

文章编号: 1000-0615(2004)02-0221-04

• 研究简报 •

甲胺磷、辛硫磷对坛紫菜叶状体的生理效应

李 钦¹, 魏凤琴², 陈纪新¹, 王重刚³, 郑微云¹

(1. 厦门大学环境科学研究中心, 福建 厦门 361005; 2. 福建省平潭县白青乡水产技术推广站, 福建 平潭 350400;
3. 厦门大学生物系, 福建 厦门 361005)

关键词: 坛紫菜; 甲胺磷; 辛硫磷; 可溶性蛋白; 叶绿素 a

中图分类号: S917 文献标识码: A

Physiological effects of methmidophos and phoxim on *Porphyra haitanensis*

LI Qin¹, WEI Feng-qin², CHEN Ji-xin¹, WANG Chong-gang³, ZHENG Wei-yun¹

(1. Environment Sciences Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2. Extending Station of Fishery Technique, Baiqin Village, Pingtan 350400, China;

3. Department of Biology, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: In this paper, the effects of methmidophos and phoxim with different concentrations and schedule on soluble protein content and chlorophyll a (Chla) content in *Porphyra haitanensis* were studied under experimental and ecological conditions. The results showed as follows: (1) there were some time-effect and dose-effect relationships between the pollutants and Chla contents. The Chla content of most of groups decreased with the increasing of dose and prolonging of the exposure time. In the same concentration, the toxicities of phoxim to Chla content was stronger than that of methmidophos. (2) All concentration groups in this study didn't show the significant time-effect and dose-effect relationships between pollutants and the soluble protein. And there was no significant difference of the soluble protein content among various groups.

Key words: *Porphyra haitanensis*; methmidophos; phoxim; soluble protein; chlorophyll a (Chla)

随着农林牧业的发展,海洋有机磷农药污染对海洋生物资源、水产养殖和生态系统的影响已引起了重视。自1986年以来,我国沿海因有机磷农药污染造成死虾、死贝、死鱼的严重事故不断发生,对水产养殖业的持续发展构成威胁^[1]。近年来,有机磷农药对生态系统初级生产者——微藻的毒性及其生态毒理学的研究在国内外已有报道^[2,3],但对于大型藻类,国内外的文献报道不多,尤其对坛紫菜,人们还只是以养殖为目的,而环境因素以及各种化学物质对它的生理的影响研究得更少。林光恒等^[4]报

道了苯并(a)芘对条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)的致突变效应。目前,环境中有机磷农药对食品(紫菜)的影响还未有人研究。

坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)是主产于我国南方沿海经济价值极高的海藻,但随着海洋环境污染的日益严重,坛紫菜的生长也不可避免的遭到环境污染的威胁,近年来,水产养殖业中病害十分严重,紫菜养殖有出现整个海区烂菜的现象,给养殖者和国家带来巨大的经济损失。为此,我们开展有机磷农药(甲胺磷和辛硫磷)对坛紫菜的生

收稿日期: 2002-11-19

资助项目: 福建省重大科技项目(2001Z017)

作者简介: 李 钦(1976—),女,福建平潭人,硕士,主要从事海洋生态毒理学研究。E-mail: lqin@sina.com

理效应研究,以期为了保护海洋生物、水产资源,防止有机磷农药损害,以及探索对藻类毒性的机制和生物监测指标的筛选提供参考资料。

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料坛紫菜采自平潭南海水域,为野生型。日龄30~40d,叶片长2.0~4.0cm,宽0.2~0.5cm。先在清洁海水中暂养1d,充气,让其适应实验室微环境后暴露于甲胺磷和辛硫磷。

1.2 培养方法及条件

从平潭南海水域采回的坛紫菜,实验室充气暂养1d,用高温灭菌海水洗净,挑选健康正常藻体,然后随机每组20片坛紫菜暴露于不同浓度污染物的培养液,培养液体积为150mL,培养于光照培养箱中,温度控制在(20±1)℃,光照强度为2000lx,光周期12D:12L。培养液采用高温灭菌海水(盐度26~28,pH8.04~8.10)配制的N-P营养液。

1.3 试剂

试验用农药辛硫磷、甲胺磷购自福建三明市化工厂,均为50%乳油。分别用重蒸水配成 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 母液(按农药密度计算),用时稀释。

1.4 急性毒性试验

在预备试验的基础上,设置5个浓度组(0.1、0.5、1、10、 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),1个空白对照组,每组有2个平行样。暴露12h、24h、48h、72h后取样,每个样取4片叶状体,用滤纸吸干叶片上的水,称重,-20℃下保存待测定。

