

抑食金球藻对卤虫和鼠的急性毒性及 对兔皮肤和眼的刺激作用

吴霓¹, 徐晓娇², 江天久^{1*}, 江涛¹, 吕颂辉¹

(1.暨南大学赤潮与海洋生物学研究中心,水体富营养化与赤潮防治广东普通高校重点实验室,广东广州 510632;

2.华南师范大学生命科学学院,广东广州 510630)

摘要: 2011年夏季,我国秦皇岛沿岸海域再次暴发了大面积的微微型浮游植物抑食金球藻褐潮。为了弄清该藻的毒性以及评估其对人们生命健康的影响,本实验以卤虫作为受试生物,在室内条件下测试了该褐潮水体对卤虫的急性毒性及卤虫对该藻的摄食作用,并以室内纯种培养的抑食金球藻对小白兔进行急性皮肤刺激和眼刺激实验,对小白鼠进行急性经口毒性实验。结果表明,抑食金球藻褐潮水体对卤虫无急性毒性,卤虫能以抑食金球藻为食,摄食率随着摄食藻密度的升高而上升。抑食金球藻藻液对实验兔的皮肤和眼睛无明显刺激作用,对小白鼠无急性毒性作用。该藻暴发褐潮时,对人们的生命健康安全影响较小。

关键词: 抑食金球藻;急性毒性;卤虫;摄食率

中图分类号: Q 948.12; S 917.3

文献标志码: A

2009年以来,我国秦皇岛沿岸渤海海域每年都会暴发褐潮,主要原因为细胞直径仅约2 μm的微微型藻,2012年经鉴定该藻为抑食金球藻(*Aureococcus anophagefferens*)^[1]。1985年在美国纳拉干西特湾首次记录到抑食金球藻褐潮^[2],1997年在南非萨尔达尼亚湾也记录到由该藻形成的褐潮^[3],中国是第3个报道该类褐潮的国家。抑食金球藻能抑制滤食性贝类摄食,导致贝类停止生长,生殖率降低,甚至死亡,给当地野生或养殖贝类带来重大的灾难^[4-5]。2010年在我国秦皇岛近岸发生的抑食金球藻褐潮面积达3 350 km²,褐潮暴发期间,当地贝类的摄食和生长明显受到抑制,特别是海湾扇贝(*Argopecten irradians*)大量死亡^[1],海产养殖经济损失达2亿人民币^[6]。2011年抑食金球藻褐潮再次在秦皇岛海域暴发,并波及到山东半岛威海海域。褐潮暴发后引起了当地市民和相关部门的高度关注,急切希望了解该藻的毒性及与褐潮水体是否会影响人们的身体健康。为此,本实验通过在现场采

集褐潮水体样本,以卤虫(*Artemia sinica*)为受试生物,测试该藻对卤虫的急性毒性作用;用室内培养的抑食金球藻测试其对实验兔皮肤和眼睛的刺激作用以及对小白鼠的急性毒性,以期为中国藻华灾害应急管理提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验藻及卤虫

实验藻 于2011年6月下旬秦皇岛海域抑食金球藻褐潮暴发期间,从褐潮现场采集褐潮水体(盐度31±1,pH 8±0.1)后带回实验室用于卤虫急性毒性和摄食实验,用0.1 mL浮游植物计数框于显微镜下计藻细胞数。单克隆抑食金球藻于2011年分离自渤海湾秦皇岛海域,在实验室内培养至今,培养条件为温度20℃,光照80 μmol/(m²·s),取对数期藻液用于动物皮肤刺激性、急性眼刺激性和急性经口毒性实验。

卤虫 室内条件下[室温为(22±1)℃],称取2 g卤虫卵放入经0.45 μm醋酸纤维滤膜过

收稿日期:2013-10-24 修回日期:2013-12-12

资助项目:国家“九七三”项目(2010CB428702);国家海洋公益专项(201305003,201305010);国家自然科学基金项目(41276091)

