

近海污染物对海洋浮游植物生长及生化组成影响的比较研究

刘凤娇¹, 李顺兴^{1,2}, 郑凤英^{1,2}, 黄旭光^{1,2}, 李艳彩^{1,2}, 宋 钰¹, 吴 衍¹, 陈妹贞¹

(1. 闽南师范大学 化学与环境学院, 福建 漳州 363000; 2. 现代分离分析科学与技术福建省重点实验室, 福建 漳州 363000)

摘要: 威氏海链藻 (*Thalassiosira weissflogii*) 属沿海中心硅藻纲, 是海洋硅藻的模式种之一。实验探讨氮营养盐(硝酸盐, N, c(N)分别为 8.0, 16.0, 32.0, 64.0 $\mu\text{mol/L}$)、石油烃(0 号柴油分散液, WAFs, c(WAFs)分别为 0, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 mg/L)、抗生素(土霉素, c(OTC)分别为 0, 1.0, 3.0, 5.0, 10.0 mg/L)等 3 类近海常见污染物对威氏海链藻细胞生长及生化组成的影响。结果表明, 3 类近海常见污染物对藻生长(即藻细胞密度)、叶绿素 a 合成、蛋白质生成、藻细胞抗氧化能力(即超氧化物歧化酶活性)、脂质过氧化(即丙二醛含量)的影响程度分别为 WAFs>N>OTC、N>OTC>WAFs、N>WAFs>OTC、WAFs>N>OTC、OTC \gg N>WAFs; 影响程度的差异, 揭示了近海各污染物的毒性作用机制及靶位不同。

关键词: 沿海硅藻; 富营养化; 石油烃; 抗生素; 毒性评价

中图分类号: Q946; X145 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2014)05-0066-06

doi: 10.11759/hyxx20120621001

目前, 海洋石油烃污染越来越严重, 污染源主要包括海上作业、陆地、大气的人为源排放以及自然界排放。石油泄漏事故在世界各地频发, 据估算, 全球每年泄漏到大海的石油总量超过 1 300 000 t^[1-2]。石油烃会通过海洋食物链富集, 生物体, 特别是海洋食品, 累积浓度超过健康标准, 给人类带来健康威胁^[3-4]。海洋浮游植物生长受石油烃(如 0 号柴油、萘、1, 2, 4-三甲苯、氧甲酚、邻甲苯胺)的影响^[5-6]。

土霉素(OTC)是四环素类抗生素, 成本低, 效力高, 广泛用于海水养殖中细菌性疾病的治疗^[7-9]。抗生素仅 20%~30%被鱼类吸收, 70%~80%进入水环境^[10-11]。链霉素影响淡水浮游藻类小球藻(*Chlorella vulgaris*)和铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)生长已被证实^[12]。

河口和近岸海域富营养化(即氮和磷浓度超标)已成为严重的环境问题^[13-14]。海洋生物吸收氮磷遵循 Redifield 比例 [即 $n(N) : n(P) = 16$]^[15]。富营养化显著影响海洋浮游生物的生长、细胞形状、细胞干质量和生化组成(如碳水化合物、蛋白质、叶绿素和碱性功能团)^[13, 16]。丙二醛(MDA)具细胞毒性, 是脂质过氧化反应的终产物之一, 也是自由基产生以及组织损伤程度的指示物^[17-18]。超氧化物歧化酶(SOD)是含金属元素的活性蛋白酶, 对于活性氧(含超氧阴离子 O_2^- 、过氧化氢 H_2O_2 、羟基自由基·OH、单线性

氧 $^1\text{O}_2$)的歧化作用起催化作用, 可为需氧有机体的生存提供保护^[18-19]。氮、磷、石油烃及抗生素等近海常见污染物对自由基的形成、海洋藻体抗自由基机制的研究, 迄今未见报道。

威氏海链藻是海洋硅藻的模式种之一、优良的开口饵料^[20]。作者对比研究了硝酸盐、土霉素和 0 号柴油浓度对威氏海链藻生长及生化组成(叶绿素 a、蛋白质、MDA 含量和 SOD 活性)的影响, 为近海污染物对海洋浮游植物的毒性评价研究提供前期背景数据。

