

环境浓度扑草净对球等鞭金藻的毒性效应研究

吕浩男¹, 王 艺¹, 单瑞后², 杨继遥¹, 崔旭梦¹, 王 军¹

(1.中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 2.山东云智合盈环境科技有限公司, 山东 济南 250000)

摘 要:扑草净 (prometryn) 是我国农业和海水养殖中广泛使用的一种三嗪类除草剂, 具有性质稳定、半衰期长等特点, 在我国近岸海域频繁被检出, 最高浓度达 5.4 $\mu\text{g/L}$ 。为了评估扑草净对海洋初级生产力的潜在危害, 本研究测定了环境浓度扑草净 (0.5 $\mu\text{g/L}$ 、1.0 $\mu\text{g/L}$ 和 2.5 $\mu\text{g/L}$) 对球等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 的毒性效应。结果显示, 扑草净暴露会显著抑制球等鞭金藻的种群增长, 其中在 1.0 $\mu\text{g/L}$ 和 2.5 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露下, 藻密度分别为对照组的 78.3% 和 35.3%。在 0.5 $\mu\text{g/L}$ 、1.0 $\mu\text{g/L}$ 和 2.5 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露下, 球等鞭金藻的光合色素叶绿素 *a* 含量分别降低了 19.2%、23.2%、50.1%, 类胡萝卜素分别下降了 20.4%、19.7%、51.7%; 叶绿素 *b* 则在 2.5 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露下降低了 38.3%。在 2.5 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露下, 球等鞭金藻的相对电子传递效率 (*rETR*)、实际光合效率 [*Y* (II)] 和最大光量子产量 (*Fv/Fm*) 分别显著降低了 57.2%、57.0% 和 30.0%, 并且非光化学猝灭 (*NPQ*) 也出现了极显著下降。在 2.5 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露下, 球等鞭金藻积累的糖类、甘油三酯和可溶性蛋白含量分别下降了 49.2%、50.2% 和 26.8%, 并且导致 C、N 元素占比下降了 30% 以上。此外, 3 个浓度扑草净暴露下球等鞭金藻的细胞形态均出现了凹陷、褶皱、孔洞等异常结构。本研究结果可为评估近海三嗪类除草剂污染的生态风险提供一定科学参考。

关键词:扑草净; 三嗪类除草剂; 球等鞭金藻; 光合色素; 海洋微藻

中图分类号:X171.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-6336(2025)04-0573-08

Toxic effects of different concentrations of prometryn on *Isochrysis galbana*

LYU Haonan¹, WANG Yi¹, SHAN Ruihou², YANG Jiyao¹,
CUI Xumeng¹, WANG Jun¹

(1.College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2.Shandong Yunzhiheyang Environmental Technology Co., LTD, Jinan 250000, China)

Abstract: The wide application of prometryn and other triazine herbicides in agricultural production and mariculture makes the detection rates of triazine herbicides in coastal seawater relatively high. Due to its stable structure triazine ring, prometryn has a long half-life, which makes it easily accumulated in organisms and cause toxicity. In this study, *Isochrysis galbana* was used to evaluate the toxicity of prometryn at different environmental concentrations (0.5, 1.0 and 2.5 $\mu\text{g/L}$). The results showed that the growth of *Isochrysis galbana* was inhibited by prometryn, and the algae density in the 1.0 and 2.5 $\mu\text{g/L}$ prometryn groups was 78.3% and 35.3% of that in the control group. At the same time, the content of chlorophyll *a* was decreased by 19.2%,

收稿日期:2024-07-11, 修订日期:2024-09-03

基金项目:国家自然科学基金项目(42376146)

作者简介:吕浩男(1998—), 男, 山东肥城人, 硕士, 研究方向为生物学, E-mail: lhn113@163.com

通信作者:王 军(1986—), 男, 山东青州人, 教授, 主要从事海洋污染物的生物毒性效应与生态风险评估研究, E-mail: wangjun@ouc.edu.cn

23.2% and 50.1%, and carotenoids was decreased by 20.4%, 19.7% and 51.7% in the 0.5, 1.0 and 2.5 $\mu\text{g/L}$ prometryn groups. Meanwhile, the content of chlorophyll b was decreased by 38.3% after exposure to 2.5 $\mu\text{g/L}$ prometryn. Moreover, exposure to 2.5 $\mu\text{g/L}$ prometryn decreased the relative electron transport rate ($rETR$) by 57.2%, actual photochemical efficiency [$Y(\text{II})$] by 57.0%, maximum quantum yield of light (F_v/F_m) by 30.0%, and non-photochemical quenching (NPQ) also decreased significantly. Exposure to 2.5 $\mu\text{g/L}$ prometryn, the accumulation of carbohydrate, triglyceride and soluble protein were decreased by 49.2%, 50.2% and 26.8%, and the proportion of C and N elements also decreased by more than 30%. In addition, the morphology of algal cells in the prometryn exposure groups showed abnormal structures including depression, folds and holes. The results of this study can provide a scientific reference for assessing the ecological risk of triazine herbicides pollution.

