

Effects of Cu^{2+} and Cd^{2+} on Ammonium Uptake by *U. Pertusa*

Haifeng WEI^{1,2,3}, Changfa LIU^{1,3}, Hengjiang CAI^{1,3}, Junxin ZHANG^{1,3}, Hengming LIU^{1,3}

1. College of Marine Environmental Engineering, Dalian Ocean University, Dalian, 116023, China

2. Key laboratory of fishery water treatment, CAFS, Shanghai, 20092, China

3. Key Laboratory of Offshore Marine Environmental Science and Technology, Dalian, 116023, China

Email: weihaifeng@dlou.edu.cn

Abstract: The NH_4^+ -N uptake of *U. pertusa* stressed by Cu^{2+} and Cd^{2+} were investigated in laboratory condition. The concentrations of ammonium were 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0mg/L, both concentration of Cu^{2+} and Cd^{2+} were 0.5 and 1.0mg/L, and the time of the experiment was 12 hours. It was found that the uptake rates of NH_4^+ -N in control group were 0.0208-0.166 mg/g·h. The uptake rates of NH_4^+ -N in control group were higher than that stressed by Cu^{2+} and Cd^{2+} . Significant surge uptake occurred at the experiments beginning in the control group, but the surge uptake decrease significantly stressed by Cu^{2+} and Cd^{2+} . There were more inhibitive effects on *U. pertusa* uptaking NH_4^+ -N stressed by Cu^{2+} than stressed by Cd^{2+} at the same concentration. The maximal inhibitive rates of NH_4^+ -N uptake rates stressed by 1mg/L Cu^{2+} and Cd^{2+} in 12h were 55.4% and 9.68%, respectively. The inhibitive effect on *U. pertusa* absorbing nutrition elements increases as the concentration nutrition elements and Cu^{2+} and Cd^{2+} increasing.

Keywords: *U. pertusa*; Cu^{2+} ; Cd^{2+} ; uptake; NH_4^+ -N

Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 胁迫对孔石莼吸收氨氮的影响

魏海峰^{1,2,3}, 刘长发^{*,1,3}, 蔡恒江^{1,3}, 张俊新^{1,3}, 刘恒明^{1,3}

¹大连海洋大学, 大连, 中国, 116023

²中国水产科学院渔业水体净化技术和系统研究重点开放实验室, 上海, 中国, 20092

³辽宁省省级高校近岸海洋环境科学与技术重点实验室, 大连, 116023

Email: weihaifeng@dlou.edu.cn

摘要: 在实验室条件下, 研究了大型藻孔石莼 (*Ulva pertusa*) 在不同浓度 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 胁迫下的吸收氨氮的过程。氨氮的浓度依次为 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0mg/L, Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 浓度均设置为 0.5 和 1.0mg/L, 实验进行 12 小时。结果表明, 对照组孔石莼对氨氮的吸收速率在 0.0208mg/g·h-0.166mg/g·h 之间。重金属 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 胁迫可对孔石莼吸收 NH_4^+ -N 产生抑制作用。同浓度的 Cu^{2+} 比 Cd^{2+} 对孔石莼对氨氮的抑制率要高, 12h 内 1mg/L Cu^{2+} 胁迫下对孔石莼吸收 NH_4^+ -N 的最大抑制率可达 55.4%, Cd^{2+} 可达 9.68%。 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 胁迫对孔石莼吸收 NH_4^+ -N 的抑制作用随着底物浓度的增加而增加, 抑制作用也随着 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 浓度的增加而增加。

关键词: 孔石莼; Cu^{2+} ; Cd^{2+} ; 吸收; 氨氮

1 引言

大型海藻治理海洋富营养化是一种利用植物吸收、转移污染物使海洋环境得到修复和治理的技术。该技术因具有吸收营养元素 (N、P) 效率高的特点, 并产生一

定的经济效益受到国内外学者的关注。随着经济的发展, 我国海洋富营养化程度不断加剧, 同时近海海域重金属污染也日益严重。据报道, 锦州湾、莱州湾和杭州湾等海域海水重金属污染超标, 尤其以 Pb (II) 污染最严重, 超标率高达 95 %^[1]。目前还缺乏关于重金属对藻类吸收营养盐的影响资料, 因此, 本文提出用研究铜、镉对孔石莼 (*U. pertusa*) 吸收营养元素的吸收过程来揭示重金属污染对大型藻吸收氨氮的影响。

基金项目: 国家 863 计划 (2007AA10Z410); 国家海洋公益性专项 (200805069); 中国水产科学院渔业水体净化技术和系统研究重点开放实验室开放基金资助 (FWT-200703); 辽宁省自然科学基金 (20072141); 辽宁省博士启动基金 (20081076); 辽宁省教育厅高校科研项目 (2009A174)

