 浓度大于 0.4 $\mu\text{g/L}$  的各组进一步减少;第三天, 0.2 $\mu\text{g/L}$  组叶绿素  $a$  的含量又高于对照组,其他各组均低于第二天的。TBTC 对金藻叶绿素  $a$  的 48h  $\text{EC}_{50}$  是 0.89 $\mu\text{g/L}$ , 72h  $\text{EC}_{50}$  为 0.59 $\mu\text{g/L}$ , 与 TPTC 的相同。

**2.1.2 对金藻叶绿素  $c$  含量的影响结果(图 1c,d)** 金藻生长在不同浓度的 TPTC 培养介质中,第一天除 0.6 和 1.0 $\mu\text{g/L}$  浓度组叶绿素  $c$  的含量有所减少外,其他各组都有所增加。第二天和第三天,浓度大于 0.4 $\mu\text{g/L}$  的各组,叶绿素  $c$  含量逐步下降(图 1c)。在加入不同浓度 TBTC 的各组中,0.2 $\mu\text{g/L}$  浓度组,生长 3 天内金藻的叶绿素  $c$  含量均有所增加;在浓度大于 0.4 $\mu\text{g/L}$  的各组,第一天叶绿素  $c$  含量就有所下降,并随着时间的延长,继续逐步下降(图 1d)。

**2.1.3 对金藻类胡萝卜素含量的影响结果(图 1e,f)** TPTC 对金藻类胡萝卜素含量的影响见图 1e 表明。第一天,0.4 $\mu\text{g/L}$  组出现了刺激作用,类胡萝卜素含量有所增加,而其他各组的类胡萝卜素含量均不同程度地减少;第二天, 0.4 $\mu\text{g/L}$  浓度组的类胡萝卜素含量和对照组的相同,0.2 $\mu\text{g/L}$  组的有所增加,其他各浓度组的均明显减少,其中 0.8 $\mu\text{g/L}$  和 1.0 $\mu\text{g/L}$  浓度组的减少到对照的 60% 以下;第三天,各浓度组的类胡萝卜素含量均低于第二天的,其中 0.8 和 1.0 $\mu\text{g/L}$  两组的减少到对照的 30%。TPTC 对金藻类胡萝卜素 72h  $\text{EC}_{50}$  为 0.57  $\mu\text{g/L}$ , 48h 时未出现半效应浓度。