通信作者:江天久,E-mail:tjiangtj@jnu.edu.cn

滤的天然海水(盐度 30 ± 1 , pH 7.9 ± 0.1)中,孵化 48 h 后取健康的卤虫幼体用于实验。

实验兔 新西兰实验兔,体质量 2~3 kg,购自广州白云动物饲养中心。实验前于实验环境中[光照: $(3 \pm 0.5) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 温度: $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$, 湿度: $70\% \pm 5\%$]驯养 3 d,用于皮肤刺激和急性眼刺激实验。

小白鼠 体质量 18~25 g,购自广州白云动物饲养中心。实验前于实验环境中[光照: $(3 \pm 0.5) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 温度: $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$, 湿度: $70\% \pm 5\%$]驯养 3 d,用于急性经口毒性实验。

1.2 实验方法

卤虫毒性实验 用 $0.45 \mu\text{m}$ 醋酸纤维滤膜过滤的海水将褐潮水体(藻密度为 1.5×10^5 个/mL)稀释成 5 个浓度组,即 1.5×10^5 、 8.4×10^4 、 4.7×10^4 、 2.6×10^4 和 1.4×10^4 个/mL,选用 24 孔板,每孔注入 2 mL 各浓度赤潮海水,每个浓度 3 个平行,分别随机放入 10 只健康的 II~III 期龄卤虫,以同体积 $0.45 \mu\text{m}$ 醋酸纤维滤膜过滤的海水为对照,置于室内条件下[连续光照 $(4 \pm 0.5) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 温度 $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$], 48 h 内每 6 h 于解剖镜下记录每孔中卤虫死亡情况。以解剖针触动卤虫 5 s, 卤虫触角不动为死亡标准。当对照组卤虫出现偶然性死亡时,各浓度组的死亡率按公式(1)进行校正,以扣除卤虫因为饥饿,体质不健壮或互相残杀而死亡对实验造成的误差。

$$P = (P' - C)/(1 - C) \quad (1)$$

式中, P' 为观察死亡率, C 为对照组死亡率, P 为校正后的死亡率。死亡率按死亡率—机率单位换算表换算^[7]。

卤虫摄食实验 用上述过滤海水将褐潮水体(藻密度为 1.37×10^5 个/mL)稀释成 5 个浓度组,即 1.37×10^5 、 7.67×10^4 、 4.3×10^4 、 2.41×10^4 和 1.35×10^4 个/mL,选用 50 mL 三角瓶,每个浓度 3 个平行,每瓶各注入 30 mL 上述经稀释后的褐潮水体后,随机放入 150 只健康的 II~III 期龄卤虫,以无卤虫的各浓度组褐潮水体为对照,置于室内条件下[连续光照 $(4 \pm 0.5) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 温度 $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$], 8 h 内每 2 h 记录藻密度。摄食率用 Frost 公式(2)计算^[8]。

$$I = \frac{V}{N \times t} (\text{Ln} C_{ck} - \text{Ln} C_{cf}) \frac{C_{cf} - C_0}{\text{Ln} C_{cf} - \text{Ln} C_0} \quad (2)$$

式中, I 为摄食率[个/(只·h)], N 为卤虫个数(只), V 为饵料溶液体积(mL), C_{ck} 为对照组浓度(个/mL), C_{cf} 为饵料组浓度(个/mL), C_0 为饵料组初始浓度(个/mL), t 为摄食时间(h)。

