

Cr³⁺、Zn²⁺ 对亚心型大扁藻生长的影响

沈建忠, 陆德祥, 张跃群, 王勇军 (1. 南通农业职业技术学院, 江苏南通 226007; 2. 南通大学, 江苏南通 226001)

摘要 [目的] 观察重金属离子 Cr³⁺、Zn²⁺ 对藻类生长的影响, 为渔业生产及环境保护提供理论依据。[方法] 在试验条件下, 分别用不同浓度 (C=0.01~100.00 mg/L) 的 Cr³⁺、Zn²⁺ 处理绿藻门亚心型大扁藻 (*Platzymonas* sp.)。[结果] 0.10 mg/L Zn²⁺ 溶液促进亚心型大扁藻生长的效果最好, Cr³⁺、Zn²⁺ 浓度过高或过低都不利于亚心型大扁藻的生长。[结论] 充分利用各种海洋及淡水藻类对污水进行净化是一条高效、节能的理想途径。

关键词 Cr³⁺; Zn²⁺; 亚心型大扁藻; 生长; 浓度

中图分类号 Q949.2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)13-05840-03

Effects of Cr³⁺ and Zn²⁺ on the Growth of *Platzymonas* sp.

SHEN Jian-zhong et al (Nantong Vocational College of Agricultural Technology, Nantong, Jiangsu 226007)

Abstract [Objective] The purpose was to observe the effects of heavy metal ions Cr³⁺ and Zn²⁺ on the growth of algae so as to supply theoretical basis for fishery production and environmental protection. [Method] Under experimental condition, the *Platzymonas* sp. of chlorophyta was treated with Cr³⁺ and Zn²⁺ at different concn. (0.01-100.00 mg/L) resp. [Result] The promoting effect of Zn²⁺ solution at 0.10 mg/L on the growth of *Platzymonas* sp. was best, both higher and lower concn. of Cr³⁺ and Zn²⁺ were against its growth. [Conclusion] The clearing of sewage by making full use of various algae growing in sea and freshwater was a high efficient and energy-saving ideal approach.

Key words Cr³⁺; Zn²⁺; *Platzymonas* sp.; Growth; Concentration

单胞藻是地球上最古老的能利用太阳光能和无机物制造有机物的原始真核生物体, 它在金字塔生物链中处于低端, 为其他生物提供营养, 是海洋主要初级生产力, 是海水养殖业的重要饵料, 它直接影响鱼、虾、贝类等水产经济动物的产量和质量, 从而间接影响人类的健康。随着工农业生产的迅速发展, 大量含重金属离子的工业污水不断排入海洋, 世界各海水养殖场都出现大批鱼、虾、贝类等死亡, 产量也不断地下降, 人类各种疾病如癌症等也在增多。单胞藻具有结构简单、分布广泛、适应性强等特点, 因此研究重金属离子对单胞藻的毒害作用和抗污机制, 可以为生物防治重金属污染提供科学依据^[1]。笔者选择了绿藻门亚心型大扁藻 (*Platzymonas* sp.), 进行两种重金属离子 (Cr³⁺、Zn²⁺) 不同浓度下的生长试验, 以期探讨重金属离子对藻类生长的影响, 为渔业生产及环境保护提供理论依据。

1 试验材料

1.1 仪器设备 Nikon E400 生物摄影显微镜、移液枪、六孔电热水浴锅、三角锥形瓶、无菌封口膜、量筒、移液管、超净工作台、生化培养箱、电热蒸汽压力消毒器、电子天平、红细胞计数板, 可调温电热炉、酒精灯、接种针等。

1.2 试剂药品 所用药品为 ZnSO₄·7H₂O、CrCl₃·6H₂O、硝酸钠、尿素、柠檬酸铁、磷酸二氢钾、硅酸钠、氯化铵、VB₁、VB₁₂ 等均为 AR 级试剂; 所用亚心型大扁藻 (*Platzymonas* sp.) 种源来自中国海洋大学, 经过南通农业职业技术学院生物饵料中心预先提纯接种培养, 以确保接种试验时, 藻种群处于指数生长期。取指数生长期的藻种于无菌工作台上接种, 接种量为培养液^[1-3] 的 1/4~1/10, 40 W 日光灯作光源, 光照强度 5 000 lx, 光周期 10/14 (LH/DH), 于温度 21℃ 的空调试验室中培养, 每天上下午各摇瓶 2~3 次, 大约 1 周藻群就处于指数生长期, 可用于进行试验。海水取自江苏省海洋研究所吕四繁殖基地育苗用海水, 盐度为 30‰, 海水经沉淀过滤后存放于聚乙烯塑料桶中备用。