TBTC 对金藻类胡萝卜素含量的影响见图 1f。表明,浓度大于 0.6 $\mu\text{g/L}$  的各浓度

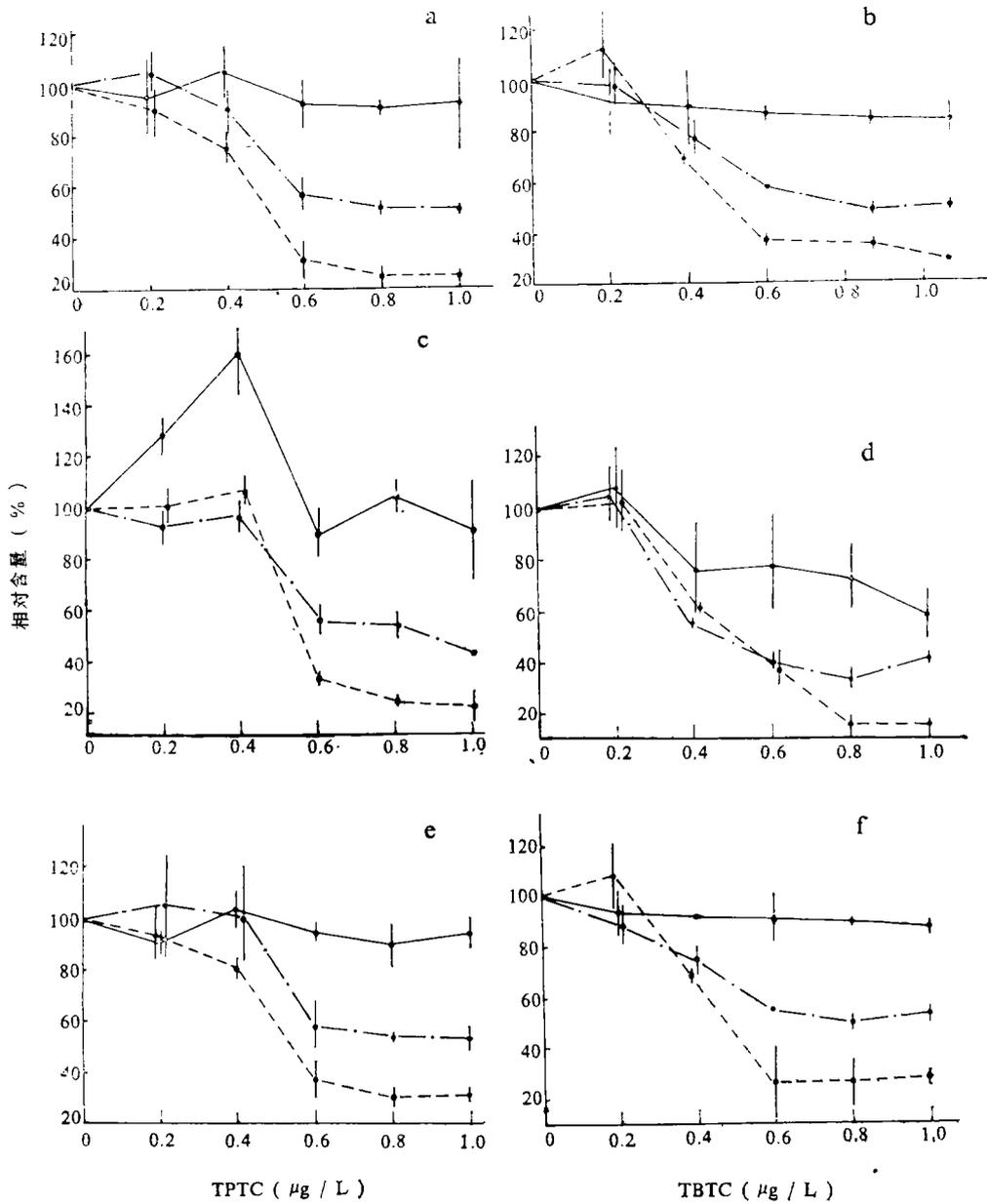


图 1 TPTC 和 TBTC 分别对金藻叶绿素 a(a,b),c(c,d) 和类胡萝卜素 (e,f) 含量的影响

Fig. 1 Effects of TPTC and TBTC on Chl.a (a,b), c (c,d) and carotenoids (e,f) contents of *Dicrosteria zhanjiangensis* respectively

— 24h; - - - 48h; ··· 72h.

组, TBTC 对金藻类胡萝卜素含量的影响同 TPTC 相似。0.4µg/L 浓度组的类胡萝卜素含量在第三天比第二天稍有下降,而 0.2µg/L 浓度组的则又高于对照,表现了 TBTC 的促进作用。TBTC 72h 类胡萝卜素 EC<sub>50</sub> 是 0.49µg/L, 48h EC<sub>50</sub> 约为 0.80µg/L。

## 2.2 TPTC 和 TBTC 对扁藻光合色素的影响结果

**2.2.1 对扁藻叶绿素 a 含量的影响(图 2a,b)** 扁藻生长在不同浓度的 TPTC 中,叶绿素 a 变化的总趋势是随着有机锡浓度的增加而减少(图 2a)。在 TBTC 中,叶绿素 a 的变化见图 2b。图中表明,3d 内各浓度组的叶绿素 a 均在减少,至第三天,除 0.6 $\mu\text{g/L}$  和 0.8 $\mu\text{g/L}$  浓度组比第二天有所增加外,其他各浓度组叶绿素 a 含量继续减少。3d 的实验中,TPTC 对扁藻叶绿素 a 未表现出半效应浓度;TBTC 48h 叶绿素 a  $\text{EC}_{50}$  是 0.83 $\mu\text{g/L}$ , 72h $\text{EC}_{50}$  约为 0.87 $\mu\text{g/L}$ 。

