

## 铜与腐殖酸对小球藻生长影响的研究\*

王静\*\* 陈出新\*\*\* 陶澍  
(北京大学 城市与环境学系, 100871)

Q949.217

## 摘 要

本文在静态实验条件下,研究了铜-富里酸-藻体系中铜对小球藻的毒性效应及描述毒性效应的定量模型。无富里酸存在时,0.65mg/l的铜可抑制小球藻生长率的50%,当铜浓度为4.3mg/l时,小球藻仍有微弱的生长。水生富里酸对小球藻既有保护作用,又有刺激作用且富里酸太多时抑制小球藻生长。在铜和富里酸对藻类生长的综合影响模型中,小球藻的生长率与铜浓度关系为累积对数正态分布曲线,富里酸对小球藻的刺激作用为负指数曲线关系,富里酸与铜的络合作用可用单配位络合模型表述,用上述三者的综合模型预测不同富里酸、铜浓度时小球藻的生长率与实测值吻合较好。

关键词: 富里酸, 铜毒性, 小球藻生长, 单配位体模型, 络合作用。

生长;

铜, 腐殖酸, 小球藻;

## 一、前 言

藻类是水生生态系统的初级生产者,通过各种途径进入水体的重金属首先对藻类生物产生危害。因此,研究其对藻类的毒性作用在重金属毒理学研究中占有重要地位<sup>[1,2]</sup>。

铜是生物代谢过程中必需的微量元素之一,但浓度太高有致毒作用。在天然水体中铜以不同形态存在,其中溶解态铜包括铜离子和与各种配位体生成的络合物。络合作用特别是与分子量较大的配位体发生的络合可以降低铜的生物有效性,而水生系统中最重要配位体为腐殖酸。关于水生环境中腐殖酸对铜毒性的抑制作用已有大量报道<sup>[3]</sup>。许多研究探讨了腐殖酸抑制藻细胞对铜吸收的机理<sup>[1]</sup>,类似工作还涉及到镉、铬等其它元素<sup>[4]</sup>。尽管对腐殖酸-铜-藻类体系中腐殖酸的影响和作用已有大量研究,但这些研究大多停留在定性描述阶段。Gavis(1982, 1983)<sup>[5,6]</sup>曾建立了藻细胞对游离铜的吸附作用和铜对藻类毒性作用的模型,但关于腐殖酸和铜的相互作用对藻类生长影响的定量研究尚未见报道。

本研究主要目的在于:(1)探讨铜和腐殖酸对小球藻生长的影响;(2)研究腐殖酸对铜毒性的影响;(3)定量描述特定体系中铜和腐殖酸与小球藻生长的关系。

## 二、研究方法

实验用小球藻(*Chlorella vulgaris*)由中科院水生所提供。由于水生环境中腐殖酸的大部分为分子量较小的富里酸,本研究选用富里酸。实验用富里酸用氢氧化钠(0.1mol/l)和偏磷酸钠(0.1mol/l)混合液提自土壤,将提取液酸化除去胡敏酸后,再经XAD-2树脂吸附、漂洗、

\* 国家自然科学基金资助项目。

\*\*现工作单位:中国土地勘测规划院,北京,100081。\*\*\*现工作单位:南通市土地管理局。

本文于1991年2月28日收到,修改稿于1992年3月12日收到。

洗脱和用阳离子交换树脂脱盐。

试验用藻生长在经修改的AGP实验用人工培养液中<sup>[7]</sup>。自制培养箱温度控制在 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ，光照期16/8，振荡器转速为100r/min。藻类先经3—4d预培养，达到线性生长稳定期后再接种到三角瓶中。细胞起始密度控制在 $4.5 \times 10^4$ 个/ml。藻类生长实验期为4d，每天的生长变化用721分光光度计在波长665nm处(比色皿厚度为1cm)测定，该波长的光密度值与藻类细胞密度存在很好的相关关系<sup>[8]</sup>。实验溶液在0—4.3mg/l之间，由硫酸铜标准液配制。

