

磺胺嘧啶和盐酸四环素对四种赤潮藻生长的影响

孙凯峰, 寇杰锋, 姜运林, 刘冰洁, 陆尧, 邓瀚铨

(生态环境部华南环境科学研究所, 广东 广州 510535)

摘要: 本文以锥状斯氏藻 (*Scrippsiella trochoidea*)、米氏凯伦藻 (*Karenia mikimotoi*)、球形棕囊藻 (*Phaeocystis globosa*)、中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 为研究对象, 实验室条件下对比研究了磺胺间二甲氧嘧啶钠 (SMS) 和盐酸四环素 (TC) 暴露下 4 种赤潮藻的细胞增长、光合色素组成以及最大光能转化效率 (F_v/F_m) 等的变化规律。研究结果表明: 4 种赤潮藻在 SMS 和 TC (7.5~240 mg/L) 暴露组细胞密度均未出现半抑制效应, SMS 对 4 种赤潮藻细胞密度的最大抑制效应范围为 5.47%~36.26%, 略高于 TC 的最大抑制效应 0~35.21% (球形棕囊藻无抑制效应); 藻细胞叶绿素含量在抗生素暴露下均显著下降, 但作为抗氧化剂和捕光色素的类胡萝卜素含量则显著增加; 低浓度 (<50 mg/L) TC 暴露下, 4 种赤潮藻 F_v/F_m 均显著下降; TC (<30 mg/L) 暴露下, 4 种赤潮藻细胞密度最大促进作用范围为 11.30%~38.89%, 球形棕囊藻细胞密度增加比例最高; 赤潮藻对抗生素的响应存在显著的种间差别, 两种抗生素暴露对球形棕囊藻生长的抑制效应明显低于其他 3 种赤潮藻, 高浓度抗生素残留对浮游植物群落演替存在较强的干扰作用。

关键词: 抗生素; 赤潮藻; 光合色素; 最大光能转化效率

中图分类号: Q945.78; X17

文献标识码: A

文章编号: 1007-6336(2022)02-0236-09

Effects of sulfadimethoxine sodium and tetracycline hydrochloride on the growth of four red tide algae—*Scrippsiella trochoidea*, *Karenia mikimotoi*, *Phaeocystis globosa* and *Skeletonema costatum*

SUN Kai-feng, KOU Jie-feng, JIANG Yun-lin, LIU Bing-jie,
LU Yao, DENG Han-qiang

(South China Institute of Environmental Sciences, Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China, Guangzhou 510535, China)

Abstract: The effects of sulfadimethoxine sodium salt (SMS) and tetracycline hydrochloride (TC) on cell density, photosynthetic pigment and maximum photochemical efficiency (F_v/F_m) were studied with four red tide algae species *Scrippsiella trochoidea*, *Karenia mikimotoi*, *Phaeocystis globosa* and *Skeletonema costatum*. Concentrations of SMS and TC were 7.5 mg/L ~ 240 mg/L in toxic tests. The results indicated that the maximum inhibitory rates of SMS on growth of four algae species were among 5.47% and 36.26%, while those of TC were among 0 and 35.21%. The growth inhibitory effect of TC on *P. globosa* was not observed in tested concentrations. The concentrations of photosynthetic pigment were influenced by two antibiotics. Concentrations of chlorophyll *a* and chlorophyll *b* in all algal species decreased significantly, while concentrations of carotenoids increased dramatically exposure to antibiotics. The maximum photochemical efficiencies of four algae decreased significantly exposure to TC at 50 mg/L, while no significant differences

收稿日期: 2020-10-06, 修订日期: 2021-02-07

基金项目: 国家环境保护专项项目 (PM-zx126-202004-136); 中央级公益性科研院所基本科研项目 (PM-zx703-201904-128)

作者简介: 孙凯峰 (1983—), 男, 副研究员, 研究方向为海洋污染生态学, E-mail: sunkaifeng@scies.org

were detected in SMS treatments. The increases in cell density exposure to TC were detected in all algal species, with the highest ratios ranging from 11.30% to 38.89%. The growth stimulating effect of TC on *P. globosa* was much higher than those on other species. The toxicity effects of SMS and TC on *P. globosa* were much lower than those on other three algal species. High concentrations of antibiotics in wastewaters of aquaculture ponds, hospitals or pharmaceutical factories could influence the growth of algal species. The ecological risks of harmful algal bloom affected by antibiotics should be concerned in further study.

Key words: antibiotics; red tide algae; photosynthetic pigments; the maximal photochemical efficiency

近年来, 水体、沉积物等环境介质中抗生素类新兴污染物的广泛检出, 引起了环境领域研究学者的高度重视^[1-4]。环境中抗生素的来源包括医院、医药企业、畜禽养殖场、城镇污水处理厂以及海水养殖场等。抗生素一方面作为治疗性药物用于疾病治疗, 另一方面也被养殖企业用于饲料、杀菌剂等以提高养殖生物抵抗力、改善养殖环境, 预防和控制病害发生^[5-8]。2015年, 应光国等^[9]首次报道了我国流域抗生素环境浓度的分布特征, 抗生素排放密度与人口密度呈高度正相关关系。以2013年为例, 我国抗生素使用量达到16.2万吨, 其中52%为兽用抗生素。水体中频繁检出的36种抗生素中, 兽用抗生素比例高达84.3%。某些种类的抗生素进入环境介质后, 可完全降解, 如阿司匹林。另外, 部分较难降解、亲水性较强的抗生素进入水体后直接作用于环境微生物, 影响微生物群落结构和组成, 如喹诺酮类的诺氟沙星^[9]。2006—2018年, 中国不同地区水和沉积物中抗生素的调查显示, 磺胺类、四环素类、喹诺酮类、 β 内酰胺类、林可霉素类等被广泛检出, 水环境中浓度水平介于ng/L和 μ g/L之间, 沉积物和土壤环境中浓度水平介于ng/g和 μ g/g之间^[10-11]。