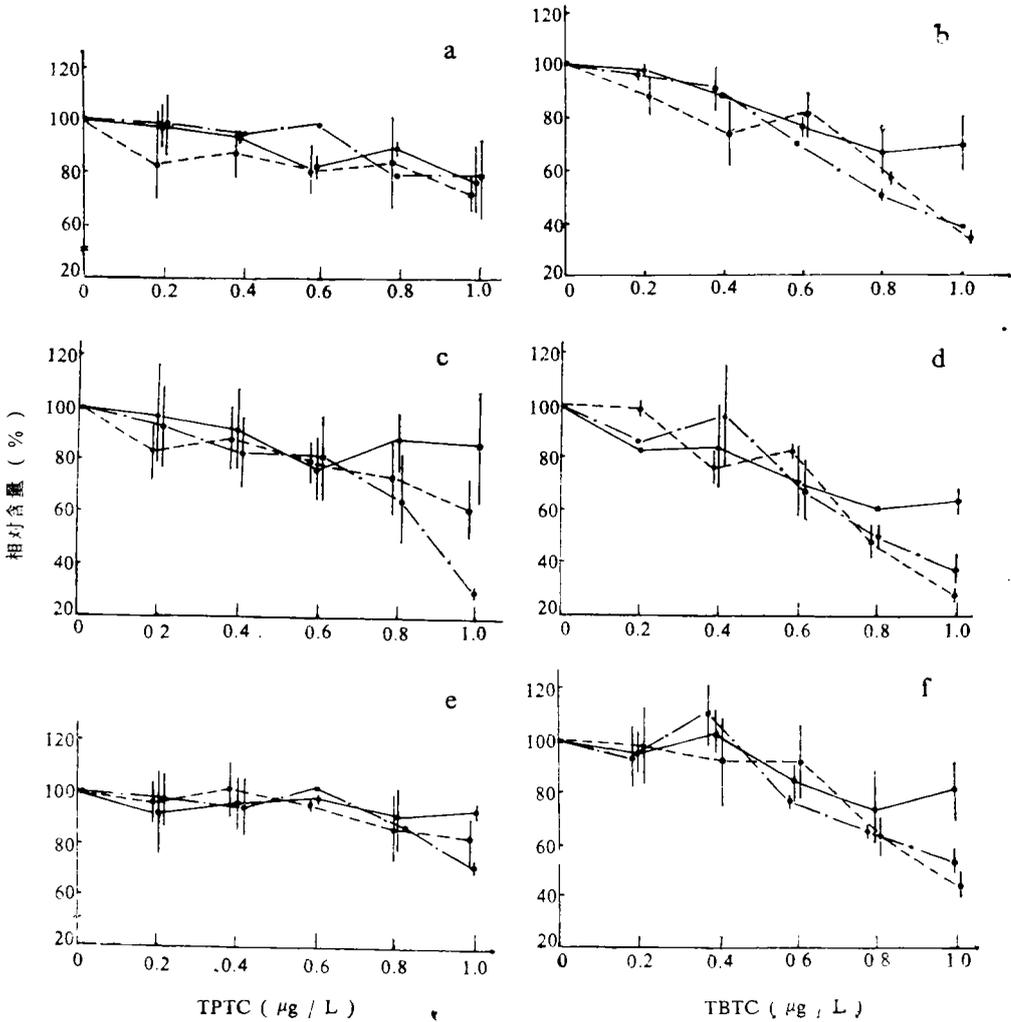


图 2 TPTC 和 TBTC 分别对扁藻叶绿素 a(a,b), b(c,d) 和类胡萝卜素 (e,f) 含量的影响  
 Fig.2 Effects of TPTC and TBTC on Chl.a (a,b), b (c,d) and carotenoids (e,f) contents of *Platyomonas* sp. respectively  
 — 24h; - - - 48h; ····· 72h。

