

衣藻对 Cu^{2+} 生物积累过程及其效应的研究

王宝利^{1,2}, 刘丛强¹, 吴沿友¹

1. 中国科学院 地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550002; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100039

摘要:以莱茵衣藻为材料,研究了 Cu^{2+} 的生物积累/吸附过程以及 Cu^{2+} 对衣藻光合作用的影响,并对两者的关系进行了初步讨论。结果表明,衣藻对 Cu^{2+} 的生物吸收/吸附速率在 10 分钟内达平衡;1.0 mg/L 的 Cu^{2+} 对衣藻光合作用的影响较小,5.0、10.0、20.0 mg/L 的 Cu^{2+} 对衣藻光合作用的影响较大,40.0 mg/L 的 Cu^{2+} 可完全抑制衣藻的光合作用。 Cu^{2+} 在衣藻细胞内的生物积累和由此引起的生理功能的变化是同步进行的。

关键词:生物积累;光合速率;莱茵衣藻

中图分类号:X17 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-2802(2003)02-0167-03

光合作用和生物积累是藻类的两个基本生理功能,水体内藻类的生物地球化学作用主要由这两个基本生理功能决定。生物积累是指环境中的化学物质在生物体中的浓缩。它通常是指金属或其它化合物(如 DDT)在生物体中的积累。由于化学物质在这些活体中的吸收和储存都比排出体外快,故而产生积累。藻对金属离子产生积累;或是作为抵御金属离子毒害效应的一种防御机制,或是其细胞壁化学作用的一个方面。藻是水环境的初级生产力,重金属元素对藻类的影响,将涉及整个水生生态系统。目前藻类对水体中重金属元素的生物积累过程^[1,2],及重金属元素对藻类的毒害效应^[3],后者研究较多,但两者之间的关系研究较少。本文以衣藻为材料,在短时间内研究了衣藻对 Cu^{2+} 生物积累/吸附过程,以及 Cu^{2+} 对衣藻光和速率的影响,并讨论了两者的关系。

1 材料与方 法

1.1 实验材料及试剂

莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 购于中国科学院水生生物所。化学试剂均为国产分析纯。

1.2 实验方法

(1) 衣藻的培养:衣藻藻种在无菌条件下接种于装有高温灭菌的 SE 液体培养基的三角瓶中培养,温度 20~25℃,光照 0.018 W/cm²,光照:黑暗 = 12 h:12 h,每天摇动 3~5 次,30 d 为一个周期,继代培养。

(2) Cu^{2+} 溶液的配制及测定:将 CuSO_4 溶于蒸馏水中,配成母液备用;用原子吸收光谱仪测溶液中 Cu^{2+} 的浓度。

(3) 衣藻叶绿素的提取:衣藻叶绿素的提取、测定,叶绿素 α (Chla) 含量的计算参考文献[4]。

(4) 衣藻生物积累/吸附 Cu^{2+} 实验:在指数生长期的藻液中分别加入 0.8、2.4、4.8、7.2、9.6、12 mL Cu^{2+} 母液,使加入后的藻液体积为 120 mL,反应初始 Cu^{2+} 浓度分别为 0.50、1.50、2.99、4.49、5.98 和 6.96 mg/L,反应时摇床培养,每分钟往复 140 次;分别在加入 Cu^{2+} 母液后的不同时间里取样,每次取 5 mL 藻液,4000 g 离心 10 min,测上清液的 Cu^{2+} 浓度。10 min 内衣藻对 Cu^{2+} 的积累/吸附量按公式(1)计算。

$$M_{\text{积累/吸附}} = (\Delta C_{\text{Cu}} \times V_{\text{藻液}}) \div M_{\text{叶绿素}} \quad (1)$$

(5) Cu^{2+} 对衣藻光合速率影响的实验:在指数生长期的藻液中加入 Cu^{2+} 的母液,使加入后的藻液体

收稿日期:2002-12-28 收到,2003-03-24 改回

第一作者简介:王宝利(1976—),男,在读博士生,从事生物地球化学研究。E-mail: wangbaoli1976@hotmail.com.