皮肤刺激性实验 急性皮肤刺激实验,方法参照《毒理学基础实验指导》^[9]。实验前,将雌雄 2 只实验兔背部脊柱和腹部中线两侧剪毛,去毛面积为 $2.5 \text{ cm} \times 2.5 \text{ cm}$ 。将 0.5 mL 浓度为 2.8×10^5 个/mL 的抑食金球藻涂抹于兔背部一侧去毛皮肤上,另一侧涂抹天然过滤海水为对照。将上述浓度藻液稀释 1 倍后涂抹于兔腹部一侧去毛皮肤上,另一侧皮肤涂抹天然过滤海水为对照。以上涂抹处均用四层纱布($2.5 \text{ cm} \times 2.5 \text{ cm}$)和一层玻璃纸覆盖。4 h 后,用温水(25°C)清除残留的藻液和海水,于 1、24、48 和 72 h 观察皮肤反应。按《化学品毒理学评价程序和试验方法》^[10] 皮肤刺激反应评分标准,以受试动物积分的平均值进行综合评价。根据 24、48 和 72 h 各观察时点的刺激反应最高积分均值,依皮肤刺激强度标准分级判定受试动物对皮肤的刺激强度。

若急性皮肤刺激结果不明显,则进行多次皮肤刺激实验。取 2.8×10^5 个/mL 的抑食金球藻 0.5 mL 涂抹在一侧皮肤上,另一侧涂抹过滤的海水为对照,每天涂抹 1 次,连续 7 d,涂抹 1 h 后观察,按《化妆品卫生规范》^[11] 评分。

急性眼刺激性实验 实验前 24 h,对实验兔的眼睛进行常规检查。轻拉开实验兔一侧眼睛的下眼睑,将 0.1 mL 浓度为 2.8×10^5 个/mL 抑食金球藻滴入一只实验兔一侧眼结膜囊内,将上述浓度稀释一倍后再滴入另一只实验兔一侧眼结膜囊内。滴眼后 30 s 用无刺激的清水流冲洗 30 s,另一侧眼不处理为对照。在处理 1、24、48 和 72 h 检查兔眼,按《化学品毒理学评价程序和试验方法》^[10] 中眼损害的标准评分,并根据 24、48 和 72 h 观察时点的刺激反应的最高积分和恢复时间评价,按眼刺激性反应强度分级标准判定受试物对眼的刺激强度。

急性经口实验 参照《毒理学基础实验指导》^[9],实验前将小白鼠禁食 16 h,不限制饮水。将小白鼠称重后分成 4 组,同性别的随机分配,每组 10 只,5 雌 5 雄,雌雄分笼饲养。将浓度为 2.8×10^5 个/mL (A 组) 的抑食金球藻分别稀释 0.5 倍(B 组)、1 倍(C 组)和 1.5 倍(D 组),灌胃体积按 20 mL/kg 的剂量对小白鼠进行经口灌

胃,灌胃后继续禁食 3~4 h。14 d 内每天定时观察并记录小白鼠的状态,中毒和死亡情况。

2 结果与分析

2.1 抑食金球藻对卤虫的急性毒性

卤虫暴露在抑食金球藻褐潮水体中 42 h 时,藻密度为 4.7×10^4 和 1.4×10^4 个/mL 的实验组

中各观察到 1 只卤虫死亡,死亡率均为 3.3%。48 h 时,对照组中卤虫的死亡率上升为 6.7%,按公式(1)进行校正后,藻密度为 4.7×10^4 和 1.4×10^4 个/mL 的死亡率均为负值,系随机死亡。其他各组 48 h 内均未发现有卤虫死亡(表 1),卤虫保持着较好的活力。

表 1 暴露于抑食金球藻中卤虫在 48 h 内的死亡率和死亡几率

Tab. 1 The death rate and death probit of *A. sinica* exposed to *A. anophagefferens* within 48 h

ET ^a	1.5×10^5 个/mL		8.4×10^4 个/mL		4.7×10^4 个/mL		2.6×10^4 个/mL		1.4×10^4 个/mL		对照 control	
	DR ^b	DP ^c	DR	DP	DR	DP	DR	DP	DR	DP	DR	DP
6 h	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
12 h	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
18 h	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
24 h	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
30 h	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
36 h	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
42 h	0	-	0	-	3.3	3.16	0	-	3.3	3.16	0	-
48 h	0	-	-3.6	-	-3.6	-	0	-	0	-	6.7	3.5

