

Hg²⁺与 Cr(VI)对富营养化水体中藻类生长的毒性效应

毕东苏¹, 钱春龙² (1.上海应用技术学院土木建筑与安全工程学院, 上海 200235; 2.江苏省环境科学研究院, 江苏南京 220011)

摘要 [目的] 研究 Hg²⁺与 Cr(VI)对富营养化水体中藻类生长的毒性效应, 为富营养化水体的生物监测以及生物修复提供参考依据。[方法] 分别用不同浓度的 Hg²⁺、Cr(VI)以及两者的混合营养液培养从富营养化水体中分离的藻母液, 观察 Hg²⁺与 Cr(VI)对藻类生长繁殖的毒性效应。[结果] 富营养化水体中的藻类对 Cr(VI)表现相当敏感, 当 Cr(VI)浓度超过 1 mg/L 时即对藻类的生长产生了明显的影响。在 Hg²⁺浓度较低时, 藻类对 Hg²⁺不是十分敏感, 当 Hg²⁺浓度增大至一定程度, 毒性愈来愈强, 而 Cr(VI)毒性效应则相反。当离子浓度小于 10 mg/L 时, Hg²⁺对藻类的毒性低于 Cr(VI), 大于 10 mg/L 时, Hg²⁺毒性超过 Cr(VI)。Hg²⁺+Cr(VI)混合离子对藻类生长的抑制具有协同作用, 但只有当浓度超过 4 mg/L 时才表现出来。[结论] 重金属离子对藻类的毒性不但与藻细胞本身有关, 还与重金属离子的浓度有关。

关键词 藻类; Hg²⁺; Cr(VI); 毒性效应

中图分类号 Q948.11 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)26-08306-03

Toxicity Effect of Hg²⁺ and Cr(VI) on Alga Growth in Eutrophic Water

BI Dong-su et al (College of Civil Construction and Safety Engineering, Shanghai Institute of Application Technology, Shanghai 200235)

Abstract [Objective] The toxicity effect of Hg²⁺ and Cr(VI) on alga growth in eutrophic water was studied to provide reference for bio-monitoring and bioremediation of eutrophic water. [Method] The mother liquids of alga, which was separated from the eutrophic water, were put into the solutions of Hg²⁺ and Cr(VI) with different concentrations and their mixture solution resp. and the toxicity effect of Hg²⁺ and Cr(VI) on the growth and propagation of alga in eutrophic water was observed. [Result] The alga in eutrophic water performed rather sensitive to Cr(VI) and when its concentration was over 1 mg/L, it made obvious effect on alga growth. The alga was not very sensitive to Hg²⁺ when its concentration was lower, but its toxicity was stronger and stronger when its concentration increased to some extent and the toxicity effect of Cr(VI) on alga growth was just on the contrary. When the ion concentration was lower than 10 mg/L, the toxicity of Hg²⁺ on alga was lower than that of Cr(VI). When the concentration was over 10 mg/L, the toxicity of Hg²⁺ exceeded that of Cr(VI). The toxicity of ion mixture solution of Hg²⁺ and Cr(VI) had synergism inhibition on alga, which could be performed only when the concentration was over 4 mg/L. [Conclusion] The toxicity of heavy metal on alga not only related to the alga cell, but also related to the concentration of heavy metal ion.

Key words Alga; Hg²⁺; Cr(VI); Toxicity effect

利用藻类对重金属的耐受性及解毒生物指示物或生物标志物进行水污染生物监测是国际上研究的热点之一, 利用藻类控制与修复水体重金属污染也是一个有待发展的新兴领域^[1]。近年来, 应用模式生物研究重金属耐受性及解毒机理已取得许多重要进展, 特别是关于高等植物的研究有大量报道, 但涉及藻类对重金属的耐受性及解毒分子机理的研究相对较少, 有许多未知领域^[2]。笔者以从富营养化水体中分离出来的具有代表性的藻类为研究对象, 考察 Hg²⁺、Cr(VI)对其生长的毒性效应, 对于富营养化水体环境的生物监测以及生物修复具有一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 试验方案