Key words: prometryn; triazine herbicides; *Isochrysis galbana*; photosynthetic pigments; marine microalgae

扑草净(prometryn)是我国农业和水产养殖中大量使用的一种三嗪类除草剂,使用后会随河流、地表径流等途径汇入海洋^[1]。因具有性质稳定、半衰期长(海水中的半衰期为 367 d)与高亲脂性等特点,扑草净在海洋环境与生物体内频繁被检出,对海洋生态系统健康构成潜在威胁,已引起了越来越多的关注^[2-4]。例如,扑草净在我国黄海、渤海表层海水中的检出浓度约为 627.5 ng/L,在大连市海水养殖区的平均浓度为 2.1 $\mu\text{g/L}$,最高浓度可达 5.4 $\mu\text{g/L}$ 。在希腊、捷克等国家水域,扑草净的最高检出浓度也达到了 4.4 $\mu\text{g/L}$ ^[5-6]。可见,扑草净已成为全球近岸海域的一种常见污染物。

扑草净污染可能会对海洋生物产生毒性^[7]。研究发现,0.5 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露会推迟日本虎斑猛水蚤(*tigriopus japonicus*)的首次产卵时间和孵化时间,减少食物摄入量和营养积累,降低 C、N 元素含量,造成日本虎斑猛水蚤的体型变小^[8]。对海洋鱼类而言,1 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露会导致海水青鲙(*Oryzias melastigma*)胚胎卵黄囊萎缩和心脏畸形,造成幼鱼畸形率和死亡率的显著上升^[9]。作为一种三嗪类除草剂,扑草净主要通过抑制光合作用来抑制杂草的生长^[10-12]。汇入海洋中的扑草净可能也会影响海洋植物的光合作用。例如,在 1 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露下珊瑚(*Galaxea fascicularis*)光合作用相关通路的基因表达量下调,相对电子传递效率($rETR$)、实际光合效率 [$Y(\text{II})$]、最大光量子产量(F_v/F_m)、非光化学猝灭(NPQ)等光合指数均受到抑制,叶绿体光合系统 II (PS II)电子传递能力下降,导致 PS II 供体

侧受损,电子传递能力下降^[7]。除了大型植物,扑草净对海洋微藻的潜在毒性也被高度关注^[13-14]。80 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露使铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)的生长速度降低了 19.3%^[15];在 0.5 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露下隐秘小环藻(*Cyclotella cryptica*)死亡率和异形胞比例分别上升了 8.43% 和 4.73%^[16]。扑草净对海洋微藻种群增长和生理活动产生明显的抑制作用,可能会对海洋初级生产力造成不利影响。

球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)广泛存在于海洋生态系统中,具有易于培养、生长周期短、对污染物敏感度高等特点,被广泛用于评估环境污染物的毒性效应^[17-18]。本研究首先通过测定不同暴露浓度下的藻密度,评估扑草净对球等鞭金藻种群增长的不利影响。其次通过测定光合色素含量、叶绿体荧光参数、物质含量和元素组成,探究扑草净暴露对球等鞭金藻细胞活性和光合作用效率的影响。最后对环境浓度扑草净暴露下球等鞭金藻的形态结构进行观察,以期评估三嗪类除草剂污染对海洋初级生产力的不利影响提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 暴露溶液的配制

扑草净(CAS 7287-19-6, 99.9%)、二甲基亚砜(DMSO, CAS 67-68-5, 99.5%)分别购自阿拉丁(上海,中国)和 Sigma Aldrich[西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司,中国]公司。用百万分之一天平[奥豪斯仪器(常州)有限公司,中国]准确称取 2.5 mg 扑草净原药粉末于棕色小玻璃瓶

中,加入 1 mL DMSO,配制成 2.5 mg/mL 的储备液。在实验时,将储备液依次稀释为 0.5 $\mu\text{g/L}$ 、1.0 $\mu\text{g/L}$ 和 2.5 $\mu\text{g/L}$ 的使用液,加入培养基中,使扑草净的暴露浓度分别为 0.5 $\mu\text{g/L}$ 、1.0 $\mu\text{g/L}$ 和 2.5 $\mu\text{g/L}$,DMSO 为总暴露体积的 0.1%。

1.2 实验生物

球等鞭金藻于中国海洋大学环境健康与生态工程实验室进行培养。所用海水取自青岛附近海域,经 0.45 μm 滤膜过滤后,进行高压蒸汽灭菌(121.5 $^{\circ}\text{C}$, 40 min)。将处于指数生长期的球等鞭金藻接种于 f/2 海水培养基中,放入智能光照培养箱(GXZ-500,宁波江南仪器厂,中国)中培养,培养温度为 20 $^{\circ}\text{C}\pm 0.5$ $^{\circ}\text{C}$,光照强度为 6000 lx,光暗周期比为 12 h : 12 h。

1.3 暴露实验

本实验共设置 DMSO 对照组和 3 个暴露组,各暴露组扑草净的浓度分别为 0.5 $\mu\text{g/L}$ 、1.0 $\mu\text{g/L}$ 和 2.5 $\mu\text{g/L}$,与我国近岸海域扑草净的检出范围相一致(0.6 ~ 5.4 $\mu\text{g/L}$)^[5-6]。将球等鞭金藻接种于含有 100 mL 培养基的 250 mL 锥形瓶中,起始藻细胞浓度为 5×10^4 cell/mL。每组设置 3 个平行,随机放在培养箱中,保持平行光照培养,每天定时摇动 3 次,以防止藻细胞沉淀。