1 材料与方法

1.1 实验仪器

UV-75602PCS 紫外可见分光光度计(上海欣茂仪器有限公司); 双人单面超净工作台(苏州净化设备有限公司); SPX-300 IC 微电脑人工气候箱(上海

收稿日期: 2013-01-04; 修回日期: 2013-04-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(41206096, 40506020, 20775067, 20977074, 21175115); 教育部新世纪优秀人才支持计划项目; 福建省杰出青年基金(2010J06005); 福建省科技计划重点项目(2012Y0065); 福建省自然科学基金(2012J05031)

作者简介: 刘凤娇(1987-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为海洋化学, 电话: 0596-2591445; E-mail: liufengjiao1110@163.com; 李顺兴, 通信作者, 男, 教授, 硕士生导师, 电话: 0596-2591395; E-mail: shunxingli@aliyun.com

博迅实业有限公司); DM LB2 生物显微镜(德国, Leica 仪器公司); 蠕动泵驱动器 Yz2515x(保定兰格恒流泵有限公司); Milli-Q 净水器(美国, Millipore 公司); 布莱森-102C 超声波破碎仪(中国布莱森超声波公司)。

1.2 实验药品

硝酸钾配制 N 标准储备液(10 mmol/L); 磷酸二氢钾配制 P 标准储备液(360 mmol/L); 氯化铵溶液(4.67 mol/L); No.0 柴油储备液 100 mg/L(No.0 柴油, 购于中国石化加油站); 土霉素(0.25 g/片, 江西国药有限责任公司); 实验用去离子水由 Milli-Q 离子交换净水系统处理(电阻率 18 MΩcm)。溶液均用去离子水配制。

1.3 藻类培养条件

海水取自东海外海, 用 0.2 μm 滤膜过滤, 于 4℃ 下保存 6 个月。用铜镉柱还原法^[21]和抗坏血酸还原磷钼蓝法^[22]测海水中氮、磷含量, 平行测定 3 次, 得海水中氮、磷的背景值分别为 1.2、0.2 μmol/L。

威氏海链藻来自厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 保存于海水中(添加 Na₂SiO₃·H₂O 保持 Si 浓度为 21.1 mmol/L)。实验过程中海水 P 浓度保持在 1.0 μmol/L, c(N)分别为 8.0, 16.0, 32.0, 64.0 μmol/L、c(WAFs)分别为 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 mg/L、c(OTC)分别为 1.0, 3.0, 5.0, 10.0 mg/L。光照强度 140 μmol/(m²·s); 光暗比 14 h : 10 h; 水温 19℃。适当搅拌(100 r/min)海藻悬浮液, 模拟海水流动, 同时减少 WAFs 和 OTC 在容器壁上的吸附。生物平行样重复测定 3 次。每 24 h 监测培养液中 N、P 浓度, 适时补充 KNO₃ 和 KH₂PO₄, 保持氮磷的浓度和比值不变。

1.4 参数测定方法

显微镜计数法测定培养后海藻细胞的藻密度。取藻液 100 mL, 用 0.2 μm 滤膜过滤, 在暗处冷冻条件下用 5 mL 90%丙酮萃取 10 h, 离心(4 000 r/min) 10 min。取上清液, 分别在 λ₆₆₃、λ₆₄₅、λ₆₃₀、λ₇₅₀ 处测定吸光值, 用 λ₆₆₃、λ₆₄₅、λ₆₃₀ 的吸光值减去 λ₇₅₀ 的吸光值, 以校正微粒浊度空白的吸光度, 将所得数据参照文献^[23]计算叶绿素 a 含量。

取藻液 800 mL, 用 0.2 μm 滤膜过滤, 于藻体中加入 5 mL 磷酸缓冲液(预冷, 0.1 mol/L, pH=7.8), 在冰浴中用超声波破碎仪破碎 30 min, 匀浆液离心(10 000 r/min)10 min, 上清液为粗酶液, 采用氮蓝四唑光化学还原反应法^[24]测 SOD 活性, 硫代巴比妥酸