2 材料与方法

2.1 实验材料

实验用孔石莼 (*U. pertusa*) 取自辽宁大连黑石礁海域, 经实验室培养一段时间后, 选取生长良好的藻用于实验。海水取自大连黑石礁海域, 经砂滤后抽取使用, 盐度为 30‰, pH 8.0-8.1。

2.2 实验方法

Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 对孔石莼吸收 NH_4^+-N 的影响实验 采用多瓶法与干扰法相结合^[2], 实验在自然光条件下进行, 在 16 个 1000mL 烧杯中加入 500mL 海水(盐度 31‰、pH 8.1), 加入以不同浓度 $(NH_4)_2SO_4$ 作为氮源的培养液, 孔石莼经室内培养后选取生长良好部分切成 $1 \times 1 \text{ cm}^2$ 的藻, 每个烧杯中投放 0.5g 新鲜藻片, 在室内自然光照下培养后测定氮的吸收率。加入一定体积的 NH_4^+-N 储备液使实验开始时实测 NH_4^+-N 浓度分别为: 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0mg/L, NH_4^+-N 本底浓度为 0.05mg/L。使 N: P<16: 1, 保证磷过量, 海水 NH_4^+-N 本底值为 0.324mg/L。在每组浓度梯度下设置 3 组平行实验, 每个烧杯按 1mL/L 加入 f/2 配方, 以 1g/L 生物量投放孔石莼藻片于烧杯中, 随后分别加入 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} (使其浓度分别为 0.5mg/L 和 1mg/L), 海水 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 背景值为 0.012mg/L 和 0.008mg/L 开始吸收实验, 实验期间光照为 3000lux, 温度采用恒温光照培养箱控制在 20℃。取样时间设置为实验开始后的 0.25h、0.5h、1h、3h、6h、12h。

2.3 数据处理

孔石莼对氨氮的吸收速率用下列公式计算:

$$v = (\rho_0 - \rho_t)V / B \cdot t$$

其中 v 为吸收速率 (mg/g·h); ρ_0 为起始水中营养盐浓度 (mg/L); ρ_t 为实验结束时水中营养盐浓度 (mg/L); V 为实验水体的体积(L); B 为生物量(g); t 为培养时间 (h)。

静态条件下, 海藻培养液中营养盐浓度的变化可以用一级反应动力学来描述, 即

$$-\frac{d\rho}{dt} = k\rho \quad (1)$$

其中 ρ 为营养盐浓度 (mg/L); t 为滞留时间; k 为去除速率常数 (1/h)。对式 1 积分得

$$\rho_t = \rho_0 e^{-kt} \quad (2)$$

其中 ρ_t 为 t 时刻培养液中某营养盐的浓度; ρ_0 为理想状态下该营养盐的初始浓度。

3 实验结果

3.1 对照组孔石莼对 NH_4^+-N 的吸收速率

在对照组孔石莼对 NH_4^+-N 吸收实验中, 实验开始的 1h 内有个较快的吸收过程。但在之后的几个小时内, 孔石莼对 NH_4^+-N 的吸收速率大大下降 (图 1)。孔石莼对 NH_4^+-N 平均吸收速率在 0.0208mg/g·h-0.166 mg/g·h 之间。印证了前人提出的大型藻吸收氨氮的过程一般可分为 3 个阶段, 即快吸收阶段(surge uptake)、内部控制的吸收阶段(internally controlled uptake) 和外部控制的吸收阶段(externally controlled uptake)。

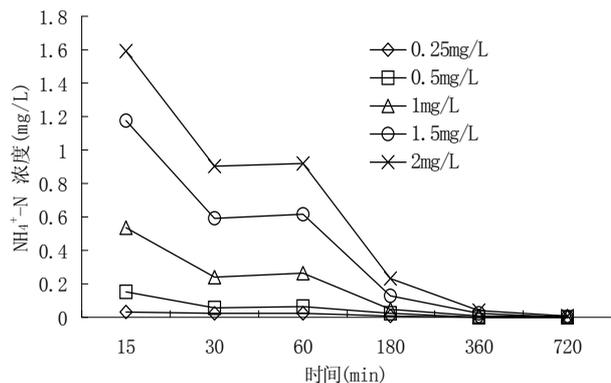


图 1 12h 内对照组孔石莼对 NH_4^+-N 的吸收 (改为吸收速率, 吸收动力学曲线)

