

Cd(II) 对 8 种海洋微藻生长的影响

战玉杰, 王修林, 杨茹君, 张莹莹

(中国海洋大学化学化工学院, 青岛 266003)

摘要: 采用一次培养实验方法, 研究了 Cd(II) 对 8 种常见海洋微藻生长的影响. 结果表明: 高浓度的 Cd(II) 抑制 8 种微藻生长; 而 50 μ g/L、100 μ g/L 的 Cd(II) 分别对大扁藻、中肋骨条藻的生长具有促进作用. 在 Logistic 生长模型的基础上, 结合 Lorentz 方程和 GaussAmp 方程, 引入 Cd(II) 浓度项, 建立新的方程来描述 Cd(II) 存在条件下海洋微藻的生长过程; 并且通过对实验数据的非线性拟合, 验证该方程是合理的. 该方程不仅可以依据海洋微藻的生长情况, 推测相应海区的 Cd(II) 污染物浓度; 而且也可以预测不同浓度 Cd(II) 条件下, 相应海区的海洋微藻的生长情况.

关键词: Cd(II); 海洋微藻; 生长模型

中图分类号: X503.2 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)04-0720-07

Effects of Cd(II) on the Growth of 8 Species of Marine Microalgae

ZHAN Yu-jie, WANG Xiur-lin, YANG Ru-jun, ZHANG Ying-ying

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Effects of Cd(II) on the growth of 8 species of marine microalgae were studied in batch culture experiment. The experimental results show that higher doses of Cd(II) inhibit the growth of *Heterosigma akashiwo* Hada, *Chaetoceros curvisetus*, *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve, *Pheodactylum tricornutum* Bohlin, *Prorocentrum micans*, *Gymnodinium* sp., *Platymonas helgolandica*, *Platymonas subcordiforus*. But, lower doses of Cd(II) (50 μ g/L and 100 μ g/L) promote the growth of *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve and *Platymonas helgolandica*. A growth model, with consideration of effect of Cd(II) on the growth of marine microalgae, was developed by incorporating Logistic growth model with Lorentz equation and GaussAmp equation. Lorentz equation can describe the effect of Cd(II) on the growth rate constant while GaussAmp equation can describe the effect of Cd(II) on the final biomass of microalgae. It was demonstrated that the growth model showed in accordance with the experimental data.

Key words: Cd(II); marine microalgae; growth model

近年来, 随着沿海地区经济的迅速发展和海洋资源的开发利用, 重金属已成为当今海洋的重要污染物. 近岸相当海域的重金属浓度已超过国家一类海水水质标准^[1~3]. 重金属可以被海洋微藻富集并沿食物链进入海洋生态系统^[4], 早在 30 年代, 藻类与重金属关系的研究就已经开始^[5,6]. 但是这些研究都是侧重于在微观领域重金属对海洋微藻毒性机理的研究^[7], 对于重金属浓度变化如何影响海洋微藻生长情况(包括生长速率、最终生物量等参数)未作系统研究. Logistic 生长模型仅仅反映出生物量与时间的关系, 不能表达重金属浓度的变化对最终生物量和生长速率的影响, 因而不能准确描述重金属存在条件下海洋微藻的生长过程. 本文研究目的在于对 Logistic 生长模型进行改进, 引入重金属浓度项来探讨不同浓度的 Cd(II) 对海洋微藻生长的影响, 这对于考虑实际海区重金属的污染情况, 进一步估测实际状态下重金属浓度的变化对实际海区各微藻群落的生长速率和种群密度的影响具有一定价值.

1 材料与方法

1.1 微藻及其培养方法

实验所选用的 8 种海洋微藻包括赤潮微藻: 赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo* Hada)、旋链角毛藻(*Chaetoceros curvisetus* Cleve)、中肋骨条藻(*Skeletonema costatum* (Greville) Cleve)、海洋原甲藻(*Prorocentrum micans* Ehrenberg)、裸甲藻(*Gymnodinium* sp.), 饵料微藻: 三角褐指藻(*Pheodactylum tricornutum* Bohlin)、大扁藻(*Platymonas/Tetraselmis helgolandica*)、亚心型扁藻(*Platymonas/Tetraselmis subcordiforus*). 8 种海洋微藻分别由中国海洋大学海洋生命学院和黄海水产研究所微藻培养实验室提供. 其中赤潮异弯藻在大连湾、胶州湾等曾多次形成赤潮; 旋链角毛藻、中

收稿日期: 2005-04-07; 修订日期: 2005-07-19

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2001CB409703)

