

文章编号: 1674-5566(2012)03-0374-08

## 波吉卵囊藻对 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 耐受力 and 吸附作用的研究

黄翔鹤<sup>1,2</sup>, 魏少红<sup>1</sup>, 周美华<sup>1</sup>, 江 东<sup>2</sup>

(1. 东华大学 环境科学与工程学院, 上海 201620; 2. 广东海洋大学 水产学院, 广东 湛江 524025)

**摘要:** 研究了波吉卵囊藻 (*Oocystis borgei*) 对  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  的耐受力、吸附率和吸附量的作用规律。结果表明:  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对波吉卵囊藻的生长和叶绿素 a 含量影响显著 ( $P < 0.05$ )。  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  含量的升高, 对波吉卵囊藻生长的抑制增大, 使叶绿素 a 含量下降; 当  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  的含量分别小于 0.001 mg/L 和 0.010 mg/L 时, 对波吉卵囊藻的生长和叶绿素 a 含量增加有一定的促进作用;  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对波吉卵囊藻生长的 96h- $\text{EC}_{50}$  分别为 0.229 mg/L 和 17.390 mg/L。  $\text{Cu}^{2+}$  含量为 1.000 mg/L 和  $\text{Zn}^{2+}$  含量为 50.000 mg/L 的组合, 对波吉卵囊藻生长的抑制率为 103.881%。  $\text{Cu}^{2+}$  对波吉卵囊藻的毒性大于  $\text{Zn}^{2+}$ 。波吉卵囊藻对  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  有较好的吸附效果, 当藻细胞含量为  $2.291 \times 10^8$  ind/L 时, 对  $\text{Zn}^{2+}$  的吸附率为 81.444%; 含量为  $2.891 \times 10^8$  ind/L 时, 对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附率为 52.521%; 吸附量分别为 9.469 mg/g ( $5.208 \times 10^{-9}$  mg/ind) 和 2.914 mg/g ( $1.603 \times 10^{-9}$  mg/ind), 对波吉卵囊藻不会产生明显毒性。

**研究亮点:** 研究  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对虾池中一种有益微藻——波吉卵囊藻的作用特点和不同含量的波吉卵囊藻对  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  吸附效率, 为在虾池中构建以波吉卵囊藻为主的良性微藻群落, 加强微藻群落对环境净化的功能, 降低  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对对虾的毒性, 进行对虾的健康养殖提供支撑。

**关键词:** 波吉卵囊藻;  $\text{Cu}^{2+}$ ;  $\text{Zn}^{2+}$ ; 耐受力; 吸附率

**中图分类号:** S 912; S 966.1  
**文献标志码:** A

重金属是普遍存在于海区和养殖水体中的重要污染物<sup>[1-3]</sup>, 在养殖环境中, 重金属对水生生物的生长有不利影响<sup>[4]</sup>。重金属离子会影响养殖环境中微藻的生长以及叶绿素合成, 使光合作用减弱, 从而降低微藻的功能, 导致水体缺氧<sup>[5]</sup>; 水体中的重金属离子也会进入对虾体内, 影响对虾生长<sup>[6-7]</sup>, 使产品质量下降, 造成食品安全隐患<sup>[8-10]</sup>。  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  能够降低对虾的存活率、减少蜕皮次数、体内磷酸酶活性的减弱, 影响其生长<sup>[11]</sup>。  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  存在于对虾养殖环境中, 它们可以通过食物链及生物富集作用产生蓄积, 若人食用了这些含重金属超标的养殖产品会造成不同程度的中毒现象。  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*)、亚心型扁藻 (*Platymonas subcordiformis*)、三角褐指藻

(*Phaeodactylum tricornutum*)、牟氏角毛藻 (*Chaetoceros muelleri*) 的毒性也已有研究报道<sup>[5,12-14]</sup>。关于水环境中重金属离子消除的研究有大量报道, 提出了许多解决方法<sup>[15]</sup>, 如萃取法、沉淀法和离子交换法等, 但它们成本高, 可操作性低。近年微藻对重金属离子吸附有一些研究报道, 主要集中在小球藻 (*Chlorella* sp.)、湛江等鞭金藻 (*Isochrysis zhanjiangensis*) 和螺旋藻 (*Spirulina* sp.) 对重金属离子的吸附能力和吸附条件等方面的研究<sup>[16-18]</sup>。利用虾池微藻降低对虾养殖环境中重金属离子污染, 是对虾健康养殖的重要技术措施。

波吉卵囊藻 (*Oocystis borgei*) 是高位池对虾养殖中后期常见的微藻优势种, 分布广, 种群稳定, 竞争力较强。通过定向培育, 波吉卵囊藻可

收稿日期: 2011-10-21 修回日期: 2012-02-08

基金项目: 广东省科技计划项目(2010B060200011, 2009B020312013); 广东省海洋渔业科技推广专项(A200901B06); 科技部农业科技成果转化资金资助项目(2010GB2E000351)

作者简介: 黄翔鹤(1962—), 男, 教授, 研究方向为水域生态学。E-mail: hxh166@126.com

作为微藻生态调控防病的优良藻种<sup>[19-20]</sup>。关于波吉卵囊藻对重金属离子的耐受力及吸附效果研究,在国内外尚未有报道。本文通过波吉卵囊藻对  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  的耐受力及富集效果的研究,为对虾养殖环境水质生物控制技术的研究提供资料参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验用微藻和海水