Fig.1 NH_4^+-N uptake by *U. pertusa* in 12 hours in control group

3.2 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 胁迫下孔石莼对 NH_4^+-N 的吸收速率

由图 2、图 3 可知, 0.5、1.0mg/L 的 Cu^{2+} 处理组中, 孔石莼吸收 NH_4^+-N 的速率显著低于对照组。这种抑制作用随着氨氮浓度的增加而增大, 0.5、1.0mg/L Cu^{2+} 处理组孔石莼对高浓度氨氮 (2.0mg/L) 的吸收速率分别为对照组的 75.9% 和 52.1%。而 0.5、1.0mg/L 的 Cd^{2+} 则对孔石莼吸收氨氮的抑制作用不显著, 吸收速率为对照组的 94.8% 和 90.32%。

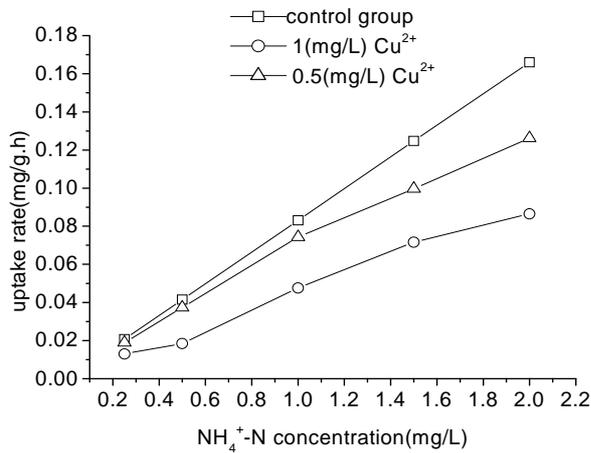


图 2 不同浓度 Cu²⁺胁迫下孔石莼吸收 NH₄⁺-N 速率曲线
Fig.2 NH₄⁺-N uptake rates by *U. pertusa* stress by Cu²⁺

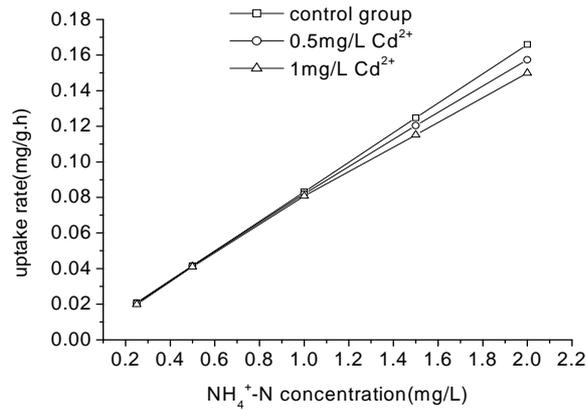


图 3 不同浓度 Cd²⁺胁迫下孔石莼吸收 NH₄⁺-N 平均速率
Fig.3 NH₄⁺-N uptake rates by *U. pertusa* stress by Cd²⁺

由图 4 两种重金属 Cu²⁺和 Cd²⁺的对孔石莼吸收 NH₄⁺-N 速率对比可知, Cu²⁺对孔石莼吸收 NH₄⁺-N 的抑制显著高于 Cd²⁺, 即相同浓度条件下 Cu²⁺对孔石莼的毒性作用大于 Cd²⁺。

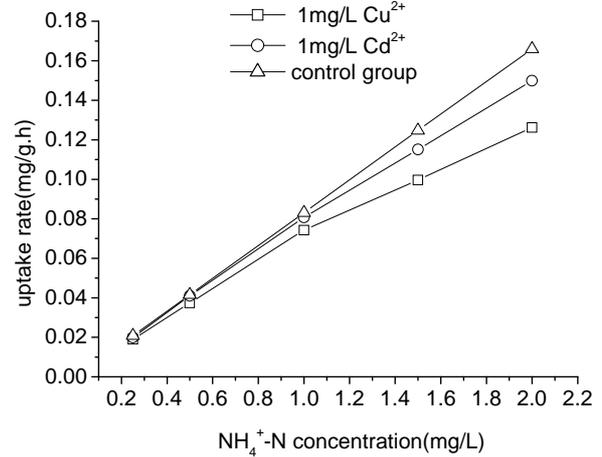


图 4 两种金属胁迫与对照组孔石莼吸收 NH₄⁺-N 平均速率曲线
Fig.4 NH₄⁺-N uptake rates by *U. pertusa* stress by 1mg/L Cu²⁺ and Cd²⁺ and control group

在磷不受限制的情况下, 对照组孔石莼吸收 NH₄⁺-N 的速率随着 NH₄⁺-N 浓度的增加而增加, 而在 0.5、1mg/L Cu²⁺胁迫下, 孔石莼吸收 NH₄⁺-N 的速率收到显著抑制, 并随着 Cu²⁺浓度的增加抑制率逐渐升高, 如表 1 所示。这可能与 Cu²⁺的毒性作用有很大关系。在已研究的金属中, Cu²⁺是很特殊的, 它们起着双重作用, 既为生物代谢必需的微量营养元素, 又是一种有毒的重金属, 一旦超过了适宜的浓度, 就会对藻类产生的毒害作用。