积为 60 mL, 设置 0、1、5、10、20、40 mg/L 的 Cu^{2+} 浓度, 反应时摇床培养, 每分钟往复 140 次; 分别在加入 Cu^{2+} 母液后的 0、12、24、36、48 h 时, 将实验藻液放入暗处 1 h 后重新光照, 光照同时用 OX-11 型测氧仪(上海爱福斯分析仪器有限公司)测 15 min 内藻液的 O_2 浓度变化, 测 O_2 浓度时藻液电磁匀速搅拌。衣藻定量用血球计数板计数。平均光合速率按公式(2)计算, 相对平均光合速率按公式(3)计算。

$$\nu = \Delta \text{O}_2 \div (15 \times N_{\text{藻}}), \quad (2)$$

其中

$$\nu_{\text{相对}} = \nu_i \div \nu_0, \quad (3)$$

其中 $N_{\text{藻}}$ 为衣藻数量; $i = 0、12、24、36、48$ h, ν_0 为没有加 Cu^{2+} 的藻液的平均光和速率。

2 结果及讨论

2.1 衣藻生物积累/吸附 Cu^{2+} 实验

实验结果表明, 10 min 内反应藻液中的 Cu^{2+} 浓度变化很大, 衣藻对 Cu^{2+} 的生物积累/吸附量与反应藻液初始 Cu^{2+} 量成线性关系(图 1)。10~720 min 内, 反应藻液中的 Cu^{2+} 浓度变化不大(图 2), 且溶液中的 Cu^{2+} 浓度有上升的趋势; 这说明这时衣藻对 Cu^{2+} 的生物吸收已趋于平衡, 在衣藻生物量没有变化的前提下, 12 h 后衣藻开始逐步释放积累的 Cu^{2+} 。

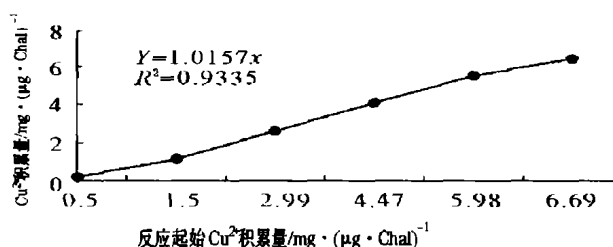


图 1 10 min 内反应起始 Cu^{2+} 含量与 Cu^{2+} 积累/吸附量两者之间的关系曲线

Fig.1 The relation of cupric bioaccumulation/biosorption content and initial copper content in 10 minutes

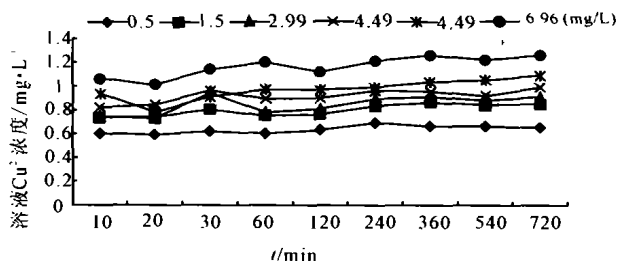


图 2 溶液 Cu^{2+} 浓度随时间变化曲线

Fig.2 Cupric concentrations in solution at different time

藻类对金属的生物吸收过程十分复杂。藻类通过细胞质膜上的蛋白质通道吸收生长所需的营养元素, 但这种吸收并非专一性的。环境中的营养金属元素(Fe, Zn, Mn, Cu, Co, Mo, Ni)和非营养金属元素(Cd, Hg, Ag, Pb, Sn, Cr)由于相似的离子半径和配位结构而竞争蛋白质通道上的金属结合位点, 结合后被细胞吸收。藻类对金属的吸收/吸附一般在短时间内^[1]达到饱和, 这与本实验结果一致。10~120 min 内, 藻液中各个 Cu^{2+} 浓度的变化趋势大致相同, Cu^{2+} 浓度的波动起伏变化, 可能是 Cu^{2+} 与 SE 培养基中的其它金属离子相互作用的结果, 也可能是吸收 Cu^{2+} 的蛋白质通道有两个的原因。