1.1.1 分离纯种。将富营养化水体接种到有藻类培养基的平板中, 放在适宜的光、温条件下培养。10 余天后, 通过显微镜观察, 在培养基上寻找具有富营养化水体代表性的藻群落, 然后移植到另一平板培养基上培养。如此接种几次后, 移植到装有液体培养基并经过灭菌的三角烧瓶中, 使藻类同步生长。

1.1.2 制备藻母液。将达到同步生长的藻细胞培养物分装于无菌离心管中, 离心, 弃去上清液, 然后用 NaHCO₃ 溶液悬浮沉淀细胞, 再离心, 溶解后制成藻种母液。

1.1.3 接种。从藻母液中移取适当体积的藻液, 转入不同浓度的 Hg²⁺、Cr(VI)以及 Hg²⁺与 Cr(VI)的营养液中。

1.1.4 培养。设置适当的温度、光照条件, 将接种后装有培养液的三角烧瓶放入具有适宜光照条件的培养箱中进行培

养, 并进行妥善的培养管理。

1.1.5 测量。用分光光度计测定藻液吸光度 根据事先的试验, 分光光度计波长定在 380 nm), 为考察藻落的生长过程, 每隔 24 h 取一定体积的藻液测其吸光度。

1.2 培养液配制 取 N/P 为 24/1 的 Bold Basal 培养液为基础培养液 (主要成分见表 1), 加入不同体积的 HgCl₂ (100 mg/L) 溶液、CrO₃ (100 mg/L) 溶液, 以及两者 1:1 的混合溶液, 使各培养液中的重金属离子浓度如表 2 所示。

表 1 Bold Basal 培养基成分组成

| 主要成分 | 组成 | 主要成分 | 组成 |
|------|--|------|--|
| 常量元素 | 硝酸钠 (NaNO ₃) | 铁 | 硫酸亚铁 (FeSO ₄ ·7H ₂ O) |
| | 氯化钙 (CaCl ₂ ·2H ₂ O) | | 硫酸 (H ₂ SO ₄) |
| | 硫酸镁 (MgSO ₄ ·7H ₂ O) | 硼 | 硼酸 (H ₃ BO ₃) |
| | 磷酸氢二钾 (K ₂ HPO ₄) | 微量元素 | 硫酸锌 (ZnSO ₄ ·7H ₂ O) |
| | 磷酸二氢钾 (KH ₂ PO ₄) | | 氯化锰 (MnCl ₂ ·4H ₂ O) |
| | 氯化钠 (NaCl) | | 钼酸铵 [(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O] |
| 乙二醇四 | 乙二胺四乙酸 (EDTA) | | 硫酸铜 (CuSO ₄ ·5H ₂ O) |
| 乙酸 | 氢氧化钾 (KOH) | | 乙酸钴 (C ₄ H ₆ CoO ₄ ·4H ₂ O) |

表 2 各培养液中离子浓度 mg/L

| 处理 | 各培养液中离子浓度 | | 混合培养液 | |
|----|----------------------|------------|------------------|--------|
| | Hg ²⁺ 培养液 | Cr(VI) 培养液 | Hg ²⁺ | Cr(VI) |
| ① | 0 | 0 | 0 | 0 |
| ② | 1 | 1 | 0.5 | 0.5 |
| ③ | 2 | 2 | 1 | 1 |
| ④ | 4 | 4 | 2 | 2 |
| ⑤ | 8 | 8 | 4 | 4 |
| ⑥ | 14 | 14 | 7 | 7 |
| ⑦ | 20 | 20 | 10 | 10 |
| ⑧ | 30 | 30 | 15 | 15 |