1.4 样品采集与实验数据测量

1.4.1 球等鞭金藻种群生长和形态变化

从球等鞭金藻接种第 1 d 开始,每隔 24 h 在无菌环境中取 200 μL 藻液加入 96 孔板中,采用多功能酶标仪(山东奥恒生物科技有限公司,中国)测定 680 nm 波长下的光密度值(OD_{680}),每个实验设置 3 个平行。同时,每隔 24 h 取对照组藻液 1000 μL 加入 2 滴浓度为 0.1% 的鲁格氏固定液,用血球计数板在光学显微镜(Nikon ECLIPSE 50i,日本)下进行计数。利用对照组藻细胞计数的数值和藻液光密度值(OD_{680})建立不同藻细胞密度(N , cell/mL)与 OD_{680} 之间的线性关系,从而得到各暴露组中球等鞭金藻的生物量。

在暴露至第 4 d 和第 8 d 时,分别从各暴露组锥形瓶中取藻液 1 mL,加入 2 滴浓度为 0.1% 的鲁格氏固定液,置于高倍显微镜下进行拍照处理。

1.4.2 光合色素含量

在暴露至第 4 d 和第 8 d 时,从各组分别取

15 mL 藻液,在 4000 rpm/min 下离心 10 min,弃去上清液后加入 5 mL 90% 丙酮,4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光提取色素 24 h。再次在 4000 rpm/min 下离心 10 min,收集上清液,定容至 4 mL。分别取 200 μL 定容后的上清液放入 96 孔板中,使用紫外分光光度计(UV6000,上海元析仪器有限公司,中国)测定光合色素含量^[16]。以丙酮作为空白对照,分别在 440 nm、645 nm、663 nm 下测定每个样品的光密度,参照《海洋监测规范 第 7 部分:近海污染生态调查和生物监测》(GB 17378.7—2007)的方法计算叶绿素 a (Chl a)、叶绿素 b (Chl b) 和胡萝卜素(Car)的含量。

1.4.3 叶绿素荧光参数

在暴露至第 4 d 和第 8 d 时,测定各组中球等鞭金藻的光合系统 II (photosystem II, PS II) 活性。用藻类叶绿素荧光仪(Water-PAM fluorometer, Walz, Effeltrich, 德国)对叶绿素荧光进行测定。参数包括 $rETR$ 、 $Y(\text{II})$ 、 F_v/F_m 、 NPQ 。其中, $rETR$ 是对单位时间内通过(PS II)的电子数的估计,代表初次转化的光能用于光化学电子传递能量的数量; $Y(\text{II})$ 反映抵抗不良胁迫的能力; F_v/F_m 表示一次光能的捕获效率; NPQ 则代表球等鞭金藻对扑草净响应的积极程度,反映球等鞭金藻抵抗环境胁迫的能力。

1.4.4 营养物质及元素含量的测定

1.4.4.1 细胞破碎液的制备

在暴露至第 4 d 和第 8 d 时,取 50 mL 藻液在 4000 rpm/min 下离心 10 min,向藻细胞沉淀物中加入 1 mL 浓度为 0.05 mol/L、pH 为 7.2 ~ 7.8 的磷酸缓冲液(PBS),混匀后离心,弃去上清液。向沉淀中加入 400 μL PBS,在冰水浴条件下放入超声波细胞破碎仪(宁波新芝生物科技股份有限公司,中国)中破碎 5 min(195 w, 破碎 5 s, 暂停 10 s),涡旋 1 min,放入冰盒中保存。

1.4.4.2 可溶蛋白的测定

样品破碎后,在 4000 rpm/min 下离心 10 min,取上清液,使用蛋白测试试剂盒(A045-4-1,南京建成生物工程研究所)测定蛋白含量。

1.4.4.3 甘油三酯和葡萄糖的测定

将准备好的细胞破碎液作为样品,按照说明书使用葡萄糖(GLU)测试试剂盒和甘油三酯

(TG)含量测定试剂盒(A110-1-1,南京建成生物工程研究所),分别采用葡萄糖氧化酶法和甘油磷酸氧化酶-过氧化物酶(GPO-PAP)法来测定葡萄糖和甘油三酯的含量。

1.4.4.4 元素含量测定

在暴露至第4 d和第8 d时,从各组中取50 mL藻液放入离心管中,在4000 rpm/min下离心10 min,弃去上清液,加入50 mL藻液再次离心,重复6次,得到300 mL试样的藻细胞沉淀,用液氮封存后,于-80℃保存24 h。在真空冷冻干燥机(北京亚泰科隆仪器技术有限公司,中国)中干燥24 h后,称重,放入锡舟中封存。利用元素分析仪(UNICUBE, Elementar, 德国)测定藻细胞中C元素和N元素的含量及碳氮比(C:N),选用磺胺(CHNS)作为标准品。

