

砷对三角褐指藻、叉边金藻生长率的影响*

肖虹滨 史致丽 赵夕旦 肖春霞

(青岛海洋大学化学系 266003)

提要 研究了砷(V)对近岸水中三角褐指藻和叉边金藻的毒性,其阈值分别为 $10^{-4.1}\text{mol/dm}^3$ 和 $10^{-4.9}\text{mol/dm}^3$ 。根据活性点模式计算砷(V)与两藻的结合常数为 692.5 和 989.7。砷(V)对叉边金藻的毒性作用不受磷酸盐浓度影响;砷(V)对三角褐指藻的毒性作用随磷酸盐浓度降低而受到抑制。

关键词 砷,浮游植物,生长率

随着科技和生产的发展,人类活动所释放的砷随河流或降水入海,根据 Mecheazie 等按目前速率预计到 2000 年,世界海洋表层水的总砷浓度可增加 2%,而且主要集中在近岸和港湾

海域,所以砷对海洋环境的影响应引起人们极

* 国家自然科学基金资助项目, No. 48970274。

收稿日期 1993 年 10 月 11 日

大的关注。

砷在大洋水中主要以砷(V)形式存在,其垂直分布呈营养盐型分布^[6],表明砷在海水中的循环过程与海洋生物过程有关。

水体中砷的浓度过高,对浮游植物有毒性作用。Sanders^[9]研究了不同形态砷对不同藻种及自然藻群的生长率影响实验,认为不同藻对砷的毒性反应不同;而陈于望、张文^[4]讨论了砷在各种复合体系中对硅藻生长率的影响,得出三角褐指藻有较强的耐污性。但砷对浮游植物的毒性效应尚未见有系统的理论研究,也未有阈值以及致死量的报道,为此本文采用一次培养法进行了在不同磷酸盐水平(浓度)下砷(V)对胶州湾近岸水体中三角褐指藻和叉边金藻的毒性试验,并运用阈值及结合常数来系统讨论砷(V)对浮游植物的毒性效应。

1 材料与方方法

藻种:选取常用耐污藻三角褐指藻和适应性较强的叉边金藻。

培养液:取胶州湾海水,用 0.45 μ m 滤膜过滤,煮沸 10min 消毒,采用 f/2 营养盐配方^[7](其中未加 EDTA 络合剂)。

培养方法:于培养液中加入不同浓度砷(V),接种初始浓度三角褐指藻为 300 000~400 000 cells/cm³,叉边金藻为 500 000~600 000 cells/cm³。在 25 \pm 2 $^{\circ}$ C 下以日光灯为光源,照度 2 800 \pm 200lux,亮暗时间比为 14:10,每天定时摇动培养瓶两次,并定时取藻液计数。