抗生素对环境中的浮游生物、水生动物等存在间接的干扰效应, 以环境毒理学模式种浮游植物羊角月牙藻(*Selenastrum capricornulum*)、四尾栅藻(*Scenedesmus subspicatus*)、斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)、普通小球藻(*Chlorella vulgaris*)等在抗生素暴露下的生长研究为例, 蓝藻等原核生物对抗生素的耐受性明显低于其他淡水微藻, 不同类型抗生素对浮游植物的干扰作用机理也存在差别。磺胺类主要通过抑制藻细胞叶酸代谢影响微藻生长, 四环素类、大环内酯类等则通过抑制蛋白质合成显著影响淡水绿藻

的生长^[12]。抗生素暴露对微藻生长的半抑制效应浓度不仅与抗生素种类有关, 在不同微藻种类间也存在极显著差别。波氏真眼点藻(*Eustigmatos polyphem*)、海水甲藻塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)、等鞭金藻8701(*Isochrysis galbana*8701)、绿色巴夫藻(*Pavlova viridis*)、米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)等在不同种类抗生素暴露下的半抑制效应浓度介于几十至1000 mg/L之间^[13-19]。

近10年来, 海洋赤潮暴发的种类、频次、覆盖面积和持续时间等呈现不同程度的增加趋势, 然而, 海洋赤潮藻对抗生素暴露的响应研究相对较少。抗生素类污染物的不断增加是否对同一门类赤潮藻种群增长具有选择性干扰作用? 抗生素类污染物暴露是否有利于特定种类赤潮藻的生长? 本文选取我国南海近海常见的两种抗生素(磺胺嘧啶类和四环素类)为研究对象, 实验室内模拟抗生素暴露对4种赤潮藻——锥状斯氏藻(*Scrippsiella trochoidea*)、米氏凯伦藻、球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)、中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)种群增长的影响, 揭示抗生素对赤潮藻细胞密度及光系统活性等生理指标的差异性作用特征。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本文以锥状斯氏藻、米氏凯伦藻、球形棕囊藻、中肋骨条藻4种典型赤潮藻为研究对象。采用混合纤维滤膜(0.45 μ m, 津腾)过滤后的天然海水作为培养介质, 配制f/2培养基, 高压蒸汽灭菌后作为受试藻种的基础培养液。

1.2 试验用抗生素

磺胺间二甲氧嘧啶钠(CAS 1037-50-9, $C_{12}H_{13}N_4NaO_4S$), 英文名 Sulfadimethoxine sodium

salt(以下缩写为 SMS); 盐酸四环素(CAS 64-75-5, $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_8$), 英文名 Tetracycline Hydrochloride(以下缩写为 TC), 购自阿拉丁生化科技股份有限公司(上海)。将上述抗生素溶于高压蒸汽灭菌后的去离子水中配制储备液, 并放置于 4 °C 冰箱保存。

1.3 实验设计

1.3.1 抗生素对典型赤潮藻种群增长的影响

浓缩收集处于指数生长期的试验微藻, 将其重新接种到高压灭菌后的天然海水培养基中。受试微藻起始密度: 球形棕囊藻为 3.8×10^6 cells/L, 米氏凯伦藻为 0.5×10^6 cells/L, 锥状斯氏藻为 0.5×10^6 cells/L, 中肋骨条藻为 2.7×10^6 cells/L。抗生素浓度设定为 240 mg/L、120 mg/L、60 mg/L、30 mg/L、15 mg/L 和 7.5 mg/L 共 6 个浓度梯度及空白对照组, 每个暴露处理组设置 3 个平行。超净工作台中接种和取样, 受试藻种于恒温光照培养箱中培养。培养条件为: 温度 (25 ± 1) °C, 光照强度 $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光暗周期 12 h : 12 h。试验周期 3 d。

1.3.2 抗生素对典型赤潮藻光合色素含量的影响

两种抗生素暴露浓度为 200 mg/L、100 mg/L、50 mg/L、10 mg/L; 受试微藻的初始接种密度: 球形棕囊藻为 10×10^6 cells/L, 米氏凯伦藻为 3×10^6 cells/L, 锥状斯氏藻为 1.0×10^6 cells/L, 中肋骨条藻为 5×10^6 cells/L。其他实验过程同上。

1.3.3 抗生素对典型赤潮藻光系统活性的影响

两种抗生素不同浓度 (10 mg/L、50 mg/L) 暴露处理 24 h、48 h、72 h 后, 分别采用植物效率仪 (PEA, Hansatech Instruments Ltd., UK) 测定最大光能转化效率 (F_v/F_m) 值。受试微藻初始接种密度: 球形棕囊藻为 3.0×10^6 cells/L, 米氏凯伦藻为 2.5×10^6 cells/L, 锥状斯氏藻为 1.5×10^6 cells/L, 中肋骨条藻为 2.1×10^6 cells/L。

1.4 生长指标的测定

1.4.1 细胞密度

显微镜下采用浮游植物计数框计数。

1.4.2 光合色素含量测定^[20]

藻类在抗生素中暴露 96 h 后, 取 10 mL 藻液经高速冷冻离心机离心 (4 °C, 5000 g, 15 min), 弃上清液, 加入 5 mL 抽提液 (丙酮 : 乙醇 = 1 : 1),

