

镧对微囊藻的生长效应及被富集的动力学研究¹⁾

林 俊 李 韬²⁾ 沈 宏 郑振华 周培疆³⁾

(武汉大学环境科学系, 武汉, 430072)

宋立荣 沈银武 刘永定

(中国科学院水生生物研究所, 武汉, 430072)

摘 要 研究了稀土元素 La^{3+} 对微囊藻生长效应及其被微囊藻富集的动力学过程. 结果表明: 当 La^{3+} 的添加浓度小于 $2\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 时, 对微囊藻的生长有促进作用, 当 La^{3+} 的添加浓度大于 $2\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 时, 微囊藻的生长受到抑制. La^{3+} 在微囊藻中富集的动力学过程可用表面配位模型表征.

关键词 稀土元素 La^{3+} , 微囊藻, 富集, 生长效应, 表面配位模型.

我国稀土元素含量丰富, 随着稀土元素及其化合物的广泛应用, 大量可溶性稀土直接或间接进入水体, 对环境造成污染, 并影响了水生生物尤其是藻类(*Algae*)的生长^[1]. 微囊藻(*Microcystis*) 是自然界中分布较为广泛的一种蓝藻, 是水华的优势藻种之一, 探讨稀土元素对微囊藻的生长效应以及微囊藻对稀土元素的富集作用, 对于水华的防治有重要意义.

本文研究了稀土镧对微囊藻的生长效应, 以及微囊藻对镧的富集作用.

1 实验部分

1.1 稀土储备液的配制

取一定量 La_2O_3 加少量去离子水及 HNO_3 (分析纯), 加热溶解, 用去离子水稀释配制成 $1000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (以 La^{3+} 计) 的 La^{3+} 储备液 1L.

1.2 微囊藻的纯化

微囊藻种由中国科学院水生生物研究所提供, 于 HGZ 培养基中接种, 在恒温、光照条件下进行培养, 重复 2—3 次, 即得到较纯的实验用藻种.

1.3 实验方法

1.3.1 微囊藻吸光度-浓度标准曲线的绘制

取不同藻细胞浓度的藻液, 以 722 型分光光度计于 650nm 处测其吸光度, 再用血球计数板计算浓度, 得到吸光度-浓度标准曲线.

2002 年 1 月 21 日收稿.

1) 中华人民共和国科技部、云南省重大科技攻关课题 (K99 05 35-01). 2) 现在湖北省环境监测中心站工作.
3) 通讯联系人.

1.3.2 La^{3+} 对微囊藻的生长效应

用 HGZ 培养基和 La^{3+} 储备液配制成分别含 La^{3+} 为 0.5, 1, 2, 5, 10, 20 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 的培养液各 100ml, 同时设平行样和对照空白样 (不含 La^{3+}), 调节 pH 值为 8, 于高压灭菌锅中灭菌后, 接种适量经纯化的微囊藻液, 置于恒温光照培养箱中, 以温度 28℃, 光照 3500 lx, 光暗比 12/12 条件培养. 接种后定期取适量摇匀的培养液, 测定其吸光度值, 用微囊藻吸光度-浓度标准曲线换算成藻细胞浓度.

1.3.3 微囊藻对 La^{3+} 的富集

设两组平行样, 各加入适量 HGZ 培养基和去离子水, 调节 pH 值为 8. 灭菌后接种适量经纯化的微囊藻液, 置于恒温光照培养箱中培养 3d 后各加入适量 La^{3+} 储备液, 使得培养液中 La^{3+} 浓度分别为 1 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 和 5 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, 定期取样分离测定藻体中 La^{3+} 的量.

取一定体积已测定吸光度值的混合藻液离心, 弃上清液, 以去离子水冲洗藻体, 再次离心, 如此反复 3—4 次, 确保藻体表面的 La^{3+} 被冲洗干净. 离心后的藻液经 0.45 μm 的微孔滤膜用真空泵抽滤, 将抽滤后得到的藻体用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 法硝化后加热近干, 再用去离子水稀释至 10ml, 用 ICP-AES 法测定含量.

