

湛江棕囊藻对南美白对虾虾苗和多种鱼苗的毒性研究

江天久^{1,4*}, 江涛², 曾淼³, 李鹏¹, 佟蒙蒙¹

(1. 暨南大学理工学院, 广州 510632; 2. 中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室, 青岛 266071;
3. 暨南大学生命科学技术学院, 广州 510632; 4. 华南师范大学生命科学学院, 广州 510632)

摘要: 测定了湛江棕囊藻赤潮海水和棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)对南美白对虾(*Penaeus vannamei* Boone)虾苗、青石斑鱼(*Epinephelus awoara*)、鲮鱼(*Mugil cephalus*)和尖吻鲈鱼(*Latescal carifer*)鱼苗的毒性。结果表明,棕囊藻对虾苗有一定的毒性,24 h LC₅₀为 1.0×10^9 cells L⁻¹,去除囊泡液后的棕囊藻碎片对虾苗毒性较弱,细胞密度为 1.0×10^9 cells L⁻¹时,24 h 虾苗的死亡率仅为 10%,赤潮海水对虾苗无毒性;棕囊藻囊泡液对青石斑鱼有一定毒性,24 h LC₅₀为囊泡液占海水总体积的 10.9%,赤潮海水对青石斑鱼苗无毒性;棕囊藻对尖吻鲈鱼和鲮鱼鱼苗无毒性。

关键词: 球形棕囊藻; 毒性试验; 南美白对虾; 青石斑鱼; 鲮鱼; 尖吻鲈鱼; 鱼苗

中图分类号: Q949.206

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2006)06-0487-05

Toxicity of Red Tide Alga *Phaeocystis globosa* Scherffel from Zhanjiang against Young *Penaeus vannamei* Boone and Fish Fry

JIANG Tian-jiu^{1,4*}, JIANG Tao², ZENG Miao³, LI Peng¹, TONG Meng-meng¹

(1. College of Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. Key Laboratory of Marine Ecology & Environmental Sciences, Institute of Oceanography, the Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 3. College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 4. College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: The toxicities of the alga of *Phaeocystis globosa* and the red tide seawater collected from the seaport in Zhanjiang City in April 2005, were detected. The dispersed alga colony had certain impact on the survival of young *Penaeus vannamei* Boone shrimps with 24 h LC₅₀= 1.0×10^9 cells L⁻¹. The mortality of the young shrimps was as low as 10% exposed for 24 h to 1.0×10^9 cells L⁻¹ of the alga colony removed of liquor. The red tide seawater had toxicity neither against the young shrimps nor against *Epinephelus awoara* (3 mm) fry. *P. globosa* exhibited no toxicity against the fry of *Mugil cephalus* and *Latescal carifer*. *E. awoara* fry were, however, sensitive to the alga, of which half died within 24 h in the presence of the alga colony liquor accounting for 10.9% of seawater volume.

Key words: *Phaeocystis globosa*; Toxicity bioassay; *Penaeus vannamei*; *Epinephelus awoara*; *Mugil cephalus*; *Latescal carifer*; Fry

球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa* Scherffel)是一种广温广盐性的藻类,能在富营养化海域中短期内

爆发性繁殖形成赤潮^[1]。棕囊藻具有特殊的生理机制,能产生二甲基丙磺酸(DMSP)和二甲基硫醚

收稿日期: 2006-03-16 接受日期: 2006-08-04

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(2001CB409709, 2001CB409710), 广东省科技计划项目(2004B33201003), 温州市科技计划项目 S2006A007 联合资助

* 通讯作者 Corresponding author

(DMS), 以及产生溶血毒素和丙烯酸等有毒物质, 而对水产养殖业造成严重危害^[2-5]。1997 年 10 月我国东南沿海首次发生大规模棕囊藻赤潮, 1999 年 7 月在饶平等海域发生该藻类赤潮, 给当地的渔业造成一定经济损失^[6]。2005 年 1 月湛江港爆发 200 多平方公里海域的球形棕囊藻赤潮, 持续时间 4 个月, 造成大量星斑裸颊鲷 (*Lethrinus nebulosus*, 俗称尖嘴、龙占) 成鱼及鱼苗和部分黄鳍鲷 (*Sparus latus*) 成鱼的死亡。湛江港是我国主要的水产养殖基地, 对虾的出口约为我国对虾出口量的一半以上。鉴于棕囊藻赤潮对渔业生产危害严重, 我们于 2005 年 4 月在湛江港赤潮爆发区采集赤潮海水和球形棕囊藻, 在室内进行球形棕囊藻对鱼苗和虾苗的毒性试验, 以探讨棕囊藻毒素对鱼苗和虾苗的毒性, 为水产养殖业提供资料, 以便在棕囊藻赤潮发生时及时采取措施, 减小经济损失。