作者简介: 战玉杰(1978~), 女, 博士研究生, 主要从事海洋污染生态学, E-mail: qianjinnanmai@yeah.net

肋骨条藻是胶州湾夏季主要的优势藻,在东海、黄海、渤海分布较多,曾多次引发赤潮;海洋原甲藻、裸甲藻分布于渤海、东海、南沙群岛等水域,是形成赤潮的主要种类之一;而三角褐指藻、大扁藻、亚心型扁藻是3种比较常见的饵料微藻^[8~11]。

微藻的培养采用 f/2 培养基,培养条件为温度 $20\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$,明暗周期 12h:12h,光源为白色日光灯,照度为约3 000 lx。在整个培养过程中,各操作步骤均进行灭菌处理(160 $^{\circ}\text{C}$ 烘 2h)。

1.2 Cd(II) 对海洋微藻生长影响实验

取 20mL 藻液加入 300mL f/2 培养基中,使微藻的起始细胞密度 B_0 均在 10^4 cell/mL 以上,并在其中加入不同浓度的 Cd(II) 溶液进行实验(具体浓度见图 1 标示),实验平行样 3 个。实验条件与微藻培养条件相同。实验周期是 144~196h。每隔 24h 取 10mL 藻液,应用 Coulter 计数仪(Beckman Coulter, 美国)测定其细胞密度 B_t ,重复测定 3~6 次,测量平均精密度达到 99.7%。