预备性实验证明，在本研究的条件下，设置两个批内重复和1至2批批间重复，即可达到实验预期的精度和重现性。富里酸和铜对小球藻生长的影响在第2、第3天最明显。

所有统计计算用Lotus-123和Spss软件包在IBM-PC/XT机上实现。

### 三、结果与讨论

#### 1. 铜对藻类生长的影响

在没有富里酸存在的体系中，铜对小球藻生长有明显抑制作用。如图1所示，藻类生长随铜浓度增加迅速下降，1mg/l总铜基本抑制小球藻生长。值得注意的是，当铜浓度进一步增加时，藻类生长始终维持在某一极低水平，甚至当铜浓度增至4.3mg/l时，藻类仍有微弱生长。这与Wong(1982)<sup>[9]</sup>和Stabodub(1987)<sup>[10]</sup>发现的现象相似。

从理论上讲，体系中藻细胞个体对游离铜的中毒反应呈正态或对数正态分布形式，因而小球藻的致死率与游离铜浓度的关系表现为累积正态或累积对数正态分布曲线。图2所示本研究中无富里酸时铜对小球藻的致死率与铜浓度的关系显然呈累积对数正态分布形式。

为便于计算，对小球藻的生长率数据作标准化处理，使无富里酸体系中的小球藻生长率介于0—1之间，当体系中有富里酸存在时，由于富里酸的刺激作用，小球藻的生长率范围在1—1.3之间。图2中致死率与铜浓度的关系可用累积对数正态分布描述：

$$M = B_1 e^{-B_2(C_f + B_3)^2} \quad (1)$$

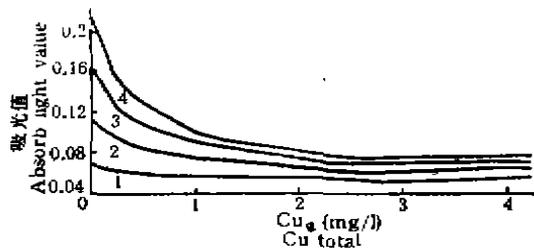


图1 无富里酸体系中铜浓度对小球藻生长的影响  
1. 第1天; 2. 第2天; 3. 第3天; 4. 第4天  
Fig.1 The effect of copper on the growth rate of algae without fulvic acid  
1. 1st day; 2. 2nd day; 3. 3th day; 4. 4th day

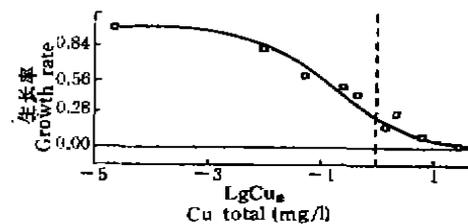


图2 小球藻生长率与铜浓度关系  
Fig.2 The relation between the growth rate of algae and the concentration of copper

式中 $M$ 为致死率， $C_f$ 为游离铜浓度(无富里酸时即为总铜浓度)， $B_1$ 、 $B_2$ 和 $B_3$ 为常数。累积致死率为：

$$\int M = \int B_1 e^{-B_2(C_f + B_3)^2} \quad (2)$$

所以小球藻生长率与铜浓度关系为:

$$G = 1 - \int M = 1 - \int B_1 e^{-B_2(C_t + B_3)^2} \quad (3)$$

根据无富里酸条件下的实验数据对上述关系式进行最小二乘意义下的拟合, 得:

$$B_1 = 0.255, B_2 = 0.400, B_3 = 0.750$$

## 2. 富里酸对小球藻生长的影响

在没有铜存在的情况下, 富里酸对小球藻的生长有刺激作用。这样的刺激作用似乎不能仅以碳源的角度解释, 其真实机理有待于进一步探讨。图 3 为无铜体系小球藻生长率与富里酸含量的关系曲线, 图中结果说明少量富里酸对藻类生长有明显刺激作用, 但随富里酸浓度进一步增加小球藻生长率增加逐渐变缓。Sunda(1978)<sup>[1]</sup>也曾观察到类似现象。图中所示小球藻生长率与富里酸浓度的关系, 可用一经验式描述:

$$G = A_1 - A_2 e^{-A_3 F_A} \quad (4)$$

其中  $G$  为生长率,  $F_A$  为富里酸浓度, 根据实测结果对上述经验式进行拟合得:

$$A_1 = 1.270, A_2 = 0.268, A_3 = 4.300$$

## 3. 富里酸对铜毒性作用的影响

富里酸与铜共存时, 体系中发生的不仅有这两种物质对藻类生长的直接影响, 还包括两者相互作用对藻类生长环境的改变。富里酸对铜的络合作用大大降低了体系中游离铜浓度, 从而抑制了铜的毒性。图 4 即为两种不同铜浓度和两种不同富里酸浓度条件下小球藻的生长