(TBA)法^[25]测定 MDA 含量, 考马斯亮蓝法^[26]测蛋白质含量。

2 结果与讨论

2.1 近海污染物对威氏海链藻生长的影响

细胞增长率取决于细胞分裂率。以东海外海海水(c(N)=1.2 μmol/L, c(P)=0.2 μmol/L)为对照组, 据图 1~图 3 所示, N、OTC 和 WAFs 均对威氏海链藻的生长产生不同程度的影响。添加 OTC, 在整个生长周期, 藻细胞密度均高于对照组, 即起促进作用; 添加 N, 在指数期, 藻的生长状况优于对照组, N 起促进效应, 在稳定期, 却呈反作用; 添加 WAFs, 在适应期, 有利于藻生长, 指数期之后, 抑制藻生长。当 c(N)、c(OTC)、c(WAFs)分别为 8.0~32.0 μmol/L, 1.0~5.0 mg/L, 0.1~0.5 mg/L 时, 细胞密度随浓度增加而增加; 当 c(N)、c(OTC)、c(WAFs)分别为 64.0 μmol/L、10.0 mg/L、5.0 mg/L 时, 细胞生长受抑制。

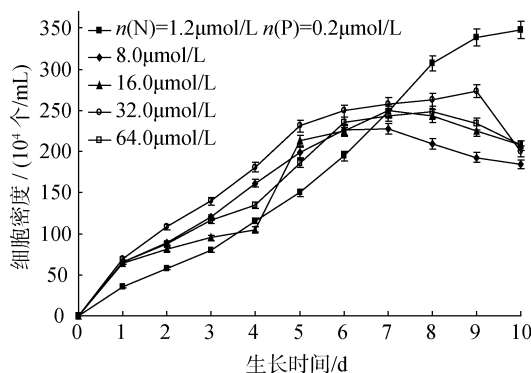


图 1 硝酸盐添加对威氏海链藻细胞密度的影响

Fig. 1 Influence of N addition on the cell density of *T. weissflogii*

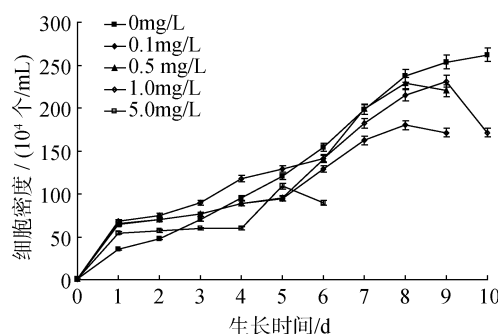


图 2 0 号柴油分散液添加对威氏海链藻细胞密度的影响

Fig. 2 Influence of water accommodated fractions of No.0 diesel oil on the cell density of *T. weissflogii* c(N)=1.2 μmol/L, c(P)=0.2 μmol/L

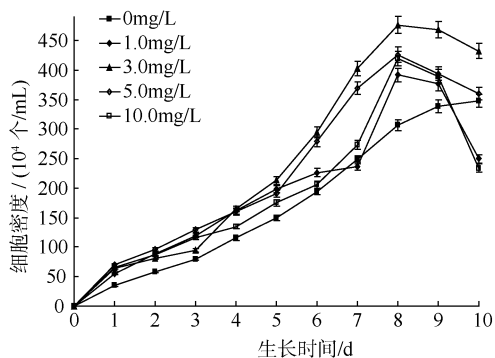


图3 土霉素添加对威氏海链藻细胞密度的影响

Fig. 3 Influence of OTC addition on the cell density of *T. weissflogii* ($n(N) : n(P) = 1.2 : 0.2$)

添加 WAFs, 细胞密度最高值与对照组相比明显减少, 当剂量为 5.0 mg/L 时, 细胞密度仅为对照组的 0.3 倍。OTC 能促进细胞生长, 浓度 5.0 mg/L 作用最大, 是对照组的 1.4 倍。3 种污染物对藻细胞生长毒性影响程度为: WAFs>N>OTC, 即三者对纺锤体的形成影响不同。3 种污染物均使藻的生长周期缩短, 除 5.0 mg/L WAFs 缩短 5 d, 其他条件下缩短 2~3 d。