波吉卵囊藻 (*Oocystis borei*) 由广东海洋大学海洋生物研究所藻类研究室提供;实验用海水取自湛江市东风码头海区,经沉淀砂滤,静置备用。

### 1.2 微藻培养方法

在接种前将已沉淀的海水用 100 目的筛绢网过滤,海水密度为  $1.018 \pm 0.001$ , pH 为 8.00 ~ 8.20,再用加热煮沸的方法将海水消毒,冷却待用。实验所用培养液采用湛水 107-13 培养液配方<sup>[21]</sup>,按藻液:培养液 = 1:1 的比例加入 250 mL 锥形瓶中,培养液体积为 100 mL。将锥形瓶置于 FPG3 型三温区光照培养箱内,光照强度为 2 000 lx (12 h 光照:12 h 黑暗),温度为  $25 \pm 2$  °C 培养。培养过程中每天定时充分摇动培养瓶 4 次。

### 1.3 单因子生长实验

在预实验的基础上,按含量等对数间距设置 5 个实验组,1 个对照组。第 1~5 组中,  $\text{Cu}^{2+}$  实验含量分别为 10.000、1.000、0.100、0.010、0.001 mg/L;  $\text{Zn}^{2+}$  实验含量分别为 100.000、10.000、1.000、0.100、0.010 mg/L;第 6 组为空白对照组(以实验用培养液接种微藻,但不加重金属离子),每组设 3 个平行,培养时间为 96 h。接种后每 24 h 取样 1 次,用 722-S 型分光光度计在 660 nm 处测定藻液的光密度值(OD)<sup>[22-23]</sup>。

### 1.4 正交实验

设计  $\text{Cu}^{2+}$  含量为 1.000、0.300、0.001 mg/L,  $\text{Zn}^{2+}$  含量为 0.100、10.000、50.000 mg/L;2 因素 3 水平共 9 组的正交试验<sup>[24-25]</sup>。

### 1.5 半抑制含量 ( $\text{EC}_{50}$ ) 的计算

所得试验数据可由下式计算藻细胞生长曲线的面积:

$$A = \frac{t_1(N_1 - N_0)}{2} + \frac{(t_2 - t_1)(N_1 + N_2 - 2N_0)}{2} + \dots + \frac{(t_n - t_{n-1})(N_{n-1} + N_n - 2N_0)}{2} \quad (1)$$

式中: $A$  为藻细胞生长曲线下的面积; $t_1$  为试验开始后第 1 次进行藻细胞定量的时间(h); $t_n$  为试验开始后第  $n$  次进行藻细胞定量的时间(h); $N_0$  为藻细胞的初始含量(ind/L); $N_1$  为在时间  $t_1$  时的藻细胞含量(ind/L); $N_n$  为在时间  $t_n$  时的藻细胞含量(ind/L)。然后采用下式计算藻细胞生长抑制百分率( $I_A$ ):

$$I_A = 100(Ac - At) / Ac \quad (2)$$

式中: $Ac$  为对照组生长曲线下的面积; $At$  为不同试验组生长曲线下的面积。求出各含量下对藻细胞的抑制百分率之后,利用概率单位法求出概率单位为 5 时的含量,即为该种金属离子对波吉卵囊藻的半抑制含量( $\text{EC}_{50}$ )<sup>[24]</sup>。

### 1.6 吸附实验

将指数生长期的藻液稀释至藻含量分别为  $0.527 \times 10^8$ 、 $1.109 \times 10^8$ 、 $1.709 \times 10^8$ 、 $2.291 \times 10^8$ 、 $2.891 \times 10^8$ 、 $3.491 \times 10^8$  ind/L,体积为 100 mL,分别离心,将离心后的藻分别放入 250 mL 三角锥瓶中,同时加入重金属离子,将培养液稀释至 100 mL,各组盐度保持一致;其中,  $\text{Cu}^{2+}$  吸附试验,  $\text{Cu}^{2+}$  含量为 0.800 mg/L;  $\text{Zn}^{2+}$  吸附试验,  $\text{Zn}^{2+}$  含量为 1.500 mg/L。将三角锥瓶置入 FPG3 型三温区光照培养箱内恒温培养。在实验培养 6 h (吸附已达平衡)后,在恒温光照培养摇床上振荡 20 min (120 次/min)后,3 000 r/min 离心收集上清液,用原子吸收分光光度法(Z-2500 型日立原子吸收分光光度计)测定上清液中的重金属离子含量。

藻对  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  吸附率的计算方法<sup>[26]</sup>:

$$R = (C_0 - C) / C_0 \quad (3)$$

式中: $R$  为吸附率; $C_0$  为重金属离子初始含量(mg/L); $C$  为实验结束时上清液中重金属离子含量(mg/L)。

藻对  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  的吸附量的计算方法<sup>[26]</sup>:

$$Q = (C_0 - C) V / m \quad (4)$$

式中: $Q$  为吸附量; $C_0$  为重金属离子初始含量(mg/L); $C$  为实验结束时上清液中重金属离子含量(mg/L); $V$  表示溶液的体积(L); $m$  为相应于一定光密度、一定体积藻液的藻细胞鲜重(g)。