注:a:暴露时间(h);b:死亡率(%);c:死亡几率

Notes:a:exposure time(h);b:death rate(%);c:death probit

2.2 卤虫对抑食金球藻的摄食率

总体看来,各摄食时间段内卤虫对抑食金球藻的摄食率随着藻密度的降低而降低,在藻密度最高的摄食组中,随着摄食时间的延长其摄食率呈降低趋势,而在其它藻密度下,其摄食率在 2~6 h 有下降趋势,6 h 后又略有上升(图 1)。

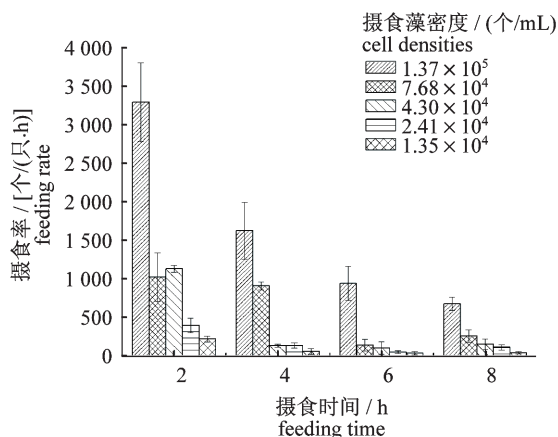


图 1 卤虫对抑食金球藻的摄食率

Fig. 1 Feeding rate of *A. salina* on *A. anophagefferens*

2.3 皮肤刺激性实验

对实验兔的急性和多次皮肤刺激性实验均未见刺激性和腐蚀性反应,积分均为 0,说明高浓度抑食金球藻藻液对皮肤无刺激性,不会对皮肤造

成急性伤害。

2.4 急性眼刺激性实验

急性眼刺激性实验中,仅 1 只实验兔在 1 h 时结膜有轻微充血,但 24 h 后即恢复正常。在 72 h 内未观察到任何刺激反应,积分为 0,说明抑食金球藻藻液对眼睛无刺激性。

2.5 急性经口实验

在受试观察的 14 d 中 A、C 和 D 组的小白鼠均无死亡,活动也无异常。B 组雄性小白鼠中仅 1 只第 8 天死亡,但其尾部有伤痕,推测可能因食物争夺受伤感染死亡。

3 讨论

3.1 抑食金球藻对卤虫的急性毒性及卤虫的摄食

有毒有害赤潮暴发常常导致该海域野生或养殖鱼类和贝类的死亡,给海产养殖业带来灾难。目前,尚没有抑食金球藻对海洋鱼类负面影响的报道,这与本次褐潮现场未发现鱼类死亡相符。但是,抑食金球藻能产生一种类似多巴胺的生物活性物质,能抑制贝类侧纤毛的活动^[12],从而对滤食性贝类产生负面影响,具体表现为抑制贝类摄食、贝类停止生长、死亡等^[4-5],这与当地 2011

年褐潮期及其后贝类大量死亡、产量剧减的情况相符。

卤虫是一种重要的饵料生物,也是理想的实验动物材料,近年来已被广泛用于赤潮藻类毒性研究^[13-15]。有毒有害赤潮暴发时,对浮游生物也会造成负面影响,球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa* strain) 24 h对卤虫的半致死浓度为 2.9×10^5 个/mL^[14]。各个龄期的卤虫在藻密度为 2×10^3 个/mL的有毒亚历山大藻水体中,24~168 h内全部死亡^[16]。本实验中,当卤虫暴露在最高密度达 1.5×10^5 个/mL的抑食金球藻水体中时,48 h内一直保持着较好的活力,表明该藻对卤虫没有急性毒性。有毒藻类对浮游动物的影响还可表现为对其摄食产生抑制作用^[17-18]。本实验则表明卤虫对本次褐潮的原因种抑食金球藻有较高的摄食率,8 h内卤虫对抑食金球藻的摄食率最高可达3 287个/只/h,这进一步说明了该藻对卤虫没有急性毒性。浮游动物对浮游植物的摄食是影响浮游植物种群数量的重要因素,进而影响整个赤潮的消长过程^[19]。在各个摄食时间段内,本实验结果与浮游动物摄食其它无毒藻类的结果相似^[17,20],卤虫对该类藻的摄食率均呈现随着藻密度的增加而升高的趋势,属第三类浮游动物,对赤潮的控制能力也最有效^[19],可以推测,水体中卤虫密度的高低可能会影响抑食金球藻褐潮的消退。