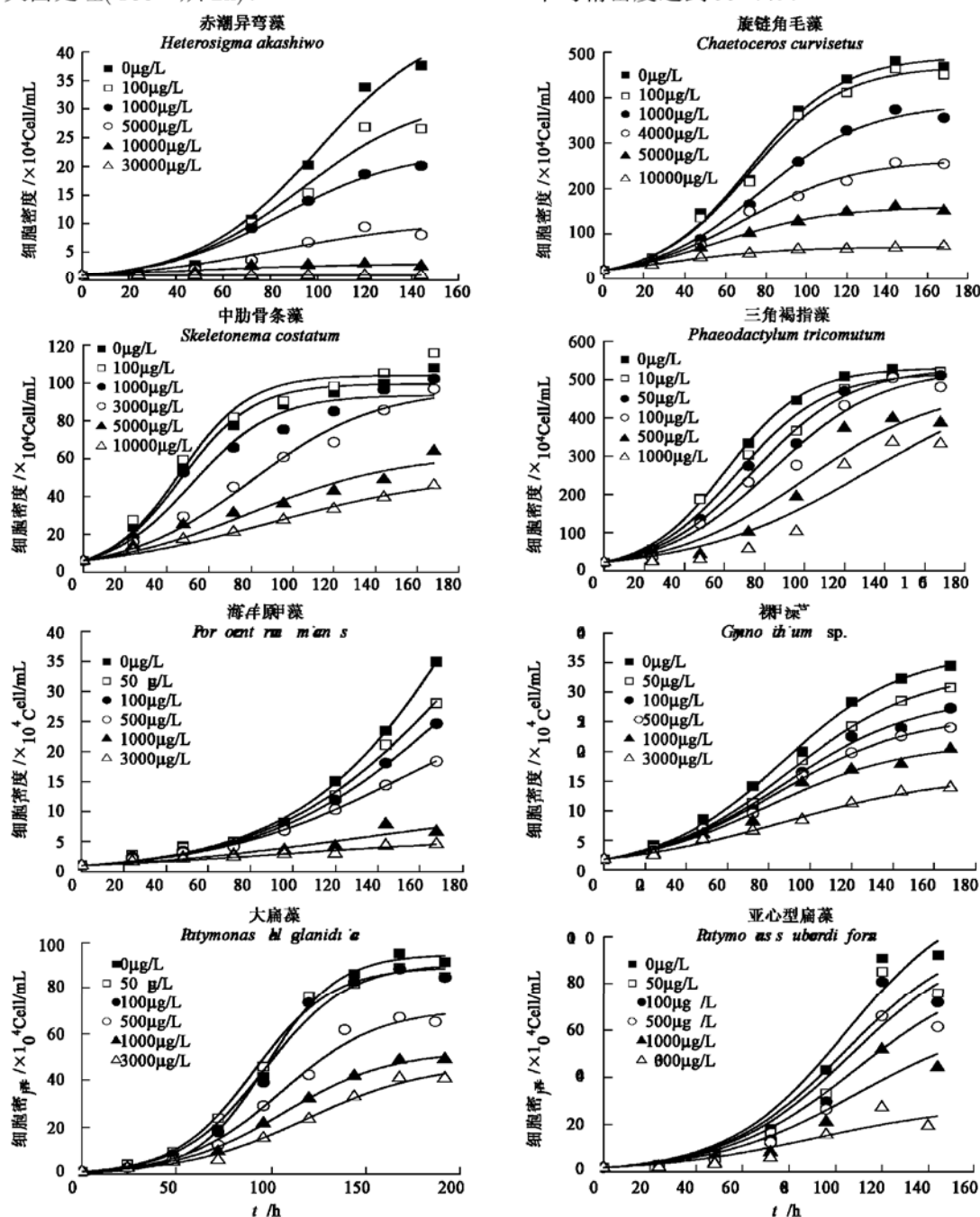


图 1 8 种海洋微藻在不同 Cd(II) 浓度下用 Logistic 方程拟合的生长曲线

Fig. 1 Growth curve of eight microalgae in Cd(II) of different concentrations used by Logistic function

2 结果与讨论

2.1 Cd(II) 对海洋微藻生长影响

图 1 表示在不同 Cd(II) 浓度条件下 8 种藻的生长曲线. 结果表明不同浓度的 Cd(II) 对海洋微藻的生长表现出不同的影响, 高浓度的 Cd(II) 使 8 种藻生长明显受到抑制, 生长周期缩短, 不断增加金属浓度, 藻类生长受到的抑制程度增大, 甚至完全停止生长、死亡. 例如, 10 000 $\mu\text{g/L}$ 以上浓度的 Cd(II) 几乎完全抑制了赤潮异弯藻的生长, 这与 Deviprasad 的实验结果一致^[12]. 这可能是由于重金属离子造成藻细胞线粒体损伤, 影响光合作用的电子传递系统, 阻碍蛋白质合成而抑制藻类生长^[13, 14]. 但是低浓度 Cd(II) 溶液反而促进了某些藻类的生长, 例如, 50 $\mu\text{g/L}$ 的 Cd(II) 对大扁藻的生长具有促进作用; 100 $\mu\text{g/L}$ 的 Cd(II) 对中肋骨条藻生长也具有促进作用. 这与何学佳等和周银环等的研究结果相一致^[15, 16]. 根据 Calabrese 和 Baldwin 的研究, 这种低剂量刺激、高剂量抑制作用被认为是 hormesis 效应, 即生物体受到污染物刺激后, 出现一个先抑制后补偿的过程, 而且随着生物体对污染物的适应补偿行为会逐渐超过抑制行为, 从而导致一个净刺激效应, 也就是 hormesis 效应^[17].

2.2 Cd(II) 条件下海洋微藻生长模型

微藻生长一般经历延缓期、指数生长期、稳定期 3 个过程, 由此表现出“S”形曲线^[18], 目前主要采用 Mitscherlich, Brody, Bertalanffy, Gompertz, Logistic 等生长模型来描述, 其中 Logistic 生长模型适用于描述生长期长并且早期生长缓慢的生长过程, 因此本文选择该生长模型描述海洋微藻的生长状况^[19~21]:

$$B_t = \frac{B_f}{1 + \frac{B_f - B_0}{B_0} e^{-\frac{4v_{\max}t}{B_f}}} \quad (1)$$

式(1)中, B_t 为 t 时刻生物量 (cell/mL), B_0 为初始生物量 (cell/mL), B_f 为终止生物量 (cell/mL), $v_{\max}$ 为最大生长速率 [cell/(mL·h)], t 为时间 (h). 根据方程(1)定义生长速率参数 GR (h): $GR = 4v_{\max}/B_f$ 代入方程(1)可得:

$$B_t = \frac{B_f}{1 + \frac{B_f - B_0}{B_0} e^{-GR \cdot t}} \quad (2)$$

$$B_t = \frac{B_f^0 + A e^{-\frac{(c_{Cd} - c'_{Cd_{\max}})^2}{2\omega_{Cd}^2}}}{1 + \frac{B_f^0 + A e^{-\frac{(c_{Cd} - c'_{Cd_{\max}})^2}{2\omega_{Cd}^2}} - B_0}{B_0} e^{-\left[GR_0 + \frac{2D}{\pi} \frac{\omega_{Cd}}{4(c_{Cd} - c'_{Cd_{\max}})^2 + \omega_{Cd}^2}\right]t}} \quad (5)$$

这样, 根据式(2)应用非线性拟合技术(如 origin 7.0)对其进行拟合. 即可得到 B_f 和 $v_{\max}$, 拟合的相关系数 R^2 为 0.910~0.999, 平均为 0.976, 这可以很好的描述赤潮异弯藻、旋链角毛藻、中肋骨条藻、三角褐指藻、海洋原甲藻、裸甲藻、亚心型扁藻、大扁藻在每一个 Cd(II) 浓度下的生长过程(图 1).