2.2 近海污染物对叶绿素 a 含量的影响

叶绿素是浮游植物进行光合作用的重要物质, 叶绿素 a 含量可用来估算初级生产力, 也是浮游植物生命力的重要表征。叶绿素 a 是一种色素-蛋白质复合体, 氮是其合成的主要合成原料, 当培养介质中 N 缺乏, 必然限制藻体中叶绿素 a 的合成^[15]。实验探究不同浓度 N、OTC 和 WAFs 对叶绿素 a 含量的影响如图 4 所示。

当 $c(N)$ 低于 8.0 $\mu\text{mol/L}$, 即氮相对不足, 叶绿素 a

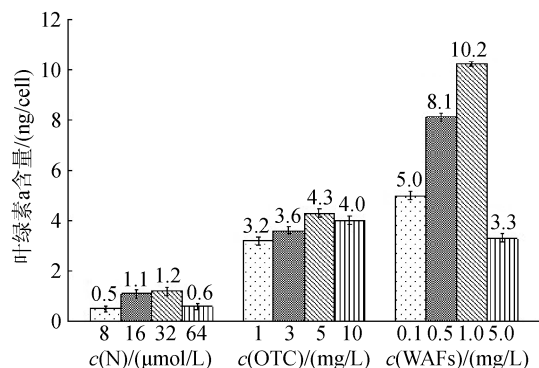


图4 硝酸盐、土霉素及 0 号柴油分散液添加对叶绿素 a 含量的影响

Fig. 4 Influence of N, OTC, and WAFs addition on the content of chlorophyll a

合成受限, 叶绿素 a 含量最低; 当 $c(N)$ 为 32.0 $\mu\text{mol/L}$ 时, 威氏海链藻处于最佳生长状况, 叶绿素 a 含量最高; 当 $c(N)$ 高于 32.0 $\mu\text{mol/L}$ 时, 威氏海链藻生长受抑制, 对叶绿素合成不利。上述影响与营养盐浓度对细胞生长和生化组成的影响类似^[18]。 $c(OTC)$ 为 1.0~5.0 mg/L 能促进藻生长, 但浓度为 10.0 mg/L 抑制藻生长, 从而影响藻体中叶绿素 a 合成。浮游植物能降解石油烃, 通过同化作用将 0.1~1.0 mg/L 的 WAFs 做为营养源, 促进自身生长, 但石油烃浓度过大(5.0 mg/L), 影响光合作用和呼吸作用, 抑制叶绿素 a 合成。

3 种污染物对叶绿素 a 合成影响程度为 $N > OTC > WAFs$, 此结果证明 N 是叶绿素合成的主要限制因素之一、叶绿素合成与藻的生长状态密切相关。

2.3 近海污染物对蛋白质含量的影响

N 是生理过程的主要参与者, 对蛋白质积累和合成起关键作用。蛋白质主要是 N 同化作用产物, 其浓度可作为新陈代谢能力和能源供应条件的指示物。硝酸还原酶是 $\text{NO}_3^- \text{N}$ 转为 $\text{NH}_4^+ \text{N}$ 过程中的速率控制酶^[27]。谷氨酰胺合成酶是影响蛋白质结构的关键酶, 可增强 N 活性, 有利于同化作用, 从而促进蛋白质合成。

图 5 所示, $c(N) = 16.0 \mu\text{mol/L}$ 时, 藻生长状况最佳, 蛋白质含量最高; $c(N) < 16.0 \mu\text{mol/L}$ 时, 藻细胞密度增幅较小且提前进入衰亡期, N 成为限制因子, 没有足够 N 供蛋白质合成之用, 藻体中硝酸还原酶及谷氨酰胺合成酶活性降低, N 吸收和同化效率降低; 在 $c(N) > 16.0 \mu\text{mol/L}$ 时, 随着 N 浓度增加蛋白质合成受抑制, 可能是 N 过量诱发羟基自由基过量, 抑制硝酸还原酶及谷氨酰胺合成酶活性^[27]。当 $c(OTC)$ 、