1.5 统计分析

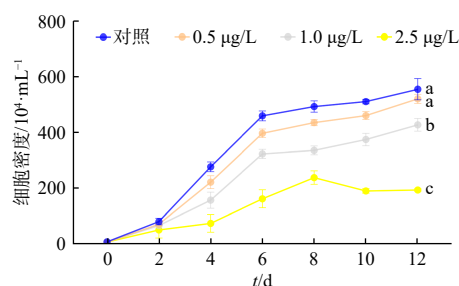
所有数据均以平均值±标准偏差(mean±standard deviation, SD)表示,通过SPSS 26.0软件进行统计分析,在经过正态分布和方差齐性检验后,使用单因素方差(One-Way ANOVA)、邓肯法(Duncan)等分析比较对照组和各暴露组之间的差异性。以“*”标记表示暴露组与对照组之间的差异性,当 $p < 0.05$ 时,认为差异显著(*);当 $p < 0.01$ 时,认为差异极显著(**)。不同的字母标记表示各组之间具有显著差异($p < 0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 扑草净暴露对球等鞭金藻生长的影响

与对照组相比,在1.0 μg/L和2.5 μg/L扑草净暴露4~12 d,球等鞭金藻密度出现了显著下降($p < 0.05$),球等鞭金藻在暴露第8 d达到平台期,但藻密度仅为对照组的78.3%和35.3%($p < 0.01$,图1)。Shi等^[19]发现,0.5 μg/L扑草净暴露对小球藻(*Chlorella vulgaris*)的生长无明显抑制作用,当浓度提高到5 μg/L(72 h- EC_{50} 约为57.5 μg/L)时,显著抑制了小球藻的生长;暴露于0.5 μg/L扑草净下隐秘小环藻的种群数量前期也未出现显著下降,但在96 h后藻密度降低40%^[16]。在本研究中,球等鞭金藻的最大藻密度和种群增长速度在3个浓度扑草净暴露下均出现下降趋势,并且这种抑制表现出明显的时间依赖性和浓

度依赖性。



(字母不同代表具有显著性差异,字母相同代表不具有差异, $p < 0.05$)

图1 扑草净暴露对球等鞭金藻密度的影响

Fig. 1 Effects of exposure of prometryn on the density of *Isochrysis galbana*

2.2 光合色素含量变化

在0.5 μg/L、1.0 μg/L和2.5 μg/L扑草净暴露下,球等鞭金藻的光合色素含量下降同样表现出剂量-效应关系(图2)。暴露4 d后,各暴露组的叶绿素a和叶绿素b含量与对照组相比均无显著差异($p > 0.05$,图2a和图2b)。暴露8 d后,0.5 μg/L、1.0 μg/L和2.5 μg/L暴露组球等鞭金藻的叶绿素a含量分别为对照组的80.8%、76.8%和49.9%($p < 0.01$)。同样,类胡萝卜素含量也在3个暴露组显著下降,分别为对照组的79.4%、77.6%和48.3%($p < 0.05$,图2c)。相比之下,叶绿素b含量只在2.5 μg/L暴露组显著降低,为对照组的59.6%($p < 0.05$)。Graymore等^[20]发现阿特拉津会抑制微藻的光合作用;Chae等^[21]发现氟化物会通过诱导叶绿体降解、降低叶绿素水平,或使叶绿素a失去 Mg^{2+} ,影响叶绿素的合成过程。弱光下植物可以通过提高Chl b/Chl a来增强叶绿体光合磷酸化的活性,进而促进叶绿素的合成和恢复^[7]。本研究中,叶绿素b只有在2.5 μg/L扑草净暴露第8 d时含量才有显著性降低,与叶绿素a和类胡萝卜素含量变化相比不够显著,可能是由于在较低浓度扑草净暴露下叶绿体仍然具有一定的调节能力,使Chl b/Chl a增大以促进叶绿素的合成和恢复,但在高浓度扑草净长时间暴露下微藻的自我调节能力受限^[22]。Zhou等^[7]发现海洋共生藻科受到扑草净胁迫时,类胡萝卜素含量也会显著增高,用于提高光合效率;另外,类胡萝卜素也可能会提高植

物对不良环境的耐受性^[23]。我们推测,在扑草净暴露下,短时间或浓度较低时球等鞭金藻可能会发生适应胁迫的相应变化,促进叶绿素的合成或减少其降解。然而,随着暴露时间的延长和暴露浓度的升高,扑草净显著降低了叶绿素与类胡萝卜素的含量。微藻作为较低等的海洋植物,与大型藻类相比缺少相关的光合作用补充途径,可能更容易遭受扑草净污染的危害。