2.2 Cu^{2+} 对衣藻光合速率影响的实验

实验结果(图 3)表明, 在衣藻起始浓度为 5.6×10^{10} /mL 时, 加入 Cu^{2+} 12 h 后, 衣藻的光合作用受到影响。1.0 mg/L 的 Cu^{2+} 对衣藻光合作用的影响较小。5.0、10.0、20.0 mg/L 的 Cu^{2+} 对衣藻光合作用的影响随着时间的推移越来越严重, 40.0 mg/L 的 Cu^{2+} 已经完全抑制了衣藻的光合作用。衣藻的光合作用器对毒性物质的反应很敏感, 是进行环境毒性评估的合适的参量^[5]之一。

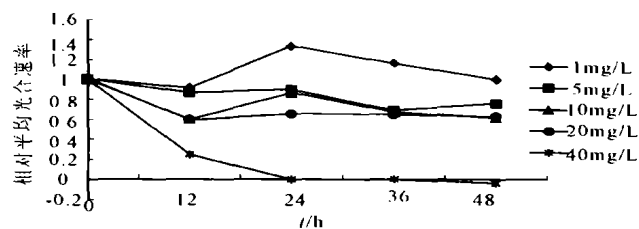


图 3 相对平均光合速率随时间变化曲线

Fig.3 The rate of relative average photosynthesis at different time

2.3 衣藻对 Cu^{2+} 的生物积累及其积累效应

藻类细胞获得的 Cu^{2+} , 可分为以下几部分: 通过电荷相互作用吸附在细胞壁上的 Cu^{2+} (可用 EDTA 洗脱), 通过化学键结合在细胞壁和细胞质膜上的 Cu^{2+} (不可用 EDTA 洗脱), 细胞吸收到内部的 Cu^{2+} (包括生物积累的 Cu^{2+})。进入细胞内部的 Cu^{2+} 在积累的同时, 逐渐同其它金属元素竞争活性蛋白质的金属位点。从本实验结果来看, 12 h 或者更短的时间内, 衣藻在 Cu^{2+} 的作用下, 生理功能已经发生了变化。由此来看, 金属在衣藻细胞内的生物积累和由此引起的生理功能的变化是同步进行的。金属在藻体中积累的过程, 也就是金属在衣藻

细胞内新陈代谢的过程,金属或是在细胞体内的某一细胞器中富集,或是同其它金属离子竞争,取代其位置,从而引起细胞生理功能的变化。

参考文献(Reference):

- [1] Slaveykova V I, Wilkinson K J. Physicochemical Aspects of Lead Bioaccumulation by *Chlorella vulgaris* [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2002, 36:969 – 975.
- [2] Sunda W G, Huntsman S A. Processes regulating cellular metal accumulation and physiological effects: Phytoplankton as model systems [J]. *The Science of The Total Environment*, 1998, 219:165 – 181.
- [3] Danilov R A, Ekelund N G A. Effects of Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} and pentachlorophenol, on photosynthesis and motility in *Chlamydomonas reinhardtii* in short-term exposure experiments[J]. *BMC Ecology*, 2001, 1:1.
- [4] Jeffrey S W, Humphrey G F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural Phytoplankton[J]. *Biochemical Physiology Pflanzen.*, 1975, 167:191 – 194.
- [5] Martin R E, Thomas D J, Tucker D E, Herbert S K. The effects of photooxidative stress on photosystem I measured in vivo in *Chlamydomonas*[J]. *Plant Cell Develop.*, 1997, 20:1451 – 1461.

Process and Effect of *Chlamydomonas Reinhardtii* Cellular Copper Bioaccumulation

WANG Bao-li^{1,2}, LIU Cong-qiang¹, WU Yan-you¹

1. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China;
2. The Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

Abstract: The process of cupric bioaccumulation/biosorption and effect of copper on photosynthesis by *Chlamydomonas reinhardtii* were examined in this paper. The results indicate that the system of cupric bioaccumulation/biosorption by *Chlamydomonas reinhardtii* established equilibrium within 10 minutes, that 1.0mg/L copper hardly affects *Chlamydomonas reinhardtii* photosynthesis, and 5.0, 10.0, 20.0mg/L greatly affect, and 40.0mg/L completely restrains. With cellular copper bioaccumulation, physiological functions were influenced in *Chlamydomonas reinhardtii*.

Key words: bioaccumulation; rate of photosynthesis; *Chlamydomonas reinhardtii*