**2.2.2 对扁藻叶绿素 b 含量的影响结果(图 2c,d)** 在不同浓度的 TPTC 中,3 天内扁藻叶绿素 b 的含量随有机锡浓度的增加而减少(图 2c)。在第一和第二天,叶绿素 b 的含

量随有机锡浓度和处理时间的增加而不同程度地减小;第三天,在 0.8 和 1.0 $\mu\text{g/L}$  浓度组,叶绿素 *b* 含量比第二天有所恢复。各浓度组 TBTC 对扁藻叶绿素 *b* 含量的影响表明(图 2d),实验的 3 天中,叶绿素 *b* 的含量均是随有机锡浓度的增加而减少;与第一天的情况相比,第二天低浓度组的叶绿素 *b* 有所恢复,高浓度组的则继续减少;第三天,0.2 $\mu\text{g/L}$  和 0.6 $\mu\text{g/L}$  组继续有所恢复,高浓度组的则进一步减小。

**2.2.3 对扁藻类胡萝卜素含量的影响结果(图 2e,f)** TPTC 对扁藻类胡萝卜素的影响结果见图 2e,表明,第一天,类胡萝卜素含量在各浓度组均有所减少;第二天,低浓度组(0.2 和 0.6 $\mu\text{g/L}$ )有不同程度恢复,高浓度组的则进一步减少;第三天,除 0.4 $\mu\text{g/L}$  浓度组有所恢复外,其他各浓度组的继续减少。TBTC 对扁藻类胡萝卜素含量的影响结果见图 2f,表明,第一和第二天,0.4 $\mu\text{g/L}$  浓度组类胡萝卜素含量有所增加,其他各组均有下降;第三天,在 0.2 $\mu\text{g/L}$  和 0.6 $\mu\text{g/L}$  组有所恢复,其余各组明显下降。实验 72h 时使扁藻类胡萝卜素减少 50% 的 TBTC 浓度,约为 0.89 $\mu\text{g/L}$ ,而 TPTC 则未使扁藻类胡萝卜素降至对照的 50%。

### 3 讨论与结语

**3.1 TPTC 和 TBTC 对金藻光合色素的影响** 金藻生长在含有 0.2—0.4 $\mu\text{g/L}$  TPTC 介质中,第一天未出现明显的中毒现象,三种色素(叶绿素 *a*、叶绿素 *c* 和类胡萝卜素)的含量在浓度为 0.4 $\mu\text{g/L}$  时均有所增加,出现了增益效应。这种现象在 Stebbing (1982)和 Beaumont 等(1986)的研究中都曾出现过。Stebbing 认为,毒物在低浓度下出现的这种现象,是其在无毒情况下的刺激作用。他把这一作用叫做“毒物兴奋效应。”然而在第二和第三天除叶绿素 *c* 和第二天类胡萝卜素恢复到正常水平外,其他的开始减少(图 1a,c,e)。以上说明,低于 0.4 $\mu\text{g/L}$  的 TPTC,第二天以后对不同色素产生了不同程度的毒性。金藻生长在 0.6 $\mu\text{g/L}$  的高浓度 TPTC 中,除第一天 3 种色素的含量稍有降低外,第二天和第三天均明显减少,说明毒性作用在第二天以后明显出现,并且时间越长毒性作用越大,没有出现恢复现象。生长在不同浓度的 TBTC 中的金藻,除 0.2 $\mu\text{g/L}$  组一天中叶绿素 *c* 的含量均有所增加,第三天叶绿素 *a* 和类胡萝卜素的含量有所增加外,其他都明显减少(图 1b,d,f)。证明了对金藻,TBTC 的毒性大于 TPTC。