值得注意的是,抑食金球藻对浮游动物的影响有较大差异。Lonsdale等^[21]研究表明抑食金球藻会抑制浮游动物的生长率,然而,Caron等^[22]研究表明浮游动物的摄食率和生长率不受抑食金球藻的影响,该藻还能是一些种类纤毛虫合适的饵料^[23],这可能与不同的藻株毒性大小不同有关,与同种藻株对不同的动物而言,其敏感程度也不同^[24-26]有关。Smith等^[27]用*Acartia tonsa*的无节幼虫对两株抑食金球藻的摄食研究结果表明,*A. tonsa*对藻株1708(该藻株对贝类有毒)的摄食率较高,而对藻株1850却基本不摄食。本实验结果表明,在48 h内抑食金球藻对II-III期龄的卤虫存活没有影响,且卤虫对该藻的摄食率也较高,在48 h后卤虫个体也有明显增长,但这并不能排除该藻对卤虫没有亚致死效应。一些有毒藻类能对浮游动物的产卵力、孵化率以及胚胎发育产生抑制作用^[28-30]。急游虫(*Strombidium* sp.)虽然对抑食金球藻有很高的摄食率,但其种

群的增长率却很低^[23]。类似的,*A. tonsa*对藻株1708的摄食率较高,但其对*A. tonsa*种群的发展来说却不是一种理想饵料^[27]。由于实验条件的限制,本实验未对卤虫进行亚急性毒理研究,该藻对卤虫是否存在慢性毒性作用还有待研究。

3.2 抑食金球藻对人类健康的影响

实验兔在大多数情况下对有刺激性或腐蚀性的物质较人类敏感^[11],所以兔皮肤刺激和眼刺激实验可为评估有害藻华对人体危害性以及开展卫生监督提供依据。本实验表明,不同浓度的抑食金球藻水体均对实验兔的皮肤无明显刺激性。皮肤刺激性实验和眼刺激性实验结果之间存在一定的正相关性,但相关程度较弱^[31],故难以根据皮肤刺激实验结果来推测眼刺激。与皮肤刺激性实验相比,眼刺激性实验的敏感性更高^[32],急性眼刺激实验中一只实验兔的眼部有轻微充血,可能是滴眼后用清水冲洗造成的结果^[33]。对发生在海滨浴场的赤潮水体,人们首先考虑的是该水体对泳者皮肤的刺激作用,而忽略了对泳者眼睛可能带来的风险。考虑到眼睛比皮肤敏感性高以及眼睛的重要性,在评估赤潮水体对人体表的健康影响时,可优先进行有害藻华的眼刺激性实验。对小白鼠的急性经口灌胃实验也表明,抑食金球藻对小白鼠无毒害作用,因此推断,本次发生的抑食金球藻褐潮对人们健康安全无明显的负面影响,人们在海边的生产活动不会受其危害。

参考文献:

- [1] Zhang Q C, Qiu L M, Yu R C, et al. Emergence of brown tides caused by *Aureococcus anophagefferens* Hargraves et Sieburth in China [J]. *Harmful Algae*, 2012, 19: 117-124.
- [2] Sieburth J M, Johnson P W, Hargraves P E. Ultrastructure and ecology of *Aureococcus anophagefferens* gen. et sp. nov. (Chrysophyceae): The dominant picoplankton during a bloom in Narragansett Bay, Rhode Island, summer 1985 [J]. *Journal of Phycology*, 1988, 24(3): 416-425.
- [3] Pitcher G C, Calder D. Harmful algal blooms of the southern Benguela Current: A review and appraisal of monitoring from 1989 to 1997 [J]. *Journal of Marine Science*, 2000, 22(1): 255-271.
- [4] Bricelj V M, Lonsdale D J. *Aureococcus anophagefferens*: Causes and ecological consequences of brown tides in US mid-Atlantic coastal waters