2 结果与讨论

2.1 La^{3+} 对微囊藻的生长效应

La^{3+} 在不同添加浓度下, 微囊藻的生长动力学曲线示于图 1. 由图 1 可见, 当 La^{3+} 的添加浓度小于 2 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 时, 微囊藻的生长被促进, 当 La^{3+} 的添加浓度大于 2 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 时, 微囊藻的生长受到抑制. 由图 1 还可以看出, 微囊藻的生长曲线近似于指数函数曲线, 可以用指数函数方程来拟合:

$$y = A \cdot e^{kt} \quad (1)$$

式中, y 为微囊藻细胞的浓度 ($\times 10^6$ 个 $\cdot\text{ml}^{-1}$); k 为微囊藻的生长速率常数 (d^{-1}); A 为指前因子, 表征微囊藻的外推初始浓度 ($\times 10^6$ 个 $\cdot\text{ml}^{-1}$); t 为时间 (d).

对式(1)两边取对数: $\ln y = \ln A + k \cdot t$,

$\ln y$ 与时间 t 成线性关系. 对 La^{3+} 在不同添加浓度培养液中微囊藻的生长动力学曲线进行线性回归, 可以得到微囊藻的外推初始浓度 A , 生长速率常数 k 和相关系数 r , 结果见表 1.

由拟合结果可知, 相关系数 r 均在 0.95 以上, 故生长曲线能满足指数函数方程 $y = A \cdot e^{kt}$ 的形式, 且 $k_{0.5} > k_1 > k_2 > k_{\text{对照}} > k_5 > k_{10} > k_{20}$. La^{3+} 对微囊藻生长效应的机理可能为, 藻细胞内少量的镧能改善和增强光合器官的结构、功能和活性, 促进藻细胞代谢和对营养物质的吸收, 从而促进藻的生长. 而当镧的量增加到一定量或更大时, 镧就

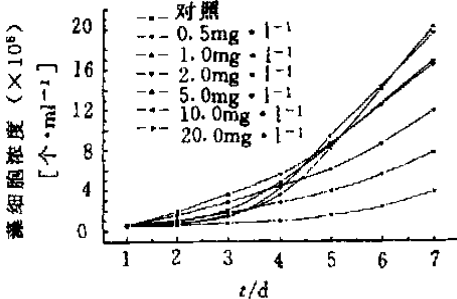


图 1 La^{3+} 对微囊藻的生长效应动力学曲线
Fig. 1 Kinetic curve on the growth of *Microcystis* under the effect of La^{3+}

会以竞争底物结合活性中心，取代活性中心 Ca^{2+} ，竞争 Mg^{2+} 并取代 Mg^{2+} 等多种方式对腺苷酸环化酶、RNA 合成酶、胶原酶、谷氨酸合成酶等的活性进行抑制，从而抑制藻的生长^[2]。

表 1 不同浓度的 La^{3+} 培养液中微囊藻生长曲线动力学参数 (28℃)

Table 1 Kinetic parameters of growth curve of *Microcystis* at different concentration of La^{3+}

浓度/ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	对照	0.5	1	2	5	10	20
$A(\times 10^6)/\text{个}\cdot\text{ml}^{-1}$	0.5307	0.6314	0.9491	0.5778	0.4647	0.4278	0.3526
k/d^{-1}	12.1955	12.5897	12.4465	12.3447	12.0201	11.9905	11.5583
r	0.9650	0.9854	0.9904	0.9893	0.9752	0.9891	0.9919

2.2 微囊藻对 La^{3+} 的富集

以富集值对时间作图，得到微囊藻富集 La^{3+} 的动力学曲线，结果示于图2。由图2可以看出，初始阶段藻体中的 La^{3+} 量急剧上升，在 La^{3+} 加入体系后约40h就能达到各自平衡时富集量的70%和75%左右，然后随着时间的推移缓慢上升达到平衡。开始可能是表面吸附起主导作用， La^{3+} 与细胞膜发生配合反应而结合，因而吸附较快，随后 La^{3+} 由表面向细胞内部缓慢迁移，因而速度较慢。这一吸附动力学过程可由表面配位模型 (Surface Coordination Model)^[3] 来解释。