振荡摇匀后, 4 °C 黑暗静置 24 h, 同条件离心 15 min, 取上清液, 用紫外-可见分光光度计测定 440 nm、645 nm、663 nm 波长下上清液的吸光值, 以抽提液作为空白对照。参照以下公式计算叶绿素 *a* (Chl *a*)、叶绿素 *b* (Chl *b*) 和类胡萝卜素 (Car) 含量 (mg/L):

$$\text{Chl } a = 12.7 OD_{663} - 2.69 OD_{645}$$

$$\text{Chl } b = 22.9 OD_{645} - 4.68 OD_{663}$$

$$\text{Car} = 4.7 OD_{440} - 0.27(\text{Chl } a + \text{Chl } b)$$

1.4.3 藻类光系统活性的测定

抗生素暴露对微藻光系统活性的干扰效应利用藻细胞叶绿素可变荧光和最大荧光比值 (F_v/F_m) 进行评价。叶绿素荧光强度用 PEA 测定。取 2 mL 藻液放入 2.5 mL 的测量小瓶里 (直径 1 cm), 室温下暗适应 20 min, 然后用 PEA 测定叶绿素荧光诱导动力学曲线 (O-J-I-P 曲线)。将 O-J-I-P 曲线中 50 μs 时的荧光强度定义为初始荧光 (F_0)。根据下面的方程计算 F_v/F_m :

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

式中: F_0 、 F_m 和 F_v 分别代表初始荧光值、最大荧光值和可变荧光值。

1.5 数据处理和分析

实验数据采用 Origin 8.5 软件进行整理和制图, 采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 单因素方差分析 (One way-ANOVA) 用来检验各暴露处理之间的差异性, $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 分别认为显著和极显著。

2 结果与讨论

2.1 磺胺间二甲氧嘧啶钠 (SMS) 和盐酸四环素 (TC) 对赤潮藻种群增长的影响

随着 SMS 暴露浓度增加, 锥状斯氏藻、中肋骨条藻细胞密度下降趋势增加, 当浓度高于 30 mg/L 时, 米氏凯伦藻和球形棕囊藻细胞密度下降显著。SMS 暴露 72 h 对 4 种赤潮藻最大抑制效应为: 中肋骨条藻 (36.26%) > 锥状斯氏藻 (19.49%) > 球形棕囊藻 (10.99%) > 米氏凯伦藻 (5.47%) (图 1)。TC 暴露对球形棕囊藻未表现出明显的抑制效应, TC 暴露 24 h, 30 mg/L 以上暴露处理组米氏凯伦藻的细胞密度与对照组无显著差异; 72 h 后各暴露处理组的细胞密度均

低于对照组, 120 mg/L 和 240 mg/L 暴露处理组的细胞密度分别下降了 10.41% 和 10.9%。当 TC 暴露浓度大于 30 mg/L 时, 锥状斯氏藻和中肋骨条藻细胞密度表现出显著的抑制效应。

TC 暴露 72 h 对 4 种赤潮藻细胞密度最大抑制效应为锥状斯氏藻(35.21%)>中肋骨条藻(25.84%)>米氏凯伦藻(10.90%)>球形棕囊藻(-13.95%) (图 2)。

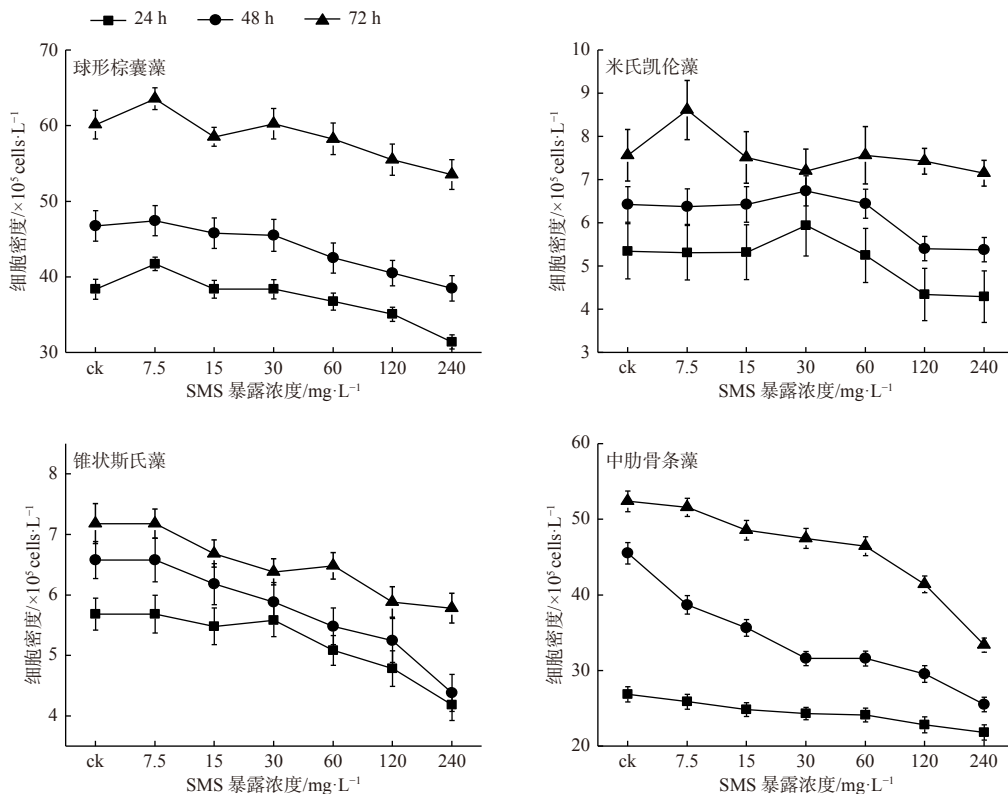


图 1 磺胺间二甲氧嘧啶(SMS)对赤潮藻种群增长的影响

Fig. 1 Effect of SMS on the growth of red tide algae

低浓度抗生素暴露对赤潮藻细胞密度表现出不同程度的促进效应。SMS 暴露下, 米氏凯伦藻在 7.5 mg/L 和 30 mg/L 暴露处理组的细胞密度分别比对照组增加了 13.86% 和 11.23%, 球形棕囊藻在 7.5 mg/L 暴露处理组的细胞密度高于对照组。在 TC 暴露下, 球形棕囊藻细胞密度显著高于对照组, 24 h、48 h 和 72 h 的细胞密度分别增加了 38.89%、37.29%、25.12%。在 TC 中暴露 48 h, 米氏凯伦藻细胞密度比对照组增加了 14.74%~32.80%, 30 mg/L 暴露处理组细胞密度最高。在 7.5 mg/L TC 中暴露 24 h, 锥状斯氏藻和中肋骨条藻细胞密度分别比对照组增加了 14.41% 和 11.30%。污染物低浓度暴露下, 藻类细胞生长增加的现象较为普遍, 可能的原因是污染物暴露诱导了藻细胞内自由基含量的升高, 但