- [J]. *Limnology and Oceanography*, 1997, 42 (5): 1023 - 1038.
- [5] Bricelj V M, MacQuarrie S P, Schaffner R A. Differential effects of *Aureococcus anophagefferens* isolates ("brown tide") in unialgal and mixed suspensions on bivalve feeding[J]. *Marine Biology*, 2001, 139(4):605 - 616.
- [6] State Oceanic Administration. Bulletin of marine disasters Chinese[EB/OL]. http://www.mlr.gov.cn/2wgk/tjxx/201104/t20110426_846266.htm, 2011 - 04 - 26/2013 - 05 - 10. [国家海洋局. 2010年中国海洋灾害公报. http://www.mlr.gov.cn/2wgk/tjxx/201104/t20110426_846266.htm, 2011 - 04 - 26/2013 - 05 - 10.]
- [7] Zhou Y X, Zhang Z S. The experimental method for aquatic organisms [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1989. [周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性实验方法. 北京: 农业出版社, 1989.]
- [8] Frost B W. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behavior of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus* [J]. *Limnology and Oceanography*, 1972, 17(6):805 - 815.
- [9] Tang H W, Jin S G. Toxicology experiment guidance [M]. Beijing: Science Press, 2010. [唐焕文, 靳曙光. 毒理学基础实验指导. 北京: 科学出版社, 2010.]
- [10] GBZ/T 240.2 - 2011, GBZ/T 240.5 - 2011, GBZ/T 240.6 - 2011. Procedures and tests for toxicological evaluations of chemicals (the second part, the fifth part, the sixth part) [S]. Beijing: Chinese Standards Press, 2011. [GBZ/T 240.2 - 2011, GBZ/T 240.5 - 2011, GBZ/T 240.6 - 2011. 化学品毒理学评价程序和试验方法(第2部分、第5部分、第6部分). 北京: 中国标准出版社, 2011.]
- [11] Zhao T G. Hygienic standard for cosmetics [M]. Beijing: Military Medical Science Press, 2007. [赵同刚. 化妆品卫生规范. 北京: 军事医学科学出版社, 2007.]
- [12] Gainey L F, Shumway S E. The physiological effect of *Aureococcus anophagefferens* ("brown tide") on the Lateral Cilia of Bivalve Mollusks [J]. *Biological Bulletin*, 1991, 181(2):298 - 306.
- [13] Sun K, Yan T, Zhou M J, et al. Effect of *Karenia mikimotoi* on the survival of rotifer *Brachionus plicatilis*, brine shrimp *Artemia salina*, and *Neomysis awatschensis* [J]. *Marine Sciences*, 2010, 34(9): 76 - 81. [孙科, 颜天, 周名江, 等. 米氏凯伦藻对褶皱臂尾轮虫、卤虫和黑褐新糠虾存活的影响. 海洋科学, 2010, 34(9):76 - 81.]
- [14] Wei W, Jiang T J. Studies on the toxicity of two strains *Phaeocystis globosa* scherffeto to *Artemia sinica* [J]. *Ecologic Science*, 2005, 24(1):38 - 41. [危蔚, 江天久. 有害赤潮生物球形棕囊藻对卤虫的毒性研究. 生态科学, 2005, 24(1):38 - 41.]
- [15] Yang W D, Shang W, Liu J S. Acute toxicities of *Phaeocystis globosa* on five aquatic animals [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2009, 17(1):68 - 73. [杨维东, 商文, 刘洁生. 球形棕囊藻对五种水生动物的急性毒性作用. 热带亚热带植物学报, 2009, 17(1):68 - 73.]
- [16] Wu Z X, Zou Y L, Zhu M Y, et al. The effects of toxic *Alexandrium species* on the survival and feeding rate of brine shrimp *Artemia salina* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(12):3942 - 3947. [吴振兴, 邹迎麟, 朱明远, 等. 有毒亚历山大藻对卤虫存活率和摄食率的影响. 生态学报, 2006, 26(12):3942 - 3947.]
- [17] Jiang T J, Qi S. The grazing of *Acartia spinicauda* giesbrecht on *Alexandrium catenella* taylor in Dapen Bay, Guangdong [J]. *Journal of Jinan University: Natural Science & Medicine Edition*, 1994(3):99 - 105. [江天久, 杞桑. 广东深圳大鹏湾的桡足类腹刺纺锤水蚤对链状亚历山大藻摄食的研究. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 1994, 15(3):99 - 105.]
- [18] Huntley M, Sykes P, Rohan S, et al. Chemically-mediated rejection of dinoflagellate prey by the copepods *Calanus pacificus* and *Paracalanus parvus*: mechanism, occurrence and significance [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1986, 28:105 - 120.
- [19] Sun J, Liu D Y, Wang Z L, et al. The effects of zooplankton grazing on the development of red tides [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(7):1514 - 1522. [孙军, 刘东艳, 王宗灵, 等. 浮游动物摄食在赤潮生消过程中的作用. 生态学报, 2004, 24(7):1514 - 1522.]
- [20] Xie Z H, Tang X X, Lu K H. Effects of microalgal species and concentrations on the feeding and digestive enzyme activities of *Calanus sinicus* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(2):613 - 618. [谢志浩, 唐学玺, 陆开宏. 藻类种类和浓度对中华哲水蚤 (*Calanus sinicus*) 摄食和消化酶活性的影响. 生态学报, 2009, 29(2):613 - 618.]
- [21] Lonsdale D J, Cospser E M, Kim W S, et al. Food web interactions in the plankton of Long Island bays, with preliminary observations on brown tide effects