1.3 不同浓度的 Cr³⁺、Zn²⁺ 溶液配制 100 ml 1 000 ng/L 浓度的 Cr³⁺ 溶液配制方法: 于电子分析天平上准确称取 0.512 g CrCl₃·6H₂O (AR) (0.1 × 266.45 ÷ 52.01 = 0.512) 用蒸馏水溶解并定容到 100 ml; 100 ml 1 000 ng/L 浓度的 Zn²⁺ 溶液配制方法: 于电子分析天平上准确称取 0.439 8 g ZnSO₄·7H₂O (AR) (0.1 × 287.54 ÷ 65.38 = 0.439 8) 用蒸馏水溶解并定容到 100 ml; 100 ml 1 ng/L 浓度的 Cr³⁺、Zn²⁺ 溶液配制方法: 分别取 0.1 ml 1 000 ng/L 浓度的 Cr³⁺、Zn²⁺ 溶液用蒸馏水溶解并分别定容到 100 ml; 100 ml 50 ng/L 浓度的 Cr³⁺、Zn²⁺ 溶液配制方法: 分别取 5 ml 1 000 ng/L 浓度的 Cr³⁺、Zn²⁺ 溶液用蒸馏水溶解并分别定容到 100 ml。

2 结果与分析

2.1 用不同浓度的 Cr³⁺、Zn²⁺ 溶液处理亚心型大扁藻 取 150 ml 经过高压灭菌的三角烧瓶 12 只, 用标签纸编号: Cr³⁺ 0、Cr³⁺ 1、Cr³⁺ 2、Cr³⁺ 3、Cr³⁺ 4、Cr³⁺ 5; Zn²⁺ 0、Zn²⁺ 1、Zn²⁺ 2、Zn²⁺ 3、Zn²⁺ 4、Zn²⁺ 5, 按照下表分别用不同浓度的 Cr³⁺、Zn²⁺ 溶液来处理亚心型大扁藻 (表 1)。

表 1 处理亚心型大扁藻的 Cr³⁺、Zn²⁺ 溶液浓度设置

Table 1 The concentration setting of Cr³⁺ and Zn²⁺ solutions for treating *Platzymonas* sp.

处理	0	1	2	3	4	5
Treatment						
培养液 ml	40.0	39.5	35.0	39.0	39.5	35.0
Culture solution						
藻种液 ml	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Algae solution						
离子处理 mg/L	0	1.0	1.0	50.0	1 000.0	1 000.0
Ion treatment						
Cr ³⁺ 、Zn ²⁺ 浓度 ng/L	0	0.01	0.10	1.00	10.00	100.00
Cr³⁺ and Zn²⁺ concentration						

注: 表 1 处理全部定容为 50 ml。

Note: Different treatment solution in table 1 were concentrated to 50 ml.

2.2 藻种的培养与测定 将处于指数生长期的藻种于无菌操作台上接种培养, 接种起始密度 (50 ml 中) 为亚心型大扁藻 155 万/ml, 分别加入 Cr³⁺、Zn²⁺ 溶液, 其浓度范围为 0~100.00

ng/L, 各处理组均用150 ml 三角瓶(灭菌处理过), 藻种液10 ml, 在21℃的空调实验室中培养, 光照强度5 000 lx, 光暗周期10 h/14 h, 每天上下午各摇瓶2~3次振荡培养, 每日随机调换培养瓶位置, 每隔1 d 在上午9:00 测1次生物量, 在显微镜下放大400倍, 用血球计数板计数^[2-4], 测得在不同浓度 Cr^{3+} 、 Zn^{2+} 处理下亚心型大扁藻的生长情况如表2、表3。

表2 不同浓度 CrCl_3 处理下亚心型大扁藻的生长情况

Table 2 The growth conditions of *Hantzynas* sp. treated by different concentrations of CrCl_3 万个/ml