**3.2 TPTC 和 TBTC 对扁藻光合色素的影响** 实验表明,无论是 TPTC 还是 TBTC,在 0.2 $\mu\text{g/L}$  浓度组 3 天内均未出现刺激作用。另外和金藻不同的是,在各种浓度的有机锡中 3 天时间内光合色素含量相差不大,但总的趋势是,锡浓度越大,色素减少越多。在较高有机锡浓度下,第二天色素明显减少,第三天又有所恢复(图 2a—2e)。这种恢复现象,可能是由于藻类适应了这种环境,或是由胞外产物(渗出物)解毒引起的。Imber 等(1983)曾指出,硅藻产生结合金属离子的胞外产物是氨基酸或蛋白质;Lasik 等(1977)指出,胞外产物多糖能螯合金属离子;Sueur 等(1982)指出,胞外产物有助于络合铜离子,当渗出物以高浓度存在时可能消除铜的毒害。

**3.3 两种锡对两种藻光合色素的  $EC_{50}$**  TPTC 对金藻和扁藻叶绿素 *a* 的  $EC_{50}$ ,金藻 48h 为 0.92 $\mu\text{g/L}$ ,72h 是 0.59 $\mu\text{g/L}$ ;扁藻在 3d 实验中未出现  $EC_{50}$ 。TBTC 对金藻和扁藻叶绿素 *a* 的  $EC_{50}$ ,48h 分别是 0.87 和 0.83 $\mu\text{g/L}$ ;72h 分别是 0.59 $\mu\text{g/L}$  和 0.87 $\mu\text{g/L}$ 。TPTC 对金藻和扁藻类胡萝卜素的  $EC_{50}$ ,金藻 72h 是 0.57 $\mu\text{g/L}$ ,48h 未出现  $EC_{50}$ ;扁

藻在 3d 中均未出现  $EC_{50}$ 。TBTC 对金藻和扁藻类胡萝卜素的  $EC_{50}$ , 72h 分别为 0.49 和 0.89 $\mu\text{g/L}$ , 48h 金藻约为 0.80 $\mu\text{g/L}$ ; 扁藻未出现  $EC_{50}$ 。以上结果说明了 TBTC 和 TPTC 在 0.5—1.0 $\mu\text{g/L}$  的浓度对海洋微藻就有很大毒性, 这同 Hall (1988) 用骨条藻、原甲藻和绿光等鞭金藻做的实验结果是相近的; 后 3 种藻 5d 的叶绿素  $EC_{50}$  分别是 <1.0 $\mu\text{g/L}$ , 2.62 $\mu\text{g/L}$  和 1.14 $\mu\text{g/L}$ 。Walsh 等 (1985) 研究了 TBTC 对骨条藻生长的影响, 测得 72h  $EC_{50}$  是 0.33 $\mu\text{g/L}$ 。

总之, 通过以上实验证明, TPTC 和 TBTC 对水体中光合色素的含量有明显影响, 0.2 $\mu\text{g/L}$  和 0.4 $\mu\text{g/L}$  有轻微毒性, 0.6 $\mu\text{g/L}$  有较大毒性, 0.8 $\mu\text{g/L}$  以上的浓度有更大的毒性。本研究中的两种藻在这样的锡浓度下培养 3 天后光合色素即可大部分消失。另外, 两种有机锡化合物相比较, TBTC 毒性大于 TPTC。在低浓度下 (< 0.8 $\mu\text{g/L}$ ) 培养 2 天后两种有机锡的毒性开始消失, 藻细胞恢复生长, 光合色素又开始增加; 在高浓度下 (> 0.8 $\mu\text{g/L}$ ) 不出现恢复现象。