尚不足以导致细胞严重损伤, 进而引起藻细胞生理生化代谢活性增加和补偿性增殖, 表现出对藻细胞生长的刺激效应。

在 SMS 和 TC 暴露下, 锥状斯氏藻和中肋骨条藻细胞密度随抗生素浓度增加而显著降低; 球形棕囊藻和米氏凯伦藻细胞密度随 SMS 暴露浓度增加而降低, 但在 TC 暴露下球形棕囊藻却呈增加的现象。在 SMS 和 TC 中分别暴露 72 h, 4 种赤潮藻细胞密度的最大抑制效应范围分别为 5.47%~36.26% 和 10.90%~35.21%, 两种抗生素暴露下的赤潮藻均未出现半抑制效应现象。在磺胺类和四环素类抗生素暴露下, 淡水微藻的半抑制效应浓度明显低于海水微藻, 例如, 小球藻和铜绿微囊藻在四环素暴露下的半抑制效应浓度分别为 2.04 mg/L 和 10.39 mg/L^[18];

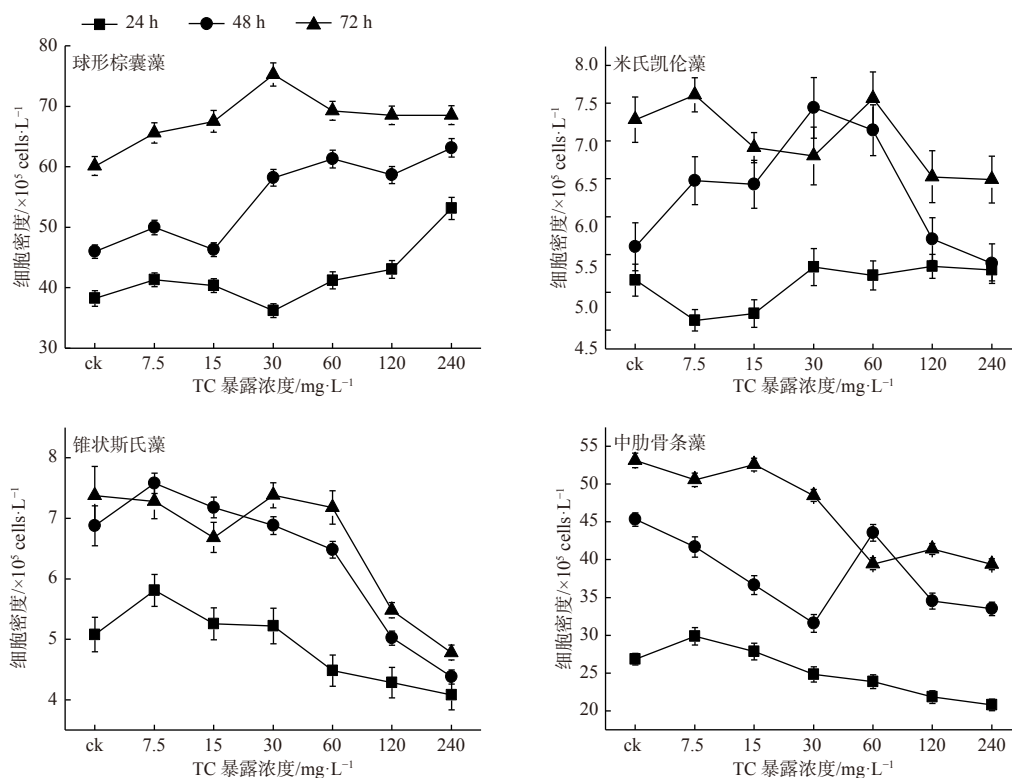


图 2 盐酸四环素(TC)对赤潮藻种群增长的影响

Fig. 2 Effect of TC on the growth of red tide algae

小球藻在磺胺嘧啶暴露下的半抑制效应为 10.43 mg/L , 铜绿微囊藻却未表现出抑制效应^[12]; 蛋白核小球藻、斜生栅藻、羊角月牙藻在四环素、磺胺甲噁唑暴露下的半抑制效应浓度为 $3.27 \sim 6.86 \text{ mg/L}$ ^[12, 17, 21]。抗生素对其他种类赤潮藻(塔玛亚历山大藻)的抑制效应也与抗生素种类密切相关, 氯霉素、红霉素、林可霉素、庆大霉素和金霉素对塔玛亚历山大藻比生长速率(μ)的半抑制效应浓度(EC_{50})分别为 2.45 mg/L 、 25.2 mg/L 、 7.95 mg/L 、 285 mg/L 和 58.7 mg/L , 而新霉素和链霉素则未表现出明显的抑制作用^[13]。