1 材料和方法

1.1 样品的采集与处理

于 2005 年 4 月中上旬湛江港内球形棕囊藻赤潮爆发期间, 从赤潮区采集球形棕囊藻 (*Phaeocystis globosa*) 和赤潮海水带回实验室进行实验。对部分棕囊藻胶质囊进行机械挤压破碎后过滤或离心, 使较浓稠的棕囊藻胶质囊被和囊泡液分开, 立即用于实验或者置于 -20°C 冰箱保存备用。

鲷鱼苗 (*Mugil cephalus*, 平均体重和长度约为 1.3 g、4.5 cm)、尖吻鲈鱼苗 (*Latescal carifer*, 平均体重和长度约为 0.4 g、2 cm)、青石斑鱼苗 (*Epinephelus awoara*, 长度约 3 mm) 以及南美白对虾苗 (凡纳对虾 *Penaeus vannamei* Boone, 平均体重和长度约为 0.07g、1 cm) 均从当地养殖场获得, 移至实验室驯养 1 d 后进行实验。

1.2 溶血毒素的测定

溶血毒素的测定参考何家苑等^[7]的方法, 本实验仅进行了溶血毒素的定性分析, 没有对其定量测定。

1.3 对生物活体的毒性试验

实验温度控制在 $20\pm 1^{\circ}\text{C}$, 定时对容器中海水进行曝气, 观察记录受试生物中毒症状和死亡数量, 及时剔除死亡个体。以下毒性试验均设立两组平行和空白对照, 两次重复, 结果取两次实验的平均值。

棕囊藻对南美白对虾虾苗毒性试验 从赤潮海水中捞取棕囊藻, 一部分棕囊藻用机械挤压, 破碎后将棕囊藻碎片和囊泡液置于人工海水中, 使藻细胞的密度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.6 ($\times 10^9$ cells L^{-1}); 另一部分棕囊藻经机械挤压破碎后离心或过滤, 去除囊泡液后将棕囊藻碎片置于人工海水中, 使藻细胞密度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.6 ($\times 10^9$ cells L^{-1}); 过滤赤潮海水 (不含肉眼可见的棕囊藻) 用人工海水稀释, 浓度为 100%、80%、60%、40%。每个烧杯内海水总体积为 200 ml, 试验虾苗随机分配, 放置虾苗 5 只, 每个浓度组试验虾苗总数为 10 只, 4 h 观察记录一次死亡个数。

棕囊藻对青石斑鱼鱼苗毒性试验 赤潮海水 (藻细胞密度约为 8.7×10^6 cells L^{-1})、过滤赤潮海水 (不含肉眼可见的棕囊藻) 和棕囊藻囊泡液用人工海水稀释, 浓度分别设置为 100%、50%、25%、12%、6%、3%。每个烧杯内海水总体积为 200 ml, 试验鱼苗随机分配, 放置鱼苗 5 条, 每个浓度组试验鱼苗总数为 10 条, 6 h 观察记录一次死亡个数。

棕囊藻对鲷鱼和尖吻鲈鱼鱼苗毒性试验 赤潮海水 (藻细胞密度约为 8.7×10^6 cells L^{-1}) 用人工海水稀释, 浓度设置为 100%、67%、44%、30%、20%; 棕囊藻机械挤压破碎后 (含棕囊藻碎片和囊泡液) 置于人工海水中, 调节藻细胞密度分别为 0.5、1.1、2.3、4.8、8.5 ($\times 10^9$ cells L^{-1}); 棕囊藻机械挤压破碎后经离心或过滤, 将棕囊藻碎片 (去除囊泡液) 置于人工海水中, 调节藻细胞密度分别为 0.5、1.1、2.3、4.8、8.5 ($\times 10^9$ cells L^{-1}); 棕囊藻囊泡液用人工海水稀释, 浓度分别设置为 100%、50%、25%、13%、7%; 活体棕囊藻、活体棕囊藻粉碎颗粒 (粒度小于 0.5 mm) 置于人工海水中, 使藻细胞密度分别为 0.6、1.3、2.2、2.8、3.6 ($\times 10^8$ cells L^{-1})。