藻类测量:采用血球计数板目视计数法和分光光度法相互校准确定^[1~3]。

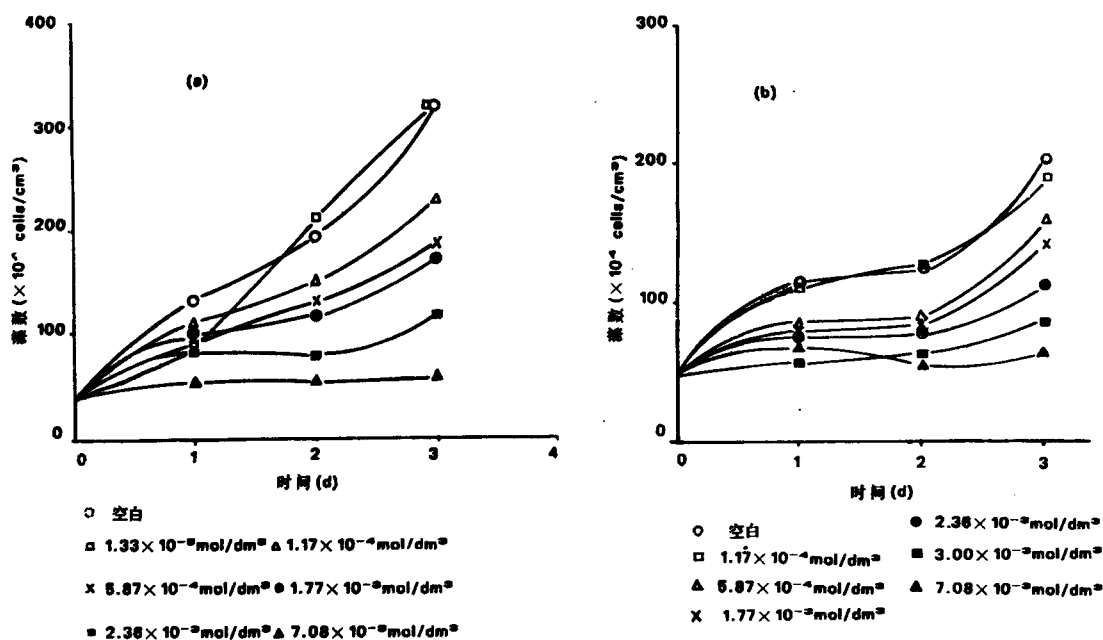


图 1 藻类在不同砷(V)浓度海水培养液中的生长曲线 $[\text{PO}_4\text{-P}]=22.21\mu\text{mol/dm}^3$
(a) 三角褐指藻 (b) 叉边金藻

Fig. 1 The growth curves of algae in seawater of different arsenate concentration
a. *Phaeodactylum tricornatum* b. *Dictyosphaerae*

2 结果与讨论

2.1 砷(V)对浮游植物毒性

叉边金藻和三角褐指藻在含不同砷(V)浓度的培养液中藻细胞密度随时间的变化趋势都基本相同,见图1(a,b)。三角褐指藻直接进入指数生长期,叉边金藻在第二天略有适应后进入指数生长期。随砷(V)浓度增大,其生长率受到抑制都加强,当砷(V)浓度为 $7.08 \times 10^{-3} \text{mol/dm}^3$ 时,两种藻细胞停止分裂。

根据实验结果,计算两种藻在不同磷酸盐浓度下,不同砷浓度时的72h生长率(μ),计算公式如下^[8]:

$$\mu = (\log_2 N_t - \log_2 N_0) / t$$

式中 N_0 和 N_t 分别表示初始和第 t 天单位体积中的细胞数。

将两种藻的72h μ 值与pAs绘图,为S型曲线,见图2(a,b),其中PAs为 $-\log[\text{As}(V)]$ 。

图中高台区是对藻类生长无影响区;拐点

处是藻类生长率受到抑制作用对应的砷(V)浓度值即阈值;半高台值为半数效应值(EC_{50})。叉边金藻对应的阈值为 $10^{-4.9} \text{mol/dm}^3$,三角褐指藻为 $10^{-4.1} \text{mol/dm}^3$,见表1。陈于望、张文^[4]认为当 $[\text{As}(V)] = 10^{-6.87} \text{mol/dm}^3$ (原文 10×10^{-6}) 时对三角褐指藻仍有促进作用,这与本文结果相符。

表1 不同磷酸盐浓度下两种藻的阈值与 EC_{50} (mol/dm^3)

Tab. 1 The threshold and EC_{50} values of the two algae under different phosphate concentration (Unit: mol/dm^3)

磷酸盐浓度 ($\mu\text{mol/dm}^3$)	叉边金藻		三角褐指藻	
	阈值	EC_{50} (72h)	阈值	EC_{50} (72h)
22.9	$10^{-4.9}$	$10^{-2.4}$	$10^{-4.1}$	$10^{-2.3}$
15.27	$10^{-5.1}$	$10^{-2.9}$	$10^{-4.2}$	$10^{-2.3}$
11.45	$10^{-5.2}$	$10^{-2.9}$	$10^{-3.5}$	$10^{-1.8}$
7.63	$10^{-5.1}$	10^{-3}	$10^{-3.5}$	$10^{-1.8}$
4.58	$10^{-4.9}$	10^{-3}	/	/