## 2 结果

### 2.1 波吉卵囊藻对 Cu<sup>2+</sup> 和 Zn<sup>2+</sup> 耐受力

#### 2.1.1 Cu<sup>2+</sup> 对波吉卵囊藻生长的影响

如图1、2所示:当Cu<sup>2+</sup>含量为0.001 mg/L时,与对照组相比,藻的生长速度有明显提高,抑制率为负,该含量下对波吉卵囊藻具有一定的促进作用;当Cu<sup>2+</sup>含量为0.010~0.100 mg/L时,对藻生长抑制相对较小;当Cu<sup>2+</sup>含量达到1.000 mg/L时,试验初期藻细胞的生长就很缓慢,在试验48 h后,生长就逐渐下降,96 h时的抑制率为84.899%,对藻的生长抑制显著;Cu<sup>2+</sup>含量为10.000 mg/L时,试验48~72 h内,藻的生长趋势直线下降,96 h时抑制率高达102.181%,已完全抑制其生长。

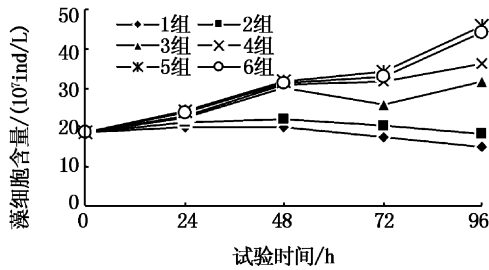


图1 Cu<sup>2+</sup>对波吉卵囊藻生长的影响  
Fig.1 Effect of Cu<sup>2+</sup> on the growth of *Oocystis boregi*

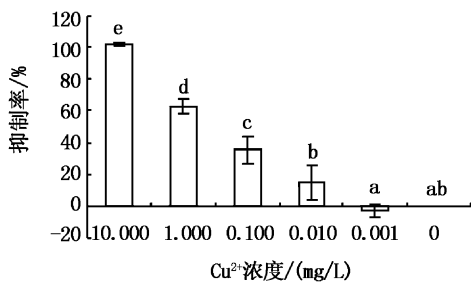


图2 Cu<sup>2+</sup>对波吉卵囊藻生长的抑制率  
Fig.2 Growth inhibition ratio of Cu<sup>2+</sup> on *Oocystis boregi*

组间字母不同表示差异显著,字母相同表示差异不显著。

经单因素方差分析: $F = 93.732 > F_{0.01}(5, 6) = 8.746$ , Cu<sup>2+</sup>对波吉卵囊藻生长的影响极显著;由多重比较发现各实验组之间存在显著差异;对其含量对数及相应含量下抑制率的概率单位进行一元线性回归,其回归方程: $y = 0.803x + 4.816$  (相关系数  $r^2 = 0.972$ ,  $y$  为抑制率的概率单位,  $x$

为含量对数),当  $y = 5$  时, Cu<sup>2+</sup>对波吉卵囊藻的96 h-EC<sub>50</sub>为0.229 mg/L。

#### 2.1.2 Zn<sup>2+</sup>对波吉卵囊藻生长的影响

图3、4显示:当Zn<sup>2+</sup>含量为0.010 mg/L时,与对照组相比,藻细胞的生长受到了一定的促进;当Zn<sup>2+</sup>含量为0.100 mg/L时, Zn<sup>2+</sup>对藻的生长呈现轻度抑制;当Zn<sup>2+</sup>含量为10.000 mg/L时,抑制率为41.779%;当Zn<sup>2+</sup>含量为100.000 mg/L时,在试验开始的24 h内,部分藻体死亡,生长速度显著下降。

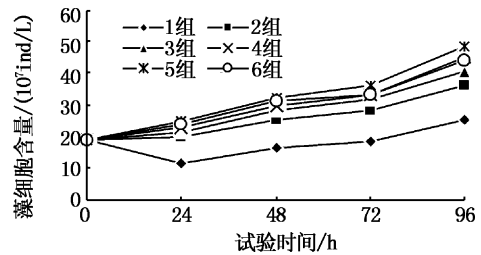


图3 Zn<sup>2+</sup>对波吉卵囊藻生长的影响  
Fig.3 Effect of Zn<sup>2+</sup> on the growth of *Oocystis boregi*

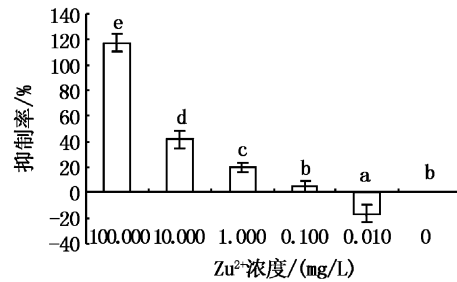


图4 Zn<sup>2+</sup>对波吉卵囊藻生长的抑制率  
Fig.4 Growth inhibition ratio of Zn<sup>2+</sup> on *Oocystis boregi*

组间字母不同表示差异显著,字母相同表示差异不显著。

经单因素方差分析: $F = 159.941 > F_{0.01}(5, 6) = 8.746$ , Zn<sup>2+</sup>对波吉卵囊藻生长的影响极显著;由多重比较发现各实验组之间存在显著差异;对其含量对数及相应含量下抑制率的概率单位进行一元线性回归,其回归方程: $y = 0.734x - 7.764$  (相关系数  $r^2 = 0.986$ ,  $y$  为抑制率的概率单位,  $x$  为含量对数),当  $y = 5$  时, Zn<sup>2+</sup>对波吉卵囊藻的96 h-EC<sub>50</sub>为17.390 mg/L。