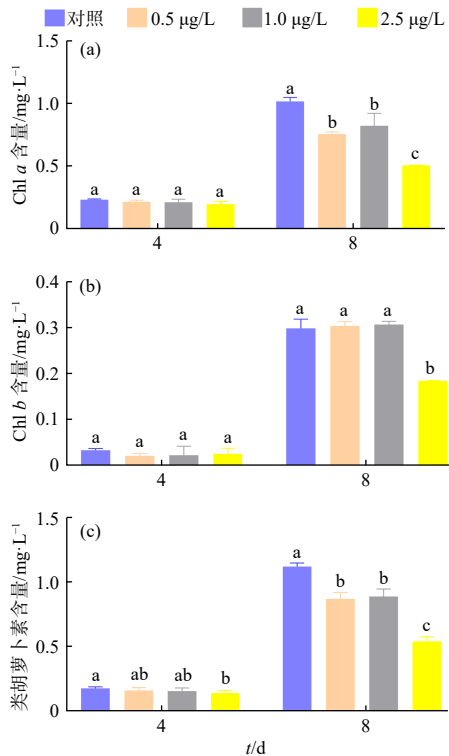


图2 扑草净暴露对球等鞭金藻光合色素含量的影响

Fig. 2 Effects of exposure of prometryn on the photosynthetic pigment content of *Isochrysis galbana*

2.3 叶绿素荧光参数变化

暴露8 d后,1.0 μg/L和2.5 μg/L扑草净暴露组的 F_v/F_m 降低至对照组的91.2%和70.1% ($p < 0.05$,图3a)。暴露4 d后,只有2.5 μg/L扑草净暴露组的 $rETR$ 显著降低($p < 0.05$,图3b);暴露8 d后,0.5 μg/L暴露组的 $rETR$ 降低至对照组的80.1% ($p < 0.05$)。1.0 μg/L和2.5 μg/L暴露组的 $rETR$ 则极显著降低($p < 0.01$)。暴露4 d后,0.5 μg/L和1.0 μg/L扑草净暴露下的球等鞭金藻的 NPQ 无显著变化,而在2.5 μg/L扑草净暴露下则出现极显著降低($p < 0.01$);暴露8 d

后,1.0 μg/L、2.5 μg/L扑草净暴露导致 NPQ 出现极显著降低($p < 0.01$,图3c),并且1.0 μg/L和2.5 μg/L扑草净暴露组的 $Y(II)$ 分别为对照组的59.6%和42.7% ($p < 0.01$,图3d)。

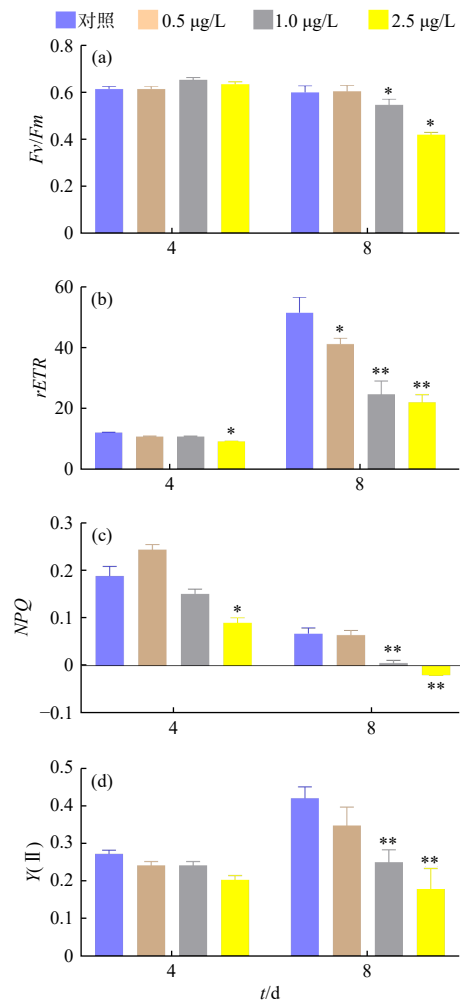


图3 扑草净暴露对球等鞭金藻叶绿素荧光参数的影响

Fig. 3 Effects of exposure of prometryn on the chlorophyll fluorescence parameters of *Isochrysis galbana*

光合色素含量减少会降低叶绿体膜吸收的光能,必然会对光合效率产生抑制。叶绿素荧光参数可以反映其光合效率的变化^[22],也可以反映微藻的生长状况^[23-25]。Zhou等^[7]发现扑草净暴露会使珊瑚光合色素含量显著减少,从而降低叶绿体捕获的光能。 F_v/F_m 、 $rETR$ 、 $Y(II)$ 和 NPQ 的降低进一步表明在扑草净暴露下球等鞭金藻叶绿体的光合作用进程和效率受到了不同程度的影响,同时在叶绿体受损时,其荧光参数和光合效率也随之下降^[7,26]。此前的研究表明,扑草

净能阻断 PS II 中醌化合物 QA 和 QB 的电子积累功能,降低 F_v/F_m , 导致叶绿体不能通过热耗散消耗多余的光能,造成严重的光化学效率损害^[27]。可见,环境浓度的扑草净通过减少球等鞭金藻捕获的光能,抑制了光合系统中电子传递的过程,降低了实际光合效率,使藻细胞抵抗不良环境的能力下降,从而影响藻细胞的正常生长。