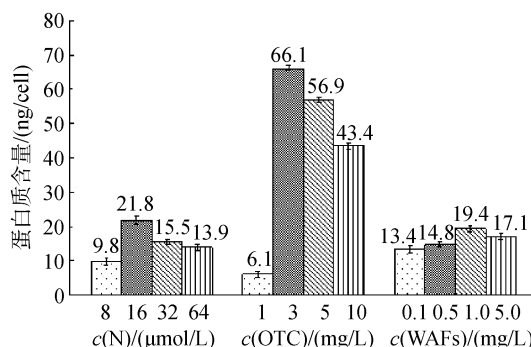


图5 硝酸盐、土霉素及 0 号柴油分散液添加对蛋白质含量的影响

Fig. 5 Influence of N, OTC, and WAFs addition on the content of protein

$c(\text{WAFs})$ 分别为 1.0~3.0 mg/L、0.1~1.0 mg/L 时, 蛋白质含量随其浓度增加而增加; 当 $c(\text{OTC}) > 3.0$ mg/L、 $c(\text{WAFs}) > 1.0$ mg/L 时, 蛋白质含量随之降低, 这归因于 OTC 和 WAFs 含量过高致使细胞提前进入衰老期, 硝酸还原酶及谷氨酰胺合成酶活性下降。

3 种污染物对蛋白质合成的影响程度为 $\text{N} > \text{WAFs} > \text{OTC}$, 因为 N 浓度控制着蛋白质合成和藻的生长状态, 过量的 N 和 WAFs 可促进羟基自由基的产生^[27], 从而影响硝酸还原酶及谷氨酰胺合成酶活性而使蛋白质合成受抑制。

2.4 近海污染物对 SOD 活性的影响

浮游植物可通过抗氧化酶系统(如 SOD、过氧化氢酶、过氧化物酶、谷胱甘肽过氧化物酶)的协同作用保护机体^[26], 过量活性氧类物质会破坏脂质膜、蛋白质、色素、核酸, 致生产力严重下降, 甚至使之死亡^[24]。SOD 活性与活性氧物质数量有关。营养盐 N 的光解作用和海洋浮游植物的光化学反应均会产生 $\cdot\text{OH}$ ^[29], 藻细胞的生化组成会影响其光化学活性, 因此, SOD 活性受 N、OTC 和 WAFs 的影响, 具体情况见图 6。

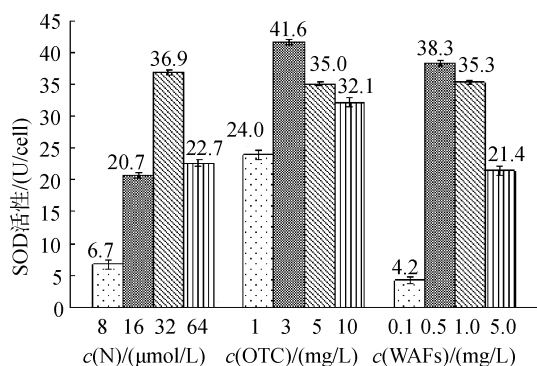


图 6 硝酸盐、土霉素及 0 号柴油分散液添加对 SOD 酶活性的影响

Fig. 6 Influence of N, OTC, and WAFs addition on the activity of SOD

当 $c(\text{N})$ 低于 32.0 $\mu\text{mol/L}$ 时, N 浓度较低, 藻生长状况较差, 藻细胞抗氧化能力较弱, 故 SOD 活性较低; 当 $c(\text{N})$ 为 32.0 $\mu\text{mol/L}$ 时, 藻生长状况最佳, 抗氧化能力增强, SOD 活性最高; 当 $c(\text{N})$ 超过 32.0 $\mu\text{mol/L}$ 时, N 的光解作用诱发产生大量 $\cdot\text{OH}$, 抑制 SOD 活性。实验结果证明海水中 $\cdot\text{OH}$ 的产生受 N 影响^[28, 30]。SOD 活性与藻类生长状况密切相关, 当 $c(\text{OTC})$ 和 $c(\text{WAFs})$ 分别为 1.0~5.0 mg/L 和 0.1~0.5 mg/L 时, SOD 酶活性随浓度增大而逐渐增加; 当 $c(\text{OTC})$ 和