#### 2.1.3 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>对波吉卵囊藻叶绿素a含量的影响

图5显示,当Cu<sup>2+</sup>的含量为0.001 mg/L可以

促进藻体叶绿素 a 的合成;当  $\text{Cu}^{2+}$  含量为 0.010 mg/L 时,相对于对照组,藻体叶绿素 a 的含量略有减少;当  $\text{Cu}^{2+}$  含量为 0.100 mg/L 时,藻叶绿素 a 含量下降了 49.372%。波吉卵囊藻叶绿素 a 的含量随  $\text{Cu}^{2+}$  含量升高而下降。利用单因素方差分析:  $F = 151.596 > F_{0.01}(5, 6) = 8.746$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  对叶绿素 a 含量的影响极显著;多重比较显示,1 组与 2 组,4 组与 6 组间没有显著差异,其它各组之间差异显著。

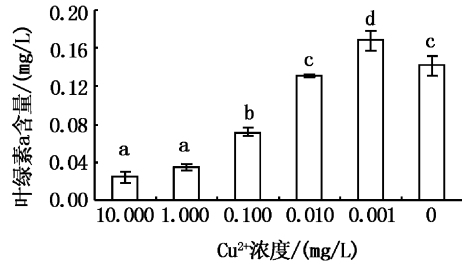


图 5  $\text{Cu}^{2+}$  对波吉卵囊藻叶绿素 a 含量的影响

Fig. 5 Effect of the  $\text{Cu}^{2+}$  concentration on chlorophyll-a content of *Oocystis borgei*

组间字母不同表示差异显著,字母相同表示差异不显著。

图 6 显示,当  $\text{Zn}^{2+}$  含量为 0.010 ~ 1.000 mg/L 时,与对照组相比藻体叶绿素 a 的含量有所增加;当  $\text{Zn}^{2+}$  的含量为 100.000 mg/L 时,藻细胞叶绿素 a 含量只有对照组的 1/7。波吉卵囊藻叶绿素 a 含量随  $\text{Zn}^{2+}$  的含量升高而下降。经单因素方差分析:  $F = 134.784 > F_{0.01}(5, 6) = 8.746$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  对叶绿素 a 含量的影响极显著;多重比较显示,3 组与 6 组之间差异不显著,其它各实验组之间差异显著。

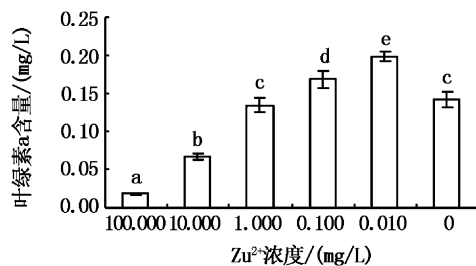


图 6  $\text{Zn}^{2+}$  对波吉卵囊藻叶绿素 a 含量的影响

Fig. 6 Effect of the  $\text{Zn}^{2+}$  concentration on chlorophyll-a content of *Oocystis borgei*

组间字母不同表示差异显著,字母相同表示差异不显著。

#### 2.1.4 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 正交实验结果

由表 1 可知,在实验期间各组均没有致藻细

胞全部死亡的现象,致毒效应最高组合为实验组 1,其抑制率达 103.881%,藻体生长停滞,但没有出现大量死亡现象;实验组 9 对波吉卵囊藻的生长具促进作用。通过直观分析的极差  $R$  值比较,抑制波吉卵囊藻生长的主次顺序是  $\text{Cu}^{2+}$  ( $R = 70.000\%$ )、 $\text{Zn}^{2+}$  ( $R = 37.960\%$ ),  $\text{Cu}^{2+}$  对藻体生长的影响大于  $\text{Zn}^{2+}$ 。

表 1 正交实验结果与直观分析

Tab. 1 The result of orthogonal experiment and direct-viewing analysis

实验号	因素		抑制率/%
	$\text{Cu}^{2+}$ / (mg/L)	$\text{Zn}^{2+}$ / (mg/L)	
1	1 (1.000 mg/L)	1 (50.000 mg/L)	103.881
2	1	2 (10.000 mg/L)	82.836
3	1	3 (0.100 mg/L)	78.806
4	2 (0.300 mg/L)	1	90.149
5	2	2	74.179
6	2	3	68.060
7	3 (0.001 mg/L)	1	53.881
8	3	2	14.478
9	3	3	-12.836
$K_1$	88.508%	82.637%	
$K_2$	77.463%	57.164%	
$K_3$	18.508%	44.677%	
$R$	70.000%	37.960%	

注:  $K_1$ 、 $K_2$ 、 $K_3$  分别为水平 1,2,3 抑制率的均值。

## 2.2 波吉卵囊藻对 $\text{Cu}^{2+}$ 和 $\text{Zn}^{2+}$ 吸附效果

### 2.2.1 波吉卵囊藻对 $\text{Cu}^{2+}$ 的吸附率与吸附量

由图 7 可知,当藻细胞含量为  $0.527 \times 10^8 \sim 3.491 \times 10^8$  ind/L 之间时,对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附率随藻含量的增加由 37.184% 上升至 55.042%;当藻细胞含量达到  $2.891 \times 10^8$  ind/L 时,吸附率达 52.521%,即可取得明显的吸附效果。单因子方差分析,  $F = 24.887 > F_{0.01}(5, 6) = 8.746$ ,藻细胞对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附率差异显著,多重比较显示,试验组 3、4、5 和 6 的吸附率显著高于试验组 1 和 2。