### 参 考 文 献

- 赵丽英、陆贤昆、孙秉一, 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。
- Beaumont, A.R. and Newman, P.B., 1986, Low levels of tributyltin reduce growth of marine microalgae, *Mar. Pollut. Bull.* **17**(10): 457—461.
- Chiles, T.C. et al., 1989, Mechanisms of tri-n-butyltin bioaccumulation by marine phytoplankton, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **46**: 859—862.
- Hall, L.W. Jr., 1988, Tributyltin environmental studies in Chesapeake Bay, *Mar. Pollut. Bull.*, **19**(9): 431—438.
- Imber, B.E. and Robinson, M.G., 1983, Complexation of Zinc by exudates of *Thalassiosira fluviatilis* grown in culture, *Mar. Chem.*, **14**: 31—41.
- Jensen, A., 1978, Chlorophylls and Carotenoids, *In Handbook of Phycological Methods, Physiological and Biochemical Methods*, ed. by Hellebust, J.A. and Craigie, T.S., Cambridge University Press (New York), pp: 59—70.
- Lasik, Y.A. and Gordiyenko, S.A., 1977, Complexing of soil bacteria polysaccharides with metals, *Soviet Soil Sci.*, **9**: 192—198.
- Stebbing, A.R. D., 1982, Hormesis—the stimulation of growth by low levels of inhibitors, *Sci. Tot. Envir.*, **22**: 213—234.
- Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R., 1972, A Practical Handbook of Seawater Analysis, *Fish. Res. Bd. Canada Bull.*, **167**: 201—203.
- Sueur, S. et al., 1982, Measurement of the metal complexing ability of exudates of marine macroalgae. *Limnol. Oceanogr.* **27**: 536—543.
- Thomas, T.E. and Robinson, M.G., 1986, The physiological effects of the leachates from a self-polishing organotin antifouling paint on marine diatoms, *Mar. Envir. Res.*, **18**: 215—229.
- Walsh, G.E. et al., 1985, Effects of organotins on growth and survival of two marine diatoms, *Skeletonema costatum* and *Thalassiosira pseudonana*, *Chemosphere*, **14**: 383—392.

## THE PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF ORGANOTIN ON MARINE MICROALGAE

### I. EFFECTS OF ORGANOTIN ON PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS OF TWO MARINE PHYTOPLANKTON

Gao Shangde, Wu Yiping, Zhao Xinyu

(Department of Biology, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003)

#### ABSTRACT

Effects of organotin compounds, triphenyltin chloride(TPTC) and tributyltin chloride(TBTC), on photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, chlorophyll *c* and carotenoids) of pure cultures of two microalgae, *Dicrateria zhanjiangensis* and *Platymonas* sp., were tested from April, 1991 to January, 1992. The two species were from our departmental microalgae culture lab and batch culture was used. The results indicated that photosynthetic pigments of the two species were reduced markedly after 24h exposure to 0.5 $\mu$ g/L TBTC and TPTC. The 72h Chl. *a* EC<sub>50</sub> of TBTC and TPTC were both about 0.59 $\mu$ g/L and the 72h carotenoids EC<sub>50</sub> were 0.49 and 0.57 $\mu$ g/L respectively for *D. zhanjiangensis*. The 72h Chl. *a* EC<sub>50</sub> and 72h carotenoids EC<sub>50</sub> of TBTC were 0.87 and 0.89 $\mu$ g/L respectively for *Platymonas* sp.. Both Chl. *a* and carotenoids of *Platymonas* sp. were not reduced by TPTC to below 50% of that of the control; TBTC had more reducing effect than TPTC on photosynthetic pigments; *Platymonas* sp. could tolerate greater concentration of organotin than *D. zhanjiangensis*.

**Key words** Triphenyltin chloride Tributyltin chloride *Dicrateria zhanjiangensis* *Platymonas* sp. Photosynthetic pigments