2.2 磺胺间二甲氧嘧啶钠(SMS)和盐酸四环素(TC)对赤潮藻光合色素含量的影响

4 种赤潮藻光合色素含量在 SMS 暴露下的变化情况如图 3 所示。随着暴露浓度的增加, Chl *a*、Chl *b* 的含量呈下降趋势, 而 Car 的含量则呈上升趋势。与对照组相比, 球形棕囊藻、米氏凯伦藻、锥状斯氏藻、中肋骨条藻的 Chl *a* 含量最大下降比例分别为 56.27% 、 52.29% 、 48.00% 、 54.54% ; Chl *b* 含量最大下降比例分别为 45.78% 、 62.50% 、 80.00% 、 44.44% ; Car 含量最大增加比例

分别为 50.79% 、 216.92% 、 425.00% 、 166.67% 。

在 SMS 暴露下, 球形棕囊藻 Chl *a* 含量仅 200 mg/L 暴露处理组显著降低, 100 mg/L 和 200 mg/L 暴露处理组的 Car 含量显著升高; 米氏凯伦藻在暴露浓度高于 50 mg/L 时, Car 含量逐渐升高, Chl *a*、Chl *b* 含量显著下降; 锥状斯氏藻在 10 mg/L 暴露处理组 Chl *b* 含量显著下降而 Car 含量显著增加, 在高于 10 mg/L 暴露下, Chl *a*、Chl *b* 含量显著降低, Car 含量显著增加; 中肋骨条藻 Chl *a* 含量在 50 mg/L 浓度以上的暴露处理组显著低于对照组, 当暴露浓度高于 100 mg/L 时, Chl *b* 含量也显著下降, 但 Car 含量显著增加。

TC 暴露对 4 种赤潮藻光合色素含量的影响如图 4 所示。球形棕囊藻光合色素含量仅在最高浓度组显著下降, 其余 3 种赤潮藻 Chl *a* 和 Chl *b* 含量随着暴露浓度的增加而降低, 而 Car 含量呈增加的趋势。 100 mg/L 暴露处理组的锥状斯氏藻和中肋骨条藻光合色素总量(Chl *a*+Chl *b*+Car)显著低于对照组。与对照组相比, 球形棕囊藻、米氏凯伦藻、锥状斯氏藻、中肋骨条藻的 Chl *a* 含量最大下降比例分别为 30.65% 、 65.71% 、