试验在直径为 15 cm 的一次性塑料碗中进行, 海水总体积为 550 ml, 每只碗放鲷鱼苗 (或尖吻鲈鱼苗) 5 条, 每个浓度组的鱼苗总数为 10 条, 6 h 观察记录一次死亡个数。

2 结果和分析

2.1 棕囊藻对南美白对虾虾苗的毒性

机械挤压破碎后的棕囊藻对虾苗的毒性如表 1 所示, 当棕囊藻细胞密度达到 1.6×10^9 cells L^{-1} 时,

24 h 虾苗的死亡率为 100%; 细胞密度为 $0.2 \times 10^9 \text{ cells L}^{-1}$ 时, 24 h 内无虾苗死亡。浓度对数(X)与死亡机率(Y)的线性回归方程为: $Y = 3.93X - 30.45$ ($R^2 = 0.7396$)。

通过回归方程计算得出棕囊藻碎片对虾苗的 24 h LC_{50} 为 $1.0 \times 10^9 \text{ cells L}^{-1}$ 。

去除囊泡液的棕囊藻碎片对虾苗也具有一定毒性(表 2), 但毒性较弱。棕囊藻细胞密度为 $1.0 \times 10^9 \text{ cells L}^{-1}$ 时, 24 h 虾苗的死亡率仅为 10%; 当细胞密度低于 $0.8 \times 10^9 \text{ cells L}^{-1}$ 时, 24 h 内无虾苗死亡。

表 1 破碎棕囊藻对虾苗的毒性(24 h)

Table 1 Mortalities of young *P. vannamei* exposed for 24 h to the dispersed *P. globosa* colony

棕囊藻细胞密度 Cell concentration ($10^9 \text{ cells L}^{-1}$)	浓度对数 Logarithm concentration	虾苗个数 Number of Shrimps	死亡率 Mortality (%)	死亡率死亡率 Mortality probit
1.6	9.2041	10	100	—
1.2	9.0791	10	80	5.84
1.0	9.0000	10	30	4.48
0.8	8.9031	10	30	4.48
0.6	8.7782	10	10	3.72
0.4	8.6021	10	10	3.72
0.2	8.3010	10	0	—
对照 Control	0	10	0	—

表 2 去除囊泡液的棕囊藻碎片对虾苗的毒性(24 h)

Table 2 Mortalities of young *P. vannamei* exposed for 24 h to the dispersed cell colony removed of liquor

棕囊藻碎片细胞密度 Cell concentration ($10^9 \text{ cells L}^{-1}$)	浓度对数 Logarithm concentration	虾苗个数 Number of shrimps	死亡率 Mortality (%)	死亡率死亡率 Mortality probit
1.6	9.2041	10	20	4.16
1.2	9.0791	10	10	3.72
1.0	9.0000	10	10	3.72
0.8	8.9031	10	0	—
0.6	8.7782	10	0	—
0.4	8.6021	10	0	—
对照 Control	0	10	0	—

虾苗在过滤赤潮海水中 24 h 内均无死亡, 表明过滤赤潮海水对虾苗无毒性。

比较表 1 和表 2 发现, 去除泡液的棕囊藻碎片对虾苗的毒性明显降低, 表明棕囊藻囊泡液的存在显著提高棕囊藻对虾苗的毒性, 但是棕囊藻碎片和

囊泡液的毒性均不高。棕囊藻赤潮即使在赤潮带的藻细胞密度也很难达到 $10^9 \text{ cells L}^{-1}$ 。同时可以看出, 本次赤潮优势种球形棕囊藻在赤潮水体中释放的毒素量也很低, 不足以造成虾苗的死亡。

2.2 棕囊藻对青石斑鱼鱼苗的毒性

青石斑鱼鱼苗在过滤赤潮海水中 24 h 内仅死亡 1 条(表 3), 对比赤潮海水和对照组的实验结果, 我们认为该鱼苗死亡属于随机误差, 表明赤潮海水和过滤的赤潮海水对青石斑鱼鱼苗无毒性。

棕囊藻囊泡液对青石斑鱼具有一定毒性(表 3), 通过浓度对数(X)与死亡机率(Y)做线性回归, 线性回归方程为: $Y = 2.61X + 2.29$ ($R^2 = 0.8245$)。经计算得出 24 h LC_{50} 为囊泡液占海水体积的 10.9%。毒性试验 24 h 以后, 青石斑鱼苗的随机死亡数骤增, 故本实验仅取 24 h 的实验结果。