日期Date	0	1	2	3	4	5
05-19	155.0	155.0	155.0	155.0	155.0	155.0
05-20	245.0	275.0	240.0	120.0	110.0	100.0
05-22	290.0	292.5	250.0	375.0	250.0	
05-24	435.0	332.5	442.5	430.0	245.0	
05-26	375.0	470.0	483.0	375.0	170.0	
05-28	550.0	435.0	415.0	440.0	475.0	
05-30	745.0	675.0	690.0	590.0	585.0	
06-01	762.5	750.0	437.5	560.0	450.0	

表3 不同浓度 ZnSO_4 处理下亚心型大扁藻的生长情况

Table 3 The growth conditions of *Hantzynas* sp. treated by different concentrations of ZnSO_4 万个/ml

日期Date	0	1	2	3	4	5
05-19	155	155.0	155	155.0	155.0	155.0
05-20	155	525.0	295	290.0	185.0	75.0
05-22	235	402.5	425	262.5	270.0	175.0
05-24	240	382.5	530	495.0	330.0	180.0
05-26	400	425.0	750	575.0	850.0	200.0
05-28	620	486.2	750	550.0	525.0	350.0
05-30	620	545.0	700	440.0	400.0	190.0
06-01	983	894.0	975	562.5	600.0	225.0

2.3 两种重金属离子对亚心型大扁藻生长的影响

2.3.1 Zn^{2+} 对亚心型大扁藻生长的影响。 根据对亚心型大扁藻计数结果, 以培养日期为横坐标, 亚心型大扁藻密度为纵坐标, 绘制亚心型大扁藻在6个 Zn^{2+} 浓度处理下的生长曲线图(图1)。

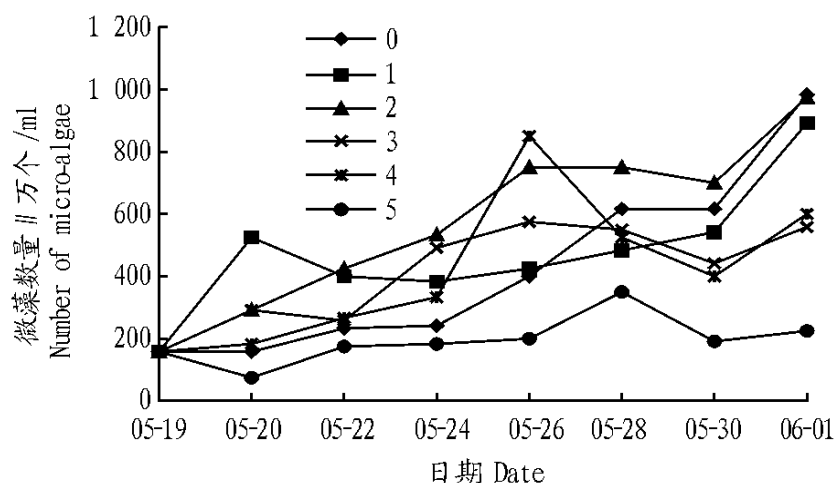


图1 Zn^{2+} 对亚心型大扁藻生长的影响

Fig.1 The effects of Zn^{2+} on the growth conditions of *Hantzynas* sp.

由图1可以看出, 0.10 mg/L Zn^{2+} 溶液($\text{Zn}^{2+}2$) 最能够促进亚心型大扁藻的生长; 0.01 和1.00 mg/L Zn^{2+} 溶液($\text{Zn}^{2+}1$ 和 $\text{Zn}^{2+}3$) 次之; 10.00 mg/L Zn^{2+} 溶液($\text{Zn}^{2+}4$) 在培养的前6 d 和对照组相比较差异不大, 从第7天开始促进亚心型大扁藻的生长, 2~3 d 后转为抑制, 再经过2~3 d 修复又恢复正常生长, 分析原因可能是10.00 mg/L Zn^{2+} 溶液($\text{Zn}^{2+}4$) 对亚心

型大扁藻的生长有抑制作用, 经过5~6 d 的修复适应, 一部分适应环境迅速增殖, 一部分老化死亡; 100.00 mg/L Zn^{2+} 溶液($\text{Zn}^{2+}5$) 抑制亚心型大扁藻的生长, 图1中“5”和“4”相比较, 亚心型大扁藻的适应期延长。

分析图1 能够得出: 如果用于生产性培养亚心型大扁藻, Zn^{2+} 溶液浓度以0.10 mg/L 为最佳; 如果用于生物吸附处理重金属污染和回收重金属方面, 污水中 Zn^{2+} 溶液为浓度10 mg/L 时亚心型大扁藻作为生物吸附剂最佳。