2.4 营养成分与元素组成

不同浓度扑草净暴露 4 d 后,葡萄糖含量和蛋白质含量并未出现显著变化 ($p > 0.05$, 图 4a 和图 4c)。暴露 8 d 后,2.5 $\mu\text{g/L}$ 暴露组的葡萄糖含量仅为对照组的 50.8% ($p < 0.01$, 图 4a)。另外,2.5 $\mu\text{g/L}$ 暴露组的甘油三酯含量在暴露 4 d 和 8 d 后仅为对照组的 43.5% 和 49.6% ($p < 0.05$, 图 4b)。暴露 8 d 后,1.0 $\mu\text{g/L}$ 和 2.5 $\mu\text{g/L}$ 暴露组的蛋白质含量分别降低至对照组的 78.7% 和 73.2% ($p < 0.05$, 图 4c)。球等鞭金藻在 0.5 $\mu\text{g/L}$ 和 1.0 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露下,蛋白含量和 C 元素含量显著下降,而在 2.5 $\mu\text{g/L}$ 浓度暴露下,糖类、甘油三酯、蛋白含量以及 C、N 元素含量均显著下降 ($p < 0.05$),在暴露 4 d 时甘油三酯含量和 C、N 元素含量就已显著下降 ($p < 0.05$);在 0.5 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露下,球等鞭金藻的 C、N 元素含量显著上升 ($p < 0.05$)。

光合作用是植物利用光能积累营养物质的重要途径,而光合效率降低会直接减少营养物质的合成和积累。研究表明,扑草净暴露会下调 Rubisco 基因 (*RbcL*)、尿卟啉原脱羧酶 (UROD) 和 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 的表达水平,降低珊瑚积累的营养物质。另外,扑草净会使磷酸葡萄糖变位酶 (PGM) 和 ADP-葡萄糖焦磷酸化酶 (AGPase) 过表达,从而抑制了糖原和淀粉的合成^[7]。因此,扑草净通过抑制球等鞭金藻对光能的吸收利用,影响了能量转换和物质积累过程^[28]。

在 0.5 $\mu\text{g/L}$ 和 1.0 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露下,球等鞭金藻的 N 元素含量下降不明显,在暴露 4 d 时,1.0 $\mu\text{g/L}$ 暴露组的 N 元素含量显著升高 ($p < 0.05$),可能是因为扑草净暴露会引起 N 元素代谢通路的相关基因表达水平下调^[7]。有研究证明,低浓度 (0.625 mg/L) 恩诺沙星暴露对微藻生长具有促进作用,当浓度大于 1.25 mg/L 时则产

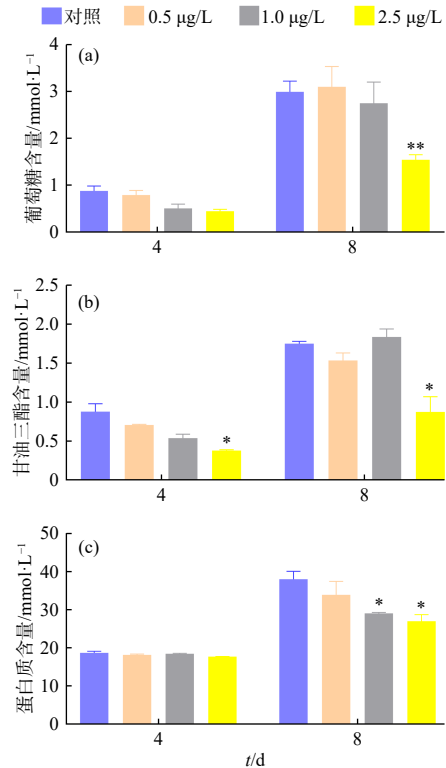


图 4 扑草净暴露对球等鞭金藻营养含量的影响

Fig. 4 Effects of exposure of prometryn on the nutrient content of *Isochrysis galbana*

生抑制作用^[29]。低浓度扑草净暴露短时间可以促进球等鞭金藻对 C、N 元素的积累,但是在营养含量上却并未显著升高。因此,短时间低浓度扑草净的暴露增加了 C、N 元素的积累,却并未促进其向营养物质的转化和积累,可能是由于 C、N 元素的代谢被抑制,从而影响了元素含量,如图 5 所示。

2.5 球等鞭金藻形态观察

在扑草净暴露 8 d 后,0.5 $\mu\text{g/L}$ 暴露组的部分藻细胞个体偏大或偏小,有藻细胞出现裂隙 (图 6b),而 1.0 $\mu\text{g/L}$ 和 2.5 $\mu\text{g/L}$ 扑草净暴露组的藻细胞则出现了形态异常或凹陷 (图 6c 和图 6d)。

扑草净通过影响球等鞭金藻的光合作用进程,减少了营养物质的积累,影响了正常的生长过程,导致出现褶皱、凹陷、空洞和破碎等异常现象。球等鞭金藻细胞裸露,没有细胞壁,遭受扑草净暴露时发生的异常形态可更直观地被观察到^[30]。在暴露于重金属铬时,球等鞭金藻也出现了细胞膜破损、凹陷等情况,可能是由于污染物在其细胞膜表面富集造成的^[31]。在除草剂异