- [J]. Marine Ecology Progress Series, 1996, 134(1): 247 - 263.
- [22] Caron D A, Lim E L, Kunze H, *et al.* Trophic interactions between nano-and microzooplankton and the "brown tide" [M] // Coper E M, Bricelj V M, Carpenter E J, Eds. Berlin: Springer, 1989: 265 - 294.
- [23] Caron D A, Gobler C J, Lonsdale D J, *et al.* Microbial herbivory on the brown tide alga, *Aureococcus anophagefferens*: results from natural ecosystems, mesocosms and laboratory experiments [J]. Harmful Algae, 2004, 3(4): 439 - 457.
- [24] Chen Y, Yan T, Tan Z J, *et al.* Toxicity of dinoflagellate *Alexandrium* species [J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2007, 38(1): 55 - 61. [陈洋, 颜天, 谭志军, 等. 四种/株亚历山大藻 (*Alexandrium*) 毒性的比较研究. 海洋与湖沼, 2007, 38(1): 55 - 61.]
- [25] Yan T, Zhang Y, Han G, *et al.* Experimental study on the harmful effects of large-scale habs in the East China Sea the toxicity to *Neomysis awatschensis* and *Artemia salina* [J]. Studia Marina Sinica, 2007, 48: 166 - 175. [颜天, 张艺, 韩刚, 等. 东海大规模赤潮危害影响的实验研究——对黑褐新糠虾和卤虫的毒性效应. 海洋科学集刊, 2007, 48: 166 - 175.]
- [26] Jiang T J, Jiang T, Zeng M, *et al.* Toxicity of red tide Alga *Phaeocystis globosa* Scherffel from Zhanjiang against Young *Penaeus vannamei* Boone and Fish Fry [J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2006, 14(6): 487 - 491. [江天久, 江涛, 曾森, 等. 湛江棕囊藻对南美白对虾虾苗和多种鱼苗的毒性研究. 热带亚热带植物学报, 2006, 14(6): 487 - 491.]
- [27] Smith J K, Lonsdale D J, Gobler C J, *et al.* Feeding behavior and development of *Acartia tonsa* nauplii on the brown tide alga *Aureococcus anophagefferens* [J]. Journal of Plankton Research, 2008, 30(8): 937 - 950.
- [28] Ianora A, Poulet S A, Miralto A, *et al.* The diatom *Thalassiosira rotula* affects reproductive success in the copepod *Acartia clausi* [J]. Marine Biology, 1996, 125(2): 279 - 286.
- [29] Frangópulos M, Guisande C, Maneiro I, *et al.* Short-term and long-term effects of the toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum* on the copepod *Acartia clausi* [J]. Marine Ecology Progress Series, 2000, 203: 161 - 169.
- [30] Zhu J Y, Lu K H, Pan J H. Progress in the effect of microcystis bloom on freshwater zooplankton rotifer and cladoceran [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(2): 367 - 375. [朱津永, 陆开宏, 潘洁慧. 微囊藻水华对淡水浮游动物轮虫和枝角类影响的研究进展. 中国水产科学, 2008, 15(2): 367 - 375.]
- [31] Wu X D, Gong Z C. Experimental study for irritant effect of hydroquinone on eyes and skin of rabbits and Guinea pigs [J]. Occupational Health and Emergency Rescue, 1997, 15(2): 63 - 65. [吴向东, 龚梓初. 氢醌对皮肤和眼刺激作用的实验研究. 职业卫生与应急救援, 1997, 15(2): 63 - 65.]
- [32] Huang C P, Zhao P, Liang H L, *et al.* Comparative analysis of results of dermal and eye irritation test of cosmetics [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2010, 20(7): 1701 - 1702. [黄超培, 赵鹏, 梁慧莉, 等. 化妆品的皮肤和眼刺激性试验结果比较分析. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(7): 1701 - 1702.]
- [33] Xiong X K, Xie X P, Cai W, *et al.* Experimental study on eye irritation of cosmetics [J]. Journal of Health Toxicology, 2001, 15(4): 267 - 268. [熊习昆, 谢晓平, 蔡玟, 等. 化妆品的眼刺激性实验研究. 卫生毒理学杂志, 2001, 15(4): 267 - 268.]