2.3.2 Cr^{3+} 对亚心型大扁藻生长的影响。 根据对亚心型大扁藻计数结果, 以培养日期为横坐标, 亚心型大扁藻密度为纵坐标绘制亚心型大扁藻在6个 Cr^{3+} 浓度处理下的生长曲线图(图2)。

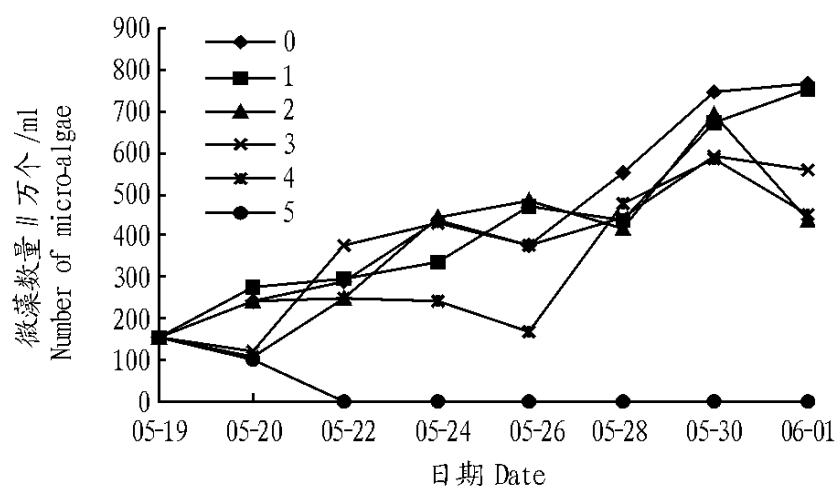


图2 Cr^{3+} 对亚心型大扁藻生长的影响

Fig.2 The effects of Cr^{3+} on the growth conditions of *Hantzynas* sp.

由图2 可以看出, 低浓度的 Cr^{3+} 溶液能够促进亚心型大扁藻的生长, 其生长曲线“0-1-2-3”在培养的早期, 生长情况相互之间差别不大, 到后期“2-3”提前进入生长静止期; 10.00 mg/L Cr^{3+} 溶液($\text{Cr}^{3+}4$) 在培养的前4 d 和“0-1-2-3”4 个处理相比较差异不大, 从第5天开始抑制亚心型大扁藻的生长, 3 d 后转为促进, 再经过3~4 d 生长, 种群转入衰退期; 分析原因可能是10.00 mg/L Cr^{3+} 溶液($\text{Cr}^{3+}4$) 对亚心型大扁藻有毒害作用, 经过3~4 d 的修复适应, 一部分适应环境迅速增殖, 一部分老化死亡; 100.00 mg/L Cr^{3+} 溶液($\text{Cr}^{3+}5$) 对亚心型大扁藻的毒害作用比较大, 藻细胞在2~3 d 内溶解、死亡。

2.3.3 Zn^{2+} 和 Cr^{3+} 对亚心型大扁藻的毒害比较。 比较这2种重金属离子对亚心型大扁藻毒害作用, 可看出 Cr^{3+} 对亚心型大扁藻的毒性明显大于 Zn^{2+} , 高浓度的锌离子(100.00 mg/L) 和铬离子(0.10~100.00 mg/L) 对扁藻毒害作用比较大, 尤其是高浓度的铬离子(100.00 mg/L), 藻细胞在2~3 d 内溶解、死亡。试验结果发现, 随着毒害浓度的加大, 单胞藻的细胞密度就会降低, 溶液中细胞残渣增加, 藻体色素变浅, 细胞外部形态发生改变。在10×40 倍光镜下可以看到暴露于 Cr^{3+} (10.00~100.00 mg/L)、 Zn^{2+} (100.00 mg/L) 的亚心型大扁藻, 有的原生质浓缩成椭圆形, 体外出现2层空壁, 这与文献[1] 报道一致; 有的在一个母壁形成2个休眠孢子, 且这2个孢子多是上下或略斜的排列; 有的直径显著增大, 几乎不游动, 直到胀大至破裂、内含物外溢、鞭毛脱落、解体死亡; 而有的仍正常游动^[9]。低浓度的锌离子(0.01~10.00 mg/L) 和铬离子(0.01 mg/L) 对扁藻细胞生长的抑制作用不明显, 从图1、2 可以发现低浓度的锌离子