$c(\text{WAFs})$ 分别超过 3.0 mg/L 和 0.5 mg/L 时, SOD 活性随浓度增大而降低, 说明藻细胞进入衰老期, 抗氧化能力减弱。

3 种污染物对藻细胞抗氧化能力(即 SOD 活性)的影响程度为: $\text{WAFs} > \text{N} > \text{OTC}$, 与对藻生长(即藻细胞密度)的影响一致。

2.5 近海污染物对 MDA 含量的影响

不同浓度 N、OTC 和 WAFs 对 MDA 含量的影响如图 7。N、OTC 和 WAFs 的毒性效应可能源自过量自由基的危害。N、OTC 和 WAFs 可促进 O_2^- 、 H_2O_2 、 $\cdot\text{OH}$ 和 $^1\text{O}_2$ 生成^[3, 12, 28], 致机体受到多种损害。

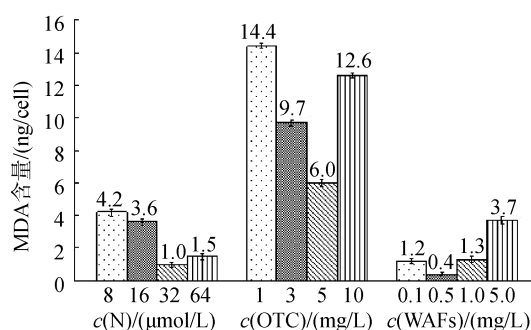


图 7 硝酸盐、土霉素及 0 号柴油分散液添加对 MDA 含量的影响

Fig. 7 Influence of N, OTC, and WAFs addition on the content of MDA

当 $c(\text{N}) = 8.0$ $\mu\text{mol/L}$ 时, 叶绿素和蛋白质合成受限, 活性氧过量积累, 致脂质过氧化反应加强, MDA 含量最大; 当 $c(\text{N}) = 32.0$ $\mu\text{mol/L}$ 时, 藻处最佳生长状况, 生命力最强, 脂质过氧化程度低, MDA 浓度最低。当 $c(\text{OTC})$ 和 $c(\text{WAFs})$ 分别为 1.0~5.0 mg/L 和 0.1~0.5 mg/L 时, 可促进藻细胞新陈代谢、叶绿素及蛋白质合成, 可减少脂质过氧化, MDA 含量随之降低; 当 $c(\text{N}) > 32.0$ $\mu\text{mol/L}$, $c(\text{OTC})$ 和 $c(\text{WAFs})$ 分别为 10.0 mg/L 和 0.5 mg/L 时, 脂质过氧化作用增强, 使得藻细胞提前进入衰老期, MDA 含量增加。

3 种污染物对藻细胞脂质过氧化(即 MDA 含量)的影响程度为 $\text{OTC} \gg \text{N} > \text{WAFs}$ 。

3 结论

当 N、OTC、WAFs 浓度分别为 8.0~32.0 $\mu\text{mol/L}$, 1.0~5.0 mg/L, 0.1~0.5 mg/L 时, 威氏海链藻的细胞浓度、SOD 活性、叶绿素 a 和蛋白质含量随之增加而增加, MDA 浓度随之增大而减少; 当 N、OTC、WAFs 浓度分别大于 32.0 $\mu\text{mol/L}$, 5.0 mg/L 和 0.5 mg/L 时,

影响趋势与上述情况相反,即藻生长及 SOD 活性受抑制,叶绿素和蛋白质含量降低,MDA 浓度增加。

氮营养盐、抗生素、石油烃对藻生长(即藻细胞密度)、叶绿素 a 合成、蛋白质生成、藻细胞抗氧化能力(即超氧化物歧化酶活性)、脂质过氧化(即丙二醛含量)的影响程度分别为 WAFs>N>OTC、N>OTC>WAFs、N>WAFs>OTC、WAFs>N>OTC、OTC ≫ N>WAFs。影响程度的差异,揭示近海各污染物的毒性作用机制及靶位不同。

氮营养盐、抗生素、石油烃污染影响海洋浮游植物的生长和生化组成,而海洋浮游植物是海洋的初级生产力,故海洋的食物链稳定和食物链中能量的传递会受近海污染物影响。

参考文献:

- [1] Rodrigues R V, Miranda-Filho K C, Gusmão E P, et al. Deleterious effects of water-soluble fraction of petroleum, diesel and gasoline on marine pejerrey *odontesthes argentinensis* larvae[J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408: 2054-2059.
- [2] Harris K A, Yunker M B, Dangerfield N, et al. Sediment-associated aliphatic and aromatic hydrocarbons in coastal British Columbia, Canada: Concentrations, composition, and associated risks to protected sea otters[J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159: 2665-2674.
- [3] Luo X J, Chen S J, Mai B X, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in suspended particulate matter and sediments from the Pearl River Estuary and adjacent coastal areas[J]. *Environmental Pollution*, 2006, 139: 9-20.
- [4] EPA (Environmental Protection Agency). Petroleum hydrocarbons and chlorinated hydrocarbons differ in their potential for vapor intrusion[J]. *Environmental Science and Technology*, 2011, 41: 3241-3248.
- [5] Lee M Y, Nicol J A C. Individual and combined toxicity of some petroleum aromatics to the marine amphipod *elasmopus pecteniscus* [J]. *Marine Biology*, 1978, 48: 215-222.
- [6] 李克强, 王修林, 祝陈坚, 等. No.0 柴油水溶组分海洋浮游植物生态效应研究 [J]. *环境科学*, 2007, 28: 304-308.
- [7] Miranda C D, Zemelman R. Bacterial resistance to OTC in Chilean salmon farming[J]. *Aquaculture*, 2002, 212: 31-47.
- [8] Rigos G, Nengas I, Tyrpenou A E, et al. Pharmacokinetics and bioavailability of OTC in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) after a single dose[J]. *Aquaculture*, 2003, 221: 75-83.
- [9] Fritz J, Zuo Y G. Simultaneous determination of tetracycline, oxytetracycline, and 4-Epitetracycline in milk by high-performance liquid chromatography[J]. *Food Chemistry*, 2007, 105: 1297-1301.
- [10] Samuelsen O B. Degradation of seawater at two water temperatures and light intensities, and the persistence of OTC in the sediment from a fish farm[J]. *Aquaculture*, 1989, 83: 7-16.
- [11] Elema M O, Hoff K A, Kristensen H G. Bioavailability of OTC from medicated feed administered to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater[J]. *Aquaculture*, 1996, 143: 7-14.
- [12] Qian H F, Li J J, Pan X J, et al. Effects of streptomycin on growth of algae *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa* [J]. *Environment Toxicology*, 2010, doi: 10.1002/tox.20636.
- [13] Kucuksezgin F, Kontas A, Altay O, et al. Assessment of marine pollution in Izmir Bay: Nutrient, heavy metal and total hydrocarbon concentrations[J]. *Environment International*, 2006, 32: 41-51.
- [14] Bizsel N, Uslu O. Phosphate, nitrogen and iron enrichment in the polluted Izmir Bay, Aegean Sea[J]. *Marine Environmental Research*, 2000, 49: 101-122.
- [15] 李顺兴, 郑凤英, 洪华生, 等. 氮磷营养盐对微氏海链藻细胞生化组成的影响[J]. *海洋科学*, 2006, 30: 49-53.
- [16] Li S X, Hong H S, Zheng F Y, et al. Influence of nitrate on metal sorption and bioaccumulation in marine phytoplankton, *Dunaliella salina*[J]. *Environmental Toxicology*, 2007, 122: 582-586.
- [17] Ohkawa, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction [J]. *Analysis Biochemistry*, 1979, 95: 351-358.
- [18] Meenakshi C, Umesh K J, Mohammed A K, et al. Effect of heavy metal stress on proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Spirulina platensis*-S5[J]. *Ecotoxicology and Environment Safety*, 2007, 66: 204-209.
- [19] Beyer J I, Fridovich I. Superoxide dismutase progress in nucleic acids[J]. *Nucleic Acids Research*, 1991, 40: 221-253.
- [20] 朱明, 张学成, 茅云翔, 等. 温度、盐度及光照强度