由此可以看出, 方程(2)中的参数生长速率参数 GR 和终止生物量 B_f 都与 Cd(II) 浓度有关. 为了进一步描述 Cd(II) 浓度对海洋微藻的生长速率参数 GR 的影响, 需要寻找新的模型来描述二者之间的关系, 进一步分析 GR 和 Cd(II) 浓度的数据表明, 符合 Lorentz 曲线, 可用 Lorentz 方程式(3)来拟合:

$$GR = GR_0 + \frac{2D}{\pi} \frac{\omega_{Cd}}{4(c_{Cd} - c'_{Cd_{\max}})^2 + \omega_{Cd}^2} \quad (3)$$

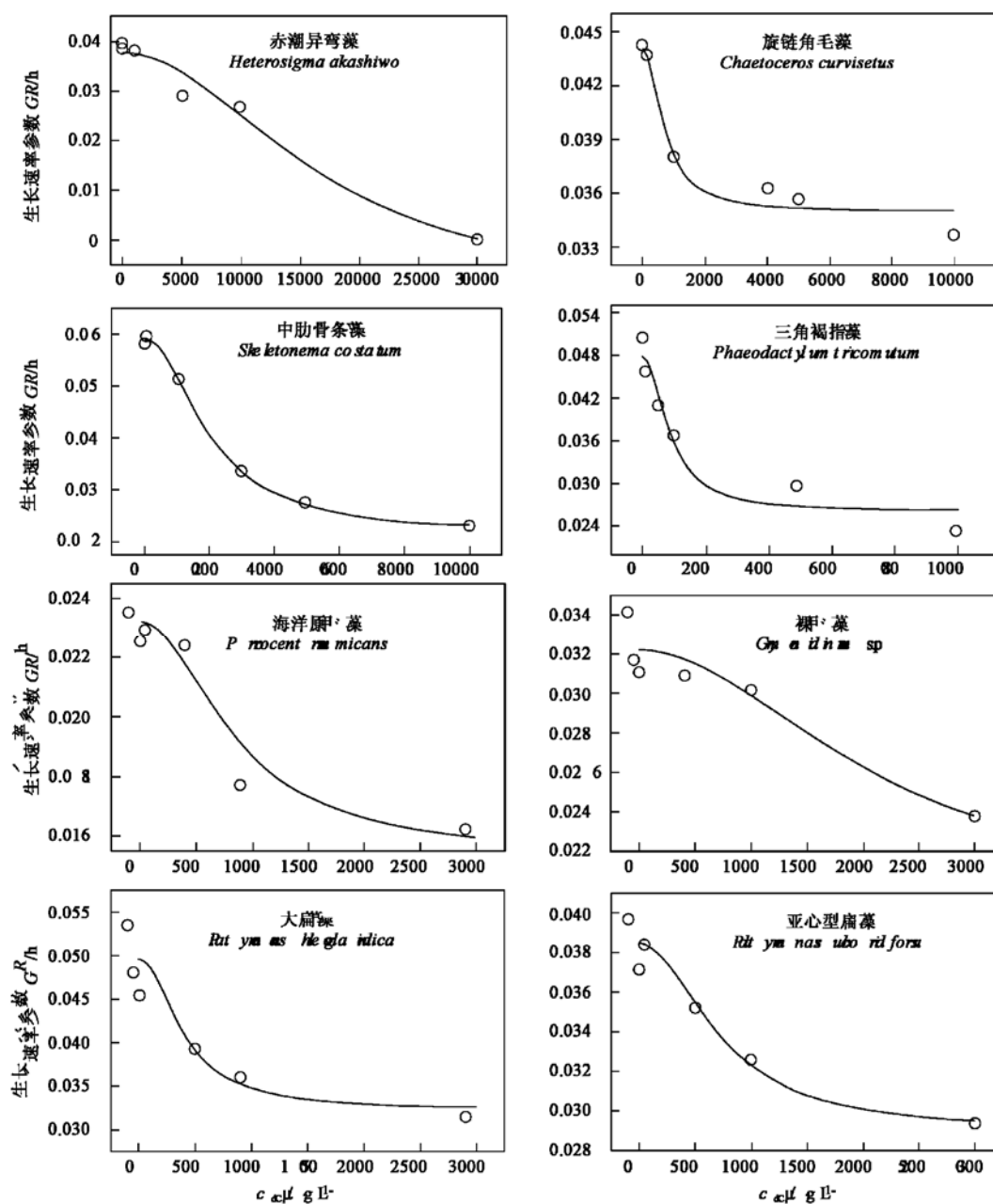
其中 GR_0 为最大生长速率参数 (h). 根据式(3)利用非线性拟合得出, 当 Cd(II) 完全抑制藻类生长时即 GR_0 最小极限值为 0, $c'_{Cd_{\max}}$ 为生长速率参数最大值时的 Cd(II) 浓度 ($\mu\text{g/L}$), ω_{Cd} 为 Cd(II) 浓度范围值 ($\mu\text{g/L}$), D 为 Cd(II) 浓度的改变量对生长速率参数的影响总量因子, 拟合的相关系数 R^2 为 0.907~0.997, 平均为 0.949, 这说明 Lorentz 方程(3)可以较为准确地描述 8 种藻的生长速率参数 GR 与 Cd(II) 浓度的关系(图 2).