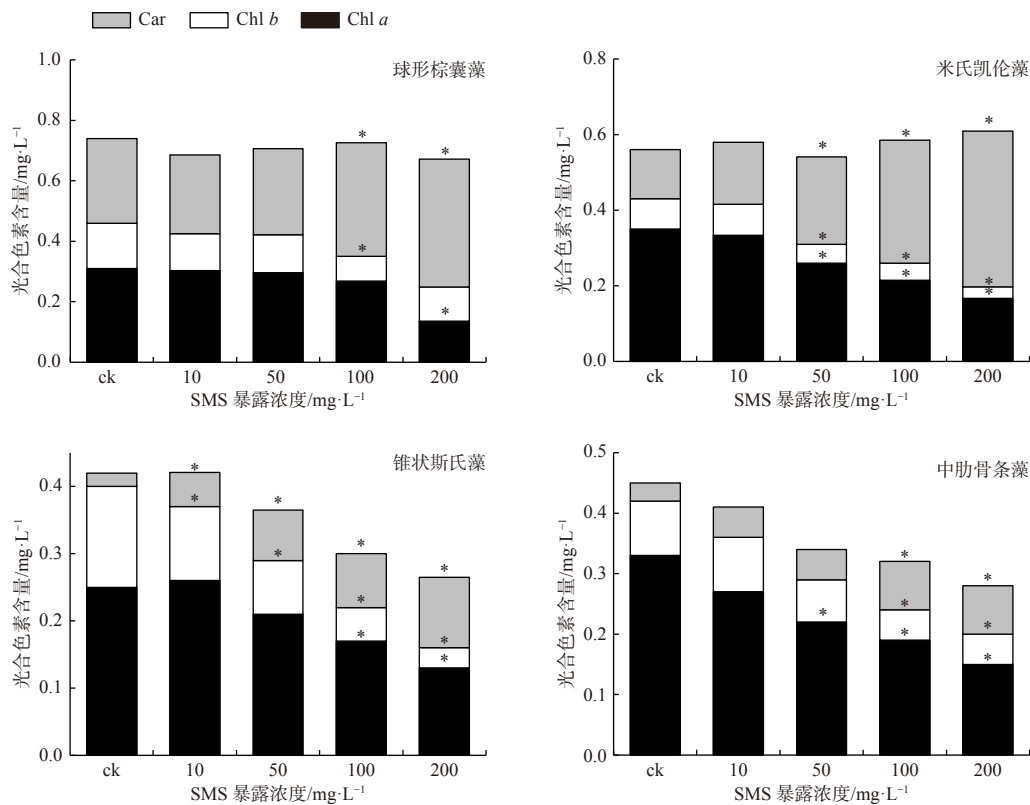


图 3 磺胺间二甲氧嘧啶钠(SMS)对赤潮藻光合色素含量的影响

Fig. 3 Effect of SMS on the photosynthetic pigments of red tide algae

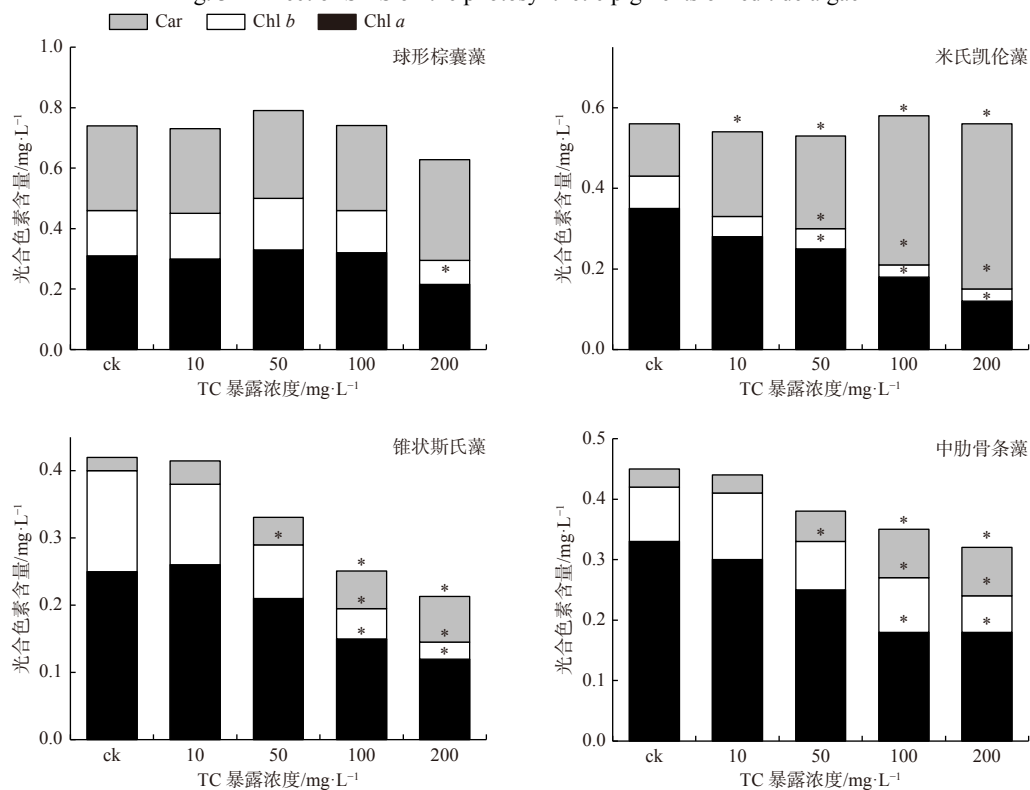


图 4 盐酸四环素(TC)对赤潮藻光合色素含量的影响

Fig. 4 Effect of TC on the photosynthetic pigments of red tide algae

52.00%、45.45%; Chl *b* 含量最大下降比例分别为 46.67%、62.50%、83.33%、33.33%; Car 含量最大增加比例分别为 18.93%、215.39%、240.00%、166.67%。米氏凯伦藻 Chl *a* 和 Chl *b* 含量在暴露浓度高于 10 mg/L 时均显著降低, 而 Car 含量显著增加; 锥状斯氏藻在 50 mg/L 暴露处理组的 Chl *b* 含量显著降低, 随着暴露浓度的增加, Chl *a*、Chl *b* 含量均显著降低, 但 Car 含量则显著增加, 光合色素总量显著降低。

在 SMS 和 TC 暴露下, 4 种赤潮藻均表现出叶绿素含量降低和类胡萝卜素含量增加的趋势。SMS 对中肋骨条藻叶绿素含量抑制效应最强, TC 对锥状斯氏藻叶绿素含量抑制效应最强。赤潮藻叶绿素含量降低的原因可能是, 在抗生素暴露下, 藻细胞膜脂质的过氧化造成藻细胞和叶绿体结构的破坏, 从而导致叶绿素合成受阻^[17, 21], 即抗生素暴露可直接破坏叶绿体或线粒体结构^[22]。已有研究表明, 抗生素可阻碍色素的合成, 例如, 磺胺甲噁唑对羊角月牙藻叶绿素前体物质具有明显的抑制作用; 四环素抑制铜绿微囊藻和绿藻叶绿素合成酶活性^[12, 23]。另外, 抗生素暴露对微藻细胞生理活性的影响还包括: 细胞膜通透性降低、光合色素组成和含量变化、次生代谢产物(缩酚酸、类黄酮等)及酶活性下降等^[12, 14-15, 17]。大环内酯类通过抑制蛋白质合成, 对真核藻类造成较大的毒性伤害^[24]。4 种赤潮藻类胡萝卜素含量与叶绿素含量呈相反的变化趋势, 在抗生素暴露下, 米氏凯伦藻类胡萝卜素含量增加最显

著, 其次是中肋骨条藻、锥状斯氏藻, 球形棕囊藻仅在 100 mg/L 及以上浓度暴露下类胡萝卜素含量才显著增加。这一现象可能与类胡萝卜素的抗氧化功能有关, 通过合成类胡萝卜素协助清除抗生素暴露引起的胞内自由基。

2.3 磺胺间二甲氧嘧啶钠 (SMS) 和盐酸四环素 (TC) 对赤潮藻光系统活性的影响

SMS 暴露能够引起赤潮藻最大光能转化效率(*Fv/Fm*)的增加, 但随着暴露时间延长以及暴露浓度增加, 抑制效应显著增强, 50 mg/L 暴露处理 72 h 对 4 种赤潮藻的光系统活性均表现出了显著的抑制现象(表 1)。50 mg/L 暴露处理 24 h, 锥状斯氏藻、米氏凯伦藻、球形棕囊藻、中肋骨条藻的 *Fv/Fm* 与对照组相比分别增加 9.80%、12.77%、10.91%、16.67%; 暴露处理 72 h, 球形棕囊藻、米氏凯伦藻、锥状斯氏藻、中肋骨条藻的 *Fv/Fm* 与对照组相比分别降低了 9.84%、20.00%、21.15%、22.22%。10 mg/L SMS 暴露对锥状斯氏藻的 *Fv/Fm* 均表现出促进作用, 球形棕囊藻在暴露处理 48 h 的 *Fv/Fm* 也表现出促进作用。TC 暴露对 4 种赤潮藻的 *Fv/Fm* 均表现出显著的抑制效应, 仅 10 mg/L 暴露处理组的锥状斯氏藻表现出促进作用。TC 暴露对 *Fv/Fm* 的抑制效应与暴露时间和暴露浓度呈正相关性。50 mg/L TC 暴露处理 72 h 的球形棕囊藻、米氏凯伦藻、锥状斯氏藻、中肋骨条藻的 *Fv/Fm* 与对照组相比分别下降了 96.72%、94.00%、96.15%、95.56%(表 2)。