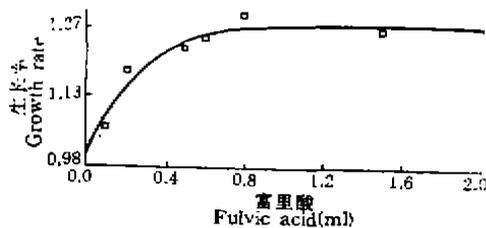


图 3 无铜体系中小球藻的生长率与富里酸的关系

Fig.3 The relation between the growth rate of algae and the fulvic acid without copper

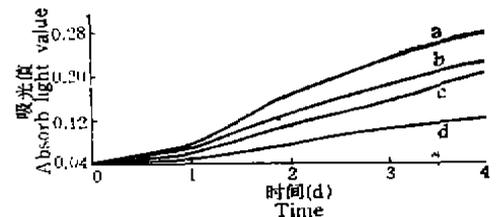


图 4 不同富里酸、铜浓度下小球藻的生长曲线 (Cu, mg/l, FA, mL)

a Cu=0, FA=0.5, b Cu=0, FA=0, c Cu=0.6, FA=0.5, d Cu=0.6, FA=0.

Fig.4 The growth curves of algae at various concentrations of fulvic acid and copper

曲线。铜和富里酸浓度均为零时, 藻类生长正常, 仅加入富里酸使其生长加快, 曲线更陡; 而只加入铜时, 生长变慢, 曲线趋向平缓, 如果同时加入富里酸和铜则生长比只加铜时快, 反映了富里酸的保护作用。

## 4. 富里酸和铜对小球藻生长影响的定量模型

在铜-富里酸-藻培养体系中, 还存在许多无机配位体。Sunda和Lewis(1978)<sup>[1]</sup>曾证实天然水体中, 只有 1% 的络合铜与无机配位体有关, 无机配位体的影响往往可以忽略不计, 因此, 在本研究中不考虑无机配位体的影响。

仅有铜和仅有富里酸存在时, 小球藻在本研究特有条件下的生长率模型已分别在第 1、2 节中给出, 即(3)、(4)式。假定两种物质对藻类生长的影响具有加和性, 那么在不考虑两者

之间的络合作用，小球藻的生长率与富里酸、铜含量之间的关系为：

$$G = (1 - \{B_1 e^{-B_2(C_t + B_3)^2}\})(A_1 - A_2 e^{-A_3 F_A}) \quad (5)$$

如果用单配位体模型表述游离铜和总富里酸的关系，则上式中的  $C_f$  可以写为：

$$C_f = \frac{KC_t - 1 - KF_A + \sqrt{(1 + KF_A - KC_t)^2 + 4KC_t}}{2K} \quad (6)$$

虽然用单配位体模型描述富里酸络合作用十分粗糙，但与一般生物实验相比，单配位体模型的计算误差完全可以接受。将第 1、2 节得到的各常数 ( $A_1$ 、 $A_2$ 、 $A_3$ 、 $B_1$ 、 $B_2$ 、 $B_3$ ) 和式 (6) 代入式 (5)，即可得描述富里酸和总铜含量对小球藻生长影响的定量模型。利用本研究实测结果可以从中解出  $K$  值。用此模型计算不同条件下小球藻的生长率，可以发现实测值和计算值比较一致。计算结果的绝对误差基本呈正态分布 (图 5)。