表 3 青石斑鱼苗在赤潮海水和棕囊藻囊泡液中的死亡数

Table 3 Death numbers of *E. awoara* fry in the presence of the seawater and the alga colony liquor for 24 h

	浓度 Concentration (%)						对照 Control
	100	50	25	12	6	3	
赤潮海水 Seawater	0	0	0	0	0	—	0
过滤赤潮海水 Filtered seawater	1	0	0	0	0	—	0
囊泡液 Alga colony liquor	10	10	9	3	1	1	0
鱼苗死亡率 Fry mortality probit	—	—	6.28	4.48	3.72	3.72	—

2.3 棕囊藻对鲷鱼鱼苗和尖吻鲈鱼苗的毒性

按实验设计进行鲷鱼和尖吻鲈鱼两种鱼苗的毒性试验。结果表明(表 4), 尖吻鲈鱼和鲷鱼鱼苗在赤潮海水、棕囊藻碎片和囊泡液中 72 h 内均无毒性。鲷鱼苗在整个实验过程中无任何死亡。但是值得注意的是, 与对照相比, 高浓度的破碎棕囊藻、活体棕囊藻和活体棕囊藻粉碎颗粒溶液中, 尖吻鲈的死亡数量有所减少(表 4)。尖吻鲈鱼在养育过程中经常出现相互厮杀的现象, 在高浓度溶液中死亡减少是否由于棕囊藻对尖吻鲈的行为方式有一定的抑制作用还有待进一步研究。

表 4 鲷鱼和尖吻鲈鱼苗在不同溶液中的死亡数
Table 4 Death numbers of *M. cephalus* and *L. carifer* fry in different solutions (72 h)

赤潮海水比例 Seawater (%)	100	67	44	30	20	对照 Control
尖吻鲈 <i>L. carifer</i>	0	0	1	0	0	3
鲷鱼 <i>M. cephalus</i>	0	0	0	0	0	0
棕囊藻碎片 (含囊泡液) Dispersed alga colony with liquor (10^9 cells L^{-1})	8.5	4.8	2.3	1.1	0.5	对照 Control
尖吻鲈 <i>L. carifer</i>	0	0	0	1	0	3
鲷鱼 <i>M. cephalus</i>	0	0	0	0	0	0
棕囊藻碎片 (除囊泡液) Dispersed alga colony removed of liquor (10^9 cells L^{-1})	8.5	4.8	2.3	1.1	0.5	对照 Control
尖吻鲈 <i>L. carifer</i>	0	0	1	2	1	1
鲷鱼 <i>M. cephalus</i>	0	0	0	0	0	0
棕囊藻液比例 Alga colony liquor (%)	100	50	25	13	7	对照 Control
尖吻鲈 <i>L. carifer</i>	1	0	0	0	0	0
鲷鱼 <i>M. cephalus</i>	0	0	0	0	0	0
活体棕囊藻 Live <i>P. globosa</i> (10^8 cells L^{-1})	3.6	2.8	2.2	1.3	0.6	对照 Control
尖吻鲈 <i>L. carifer</i>	0	2	2	2	0	1
鲷鱼 <i>M. cephalus</i>	0	0	0	0	0	0
活体棕囊藻粉颗粒 Fresh alga particles less than 5 mm in granularity (10^8 cells L^{-1})	3.6	2.8	2.2	1.3	0.6	对照 Control
尖吻鲈 <i>L. carifer</i>	0	0	2	0	0	1
鲷鱼 <i>M. cephalus</i>	0	0	0	0	0	0

3 讨论

对棕囊藻溶血毒素进行测定,发现棕囊藻经机械挤压破碎后的棕囊藻碎片和泡液均含有溶血毒素。本研究结果表明,本次赤潮棕囊藻对不同种类生物体的毒性差异较大。棕囊藻对虾苗和青石斑鱼苗有一定的毒性,而对尖吻鲈和鲷鱼鱼苗无任何毒性。而棕囊藻碎片对虾苗的 24 h LC_{50} 为 1.0×10^9 cells L^{-1} ,棕囊藻和去除囊泡液的棕囊藻碎片浓度达到 8.5×10^9 cells L^{-1} 时,两种鱼苗均无中毒死亡,表明棕囊藻对虾苗的毒性远高于尖吻鲈和鲷鱼鱼苗,显示出棕囊藻对不同物种的毒性差异。棕囊藻囊泡液对青石斑鱼苗、尖吻鲈和鲷鱼鱼苗的毒性差异也比较明显,囊泡液对青石斑鱼苗的 24 h LC_{50} 为囊泡液占海水体积的 10.9%,而对尖吻鲈和鲷鱼鱼苗无任何毒性,这可能由于青石斑鱼苗的体积非常小,对有毒物质的耐受能力远小于体积相对较大