同样, 也需要新的模型进一步描述 Cd(II) 浓度对海洋微藻终止生物量 B_f 的影响, 分析 B_f 和 Cd 浓度的数据表明, 符合 GaussAmp 曲线, 可用 GaussAmp 方程(4)来拟合:

$$B_f = B_f^0 + A e^{-\frac{(c_{Cd} - c'_{Cd_{\max}})^2}{2\omega_{Cd}^2}} \quad (4)$$

其中 B_f^0 为微藻最小终止生物量 (cell/mL). 根据式(4)利用非线性拟合得出, 当 Cd(II) 完全抑制藻类生长时即 B_f^0 最小极限值为 B_0 , A 为 Cd(II) 浓度的改变量对微藻生物量的影响总量因子, $c'_{Cd_{\max}}$ 为生物量最大值时的 Cd(II) 浓度 ($\mu\text{g/L}$), ω_{Cd} 为 Cd(II) 浓度范围值 ($\mu\text{g/L}$), 拟合的相关系数 R^2 为 0.836~0.998, 平均为 0.935, 这说明 GaussAmp 方程(4)可以较好的描述 8 种藻的终止生物量 B_f 与 Cd(II) 浓度的关系(图 3).

这样, 将式(2), (3), (4)代入式(1), 得到式(5):

图 2 Cd(II) 存在下, 海洋微藻 GR 与 c_{Cd} 作用曲线Fig. 2 Relationship between GR and c_{Cd} under the Cd(II) to the microalgae

式(5)即为 Cd(II) 影响条件下用于描述海洋微藻生长过程的新方程. 此方程在 Logistic 生长模型基础上引入了 Cd(II) 浓度项, 反映出 Cd(II) 浓度对海洋微藻终止生物量 B_f 和生长速率参数 GR 的影响, 从而可以准确描述 Cd(II) 存在条件下海洋微藻的生长过程.

如果定义:

$$\Delta GR_{Cd} = \frac{2D}{\pi} \frac{\omega_{Cd}}{4(c_{Cd} - c_{Cd,max})^2 + \omega_{Cd}^2} \quad (6)$$

$$\Delta B_f = A e^{-\frac{(c_{Cd} - c_{Cd,max})^2}{2\omega_{Cd}^2}} \quad (7)$$

则式(5)可简化为式(8):

$$B_t = \frac{B_f^0 + \Delta B_f}{1 + \frac{B_f^0 + \Delta B_f - B_0 - (GR_0 + \Delta GR_{Cd})t}{B_0}} \quad (8)$$

将实验设计 Cd(II) 浓度代入式(5), 应用非线性拟合技术(如 origin 7.0)对不同 Cd(II) 浓度下 8 种藻的生长曲线进行拟合, 相关系数 R^2 为 0.897~0.999, 平均为 0.960, 这表明应用此式可以很好地