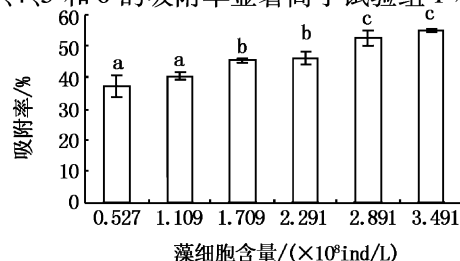


图 7 波吉卵囊藻对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附率

Fig. 7 The adsorption rate of  $\text{Cu}^{2+}$  on *Oocystis borgei*

组间字母不同表示差异显著,字母相同表示差异不显著。

由图 8 可知,藻细胞含量为  $0.527 \times 10^8 \sim 3.491 \times 10^8$  ind/L 时,对  $\text{Cu}^{2+}$  吸附量由 7.688 mg/g ( $4.230 \times 10^{-9}$  mg/ind) 逐渐下降至 2.294 mg/g ( $1.261 \times 10^{-9}$  mg/ind);藻细胞含量为  $0.527 \times 10^8 \sim 1.709 \times 10^8$  ind/L 时,对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附量下降明显;藻细胞含量为  $2.891 \times 10^8$  ind/L 时,吸附量为 2.721 mg/g ( $1.603 \times 10^{-9}$  mg/ind)。单因子方差分析,  $F = 160.531 > F_{0.01}(5,6) = 8.746$ ,藻细胞对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附量差异显著。多重比较显示,试验 3 组的吸附量显著低于 1 组和 2 组。

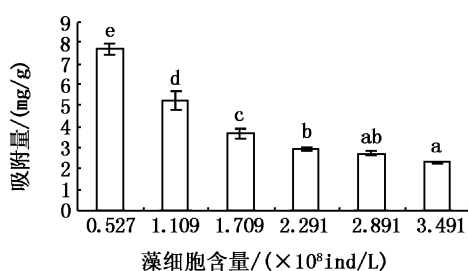


图 8 波吉卵囊藻对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附量

Fig. 8 The adsorption amounts of  $\text{Cu}^{2+}$  on *Oocystis borgei*

组间字母不同表示差异显著,字母相同表示差异不显著。

### 2.2.2 波吉卵囊藻对 $\text{Zn}^{2+}$ 的吸附率与吸附量

由图 9 可知,在藻细胞含量为  $0.527 \times 10^8 \sim 3.491 \times 10^8$  ind/L 时,对  $\text{Zn}^{2+}$  的吸附率随藻细胞含量的增加由 62.057% 上升至 88.337%。当藻细胞含量增加至  $1.109 \times 10^8$  ind/L 时,吸附率上升变得缓慢,此时吸附率为 72.385%;波吉卵囊藻含量为  $2.291 \times 10^8$  ind/L 时,对  $\text{Zn}^{2+}$  的吸附率为 81.444%。单因子方差分析  $F = 55.510 > F_{0.01}(5,6) = 8.746$ ,藻细胞对  $\text{Zn}^{2+}$  的吸附率差异显著;多重比较显示,4 组和 5 组之间没有显著差异,其它各组均存在显著差异。

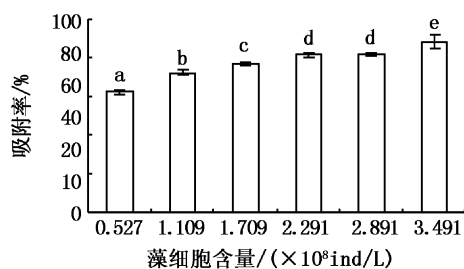


图 9 波吉卵囊藻对  $\text{Zn}^{2+}$  的吸附率

Fig. 9 The adsorption rate of  $\text{Zn}^{2+}$  on *Oocystis borgei*

组间字母不同表示差异显著,字母相同表示差异不显著。  
<http://www.shhydx.com>

波吉卵囊藻对  $\text{Zn}^{2+}$  的吸附量随藻含量升高而下降(图 10),由 22.501 mg/g ( $1.238 \times 10^{-8}$  mg/ind) 下降至 6.835 mg/g ( $3.762 \times 10^{-9}$  mg/ind)。当其含量为  $2.291 \times 10^8$  ind/L 时,吸附量为 9.469 mg/g ( $5.208 \times 10^{-9}$  mg/ind)。单因子方差分析,  $F = 33.002 > F_{0.01}(5,6) = 8.746$ ,藻细胞对  $\text{Zn}^{2+}$  的吸附量差异显著;多重比较显示,实验 1 组、2 组和 3 组之间差异显著。