2 结果与分析

2.1 Cr(VI)对藻类生长的影响 不同浓度 Cr(VI)下藻类的生长曲线如图 1 所示。从图 1 可以看出, 整个曲线基本呈

作者简介 毕东苏 (1977-), 男, 江苏丰县人, 讲师, 从事环境污染控制研究。

收稿日期 2007-05-10

S 型, 这表明藻类的生长需要大约 4 d 的适应期, 适应基质环境后, 开始以更快的速度生长。与空白相比, 当 $Cr(VI)$ 浓度超过 1 mg/L 时即对藻类的生长产生了明显的影响, 这在适应期表现得尤其突出。总体而言, 随着 $Cr(VI)$ 浓度的升高, 对藻类生长的影响也越来越明显, 当 $Cr(VI)$ 浓度增至 8 mg/L 时, 藻类生长的速度相当迟缓; 当浓度增至 14~20 mg/L 时, 藻类基本停止生长。总体而言, 藻类对 $Cr(VI)$ 表现敏感。

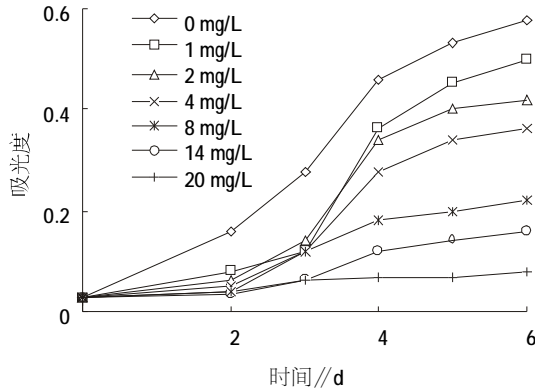


图 1 不同浓度 $Cr(VI)$ 下藻类生长曲线

2.2 Hg^{2+} 对藻类生长的影响 不同浓度 Hg^{2+} 下藻类的生长曲线如图 2 所示。从图 2 可以看出, 藻类也基本需 4 d 时间进行适应。在起始的适应性阶段, 浓度为 1 mg/L 的 Hg^{2+} 对藻类的生长有一定的影响, 但随着时间的推移, 在 4~6 d 的时间段内, Hg^{2+} 的影响有所减弱, 藻类生长情况与空白相差不大。当 Hg^{2+} 浓度为 4 mg/L 时, 藻类生长情况才与空白样显出明显的差距。当 Hg^{2+} 浓度增至 14 mg/L 时, 藻类生长曲线没有表现为 S 型, 估计是最后 1 个数据测试失误所致。当 Hg^{2+} 浓度增至 14~20 mg/L 时, 藻类也基本停止生长。

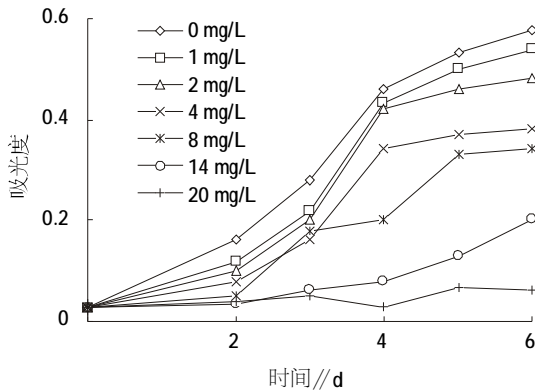


图 2 不同浓度 Hg^{2+} 下藻类生长曲线

2.3 Hg^{2+} 与 $Cr(VI)$ 联合对藻类生长的影响 不同浓度混合离子 [Hg^{2+} 与 $Cr(VI)$] 的浓度比为 1:1 下藻类的生长曲线如图 3 所示。由图 3 可知, 混合离子浓度为 1、2 mg/L 时, 藻类生长情况与空白样差距不大, 比同浓度时单纯 Hg^{2+} 的情况略差, 但比同浓度时 $Cr(VI)$ 的情况略好。当混合离子浓度超过 4 mg/L 时, 藻类生长情况与空白样显出明显的差距。当混合离子浓度超过 14 mg/L 时, 藻类基本停止生长。

2.4 3 种情况下的毒性效应 培养 96 h, 不同浓度、不同离子对藻落的毒性效应曲线如图 4 所示。对 3 种离子的毒性进行排序, 结果如表 3 所示。从图 4 可以看出, 在重金属离子浓度较低时, 藻类对 Hg^{2+} 与混合离子不是十分敏感, 这表明藻类对 Hg^{2+} 与混合离子具有一定的“缓冲作用”, 而藻类