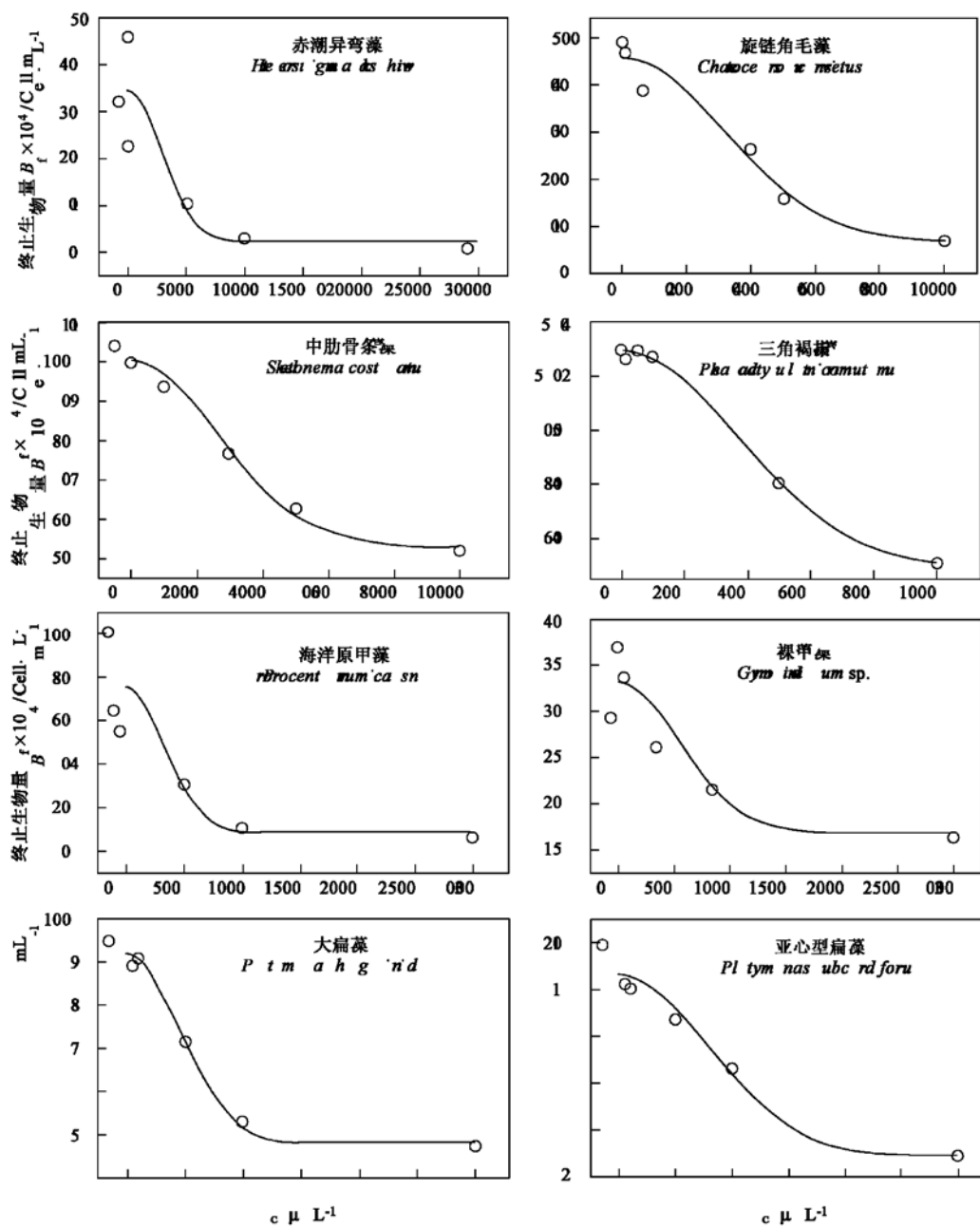


图 3 Cd(II) 存在下, 海洋微藻 B_f 与 c_{Cd} 作用曲线

Fig. 3 Relationship between B_f and c_{Cd} under the Cd(II) to the microalgae

描述不同浓度 Cd(II) 对 8 种藻生长的影响(图 4) .

根据上述分析可以看出, Cd(II) 浓度的变化对海洋微藻生长速率参数的影响, 可用 Lorentz 方程(式 3) 形式来描述, 而对海洋微藻生物量的影响, 则可用 GaussAmp 方程(式 4) 形式来描述. 当用该方程描述某种海洋微藻的生长过程, 它的拟合参数 c_{Cd-max} 与 c'_{Cd-max} 的数值为 0 时, 说明 Cd(II) 抑制该海洋微藻的生长; 当它的拟合参数 c_{Cd-max} 与 c'_{Cd-max} 的数值大于 0 时, 说明低浓度的 Cd(II) 对该海洋微藻的

生长有一定的促进作用.

总之, 应用该方程不仅可以根椐海洋微藻的生长情况, 推测相应海区的 Cd(II) 浓度; 而且也可以预测不同浓度 Cd(II) 条件下, 相应海区的海洋微藻的生长情况. 根据文献报道, 在培养基中添加过量的营养盐可以缓解重金属的毒性也就是说营养盐与重金属离子之间可能存在拮抗作用^[22]. 由于本实验是在 f/2 培养基条件下进行的, 营养盐的浓度远高于实际海区, 所以本文结果可能低估了 Cd(II) 对海洋