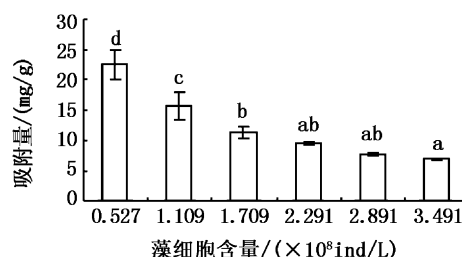


图 10 波吉卵囊藻对  $\text{Zn}^{2+}$  的吸附量

Fig. 10 The adsorption amounts of  $\text{Zn}^{2+}$  on *Oocystis borgei*

组间字母不同表示差异显著,字母相同表示差异不显著。

## 3 讨论

### 3.1 $\text{Cu}^{2+}$ 和 $\text{Zn}^{2+}$ 对波吉卵囊藻的作用特点

$\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  在生物体内起着双重作用,既为生物代谢必须的微量营养元素,当超过了有益的含量,又是高毒的重金属;它们属于过渡金属元素,在安全含量内这些金属可作为酶的辅助因子促进藻类的光合作用和生长,低含量的  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对藻类的生长具有促进作用,在较高含量下,  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  会产生毒性作用,抑制微藻的生长,降低叶绿素含量及光合作用速率<sup>[5,27]</sup>;本试验结果表明,  $\text{Cu}^{2+}$  为  $0.01 \times 10^{-1}$  mg/L 和  $\text{Zn}^{2+}$  为 0.01 mg/L 时对波吉卵囊藻生长和叶绿素 a 含量都有一定程度的促进作用,超过此含量表现为抑制作用,因此,对虾养殖环境中低含量的  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  有利于波吉卵囊藻的生长和种群稳定。

### 3.2 $\text{Cu}^{2+}$ 和 $\text{Zn}^{2+}$ 对波吉卵囊藻的毒性

当  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  的含量分别为 0.32 mg/L 和 3.27 mg/L 时,牟氏角毛藻 (*Chaetoceros muelleri*) 的叶绿素 a 的含量均开始降低,生长也开始减慢<sup>[28]</sup>;  $\text{Cu}^{2+}$  对亚心型大扁藻 (*Platymonas subcordiformis*) 的 72 h- $\text{EC}_{50}$  为 0.211 mmol/L,  $\text{Zn}^{2+}$  对该藻的 72 h- $\text{EC}_{50}$  为 0.754 mmol/L;  $\text{Cu}^{2+}$  对三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricorutum*) 的 96

$\text{h-EC}_{50}$  是  $0.017 \text{ mg/L}$ , 而  $\text{Zn}^{2+}$  的  $96 \text{ h-EC}_{50}$  是  $0.363 \text{ mg/L}$ ;  $\text{Cu}^{2+}$  对牟氏角毛藻的  $\text{EC}_{50}$  是  $(0.055 \pm 0.012) \text{ mg/L}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  的  $\text{EC}_{50}$  是  $(0.229 \pm 0.034) \text{ mg/L}$ <sup>[5,13-14]</sup>;  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*) 生长的  $96 \text{ h-EC}_{50}$  分别为  $67.3 \mu\text{g/L}$  和  $473.0 \mu\text{g/L}$ <sup>[12]</sup>; 本研究结果表明, 当  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  的含量分别大于  $0.01 \times 10^{-1} \text{ mg/L}$  和  $0.01 \text{ mg/L}$  时, 对波吉卵囊藻生长和叶绿素合成表现出明显抑制作用,  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对波吉卵囊藻生长的  $96 \text{ h-EC}_{50}$  分别为  $0.23 \text{ mg/L}$  和  $17.39 \text{ mg/L}$ 。波吉卵囊藻对  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  的耐受力大于牟氏角毛, 亚心型大扁藻和三角褐指藻, 表明了波吉卵囊对  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  具相对较大的耐受力, 对对虾养殖环境具有较强的适应性。当对虾养殖环境中  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  的含量分别低于  $0.229 \text{ mg/L}$  和  $17.390 \text{ mg/L}$ , 不会对波吉卵囊藻的生长产生负面影响。

不同金属离子对藻类抑制大小与藻类对金属离子的亲和性有关, 藻类对金属离子的亲和性指藻类对不同金属离子的富集效率和选择性, 这与静电引力或水合离子的半径有关<sup>[29]</sup>。李志勇和郭祀远<sup>[30]</sup>指出, 藻类对金属离子的亲和性是  $\text{Cu}^{2+}$  大于  $\text{Zn}^{2+}$ 。 $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对波吉卵囊藻的  $96 \text{ h-EC}_{50}$  显示, 其毒性表现为  $\text{Cu}^{2+}$  大于  $\text{Zn}^{2+}$ , 这是说明波吉卵囊藻对  $\text{Cu}^{2+}$  的亲和性比  $\text{Zn}^{2+}$  强, 与其他作者研究结果一致。

### 3.3 $\text{Cu}^{2+}$ 和 $\text{Zn}^{2+}$ 对波吉卵囊藻的联合毒性作用

有报道称  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  共存的藻类培养体系中, 金属离子毒性减弱或加强, 分别呈拮抗作用或协同作用<sup>[12,27]</sup>。正交实验中, 当  $\text{Cu}^{2+}$  含量为  $0.01 \times 10^{-1} \text{ mg/L}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  含量为  $0.10 \text{ mg/L}$  混合时, 对波吉卵囊藻的抑制比各自单一重金属在相应含量的抑制率要小, 联合毒性效应表现为拮抗作用; 当  $\text{Cu}^{2+}$  含量为  $10.00 \times 10^{-1} \text{ mg/L}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  含量为  $50.00 \text{ mg/L}$  混合时, 却表现为协同作用。 $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对波吉卵囊藻联合毒性效应因含量的不同而不同, 当含量相对较低时表现为拮抗作用, 当含量相对较高时表现为协同作用。