处理1-2-3和铬离子处理1,分别与对照组相比较,对亚心型大扁藻生长有促进作用,这也说明铬、锌是亚心型大扁藻生长所必须的微量元素。

3 结论与讨论

3.1 亚心型大扁藻对重金属离子的适应性 根据亚心型大扁藻的特性,在环境不利或生长后期会由动细胞转为不动细胞,因此在计算致死率时,为避免将由正常生理转变成的不动细胞算为死细胞,在接种时务必取处于指数生长期的藻液,以保证对照组藻液在试验过程中无不动细胞出现,其他试验组出现不动细胞完全是由于重金属作用所致。

从图1、图2可见,高浓度的锌离子处理4~5和铬离子处理4,随培养时间的延长,藻种群对毒害耐受力增强,由于脂类和糖类是藻细胞壁和膜的主要成分,它们可提供许多能与重金属离子结合的官能团^[11]。另外,由于死亡藻细胞能提供更多的官能团,从而对重金属有更强的吸附能力,所以随培养时间的延长,一方面由于已经死亡的藻细胞能吸附更多的金属离子,另一方面由于受重金属铬、锌诱导后的活细胞增强了其对铬、锌离子的耐受力,对生长的抑制作用减弱,一部分适应环境迅速增殖,一部分老化死亡,随后由于培养液中微量元素的消耗,藻种群提前进入生长静止期,种群生长周期缩短。

3.2 生物吸附法净化污水的前景 目前,在治理城市污水方面,一种新的处理含重金属废水的方法——生物吸附法引起国内外学者的重视^[6-8],生物吸附法就是寻找对某种金属具有高度选择性的材料作为吸附剂。吸附材料的选择范围从以前单一的活体生物扩大到“半存活”、“半完整”生物体,甚至死细胞。随着生物吸附研究的深入,许多学者发现死细胞或是“半存活”、“半完整”状态的细胞能以相等甚至更高的效率吸附金属,从而解决了由于高浓度金属离子对活生物体毒性作用而使其应用受到限制的问题。铬在自然界中多以 Cr^{3+} 、 Cr^{5+} 形式存在,细胞中常以 Cr^{3+} 形式存在;锌在自然界中多以 Zn^{2+} 形式存在,细胞中常以 Zn^{2+} 形式存在。目前国

(上接第5839页)

达到最高(28.26%),随pH继续升高2株细菌的吸附率降低,最适的pH为中性或偏酸性,这可能是由于低pH溶液中的 H^+ 与 F^- 形成 HF ,妨碍了菌体吸附剂对 F^- 的吸附,高pH溶液中的 OH^- 与 F^- 吸附形成竞争,占据了吸附剂表面吸附位置,也使得吸附率降低,因此确定pH6~7为菌体吸附剂对 F^- 吸附的适宜pH范围。

3 结论

(1)从土壤中分离得到18株细菌,检测其吸附 F^- 能力,选出2株吸附能力较强的菌株,初步鉴定均为假单胞菌(*Pseudomonas*)。

(2)对 F^- 溶液进行吸附动力学试验,结果表明,在前60min内吸附速度很快,吸附量占总吸附量的90%以上。

(3)这2株细菌的菌体吸附剂的最适吸附pH值为6~7,最适温度为28℃。

参考文献

[1]李春青,普红平.含氟废水的吸附处理[J].化工时刊,2006,20(4):64-68.

内外对 Cr^{3+} 、 Zn^{2+} 生物吸附的研究刚刚起步^[9]。笔者研究重金属铬、锌离子对亚心型大扁藻生长的影响:锌离子、铬离子浓度过高或过低都不利于亚心型大扁藻生长,甚至对藻细胞有毒害作用,造成藻细胞“半存活”、“半完整”、细胞死亡甚至溶解。而最适宜浓度可促进亚心型大扁藻生长。因此,该研究结果在生产实际中有两方面的作用:在渔业生产中用于培养亚心型大扁藻,锌离子、铬离子浓度应选择0.1ng/L为宜。在治理城市污水方面,污水中锌离子浓度1000ng/L以下、铬离子浓度100ng/L以下都可以选择亚心型大扁藻作为生物吸附剂,然后再用生物养鱼、化学沉淀、物理过滤等方法处理亚心型大扁藻,变废为宝。因此,充分利用各种海洋及淡水藻类对污水进行净化是一条高效、节能、无重复污染的理想途径,具有极大的开发价值。