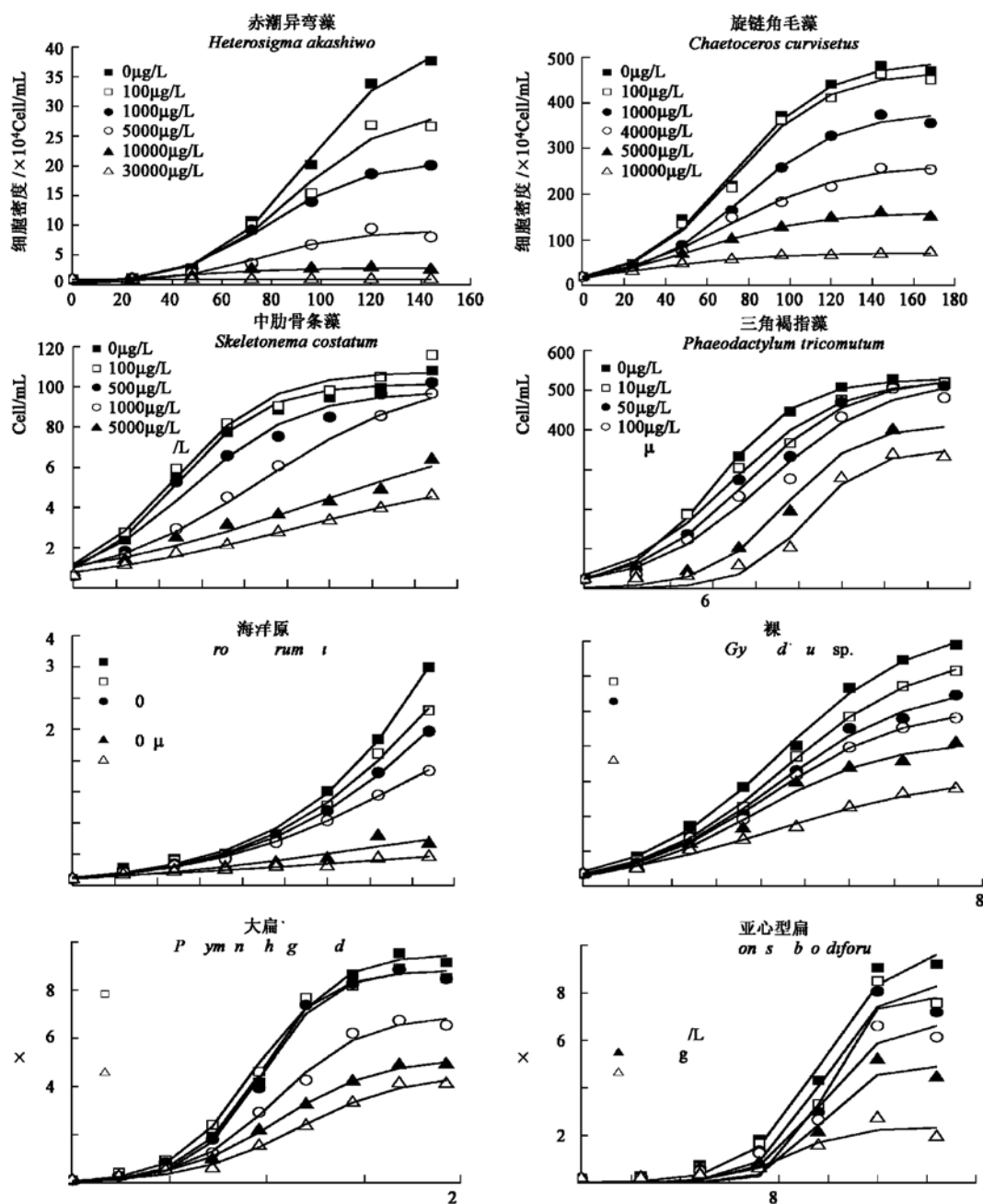


图 4 8 种海洋微藻在不同 Cd(II) 浓度下用式(5)拟合的生长曲线

Fig. 4 Growth curve of eight microalgae in Cd(II) of different concentrations used by function(5)

微藻生长的影响。

3 结论

(1) 高浓度的 Cd(II) 抑制了 8 种藻生长, 10 000 μg/L 以上浓度的 Cd(II) 几乎完全杀死了赤潮异弯藻; 而低浓度 Cd(II) 溶液反而促进了某些藻类的生长, 50 μg/L 和 100 μg/L 的 Cd(II) 分别对大扁藻和中肋骨条藻生长具有促进作用。

(2) 在应用 Logistic 生长模型的基础上引入 Cd(II) 污染物浓度项, 建立新的方程来描述 Cd(II) 存在条件下海洋微藻的生长过程. 实验结果表明该方程是合理的, 其中 Lorentz 方程可以描述 Cd(II) 浓度的变化对海洋微藻生长速率参数的影响, 而 GaussAmp 方程可以描述 Cd(II) 浓度的变化对海洋微藻生物量的影响, 应用该方程不仅可以根据海洋微藻的生长情况, 推测相应海区的 Cd(II) 污染物浓

度;而且也可以预测不同浓度 Cd(II) 条件下,相应海区的海洋微藻的生长情况.