表 1 不同浓度 Cu²⁺和 Cd²⁺胁迫下孔石莼对 NH₄⁺-N 平均吸收速率及其抑制率
Table 1. NH₄⁺-N uptake rates and inhibition ratio of *U. pertusa* stress by Cu²⁺ and Cd²⁺

NH ₄ ⁺ -N (mg/L)	对照组吸收速率	Cu ²⁺ 处理组吸收速率		Cu ²⁺ 抑制率(%)		Cu ²⁺ 处理组吸收速率		Cu ²⁺ 抑制率(%)	
		0.5mg/L	1mg/L	0.5mg/L	1mg/L	0.5mg/L	1mg/L	0.5mg/L	1mg/L
0.25	0.0208	0.0191	0.013	8.62	37.1	0.021	0.0198	0.868	4.47
0.5	0.0415	0.0374	0.0185	9.91	55.4	0.042	0.0411	1.00	1.24
1.0	0.0831	0.0743	0.0475	10.8	42.7	0.082	0.0807	1.42	2.89
1.5	0.125	0.0996	0.0716	20.1	42.5	0.120	0.115	3.48	7.96
2	0.166	0.126	0.0865	23.9	47.8	0.157	0.150	5.22	9.68

4 讨论

本实验结果证明 Cu^+ 对孔石莼吸收氨氮的抑制作用大于 Cd^{2+} 。Han 等人(2005)以孔石莼的孢子萌发率为指标,研究了重金属(Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Pb^{2+})对孔石莼的毒性作用,发现这四种重金属孔石莼的毒性作用顺序为 $\text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Pb}^{2+}$ [2], 本文研究结果相一致。有研究证明,较低浓度的 Cu^{2+} 可以促进海生浮游植物天然群落的光合作用能力,但是高浓度的 Cu^{2+} 会使浮游植物光合作用下降。高浓度的 Cu^{2+} 主要抑制藻类的光合作用,影响原生质膜的渗透性,从而使 K^+ 从细胞内丧失[3]。 Cu^{2+} 的毒性大于 Cd^{2+} , 0.05 mg/L 的 Cd^{2+} 处理小球藻 1-3 d, 对 NRase 活性有明显的促进作用,而在相同条件下, Cu^{2+} 有明显的抑制作用[4]。低浓度 Cu^{2+} 作为微量元素,促进藻细胞生长;高浓度 Cu^{2+} 引起藻细胞伤害,光合活性减弱,POD 活性下降,正磷酸盐的净化效率减小[5]。大型藻具有降低重金属毒性或增加耐受力的机制,藻类的胞外产物在细胞外结合金属离子以达到解毒的作用,此外结合到细胞壁的多糖上可发生金属离子的排斥作用,或在细胞膜上改变金属离子的运输通道,在细胞内可使金属离子改变价态、或转变成无毒性的有机金属化合物以达到解毒作用[6]。此外重金属对藻类产生抑制作用的原因可能影响了藻类酶活性,重金属影响酶活性主要有 2 种可

能:一种是由于重金属的作用使作为酶的辅助因子的金属离子的吸收和利用受阻;另一种是由于重金属与酶蛋白的某些基团结合形成螯合物,使酶的结构与构型发生变化而影响酶的活性。从而影响了藻类的生理活动[7]。

References (参考文献)

- [1] Marine Environment report of Republic of China, 2009. 中国海洋环境质量公报, 2009.
- [2] Taejun Han , Gye-Woon Choi . A novel marine algal toxicity bioassay based on sporulation inhibition in the green macroalgae *Ulva pertusa* (Chlorophyta) .Aquatic Toxicology 2005 (75): 202-212.
- [3] Fujimoto N , Sudo R. Nutrient limited growth of *Microcystis aerugi nosa* and *Phormi diumtenue* and competition under various N : P supply ratios and temperature[J]. Limnol Oceanogr , 1997,42(2) :250-256.
- [4] Hornstrom E. Toxicity test with algae a discussion on the batch method. Ecotox Saf, 1990, 20: 343-353.
- [5] Varsha Raikar, Mohideen Wafar. Surge ammonium uptake in macroalgae from a coral atoll. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2006, 339: 236-240.
- [6] Moacir A. Torres, Marcelo P. Barros , Sara C.G. Campos et al. Biochemical biomarkers in algae and marine pollution: A review. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2008, 71: 1-15.
- [7] Leonardo Mata, João Silva, Andreas Schuenhoff, et al. The effects of light and temperature on the photosynthesis of the *Asparagopsis armata* tetrasporophyte (*Falkenbergia rufolanosa*), cultivated in tanks. Aquaculture , 2006, 252 (1): 12-19.