Acute toxicity of *Aureococcus anophagefferens* on *Artemia sinica* and mice, and stimulation of the alga on rabbit skin and eyes

WU Ni¹, XU Xiaojiao², JIANG Tianjiu^{1*}, JIANG Tao¹, LV Songhui¹

(1. Research Center for Harmful Algae Blooms and Marine Biology; Key Laboratory of Eutrophication and Red Tide Prevention of Guangdong Higher Education Institutes, Jinan University, Guangzhou 510632, China;

2. College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510630, China)

Abstract: In summer of 2011, harmful algae bloom (HAB) caused by picoplanktonic alga *Aureococcus anophagefferens* broke out again along the coast of Qinhuangdao Island, China. In order to understand the toxicity and the impact on human health, acute toxicity of the bloom water against *Artemia sinica* and the feeding rate of *A. sinica* on *A. anophagefferens* were studied under laboratory conditions. Stimulation effects of *A. anophagefferens* monoclonal culture on skins and eyes of rabbits were also studied. In addition, acute oral toxicity tests were carried out on mice. The results showed that the bloom water has no impact on the survival of *A. sinica* within 48 h. *A. sinica* could feed on *A. anophagefferens*, and the feeding rate increased with cell density of *A. anophagefferens*. The highest feeding rate of *A. sinica* within 8 h was up to 3 287 cells/ind/h. *A. anophagefferens* had no discernible effect on rabbits' skins and eyes, and also had no effect on mice. It is relatively safe for people working or swimming in the sea during the *A. anophagefferens* bloom.

Key words: *Aureococcus anophagefferens*; acute toxicity; *Artemia sinica*; feeding rate

Corresponding author: JIANG Tianjiu. E-mail: tjiangtj@jnu.edu.cn