上述以总富里酸、总铜为自变量，以小球藻生长率为因变量，建立的铜、富里酸对小球藻生长率影响的定量模型可表征为图 6 中的生长曲面。



图 5 模型计算生长率误差的频率分布  
Fig.5 The frequency distribution of the calculation error

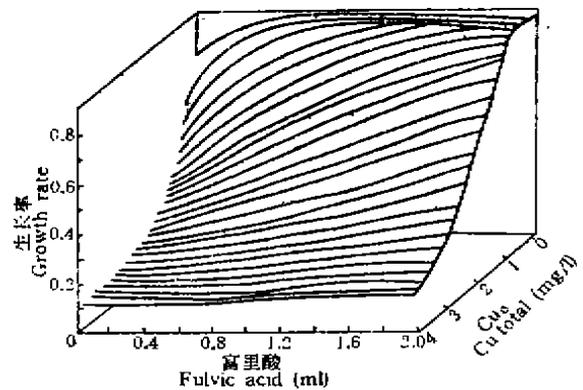


图 6 小球藻生长率与铜和富里酸浓度的关系曲面  
Fig.6 The relation among the growth rate of algae and the concentrations of copper and fulvic acid

#### 四、结 论

1. 富里酸一方面直接刺激小球藻生长，另一方面又通过与铜的络合作用降低铜对小球藻的毒性。

2. 铜和富里酸对小球藻的综合影响可用一定量模型描述，该模型既考虑了富里酸对铜的络合作用，又包含了富里酸本身对藻类生长的刺激作用，因此与实测数据十分吻合。

#### 参 考 文 献

- [1] Sunda, W. G. and Lewis, J. A. M., Effect of complexation by natural organic ligands on the toxicity of copper to a unicellular alga, *monochrysis lutheri*, *Limnol. Oceanogr.*, 1978, 23(5), 870—878.
- [2] Jouany, J. M. and Ferard, J. F., The importance of dynamic test in the assesment of acute ecotoxicity of the algae, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 1983, 7(2), 21—228.
- [3] Musani, L. P., Valenta, H. W., Nurnberg, Z. and Branica, M., On the chelation of toxic trace metals by humic acid of marine origin, *Estuarine Coastal Mar. Sci.*, 1980, 11(3), 639—640.

- [4] Stackhouse, R. A. and Benson, W. H., The effect of humic acid on the toxicity and bioavailability of Trivalent Chromium. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 1989, 17(2), 105—111.
- [5] Gavis, J., Guillard, R. R. L. and Woodward, B. L., Cupric ion activity and the growth of phytoplankton clones isolated from different marine environment. *J. Mar. Res.*, 1981, 39(2), 315—333.
- [6] Gavis, J., Toxic binding of cupric ion by marine phytoplankton. *J. Mar. Res.*, 1983, 41(1), 53—63.
- [7] 湖泊富营养化调查组, 湖泊富营养化调查规范, 中国环境科学出版社, 北京, 1983.
- [8] Guillard, R. R. L., Division rates. in: Stein, J. R., ed. *Handbook of phycolgical method*. Cambridge University Press. bridge, 1973, 289—311.
- [9] Wong, P. T. S., Chau, Y. K. and Patel, D., Physiological and biochemical responses of several freshwater algae to mixture of metals. *Chemosphere*, 1982, 11, 367—376.
- [10] Stabodub, M. E. and Wong, P. T. S., Short term and long term studies on individual and combined toxicities of copper, zinc and lead to *Scendesmus Quadricauda*. *Sci. Total Environ.* 1987, 63, 101—110.

## EFFECTS OF COPPER AND FULVIC ACID ON THE GROWTH OF GREEN ALGAE

Wang Jing Chen Chu-Xin Tao Shu

(Department of Geography, Beijing University, 100871)

The toxic effect of copper on the growth rate of green algae, *Chlorella vulgaris*, in copper-fulvic acid-algae system was studied. It was shown that copper of  $0.55\text{mg L}^{-1}$  caused a 50% decrease in the growth rate of algae in the medium without fulvic acid and the addition of fulvic acid inhibited the toxic effect of copper. The relationship among the algae growth rate and the concentrations of copper and fulvic acid was quantitatively described using an integrated equation combining cumulative normal distribution curve for the growth, the negative exponential curve for stimulation and the single ligand binding model for the complexation effect. The calculated growth rates of algae at various concentrations of copper and fulvic acid using the model agreed well with the experimental results.

**Key words:** algae, copper, humic substance, toxicity, complexation.