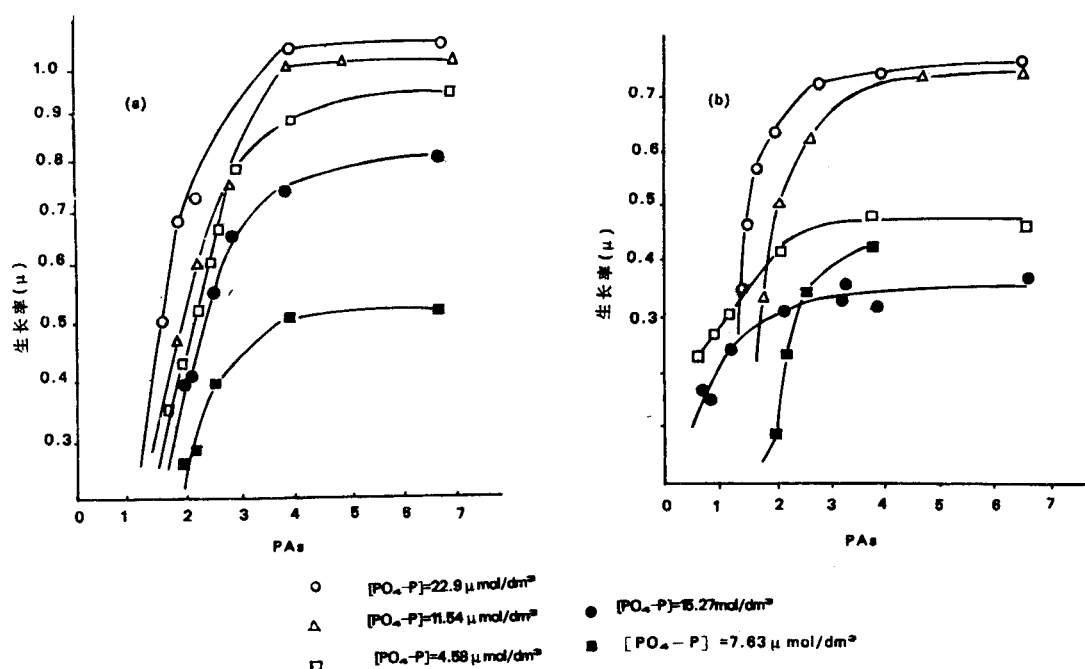


图2 72h生长率与PAs关系曲线

(a) 叉边金藻; (b) 三角褐指藻

Fig. 2 The relationship curves of growth rate and PAs

a. *Dicrotaria* b. *Phaeoedocylum tricor nation*

2.2 砷(V)对浮游植物生长率的影响

关于重金属对浮游植物生长率的抑制作用,一般认为是重金属与活性酶结合使其难以有效地进行正常的生化作用^[10],孙秉一等^[5]用此模式讨论了Cr(VI)对浮游植物生长率的抑制作用。活性点抑制模式的关系式如下:

$$\frac{\mu}{\mu_{\max}} = \frac{[E]}{[E_T]} = \frac{1}{1 + K[As(V)]} \quad (1)$$

式中 μ , μ_{\max} 分别为当培养液中砷浓度为 $[As(V)]$ 时藻的生长率及最大生长率。 E_T 为活性点总浓度, E 为当砷浓度为 $[As(V)]$ 时的剩余活性点浓度, K 为 $As(V)$ 与藻体的结合常数。

(1)式可变为:

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\mu_{\max}} + \frac{K}{\mu_{\max}}[As(V)] \quad (2)$$

以 $\frac{1}{\mu}$ 对 $[As(V)]$ 做图即可从截距、斜率求出 $As(V)$ 与藻的结合常数,见表2。

与铬、汞元素相比,Cr(VI)对菱形硅藻和隐藻的毒性阈值都为 $10^{-6.5} \text{ mol/dm}^3$,结合常数为 2.14×10^5 和 $1.67 \times 10^{5[5]}$;无机汞对三角褐指藻的毒性阈值为 $2.5 \times 10^{-8} \text{ mol/dm}^3$,72h的 EC_{50} 为 $4 \times 10^{-7} \text{ mol/dm}^3$,自由汞离子与三角褐指藻的结合常数为 $8.7 \times 10^{20[1,2]}$ 。

表2 不同磷酸盐浓度下砷与两种藻结合常数

Tab. 2 The apparent association constants of arsenate to the two algae under different phosphate concentration