- 对海链藻 (*Thalassiosira weissflogii*) 生长的影响[J]. 海洋科学, 2003, 27(12): 58-61.
- [21] Thabano J R E, Abong'o D, Sawula G M. Determination of nitrate by suppressed ion chromatography after copperised-cadmium column reduction[J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1045: 153-159.
- [22] Shyla B, Mahadevaiah, Nagendrappa G. A simple spectrophotometric method for the determination of phosphate in soil, detergents, water, bone and food samples through the formation of phosphomolybdate complex followed by its reduction with thiourea[J]. Spectrochimica Acta part A, 2011, 78: 497-502.
- [23] 戴荣继, 黄春, 佟斌, 等. 藻类叶绿素及其降解产物的测定方法[J]. 中央民族大学学报(自然科学版), 2004, 13: 75-80.
- [24] Hara P M, Irwin Fridovich. Superoxide dismutase: A photochemical augmentation assay[J]. Archives of Biochemistry Biophysics, 1977, 181: 308-312.
- [25] Sofia E C, Anatoly K Y. Cyclodextrin enhanced fluorimetric determination of malonaldehyde by the thiobarbituric acid method [J]. Talanta, 1997, 44: 951-957.
- [26] Li Y S, Ge Y S, Zhang Y, et al. Interaction of coomassie brilliant blue G250 with human serum albumin: probing of the binding mechanism and binding site by spectroscopic and molecular modeling methods[J]. Journal of Molecular Structure, 2010, 968: 24-31.
- [27] Csiszár J, Lantos E, Tari I, et al. Antioxidant enzyme activities in allium species and their cultivars under water stress[J]. Plant Soil Environment, 2007, 53: 517-523.
- [28] Li S X, Hong H S, Zheng F Y, et al. Photoproduction of hydroxyl radical in seawater with marine alga (*Dunaliella salina*) influenced by both metal pollution and macronutrient enrichment[J]. Marine Chemistry, 2008, 108: 207-214.
- [29] Li S X, Hong H S, Zheng F Y, et al. Effects of metal pollution and macronutrient enrichment on the photoproduction of hydroxyl radicals in seawater by the alga *Dunaliella salina* [J]. Marine Chemistry, 2008, 108: 207-214.
- [30] 杨美英, 赵洪银, 蒋春玲, 等. 不同蛋白含量大豆品种氮代谢关键酶活性及叶片氮同化物含量变化[J]. 中国油料作物学报, 2010, 32: 500-505.

Comparison of the effects of coastal pollutants on the growth and biochemical composition of marine phytoplankton

LIU Feng-jiao¹, LI Shun-xing^{1, 2}, ZHENG Feng-ying^{1, 2}, HUANG Xu-guang^{1, 2}, LI Yan-cai^{1, 2}, SONG Yu¹, WU Yan¹, CHEN Mei-zhen¹

(1. College of Chemistry and Environment, Minnan Normal University, Zhangzhou 363000, China; 2. Fujian Province Key Laboratory of Modern Analytical Science and Separation Technology (Minnan Normal University), Zhangzhou 363000, China)

Received: Jan., 4, 2013

Key words: coastal diatoms; eutrophication; petroleum hydrocarbons; antibiotics; toxicity assessment

Abstract: *Thalassiosira weissflogii*, a coastal centric diatom, was cultivated at different concentrations of nitrogen nutrients (nitrate, N, 8.0, 16.0, 32.0, 64.0 $\mu\text{mol/L}$), petroleum hydrocarbons (water accommodated fractions of No.0 diesel oil, WAFs, 0, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 mg/L), and antibiotics (oxytetracycline, OTC, 0, 1.0, 3.0, 5.0, 10.0 mg/L). The results showed that both cell growth and biochemical compositions were affected by N, OTC, and WAFs addition. The influence degree on the algal growth (i.e. cell density), the synthesis of chlorophyll a and proteins, algal cell antioxidant capacity (i.e. superoxide dismutase activity), and lipid peroxidation (i.e. malondialdehyde content) was WAFs>N>OTC, N>OTC>WAFs, N>WAFs>OTC, WAFs>N>OTC, and OTC \gg N>WAFs, respectively. According to the difference of influence degree, the toxic mechanism and target organisms of these three kinds of marine coastal pollutants were different.

(本文编辑: 张培新)