1.5 蛋白质含量的测定

蛋白质含量的测定采用Layne^[5]的方法。

1.6 叶绿素a含量的测定

参照王荣^[6]的方法,用90%丙酮提取,荧光分光光度计测定。

2 结果

2.1 甲胺磷、辛硫磷对坛紫菜叶状体可溶性蛋白含量的影响

各个浓度组甲胺磷对坛紫菜叶状体可溶性蛋白的影

响表现出相似的趋势,即各个浓度组的甲胺磷均使坛紫菜叶状体可溶性蛋白的含量低于对照组,随着暴露时间的延长,可溶性蛋白的含量呈现逐渐下降的趋势(图1)。辛硫磷对坛紫菜叶状体可溶性蛋白含量的影响与甲胺磷相似。只是各浓度组在污染12h到24h时间内的可溶性蛋白的含量不是继续下降而是表现出一致的上升,之后才又继续下降(图2)。

2.2 甲胺磷、辛硫磷对坛紫菜叶状体叶绿素a含量的影响

除 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲胺磷暴露叶绿素a(Chla)含量随时间延长而上升外, 0.5 、 1 、 10 和 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲胺磷暴露Chla含量都随时间的延长Chla含量降低,且随甲胺磷浓度的增大,下降得越快(图3)。通过求叶绿素a含量降低的百分率,用对数线形回归求得甲胺磷对Chla的48h半抑制剂量 EC_{50} 为 $5.23\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。除 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 辛硫磷暴露Chla含量先下降后上升(24h时有最低值)外, 0.5 、 1 、 10 和 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组辛硫磷暴露坛紫菜叶状体Chla含量都随着暴露时间的延长,Chla含量逐渐下降,且随暴露浓度的增大,下降得越快(图4)。辛硫磷对Chla的48h半抑制剂量 EC_{50} 为1.08。

3 讨论

3.1 甲胺磷、辛硫磷对坛紫菜叶状体可溶性蛋白含量的影响

藻类蛋白含量与藻类生长成正相关。有人研究发现22种除草剂能减少藻类蛋白质的合成^[7]。甲基对硫磷会诱导灰色念珠藻核酸酶和蛋白酶活性,使蛋白质含量下降^[8]。因此,有人认为是农药毒害的环境中,藻类可能通过改变蛋白质合成模式来适应改变了的环境^[9]。

实验对照组中的可溶性蛋白含量在24h内变化不明显,但48h到72h内可溶性蛋白含量显著增加,可能是实验刚开始24h内坛紫菜叶状体对培养环境的适应,48h后开始较快的生长。甲胺磷对可溶性蛋白含量的影响基本表现为随暴露时间的延长而下降,但各浓度组间差异不显著($P>0.1$),这说明本实验设置的5个浓度组(0.1、0.5、1、10和 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)超出了蛋白含量变化的浓度范围,即随着时间的延长 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组对可溶性蛋白的损害已经达到饱和状态,可溶性蛋白的含量不会随暴露浓度的增大继续下降。

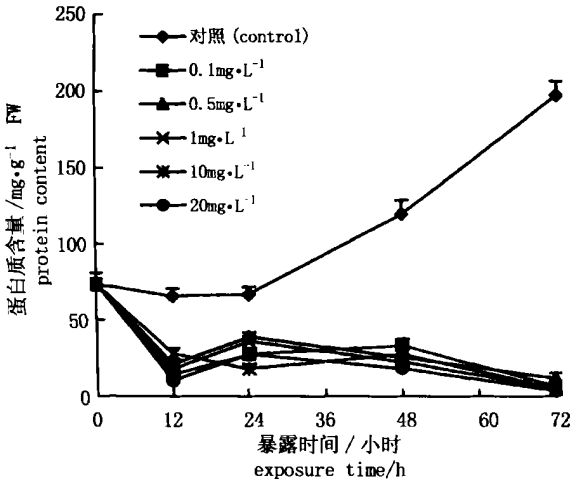


图1 甲胺磷对可溶性蛋白含量影响的时间-效应曲线
Fig.1 Time-effect curve of protein content in *Porphyra haitanensis* exposed to methamidophos (n= 4)