磷酸盐浓度 ($\mu\text{mol/dm}^3$)	叉边金藻			三角褐指藻		
	k	r	n	k	r	n
22.9	989.7	0.984	6	692.5	0.985	6
15.27	1272.5	0.983	5	1682	0.987	5
11.45	196.7	0.986	7	69.7	0.939	7
7.63	1023.2	0.990	6	65	0.842	5
4.58	1888.7	0.958	5	/	/	<3

注: K 为结合常数, r 为线性相关系数, n 为数据点数。

由表1和表2可知砷(V)对两种藻的阈值大, K 值小,说明砷(V)对浮游植物的毒性作用小于Cr,Hg等。

2.3 不同磷酸盐浓度时砷(V)对浮游植物生长率的影响

上述所求的阈值是在一定的磷酸盐浓度下,加砷培养与不加砷对比所得的结果,该阈值仅能反应在此磷酸盐浓度下,砷(V)对藻类的

毒性作用。为了了解不同磷酸盐浓度时砷(V)对不同藻种的毒性作用,作者研究了不同磷酸盐浓度条件下砷对三角褐指藻和叉边金藻的毒性效应。

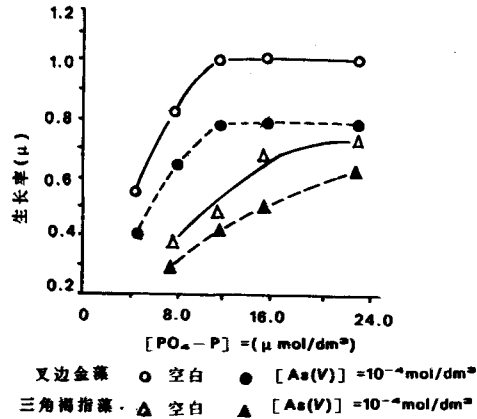


图3 72h 生长率与磷酸盐浓度曲线

Fig. 3 The relationship curves of growth rate (μ) with phosphate concentration

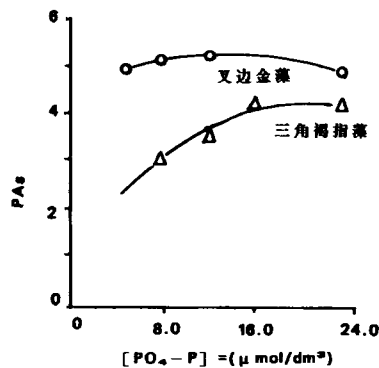


图4 阈值与磷酸盐浓度关系

Fig. 4 The relationship curves of threshold values with phosphate concentration

磷是藻类生长的必需元素,对藻类生长起重要作用,两种藻的72h 生长率与磷酸盐浓度关系见图3。在 $[PO_4 - P] \leq 11.45 \mu\text{mol/dm}^3$ 时,叉边金藻的生长率急剧下降; $[PO_4 - P] \geq 11.45 \mu\text{mol/dm}^3$ 时,生长率几无变化,说明叉边金藻对磷酸盐浓度变化不敏感。而三角褐指藻的生长

率随磷酸盐浓度增加而增大,也即其对磷酸盐的变化较为敏感。加入一定浓度砷(V)时亦如此。

当磷酸盐浓度为 $4.58 \sim 22.9 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$ 时,砷(V)对叉边金藻和三角褐指藻的毒性阈值与磷酸盐浓度关系见图4。叉边金藻的阈值浓度均低于三角褐指藻,且在实验磷酸盐浓度范围内变化不大,说明砷(V)对叉边金藻的毒性作用几乎不受磷酸盐浓度的影响。从前面 μ 值(图3)可计算,当磷酸盐浓度为 $4.58, 7.63, 11.45, 15.27$ 和 $22.9 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$ 时,不加砷(V)藻的生长率(μ 无)与加 $10^{-4} \text{mol}/\text{dm}^3$ 砷(V)时的生长率(μ 有)相比增加率($\frac{\mu_{\text{无}} - \mu_{\text{有}}}{\mu_{\text{无}}}$)分别为0.245、0.241、0.237、0.235、0.240,即加砷前后不同磷酸盐浓度下藻的生长率的增加率变化不大,也说明磷浓度对砷对叉边金藻的毒性作用影响不大。而对于三角褐指藻来说,阈值变化明显有随 $[\text{PO}_4 - \text{P}]$ 减小而增大的趋势(PAs小,则阈值高),也即磷酸盐浓度降低,砷(V)的毒性作用受到抑制,砷(V)的毒性需在更高浓度下表现出来。这与陈于望、张文^[4]的结论:P/As ≤ 1 时砷对砷的毒性有较大抑制作用有相似之处。