### 3.4 波吉卵囊藻对 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 的富集效果

藻通过细胞外的结合与沉积和细胞内的吸收与转化来吸附重金属离子<sup>[31]</sup>。藻类细胞膜是具有高度选择性的半透性膜, 在胞内, 重金属诱

导藻细胞产生大量金属硫蛋白把有害的离子形式转变为无害的蛋白结合形式来实现生物吸附, 藻类可以富集许多金属离子, 并与其代谢强度有关<sup>[32]</sup>。已有的研究表明不同藻类对不同重金属离子的吸附性能不同<sup>[33]</sup>; 从藻的自身特点分析可知藻类细胞壁结构及离子种类的不同, 决定了吸附的效率与选择性, 藻类对  $\text{Cu}^{2+}$  吸附的效率大于  $\text{Zn}^{2+}$ <sup>[34]</sup>。藻类对重金属的吸附过程为快速的物理吸附和较慢的化学吸附, 而且吸附是一级反应, 即与金属离子的含量成正比, 但超过一定含量范围(饱和吸附范围), 产生毒性, 吸附率会下降<sup>[35-36]</sup>。

试验结果显示, 波吉卵囊藻含量在  $0.527 \times 10^8 \sim 3.491 \times 10^8 \text{ ind/L}$  之间, 对  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  均具有显著吸附作用, 其吸附率与其生物量成正比。当波吉卵囊藻含量为  $2.891 \times 10^8 \text{ ind/L}$  时, 对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附率为  $52.521\%$ , 藻含量为  $2.291 \times 10^8 \text{ ind/L}$  时, 对  $\text{Zn}^{2+}$  的吸附率为  $81.444\%$ , 可取得良好的吸附效果; 高于此生物量, 其吸附率增加缓慢(图9), 这与含量升高, 单位面积接收光照强度减少, 代谢强度下降有关。吸附量与波吉卵囊藻含量成负相关, 生物量越大, 单位重量藻体吸附量越小,  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对其的毒性就越小, 当波吉卵囊藻含量为  $2.291 \times 10^8 \text{ ind/L}$  时, 其吸附量分别为  $9.469 \text{ mg/g}$  ( $5.208 \times 10^{-9} \text{ mg/ind}$ ) 和  $2.914 \text{ mg/g}$  ( $1.603 \times 10^{-9} \text{ mg/cell}$ ) 对波吉卵囊藻不会产生明显毒性。在养殖环境中, 利用微藻控制对虾养殖环境水质重金属污染, 波吉卵囊藻含量保持在  $2.891 \times 10^8 \text{ ind/L}$ , 对  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  可取得良好的吸附效果, 不会产生因微藻生物量过多带来对水质的负面影响。

### 参考文献:

- [1] 何歆. 广州市渔业水域生态环境综合评价与水产品质量安全研究[D]. 广州: 暨南大学, 2007.
- [2] 王美珍. 杭州湾南岸滩涂贝类养殖环境中污染物的调查[J]. 宁波大学学报: 理工版, 2005, 18(3): 323-328.
- [3] 杜瑞雪, 范仲学, 魏爱丽, 等. 山东沿岸经济贝类体内重金属含量分析[J]. 山东农业科学, 2009(8): 58-63.
- [4] LUDERITZ V, ANDREAS N. The effect of pH on Cu toxicity to blue-green algae [J]. Internationale Revue der gesamttem Hydrobiologie and Hydrographie, 1989(3): 283-291.
- [5] 陈贞奋. 四种重金属离子对牟氏角毛藻生长率和叶绿素含量的影响[J]. 海洋学报, 1985, 7(3): 342-352.
- [6] 戴习林, 臧维玲, 杨鸿山, 等.  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  对罗氏