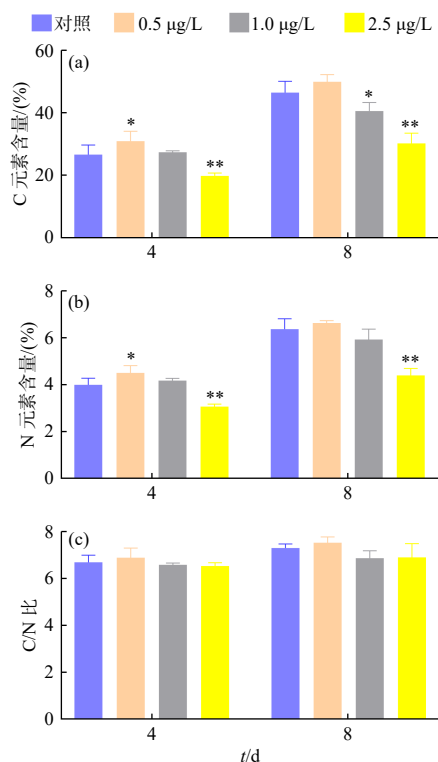
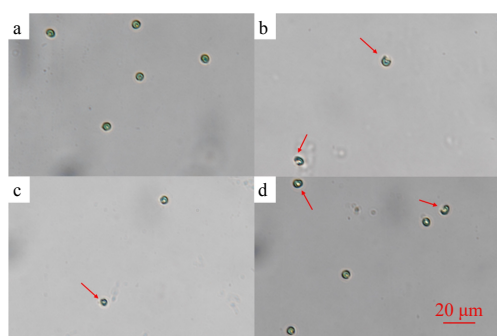


图5 扑草净暴露对球等鞭金藻元素含量的影响

Fig. 5 Effects of exposure of prometryn on the element content of *Isochrysis galbana*



注: 扑草净暴露浓度分别为 0 µg/L (a)、0.5 µg/L (b)、1.0 µg/L (c)、2.5 µg/L (d); 红色箭头标识出结构的异常, 包括褶皱、凹陷、孔洞和碎裂现象

图6 扑草净暴露 8 d 对球等鞭金藻形态的影响(40X)

Fig. 6 Effect of exposure to prometryn for 8 days on morphology of *Isochrysis galbana*

丙草胺的暴露下, 微藻也显现了新月形、螺旋扭曲等异常形态^[32]。细胞壁作为微藻细胞最外层的结构, 可以帮助微藻细胞减轻污染物的毒性。由于球等鞭金藻缺少细胞壁, 也使得扑草净等污染物可以直接接触细胞膜, 对于细胞的毒性效应更为迅速和严重^[28]。鉴于球等鞭金藻在扑

草净暴露下出现的异常细胞形态更为明显, 建议通过对异常形态细胞的观察来判断环境中扑草净或其他污染物的污染情况。

3 结论

(1) 环境浓度扑草净暴露下, 球等鞭金藻的藻密度降低, 藻细胞出现了凹陷、空洞、破碎等结构损伤。

(2) 扑草净通过降低藻细胞的光合色素含量、*rETR*、*Y(II)*、*Fv/Fm*、*NPQ*, 抑制球等鞭金藻光合作用, 进而降低营养物质和 C、N 元素的含量。

(3) 扑草净对球等鞭金藻的毒性效应与其暴露浓度、暴露时间呈正相关关系。随着我国近岸海域扑草净的持续检出, 建议高度关注三嗪类除草剂污染对海洋初级生产力的不利影响。

参考文献:

- [1] KROON F J, THORBURN P, SCHAFFELKE B, et al. Towards protecting the Great Barrier Reef from land-based pollution[J]. *Global Change Biology*, 2016, 22(6): 1985-2002.
- [2] SPILSBURY F D, WARNE M S T, BACKHAUS T. Risk assessment of pesticide mixtures in Australian rivers discharging to the great barrier reef[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(22): 14361-14371.
- [3] SUPE TULCAN R X, OUYANG W, GU X, et al. Typical herbicide residues, trophic transfer, bioconcentration, and health risk of marine organisms[J]. *Environment International*, 2021, 152: 106500.
- [4] 韩典峰, 秦华伟, 张华威, 等. 黄河三角洲贝类增殖区海水中 16 种除草剂污染特征及评价 [J]. *海洋环境科学*, 2022, 41(5): 683-688.
- [5] YANG L Q, LI H M, ZHANG Y Y, et al. Environmental risk assessment of triazine herbicides in the Bohai Sea and the Yellow Sea and their toxicity to phytoplankton at environmental concentrations[J]. *Environment International*, 2019, 133: 105175.
- [6] ZHANG R H, DU J, DONG X B, et al. Occurrence and ecological risks of 156 pharmaceuticals and 296 pesticides in seawater from mariculture areas of Northeast China[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 792: 148375.
- [7] ZHOU Y Y, LI Q L, ZHANG Q, et al. Environmental concentrations of herbicide prometryn render stress-tolerant corals susceptible to ocean warming[J]. *Environmental Science & Technology*, 2024, 58(10): 4545-4557.
- [8] WANG D, YANG G X, RU S G, et al. Herbicide prometryn adversely affects the development and reproduction of *Tigriopus japonicus* by disturbing the ecdysone signal pathway and