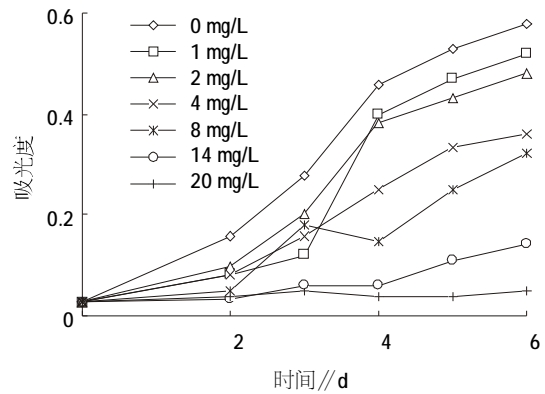


图 3 不同浓度混合离子下藻类生长曲线

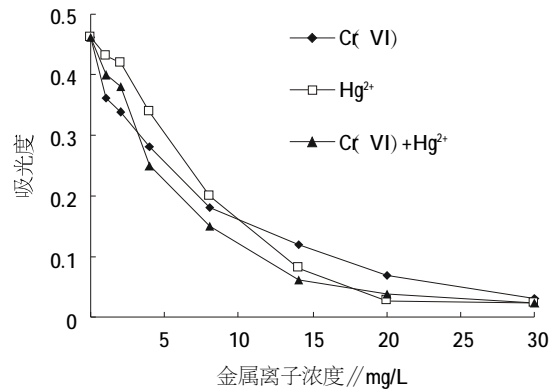


图 4 培养 96 h 时的毒性效应曲线

表 3 3 种离子对藻类的毒性排序

| 离子浓度//mg/L | 毒性排序 |
|------------|--------------------------------------|
| < 4 | $Cr(VI) >$ 混合离子 $>$ Hg^{2+} |
| 4~10 | 混合离子 $>$ $Cr(VI) >$ Hg^{2+} |
| 10~20 | 混合离子 $>$ $Hg^{2+} >$ $Cr(VI)$ |
| 20~30 | 混合离子、 Hg^{2+} 毒性相当, 均 $>$ $Cr(VI)$ |
| $>$ 30 | 3 种情况下, 藻类均已停止生长 |

对 $Cr(VI)$ 则较敏感, 曲线下落很快。因此, 可以推断藻类很可能对 Hg^{2+} 具有外排作用^[9], 即释放有机螯合物来与环境中的 Hg^{2+} 络合, 使金属离子不能进入细胞内部或使离子失去毒性, 从而降低了 Hg^{2+} 对细胞的损害程度, 由于藻类释放的有机螯合物数量有限, 因此这种作用只能作为一种缓冲。而当 Hg^{2+} 浓度增大, 有机螯合物无能为力时, 多余的 Hg^{2+} 直接对藻类形成侵害, 藻类便受到明显抑制, Hg^{2+} 对藻类的毒性随浓度变化是先慢后快, 呈“变加速”之势。对于 $Cr(VI)$ 而言, 当浓度较低时, 毒性十分明显, 但浓度升高后, 毒性增大的趋势却越来越弱, $Cr(VI)$ 对藻类的毒性随浓度变化是先快后慢, 呈“变减速”之势, 这表明藻类对高浓度的 $Cr(VI)$ 具有一定的适应性。结合前人的研究^[9], 笔者认为, 在 $Cr(VI)$ 浓度较低时, $Cr(VI)$ 即可通过某种途径进入藻类细胞或与细胞某部分结合, 造成藻类以某种病态生长, 因而生长较缓慢, 但当 $Cr(VI)$ 浓度超过一定数值后, 多余的 $Cr(VI)$ 并不能直接对藻类细胞形成作用, 因而表现不出毒性, 这在宏观上表现为藻类对高浓度 $Cr(VI)$ 的适应性。重金属联合作用对藻类生长的影响是不确定的, 有的表现为协同作用, 有的表现为拮抗作用, 如 Davi Prasad 用 Cd 、 Pb 和 Ni 分别组合处理纤维藻, 结果发现, $Ni+Cd$ 、 $Cd+Pb$ 混合使用时比单独使用更易刺激藻体生长, 它们的联合效应为拮抗作用^[9]。Rai 等研究了 Cr 与 Ni 、 Pb 间相互作用对灰色念珠藻的生长、光合