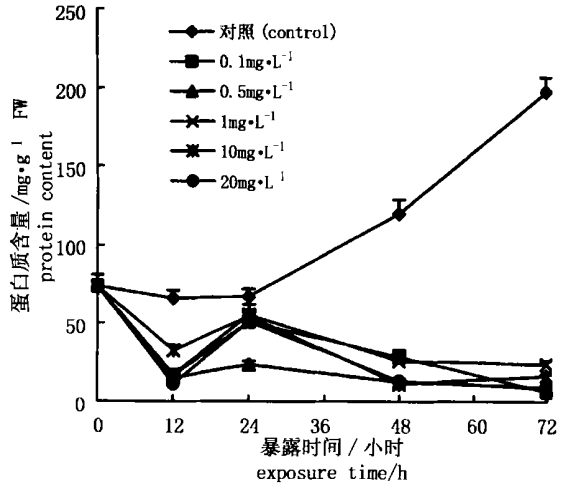


图2 辛硫磷对可溶性蛋白含量影响的时间-效应曲线
Fig.2 Time-effect of curve protein content in *Porphyra haitanensis* exposed to phoxim (n= 4)

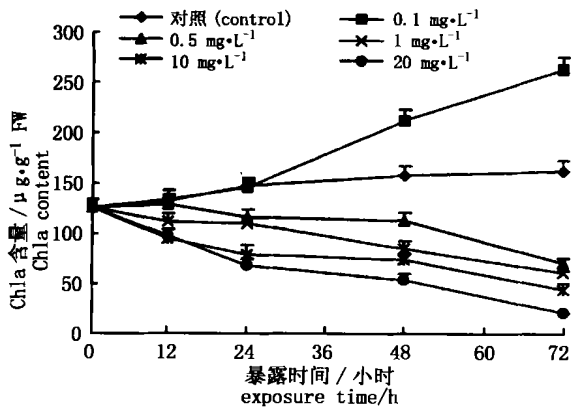


图3 甲胺磷对坛紫菜 Chla 含量影响的时间-效应曲线
Fig.3 Time-effect curve of Chla content in *Porphyra haitanensis* exposed to methamidophos (n= 4)

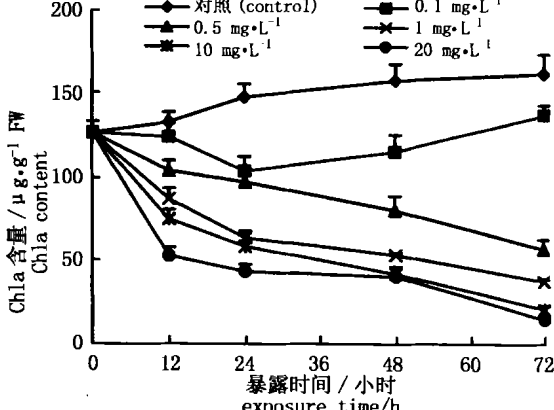


图4 辛硫磷对坛紫菜 Chla 含量的时间-效应曲线
Fig.4 Time-effect curve of protein content in *Porphyra haitanensis* exposed to phoxim (n= 4)

辛硫磷对可溶性蛋白的影响趋势跟甲胺磷基本相似,只是在污染暴露 24 h 时除 0.5mg·L⁻¹组外所有浓度组都有一个峰值,而且差异不显著(P > 0.1)。可能原因是在辛硫磷暴露的 12 h 内,坛紫菜叶状体还未及启动自身的保护机制来维持细胞的正常代谢,所以可溶性蛋白含量降低;而到暴露 24 h 时,叶状体启动自身保护机制,通过提高可溶性蛋白来增加细胞渗透浓度和功能蛋白的数量,从而有助于维持细胞的正常代谢。但当污染暴露达 48 h 后,可溶性蛋白含量又开始下降,这是由于细胞损害已经达到严重水平,蛋白质的合成受到破坏。

48 h 各浓度组污染物暴露可溶性蛋白含量低于对照组,但蛋白含量的变化跟污染物浓度没有相关性。这个还是归因于浓度的设置问题,因为各个指标对同一污染物具

有不同的耐受力与敏感性。而浓度低于 0.1 mg·L⁻¹的甲胺磷和辛硫磷的暴露,坛紫菜叶状体可溶性蛋白含量的变化情况如何,还有待于进一步研究。

3.2 甲胺磷、辛硫磷对坛紫菜叶状体叶绿素 a 含量的影响

以 Chla 含量作为污染的生物指标,这在有机磷农药对微藻的毒理学研究中很常见^[9]。有机磷农药能改变藻类的 Chla 含量,同时也意味着影响光合作用。本实验 0.1 mg·L⁻¹甲胺磷暴露 72 h 内使 Chla 的含量略有上升,而浓度大于 0.1mg·L⁻¹甲胺磷暴露引起 Chla 含量的降低,并随胁迫强度的进一步加大,Chla 的含量越来越低。另外,低剂量的污染物对海藻的生长有刺激作用已有许多报道^[10-11]。关于低剂量甲胺磷对海藻生长的刺激机理尚不