的尖吻鲈鱼和鲷鱼鱼苗,或者说明棕囊藻对不同的鱼种的毒性影响有差异。

在赤潮区现场调查发现,本次赤潮造成大量星斑裸颊鲷 (*Lethrirus nebulosus*, 俗称尖嘴、龙占) 成鱼及鱼苗和部分黄鳍鲷 (*Sparus latus*) 成鱼的死亡,说明此次棕囊藻赤潮对这两种鱼有较强的毒性,受实验条件限制,本次现场实验未能对上述两种鱼类进行毒性试验。

本次赤潮棕囊藻溶血毒素的检测结果表明有一定量的溶血毒素存在。从现场调查来看,部分养殖鱼的死亡症状表现为鱼鳃鲜红,有血丝,而当时海水的溶解氧测定显示正常,这些表明可能为溶血毒素导致鱼的死亡,进一步的鱼鳃病理切片正在进行中。采自饶平海域的棕囊藻也检测出存在溶血毒素^[4],但为何饶平和湛江港海域球形棕囊藻赤潮对养殖渔业的破坏程度差异如此之大? 这可能与两地的地理形态差异有关,反映出棕囊藻为适应不同环

境的生长适应性造成生理和产毒机制方面的差异性。危蔚^[9]研究了采自汕头和香港海域的两株球形棕囊藻对卤虫的毒性,认为两株棕囊藻对卤虫的毒性是有差异的,这也证实了地理形态差异造成棕囊藻生理和毒性机理的不同。

参考文献

- [1] Shen P P (沈萍萍), Wang Y (王艳), Qi Y Z (齐雨藻), et al. Growth characteristics and life cycle of *Phaeocystis globosa* scherffel [J]. Acta Hydrobiol Sin (水生生物学报), 2000, 24(6):635-643. (in Chinese)
- [2] Qi Y Z (齐雨藻), Shen P P (沈萍萍), Wang Y (王艳). Toxonomy and life cycle of genus *Phaeocystis* [J]. J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报), 2001, 9(2):174-184. (in Chinese)
- [3] Wang Z H (王朝晖), Yin Y W (尹伊伟), Chen S W (陈善文), et al. Studies on acute toxicity of acrylic acid and its esters to aquatic organisms [J]. J Jinan Univ (Nat Sci) (暨南大学学报自然科学版), 2002, 23(5):75-80. (in Chinese)
- [4] He J W (何家苑), Shi Z X (施之新), Zhang Y H (张银华), et al. Morphological characteristic and toxins of *Phaeocystis* cf. *pouchetii* (Prymnesiophyceae) [J]. Ocean Limn Sin(海洋与湖沼), 1999, 30(2):173-179.(in Chinese)
- [5] Yin Y W (尹伊伟), Wang Z H (王朝晖), Jiang T J (江天久), et al. Toxic effects of red tide toxins on fishes [J]. Marine Environ Sci (海洋环境科学), 2000, 19(4):63-65. (in Chinese)
- [6] Hong A H (洪爱华), Yin P H (尹平和), Zhao L (赵玲), et al. Povidoneiodine and isothiazolone for removing red tide algae *Phaeocystis globosa* [J]. Chin J Appl Ecol(应用生态学报), 2003, 14(7):1177-1180. (in Chinese)
- [7] He J W (何家苑), Chen M H (陈明惠), He Z R (何振荣). Isolation and characterization of toxins from the Phytoflagellate *Prymnesium parvum* [J]. J Hydrobiol (水生生物学报), 1996, 20(1):42-48. (in Chinese)
- [8] Huang C J (黄长江), Dong Q X (董巧香), Zheng L (郑磊). Taxonomic and ecological studies on a large scale *Phaeocystis pouchetii* bloom in the southeast coast of China during late 1997 [J]. Ocean Limn Sin (海洋与湖沼), 1999, 30(6):581-590. (in Chinese)
- [9] Wei W (危蔚), Jiang T J (江天久). Studies on the toxicity of two strains *Phaeocystis globosa* scherffel to *Artemia sinica* [J]. Ecol Sci (生态科学), 2005, 24(1):38-41.(in Chinese)