作用、硝酸盐的吸收和固氮酶活性等的影响,结果表明:Cr+Ni、Cr+Pb对该藻生长的联合作用均为拮抗作用,但Cr+Ni的拮抗作用仅维持到培养72h,随后又表现为协同作用^[6]。在该研究中,混合离子浓度较低时,可能由于水中或藻类释放的螯合物与Hg²⁺相互作用的缘故,Hg²⁺+Cr(VI)对藻类生长的抑制没有表现出较明显的协同作用,当浓度超过4mg/L时,混合离子毒性加剧,超过了单独离子的毒性,协同作用开始表现出来,在浓度为20~30mg/L时,混合离子毒性与Hg²⁺相当,这是由于混合离子中毒性较弱的Cr(VI)成分增加所造成的。不同重金属离子对藻类的毒性强弱顺序,与藻细胞的大小、细胞壁厚薄、细胞成分以及细胞的抗性机制、藻类的浓度、生长阶段等因素有关^[7],根据该试验的结果,当浓度较低时,Hg²⁺毒性不及Cr(VI),当浓度超过10mg/L后,Hg²⁺毒性开始大于Cr(VI),因此可以得出结论,重金属离子的毒性强弱还与离子本身的浓度密切相关。

3 结论

(1)富营养化水体中的藻类对Cr(VI)表现相当敏感,当Cr(VI)浓度超过1mg/L时,即对藻类的生长产生了明显的影响,而当Hg²⁺浓度为4mg/L时,藻类生长情况才与空白样显示出明显的差距。无论是Hg²⁺还是Cr(VI),当离子浓度增至20mg/L时,藻类已基本停止生长。

(2)重金属离子对藻类的毒性不但与藻细胞的大小、细胞壁厚薄、细胞成分以及细胞的抗性机制、藻类的浓度、生

长阶段等因素有关,还与离子本身的浓度有关。在Hg²⁺浓度较低时,藻类对Hg²⁺不是十分敏感,当Hg²⁺浓度增大至一定程度,毒性愈来愈强,毒性随浓度变化呈“变加速”之势。而Cr(VI)则相反,当浓度较低时毒性明显,但浓度升高后,毒性增大的趋势却越来越弱,毒性随浓度变化呈“变减速”之势。

(3)当离子浓度小于10mg/L时,Hg²⁺毒性低于Cr(VI),浓度大于10mg/L时,Hg²⁺毒性超过Cr(VI)。Hg²⁺+Cr(VI)混合离子对藻类的生长抑制具有协同作用,但只有当浓度超过4mg/L时,才开始表现出来。

参考文献

- [1] 陈海柳,潘纲,闫海,等.六价铬抑制淡水蓝绿藻生长的毒性效应[J].环境科学,2003,24(2):14-17.
- [2] 况琪军,夏宜峥,惠阳.重金属对藻类的致毒效应[J].水生生物学报,1996,20(3):277-283.
- [3] KARTANUT WANCHAMAI,PASCOE DAVID.The toxicity of copper, cadmium and zinc to four different Hydra (Cnidaria:Hydrozoa) [J].Chemosphere,2002,47(10):1059-1064.
- [4] HUTCHINSON T C.Comparative studies of the toxicity of heavy metals to phytoplankton and their synergistic inter actions[J].Water Pollut Res Can,1973(8):68-90.
- [5] DEVI PRASAD P V,DEVI PRASAD P S. Effect of cadmium,lead and nickel on three freshwater green algae[J].Water Air and Soil Pollution,1982(17):263-267.
- [6] RAI H C,DWIGHTT S.Interactions of metals and protons with algae[J].Environ Sci Technol,1988(22):755-760.
- [7] 周文彬,邱保胜.藻类对重金属的耐性与解毒机理[J].湖泊科学,2004,16(3):265-170.