- chitin metabolic pathway[J]. *Aquatic Toxicology*, 2023, 254: 106378.
- [9] SAMREEN, ZHANG X N, WANG J, et al. Environmental relevant herbicide prometryn induces developmental toxicity in the early life stages of marine medaka (*Oryzias melastigma*) and its potential mechanism[J]. *Aquatic Toxicology*, 2022, 243: 106079.
- [10] ISHIBASHI H, TAKAICHI D, TAKEUCHI I. Effects of the herbicide Irgarol 1051 on the transcriptome of hermatypic coral *Acropora tenuis* and its symbiotic dinoflagellates[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 780: 146542.
- [11] CABRERA A, COX L, KOSKINEN W C, et al. Availability of triazine herbicides in aged soils amended with olive oil mill waste[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(11): 4112-4119.
- [12] WANG Y P, SUN Y, XU B, et al. Magnetic ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of triazine herbicides in vegetable oils by liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1373: 9-16.
- [13] WANG Z Y, SUN X J, RU S G, et al. Effects of co-exposure of the triazine herbicides atrazine, prometryn and terbutryn on *Phaeodactylum tricornutum* photosynthesis and nutritional value[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 807: 150609.
- [14] 施文杰, 王长友, 杨 锐. 诺氟沙星对盐生杜氏藻、新月菱形藻和小球藻的生态毒性效应[J]. *海洋环境科学*, 2019, 38(1): 1-6.
- [15] KONG W, HUANG S L, SHEN B X, et al. Experimental study on effects of prometryn exposure scenarios on *Microcystis aeruginosa* growth and N and P concentrations[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2023, 30(5): 12138-12151.
- [16] 刘旻昊, 张振忠, 刘 聪, 等. 环境浓度扑草净存在下聚苯乙烯纳米塑料对隐秘小环藻的毒性效应[J]. *海洋环境科学*, 2024, 43(4): 627-636.
- [17] PTACNIK R, SOLIMINI A G, ANDERSEN T, et al. Diversity predicts stability and resource use efficiency in natural phytoplankton communities[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(13): 5134-5138.
- [18] ISMAIL M, PHANG S M, TONG S L, et al. A modified toxicity testing method using tropical marine microalgae[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2002, 75(2): 145-154.
- [19] SHI Y J, BURNS M, RITCHIE R J, et al. Probabilistic risk assessment of diuron and prometryn in the Gwydir River catchment, Australia, with the input of a novel bioassay based on algal growth[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 106: 213-219.
- [20] GRAYMORE M, STAGNITT F, ALLINSON G. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems[J]. *Environment International*, 2001, 26(7/8): 483-495.
- [21] CHAE Y, KIM D, AN Y J. Effect of fluoride on the cell viability, cell organelle potential, and photosynthetic capacity of freshwater and soil algae[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 219: 359-367.
- [22] ZHENG L, SU M Y, LIU C, et al. Effects of nanoanatase TiO₂ on photosynthesis of spinach chloroplasts under different light illumination[J]. *Biological Trace Element Research*, 2007, 119(1): 68-76.
- [23] TAKAGI T, AOYAMA K, MOTONE K, et al. Mutualistic interactions between dinoflagellates and pigmented bacteria mitigate environmental stress[J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(1): e0246422.
- [24] EXPÓSITO N, CARAFA R, KUMAR V, et al. Performance of chlorella vulgaris exposed to heavy metal mixtures: linking measured endpoints and mechanisms[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18(3): 1037.
- [25] LIU Y R, HU H W, WANG Y, et al. Effects of heavy metals released from sediment accelerated by artificial sweeteners and humic acid on a green algae *Scenedesmus obliquus*[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 729: 138960.
- [26] LI Q L, FU D H, ZHOU Y Y, et al. Individual and combined effects of herbicide prometryn and nitrate enrichment at environmentally relevant concentrations on photosynthesis, oxidative stress, and endosymbiont community diversity of coral *Acropora hyacinthus*[J]. *Chemosphere*, 2023, 339: 139729.
- [27] HORTON P. Optimization of light harvesting and photoprotection: molecular mechanisms and physiological consequences[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2012, 367(1608): 3455-3465.
- [28] 李怡蕾, 梁 伟, 赵子昂, 等. 三嗪除草剂扑草净对海洋浮游植物群落的影响—基于对微藻种群动态、种间竞争和光合能力的分析[J]. *中国环境科学*, 2023, 43(10): 5591-5603.
- [29] 许燕茹, 林 岗. 恩诺沙星对球等鞭金藻生长及脂肪酸的影响[J]. *福建农业科技*, 2021, 52(9): 8-14.
- [30] LEMAHIEU C, BRUNEEL C, DEJONGHE C, et al. The cell wall of autotrophic microalgae influences the enrichment of long chain omega-3 fatty acids in the egg[J]. *Algal Research*, 2016, 16: 209-215.
- [31] JIN M, XIAO X F, QIN L G, et al. Physiological and morphological responses and tolerance mechanisms of *Isochrysis galbana* to Cr(VI) stress[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 302: 122860.
- [32] MACHADO M D, SOARES E V. Reproductive cycle progression arrest and modification of cell morphology (shape and biovolume) in the alga *Pseudokirchneriella subcapitata* exposed to metolachlor[J]. *Aquatic Toxicology*, 2020, 222: 105449.