由此可见,两种藻在不同磷酸盐浓度下砷(V)的毒性作用不同,Sanders^[9]把这种不同归于浮游藻种的营养级不同而造成。从作者的实验结果可知,不同藻种在不同磷酸盐浓度下对砷(V)的反应不同主要是由于其对磷的需求不同造成的。叉边金藻由于对磷酸盐浓度变化不敏感,所以砷的毒性阈值几乎相同。而三角褐指藻对磷酸盐变化敏感,由于缺磷而对藻类产生的抑制作用可能也同时掩盖了砷的毒性作用,使其反而在更高浓度下表现出来,即阈值增大(pAs降低);也可以说,低磷酸盐浓度时,砷

(V)的毒性作用受到抑制。这是否是由于溶液中缺磷富砷时三角褐指藻无辨识吸收部分砷(V)替代磷^[9],从而使砷(V)毒性在更高浓度表现出来,这一点涉及到藻细胞对磷、砷的吸收问题,有待于进一步研究。

3 小结

在f/2配方培养液中进行藻类一次性培养试验,砷(V)对三角褐指藻和叉边金藻的毒性阈值分别为 $10^{-4.1}$ 和 $10^{-4.9} \text{mol}/\text{dm}^3$;砷(V)与两藻的表观结合常数为692.5和989.7。阈值大,结合常数小,说明砷(V)对浮游藻类的毒性作用低。

砷(V)对叉边金藻的毒性阈值不受磷酸盐浓度影响;而砷(V)对三角褐指藻的毒性作用随磷酸盐浓度降低而受到抑制,这可能是由于不同藻种对磷酸盐需求不同而造成的。

参考文献

- [1] 吕小乔等,1990.青岛海洋大学学报 20(4):68~74.
- [2] 吕小乔等,1990.青岛海洋大学学报 20(4):101~106.
- [3] 赵丽英等,1990.青岛海洋大学学报 20(4):125~131.
- [4] 陈于望、张文,1985.海洋环境科学 4(4):17~24.
- [5] 孙秉一等,1989.海洋学报 11(3):302~309.
- [6] Andreae, M. O., 1979. *Limnol. Oceanogr.* 24(3): 440-452.
- [7] Guillard, R. R. L., Rithirt, J. H., 1962. *Journal WPCF*, 3: 493-506.
- [8] Eppley, R. W. and Strickland, J. D. H., 1968. In *Advances in microbiology of the sea* (Droop, M. R. and Ferguson E. J. W. Ed.), Academic Press, London. 23-62.
- [9] Sanders, J. G., Wermersh, P. S., 1982. *J. of Plan. Res.* 4(4):881-892.
- [10] Sunda, W. et al., 1981. *Jour. Mar. Res.* 39: 567-586.

THE EFFECT OF ARSENATE ON THE GROWTH RATE OF *Phaeodelylum tricornation*, *Dicratoria*

Xiao Hongbin, Shi Zhili, Zhao Xidan and Xiao Chunxia

(*Chemistry Department, Ocean University of Qingdao, 266003*)

Received: Oct. 11, 1993

Key Words: Arsenate, Phytoplankton, Growth rate

Abstract

In $f/2$ culture medium (except EDTA), the threshold values of arsenate toxicity to *Phaeodelylum tricornation* and *Dicratoria* were determined to be $10^{-4.1}$ and $10^{-4.9}$ mol/dm³. The apparent association constants of arsenate to the two algae are 692.5 and 989.7. The toxicity of arsenate to *Dicratoria* isn't affected by the concentration of phosphate, but the toxicity of arsenate to *Phaeodelylum Tricornation* will be prevented when the concentration of phosphate decreases.