表 1 磺胺间二甲氧嘧啶钠(SMS)暴露下赤潮藻的最大光能转化效率

Tab.1 Effect of SMS on the maximal photochemical efficiency of red tide algae

球形棕囊藻(<i>P. globosa</i>)				米氏凯伦藻(<i>K. mikimotoi</i>)		
<i>t</i> /h	ck	10 mg·L ⁻¹	50 mg·L ⁻¹	ck	10 mg·L ⁻¹	50 mg·L ⁻¹
24	0.51±0.04	0.5±0.06	0.56±0.06	0.47±0.03	0.44±0.05	0.53±0.02
48	0.56±0.03	0.62±0.07	0.57±0.05	0.61±0.06	0.46±0.03	0.43±0.03*
72	0.61±0.06	0.6±0.07	0.55±0.03	0.5±0.04	0.35±0.02	0.4±0.03
锥状斯氏藻(<i>S. trochoidea</i>)				中肋骨条藻(<i>S. costatum</i>)		
<i>t</i> /h	ck	10 mg·L ⁻¹	50 mg·L ⁻¹	ck	10 mg·L ⁻¹	50 mg·L ⁻¹
24	0.55±0.05	0.58±0.03	0.61±0.03	0.3±0.05	0.27±0.03	0.35±0.04
48	0.47±0.06	0.59±0.03	0.56±0.04	0.55±0.04	0.36±0.03	0.35±0.03
72	0.52±0.03	0.55±0.04	0.41±0.03	0.45±0.03	0.4±0.04	0.35±0.05

注: *表示差异显著(*P*<0.05)

表2 盐酸四环素(TC)暴露下赤潮藻的最大光能转化效率

Tab.2 Effect of TC on the maximal photochemical efficiency of red tide algae

球形棕囊藻(<i>P. globosa</i>)				米氏凯伦藻(<i>K. mikimotoi</i>)		
t/h	ck	10 mg·L ⁻¹	50 mg·L ⁻¹	ck	10 mg·L ⁻¹	50 mg·L ⁻¹
24	0.51±0.04	0.52±0.05	0.46±0.03	0.47±0.03	0.42±0.04	0.43±0.05
48	0.56±0.03	0.59±0.04	0.42±0.05	0.61±0.06	0.48±0.06	0.45±0.06*
72	0.61±0.06	0.53±0.03	0.42±0.05*	0.5±0.04	0.42±0.06	0.43±0.06
锥状斯氏藻(<i>S. trochoidea</i>)				中肋骨条藻(<i>S. costatum</i>)		
t/h	ck	10 mg·L ⁻¹	50 mg·L ⁻¹	ck	10 mg·L ⁻¹	50 mg·L ⁻¹
24	0.55±0.05	0.44±0.06	0.35±0.07*	0.47±0.05	0.3±0.03	0.26±0.08*
48	0.47±0.06	0.55±0.04	0.36±0.08	0.55±0.04	0.42±0.05	0.46±0.07
72	0.52±0.06	0.35±0.06*	0.32±0.07*	0.45±0.03	0.43±0.04	0.32±0.07

注: *表示差异显著($P<0.05$)

藻类光合色素组成和含量的变化,不仅影响了光能的捕获效率,而且显著改变了光合作用的电子吸收、传递或原初光化学反应等过程。本研究中,在 SMS 和 TC 暴露下,4 种赤潮藻叶绿素荧光参数表现出较显著的差异,4 种赤潮藻在 TC(50 mg/L)暴露下,最大光能转化效率(F_v/F_m)均出现了显著下降的现象,但在 SMS 暴露下,4 种赤潮藻的 F_v/F_m 与对照组相比无显著差异,在 TC 中暴露 72 h 的中肋骨条藻、米氏凯伦藻的 F_v/F_m 与对照组无显著差异。在抗生素暴露下, F_v/F_m 响应差异在其他研究中也得到证实,铜绿微囊藻在四环素、土霉素、磺胺甲噁唑等暴露下 F_v/F_m 显著下降,但在磺胺嘧啶(20 mg/L)暴露下未表现出显著的影响^[18]。另外,本研究中,在 SMS 暴露下,锥状斯氏藻的 F_v/F_m 出现了增加的现象,叶绿素荧光参数对抗生素(<50 mg/L)暴露下的响应变化与细胞密度、光合色素含量等指标相比更为敏感。磺胺类抗生素对藻类 F_v/F_m 的影响包括:直接干扰叶绿体 PS II 的反应中心(包括 D1、D2 蛋白等)、Cytb₆-f 复合体等多种重要蛋白质的合成,如氯霉素;通过干扰叶绿素荧光参数而降低 PS II 的功能,如磺胺甲噁唑能够改变 RC_s 的数量,降低 RC/CS₀,增加 ABS/RC,从而影响 PS II 的功能^[12, 25-27]。

3 结论

(1)在磺胺间二甲氧嘧啶钠(SMS)和盐酸四环素(TC)暴露下,4 种赤潮藻细胞密度、光合色

素组成和含量、最大光能转化效率等指标的变化存在显著差异。

(2)在两种抗生素暴露下,锥状斯氏藻和中肋骨条藻细胞密度、叶绿素含量与暴露浓度之间具有较好的剂量-响应关系。随着 SMS 暴露浓度增加,球形棕囊藻、米氏凯伦藻叶绿素含量呈下降趋势。在 SMS、TC 低浓度暴露下,藻细胞 F_v/F_m 的变化响应比细胞密度、光合色素含量等指标更加灵敏。