参考文献

- [1]况琪军,夏宜.重金属对藻类的致毒效应[J].水生生物学报,1996,20(3):277-279.
- [2]陈明耀.生物饵料培养[M].北京:中国农业出版社,1995.
- [3]孙颖民,石玉.水产生物饵料培养实用技术手册[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [4]李庆彪.生物饵料培养技术[M].北京:中国农业出版社,1988.
- [5]苏秀榕,刘照彬.从超微结构变化研究Cu、Zn、Se4、Cd2对三角褐指藻的毒性效应[J].辽宁师范大学学报:自然科学版,2000,23(1):19.
- [6]HOLLIBAUGH J T. A comparison of the acute to: detrital often heavy metals to phytoplankton for Saurich Irlat [J]. B C Canada. Estuarine Coast Mar Sci, 1980,10(1):93,105.
- [7]潘进芬,林荣根.海洋微藻吸附重金属的机理研究[J].海洋科学,2000,24(2):31-34.
- [8]韩仕群,张振华,严少华.国内外利用藻类技术处理废水、净化水体研究现状[J].农业环境与发展,2000,63(1):13-16.
- [9]张建民,王刚,苗艳丽,等.用含氯化镉培养液培养塔胞藻的生物学效应[J].台湾海峡,2004,23(1):51-55.
- [10]ZHAO Y C. Effects of Cu^{2+} and Cd^{2+} stress on growth and POD activity of tomato seedling [J]. Agricultural Science & Technology, 2008,9(2):106-108,125.
- [11]苏秀榕,迟庆宏,Paul K Chien. Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 对五种单细胞藻类光合色素含量的影响[J].水产科学,2001,20(1):1-4.
- [12]WANG L, WANG L S, SUN X D, et al. Effects of Hg^{2+} on isozymes of peroxidase, catalase and superoxide dismutase in wheat seedlings [J]. Agricultural Science & Technology, 2008,9(5):19-23.
- [13]周茂洪,吴皓,叶胜洪,等. Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 复合对沼泽红假单胞菌若干特性影响[J].湖州师范学院学报,2002,24(3):33-38.
- [2]杨克敌.微量元素与健康[M].北京:科学出版社,2003:230-256.
- [3]ZAKIA AMOR. Fluoride removal from brackish water by electro dialysis [J]. Desalination, 2000,133:215-223.
- [4]HUANG C, HU J J. Precipitate flotation of fluoride containing wastewater from a semiconductor manufacturer [J]. Water Res, 1999,33(16):3403-3412.
- [5]KUY, CHOU H M. The adsorption of fluoride ion from aqueous solution by activated alumina [J]. Water Air Soil Poll, 2002,133:349-360.
- [6]彭继荣,李珍,刘明阳,等.羟基磷灰石的湿法制备及其对 F^- 的吸附特性研究[J].环境科学与技术,2005,4(28):33-35.
- [7]董岁明,李梦耀,董廷芳. D001改性树脂脱氟剂的制备及脱氟研究[J].地球科学与环境学报,2004,26(3):88-91.
- [8]徐飞高,吴敏.微生物降解三氟甲苯的研究[J].江苏环境科技,2003,16(3):4-8.
- [9]王建龙,韩英健,钱易.微生物吸附金属离子的研究进展[J].微生物学通报,2000,27(2):449-452.
- [10]张晓辉.氟污染及防治[J].邯郸职业技术学院学报,2001(1):67-69.
- [11]沈萍.微生物学试验[M].北京:高等教育出版社,2001:21.
- [12]李培.氟离子选择电极测定矿石中氟含量[J].广西化工,2000,29(2):41-42.
- [13]赵振国.吸附作用应用原理[M].北京:化学工业出版社,2005:11.
- [14]夏君,翟建国,马锦民,等.含锌废水的微生物处理技术[J].化工环保,2005,25(3):191-194.
- [15]潘响亮,王建龙,张道勇.硫酸盐还原菌混合菌群胞外聚合物对 Cu^{2+} 的吸附和机理[J].水处理技术,2005,3(9):25-28.