清楚,实验得到辛硫磷使坛紫菜叶状体的 Chla 含量随暴露浓度的增大和暴露时间的延长而降低,即与 Chla 含量呈明显的时间效应和剂量效应关系。本实验结果进一步证实,叶绿素 a 可以作为坛紫菜暴露于甲胺磷、辛硫磷的一个生理监测指标。

另外,实验测得甲胺磷、辛硫磷对坛紫菜叶状体 Chla 含量 48 h 半抑制剂量 EC_{50} 分别为 $5.23 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1.08 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。依 48 h EC_{50} 值,对 Chla 含量的毒性大小为:辛硫磷 > 甲胺磷。按渡修明、金泽纯有机磷农药对水生生物毒性的分类标准:剧毒为 48 h $EC_{50} > 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;高毒为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} < 48 \text{ h } EC_{50} < 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;中等毒性为 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} < 48 \text{ h } EC_{50} < 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;低毒为 $48 \text{ h } EC_{50} > 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 进行分类^[12],辛硫磷为高毒;甲胺磷为中等毒性。这与对靶生物的毒性分类截然不同^[12]。如辛硫磷在农药的毒性分类上属低毒杀虫剂,它对雄性大白鼠口服 LD_{50} 为 $2170 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。因此,建议沿海地区陆地上病虫害防治应使用对靶生物选择性和毒性强的农药,尽量做到既控制害虫危害,又保护近海生物资源,促进水产养殖业发展。

参考文献:

- [1] Tang X X, Li Y Q, Li C Y, et al. Biological study of the toxicology of organophosphorus pesticide on marine microalgae [J]. Marine Environ Sci, 1995, 14(2): 1- 4. [唐学玺,李永祺,李春雁,等.有机磷农药对海洋微藻致毒性的生物学研究[J].海洋环境科学,1995,14(2):1- 4.]
- [2] Mohapatra P K, Schubert H, Schiewer U. Effect of dimethate on photosynthesis and pigment fluorescence of *synechocystis* sp PCC 6803 [J]. Ecotoxicol and Environ Safety, 1997, 36: 231- 237.
- [3] Saenz M E, Marzio W P, Alberdi J L, et al. Effects of technical grade and commercial formulation of glyphosate on algae population growth [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1997, 59: 39- 44.
- [4] Lin G H, Zhang X Q, Qu C Y. The mutagenesis of benzo (a) pyrene in *Porphyra yezoensis* [J]. Marine Sci, 1990, 2: 57- 59. [林光恒,张小庆,吴超元.苯并(a)芘对紫菜(*Porphyra*)的致突变效应[J].海洋科学,1990,2:57- 59.]
- [5] Layne E. Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins [J]. Methods in Enzymology, 1957, 3: 447 - 455.
- [6] Wang R. The revision of the formula for determining the pigment in phytoplankton by fluorescence spectrophotometry [J]. Marine Sci, 1986, 10(3): 1- 5. [王荣.荧光法测定浮游植物色素计算公式的修正[J].海洋科学,1986,10(3):1- 5.]
- [7] EL-Sheekh M M, Kolkat H M, Hammouda O H E. Atrazine herbicide on growth, photosynthesis, protein synthesis and fatty acid composition in the unicellular green algae *Chorella kessleri* [J]. Ecotoxicol and Environ Safety, 1994, 29: 349- 359.
- [8] Bhunia A K, Basu N K, Roy D, et al. Growth chlorophyll a content, nitrogen-fixing ability and certain metabolic activities of *Nostoc muscorum*: effect of methylparathion and benthocarb [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1991, 47: 43- 45.
- [9] Shen G X, Yan G A, Peng J L, et al. Study on ecotoxicology for pesticides to algae II. toxic mechanism, accumulation and degradation [J]. Advances in Environ Sci, 1999, 7(6): 131- 140. [沈国兴,严国安,彭金良,等.农药对藻类生态毒理学研究II.毒性机理及其富集和降解[J].环境科学进展,1999,7(6):131- 140.]
- [10] Beaumont A R, Newman P B. Low levels of tributyltin reduce growth of marine microalgae [J]. Mar Pollut Bull, 1986, 17 (10): 457- 461.
- [11] Setbling A R D. Hormesis-the stimulation of growth by low levels of inhibitors [J]. Sci Tot Envir, 1982, 22: 213- 234.
- [12] Ru S G, Li Y Q, Jing Y C. Comparison study on the toxicology of ten organophosphorus pesticides to *Platymonas* sp. [J]. Acta Sci Circumstantiae, 1996, 16(3): 337- 341. [汝少国,李永祺,敬永畅.十种有机磷农药对扁藻的毒性[J].环境科学学报,1996,16(3):337- 341.]