- 沼虾幼虾的毒性作用[J]. 上海水产大学学报, 2001, 10(4): 298-302.
- [7] 江敏, 臧维玲, 姚庆祯, 等. 四种重金属对罗氏沼虾仔虾的毒性作用[J]. 上海水产大学学报, 2002, 11(3): 203-207.
- [8] 祝立, 林建杰. 福建省中东部海域贝类养殖区部分养殖贝类体内重金属含量分析[J]. 福建畜牧兽医, 2004, 26(5): 4-5.
- [9] 袁洪斌, 邱鹏芳, 刘素意, 等. 龙岩市食品中重金属污染检测与评价[J]. 预防医学情报杂志, 2008, 24(12): 1005-1006.
- [10] 余超, 何洁仪, 李迎月, 等. 广州市 2008 年部分食品重金属污染情况分析[J]. 华南预防医学, 2009, 35(3): 62-65.
- [11] 窦亚卿, 杨筱珍.  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  对日本新糠虾生长、蛋白含量和体内磷酸酶活性的影响[J]. 海洋环境科学, 2009, 28(6): 611-614.
- [12] 阎海, 王杏君. 铜、锌和锰抑制蛋白核小球藻生长的毒性效应[J]. 环境科学, 2001, 22(1): 23-26.
- [13] 邱昌恩. 六种常见重金属对藻类的毒性效应概述[J]. 重庆医科大学学报, 2006, 31(5): 776-778.
- [14] 张首临, 刘星, 李国基, 等. 4 种重金属离子对海洋三角褐指藻生长影响的研究[J]. 海洋与湖沼, 1995, 26(6): 582-585.
- [15] 刘艳, 丁玉龙, 李媛媛, 等. 金属离子分离富集方法的研究[J]. 济南大学学报: 自然科学版, 2004, 18(4): 304-311.
- [16] 李坤, 李琳. 淡水小球藻清除  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  污染能力的研究[J]. 中国微生态学杂志, 2006, 18(3): 194-198.
- [17] 李英敏, 杨海波, 吕福荣, 等. 叉鞭金藻生物吸附  $\text{Cu}^{2+}$  影响因素的研究[J]. 水产科学, 2003, 22(4): 21-23.
- [18] 李坤, 李琳, 侯和胜, 等.  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  对两种单胞藻的毒害作用[J]. 应用与环境生物学报, 2002, 8(4): 395-398.
- [19] 黄翔鸽, 李长玲, 刘楚吾, 等. 波吉卵囊藻培养的生态条件[J]. 湛江海洋大学学报, 2002, 22(3): 8-12.
- [20] 黄翔鸽, 李长玲, 刘楚吾, 等. 波吉卵囊藻对氮和磷营养盐需求的研究[J]. 海洋通报, 2002, 21(3): 32-38.
- [21] 陈明耀. 生物饵料培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 69-75.
- [22] 魏复盛. 水和废水监测分析方法[M]. 北京: 中国环境出版社, 2002: 670-672.
- [23] 王英典, 刘宁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001: 56-57.
- [24] 杨纪珂, 孙长鸣, 汤旦林. 应用生物统计[M]. 北京: 科学出版社, 1983: 303-324.
- [25] 徐继初. 生物统计及实验设计[M]. 北京: 农业出版社, 1992: 176-185.
- [26] KUMAR D, JHA M, KUMAR H D. Heavy metal toxicity in the cyanobacterium *Nostoc tinckia* [J]. Aquatic Botany, 1982, 22(4): 101-105.
- [27] 李昊翔. 螺旋藻对重金属的耐受性和吸附研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- [28] RICHARD P. Influence of copper and zinc on the growth of a freshwater algae, *Scenedesmus quadricauda*; the significance of chemical speciation [J]. Environmental Science and Technology, 1982, 16(8): 443-447.
- [29] WARREN L J. Contamination of sediments by lead, zinc and cadmium; A review [J]. Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical, 1981, 2(6): 401-436.
- [30] 李志勇, 郭祀远. 利用藻类去除与回收工业废水中的金属[J]. 重庆环境科学, 1997, 19(6): 27-32.
- [31] STRATTHN G W, CORKE C T. The effect of Cadmium ion on the growth, photosynthesis and nitrogenase activity of *Anabaena inaequalis* [J]. Chemosphere, 1979, 8(5): 277-281.
- [32] 陈正佳, 李晓凡, 施定基, 等. 集胞藻类金属硫蛋白的纯化、性质和溶液构象的研究[J]. 植物学报, 1999, 41(2): 150-155.
- [33] LASHEEN M R, SHEHATA S A. Effect of Cd, Cu and Cr on the growth of Nile water algae [J]. Water Air, and Soil Pollution, 1990, 50(1/2): 19-30.
- [34] VERWEIJ W, GLAZEWSKI R, DE HAAN H. Speciation of Cu in relation to its bioavailability [J]. Chemical of Speciation and Bioavailability, 1992, 4(2): 43-52.
- [35] 董庆霖, 林碧琴. 铅对羊角月芽藻的毒性及吸收作用的研究[J]. 辽宁大学学报, 1997, 24(8): 94.
- [36] JOSEPH W R, THOMAS E J, BARBARA W. The toxicological response of the algae *Anabaena flos-aquae* (cyanophyceae) to cadmium [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1984, 33(5): 143-151.

## Adsorption and tolerance of $\text{Cu}^{2+}$ and $\text{Zn}^{2+}$ by *Oocystis borgei*

HUANG Xiang-hu<sup>1,2</sup>, WEI Shao-hong<sup>1</sup>, ZHOU Mei-hua<sup>1</sup>, JIANG Dong<sup>2</sup>

(1. School of Environmental Science and Engineering, Donghua University, Shanghai 201620, China; 2. Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, Guangdong, China)

**Abstract:** The effect of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  on the tolerance and adsorption rate of the microalgae *Oocystis borgei* was studied. Results show that  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Cu}^{2+}$  has a significant impact on the growth and the content of chlorophyll a of *O. borgei*. The growth of the algae was inhibited when the concentrations of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  increased. However, low concentration ( $<0.001$  mg/L and  $0.010$  mg/L) of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  improved the growth rate of *O. borgei* and the synthesis of chlorophyll a. The 96h- $\text{EC}_{50}$  of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  are  $0.229$  mg/L and  $17.390$  mg/L, respectively. The combination of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  has the highest inhibition ( $103.881\%$ ) when  $1.000$  mg/L of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $50.000$  mg/L of  $\text{Zn}^{2+}$  are added to the culture medium. The  $\text{Cu}^{2+}$  is more toxic than  $\text{Zn}^{2+}$ . The adsorption rate for  $\text{Zn}^{2+}$  is  $81.444\%$  when the cell abundance is  $2.291 \times 10^8$  ind/L, while that for  $\text{Cu}^{2+}$  is  $52.521\%$  when the cell abundance is  $2.891 \times 10^8$  ind/L. This is equivalent to  $9.469$  mg/g ( $5.208 \times 10^{-9}$  mg/ind) and  $2.914$  mg/g ( $1.603 \times 10^{-9}$  mg/ind). No toxic effects are observed at these assimilation rates.

**Key words:** *Oocystis borgei*;  $\text{Cu}^{2+}$ ;  $\text{Zn}^{2+}$ ; tolerance; adsorption rate