(3)低浓度 SMS 和 TC 暴露对藻细胞生长表现出一定的促进效应,SMS(<30 mg/L)对球形棕囊藻、米氏凯伦藻细胞密度的最大促进作用为 1.49%~13.86%,TC(<30 mg/L)对 4 种赤潮藻细胞密度的最大促进作用为 11.30%~38.89%。

参考文献:

- [1] MINH T B, LEUNG H W, Haloi I, et al. Antibiotics in the Hong Kong metropolitan area: ubiquitous distribution and fate in Victoria Harbour[J]. Marine Pollution Bulletin, 2009, 58(7): 1052-1062.
- [2] ZHENG Q, ZHANG R J, WANG Y H, et al. Occurrence and distribution of antibiotics in the Beibu Gulf, China: impacts of river discharge and aquaculture activities[J]. Marine Environmental Research, 2012, 78: 26-33.
- [3] ZOU S C, XU W H, ZHANG R J, et al. Occurrence and distribution of antibiotics in coastal water of the Bohai Bay, China: impacts of river discharge and aquaculture activities[J]. Environmental Pollution, 2011, 159(10): 2913-2920.
- [4] CHEN H, LIU S, XU X R, et al. Antibiotics in typical marine aquaculture farms surrounding Hailing Island, South China:

- Occurrence, bioaccumulation and human dietary exposure[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2015, 90(1/2): 181-187.
- [5] 陈 珊, 许 凡, 张 玮, 等. 磺胺类抗生素污染现状及其环境行为的研究进展[J]. *环境化学*, 2019, 38(7): 1557-1569.
- [6] 李兆新, 董 晓, 吴蒙蒙, 等. 黄海桑沟湾养殖区海水中喹诺酮类抗生素的残留状况[J]. *海洋环境科学*, 2018, 37(2): 182-186, 192.
- [7] 李士俊, 谢文明. 污水处理厂中抗生素去除规律研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2019, 42(3): 17-29.
- [8] 郝红珊, 徐亚茹, 高 月, 等. 珠江口海水养殖区水体、沉积物及水产品中抗生素的分布[J]. *北京大学学报: 自然科学版*, 2018, 54(5): 1077-1084.
- [9] ZHANG Q Q, YING G G, PAN C G, et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of china: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(11): 6772-6782.
- [10] LI S, SHI W Z, LI H M, et al. Antibiotics in water and sediments of rivers and coastal area of Zhuhai City, Pearl River estuary, south China[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 636: 1009-1019.
- [11] OBEROI A S, JIA Y Y, ZHANG H Q, et al. Insights into the fate and removal of antibiotics in engineered biological treatment systems: a critical review[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(13): 7234-7264.
- [12] LIU B Y, NIE X P, LIU W Q, et al. Toxic effects of erythromycin, ciprofloxacin and sulfamethoxazole on photosynthetic apparatus in *Selenastrum capricornutum*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2011, 74(4): 1027-1035.
- [13] 张冬宝, 隋正红, 茅云翔, 等. 8种抗生素对塔玛亚历山大藻生长的影响[J]. *海洋学报*, 2007, 29(2): 123-130.
- [14] 周文礼, 乔秀亭, 肖 慧, 等. 三种抗生素对几种海洋微藻叶绿素a含量影响的初步研究[J]. *海洋环境科学*, 2009, 28(3): 268-271.
- [15] 王洪斌, 成 明, 杨艳艳, 等. 绿色巴夫藻和米氏凯伦藻对3种常见抗生素胁迫的响应研究[J]. *水产科学*, 2012, 31(6): 329-332.
- [16] 杨芳芳, 李爱芬, 万凌琳, 等. 6种微藻对氯霉素和硫酸新霉素敏感性研究[J]. *生物技术*, 2012, 22(2): 58-63.
- [17] 徐冬梅, 王艳花, 饶桂维. 四环素类抗生素对淡水绿藻的毒性作用[J]. *环境科学*, 2013, 34(9): 3386-3390.
- [18] 周旭东. 四环素类、磺胺类抗生素对铜绿微囊藻和小球藻的影响研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017: 7-24.
- [19] MAGDALENO A, SAENZ M E, JUÁREZ A B, et al. Effects of six antibiotics and their binary mixtures on growth of *Pseudokirchneriella subcapitata*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 113: 72-78.
- [20] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 2006: 134-136.
- [21] MORANT-MANCEAU A, PRADIER E, TREMBLIN G. Osmotic adjustment, gas exchanges and chlorophyll fluorescence of a hexaploid triticale and its parental species under salt stress[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2004, 161(1): 25-33.
- [22] VANNINI C, DOMINGO G, MARSONI M, et al. Effects of a complex mixture of therapeutic drugs on unicellular algae *Pseudokirchneriella subcapitata*[J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, 101(2): 459-465.
- [23] BRADEL B G, PREIL W, JESKE H. Remission of the free-branching pattern of *Euphorbia pulcherrima* by tetracycline treatment[J]. *Journal of Phytopathology*, 2000, 148(11/12): 587-590.
- [24] HALLING-SØRENSEN B. Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming[J]. *Chemosphere*, 2000, 40(7): 731-739.
- [25] BEALE S I. Green genes gleaned[J]. *Trends in Plant Science*, 2005, 10(7): 309-312.
- [26] PAN X L, ZHANG D Y, CHEN X, et al. Effects of levofloxacin hydrochloride on photosystem II activity and heterogeneity of *Synechocystis* sp.[J]. *Chemosphere*, 2009, 77(3): 413-418.
- [27] KASAI K, KANNO T, ENDO Y, et al. Guanosine tetra- and pentaphosphate synthase activity in chloroplasts of a higher plant: association with 70S ribosomes and inhibition by tetracycline[J]. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32(19): 5732-5741.