参考文献:

- [1] GB3097-1997, 海水水质标准[S].
- [2] 中国近岸海域环境质量公报(2002 年)[R]. 北京: 国家环境保护总局, 2003.
- [3] 2002 年辽宁省海洋环境质量公报[R]. 沈阳: 辽宁省海洋和渔业厅, 2003.
- [4] Joseph P C. Heavy metal tolerance in chromogenic and nonchromogenic marine bacteria from Arabian Gulf [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 1999, **59**(1): 321 ~ 330.
- [5] 周名江, 颜天. 中国海洋生态毒理学的研究进展[J]. 环境科学研究, 1997, **10**(3): 1~ 6.
- [6] 姜慧彬, 林碧琴. 重金属对藻类的毒性作用研究进展[J]. 辽宁大学学报, 2000, **27**(3): 281~ 287.
- [7] Joseph W R, Tomas E J, Barbara W. The toxicological response of the alga *Anabaena flos-aquae* to cadmium [J]. Arch. Environ. Toxicol., 1984, **3**: 143~ 151.
- [8] 齐雨藻, 邹景忠, 梁松. 中国沿海赤潮[M]. 北京: 科学出版社, 2003. 302~ 307.
- [9] 孙军, 刘东艳, 杨世民, 等. 渤海中部和渤海海峡及邻近海域浮游植物群落结构的初步研究[J]. 海洋与湖沼, 2002, **33**(5): 461~ 471.
- [10] 王俊, 康元德. 渤海浮游植物种群动态的研究[J]. 海洋水产研究, 1998, **19**(1): 51~ 59.
- [11] 刘东艳, 孙军, 唐优才, 等. 胶州湾北部水域浮游植物研究——种类组成和数量变化[J]. 青岛海洋大学学报, 2002, **32**(1): 67~ 72.
- [12] Deviprasad P V, Chowdary Y B K. Effects of Metabolic Inhibitors on the Calcification of a Freshwater Green Alga *Gloeotaenium loitlesbergarianum* Hansgirg. 2. Effects of Some Inhibitors of Protein Synthesis[J]. Annals of Botany, 1981, **47**(4): 461~ 466.
- [13] 阎海. 铜、锌和锰抑制蛋白质小球藻生长的毒性效应[J]. 环境科学, 2001, **22**(1): 23~ 26.
- [14] 杨世勇, 王方, 谢建春. 重金属对植物的毒害及植物的耐性机制[J]. 安徽师范大学学报(自然科学版), 2004, **27**(1): 71~ 74.
- [15] 何学佳, 彭兴跃. 应用流式细胞仪研究 Pb 对海洋微藻生长的影响[J]. 海洋环境科学, 2003, **22**(1): 1~ 5.
- [16] 周银环, 刘东超. 4 种微量元素对绿色巴夫藻生长、叶绿素 a 及大小的影响[J]. 湛江海洋大学学报, 2003, **23**(1): 22~ 28.
- [17] Calabrese E J, Baldwin L A. Evidence that hormesis represents an “overcompensation” response to a disruption in homeostasis [J]. Ecotoxicology and Environment Safely, 1999, **42**(1): 135~ 137.
- [18] 刑黎峰, 孙明高, 王元军. 生物生长的 Richards 模型[J]. 生物数学学报, 1998, **13**(3): 348~ 353.
- [19] 刑黎峰, 刘贤喜, 法永乐. Richards 生长模型描述弹性分析[J]. 山东农业大学学报, 1997, **28**(4): 460~ 464.
- [20] 马知恩. 种群生态学的数学建模与研究[M]. 合肥: 安徽教育出版社, 1996. 11~ 18.
- [21] 张蕾, 王修林, 韩秀荣, 等. 石油烃污染物对海洋浮游植物生长的影响——实验与模型[J]. 青岛海洋大学学报, 2002, **32**(5): 804~ 810.
- [22] Olguin H F, Salibian A, Puig A. Comparative sensitivity of *Scenedesmus acutus* and *Chlorella pyrenoidosa* as sentinel organisms for aquatic ecotoxicity assessment: Studies on a highly polluted urban river[J]. Environmental Toxicology, 2000, **15**(1): 14~ 22.