由表面配位模型，以 La^{3+} 在藻体中的富集值 C_t 对时间 t 作图，得到方程(2)，(3)。

$$1\text{mg}\cdot\text{l}^{-1} \quad C_t = 12.74X(1 - e^{-0.12t}) \quad r = 0.9358 \quad (2)$$

$$5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1} \quad C_t = 67.75X(1 - e^{-0.72t}) \quad r = 0.9123 \quad (3)$$

式中， C_t 为 t 时刻 La^{3+} 在微囊藻中的富集值 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)； t 为时间 (h)； r 为相关系数。

以上两式均有较好的相关系数，表明该模型能很好地解释微囊藻富集 La^{3+} 的动力学过程。因此，微囊藻对 La^{3+} 的吸附可能以物理吸附为主，由于藻细胞质膜两侧的难度之差进入细胞内。为表征微囊藻对镧的富集能力，可以求出富集系数 C_F ($C_F =$ 藻体中 La^{3+} 含量 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)/溶液中 La^{3+} 的初始浓度 ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$))，见表2。

表 2 微囊藻对不同浓度的培养液中 La^{3+} 的富集系数 C_F (28℃)

Table 2 C_F of *Microcystis* at different concentration of La^{3+}

浓 度	10h	24h	36h	48h	60h	72h	96h	120h	144h
$1\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}(\times 10^3)$	3.47	15.12	20.56	22.98	24.85	25.36	25.68	25.69	25.71
$5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}(\times 10^3)$	3.89	15.58	22.47	25.8	27.09	27.96	28.65	28.87	28.95

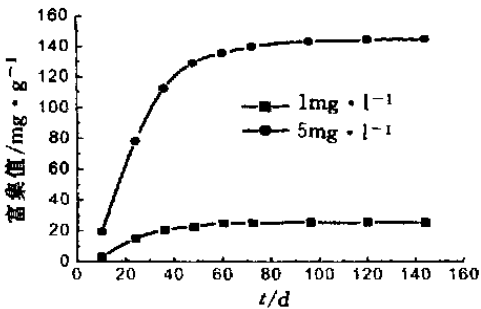


图 2 不同 La^{3+} 浓度时微囊藻的富集动力学曲线
Fig. 2 Kinetic accumulation curve of *Microcystis* at different concentration of La^{3+}

由表 2 可知,微囊藻对溶液中的 La^{3+} 有很强的富集能力,高浓度处理组中 La^{3+} 的富集量和富集系数均高于低浓度处理组.已有文献认为,藻对稀土元素的富集机制与对重金属的富集机制相似^[4].这可能是由于 La^{3+} 和培养液中的某些阴离子如: Cl^- , OH^- 等络合形成络阴离子,从细胞膜上的阴离子通道进入细胞内.又由于 La^{3+} 和 Ca^{2+} 具有很多共同的性质,因而可能经过 Ca^{2+} 专一的通道进入细胞,高浓度处理组进入的量多,反之低浓度处理组进入的量少^[2].

胡勤海等的研究表明,低浓度的 La^{3+} ($2\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) 对小球藻生长的影响不明显,实验初期对小球藻的生长略有刺激促进作用,随着处理浓度的提高, La^{3+} 对小球藻生长的抑制作用明显增强,至 $100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 时,小球藻基本停止繁殖增长^[5].新月藻对生长介质中的稀土 La^{3+} 有很强的富集能力,随着处理时间的延长,富集系数亦逐渐提高,最高可达 7562.5 ^[6].王晓蓉等的研究表明, La^{3+} 在 $0.1-1.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 范围内时,对小球藻的生长有促进作用.但当 La^{3+} 的浓度在 $2.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 时就表现出抑制作用^[7].

本实验结果表明,当 La^{3+} 的添加浓度小于 $2\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 时,对微囊藻的生长有促进作用,而当 La^{3+} 的添加浓度大于 $2\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 时,微囊藻的生长受到抑制,且微囊藻对 La^{3+} 的富集系数最高为 28950.由此可知,稀土对微囊藻的毒性和对小球藻的毒性大体相当,但是微囊藻对稀土 La^{3+} 的富集能力要远大于新月藻.

3 结论

(1) 当 La^{3+} 的添加浓度小于 $2\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 时,对微囊藻的生长有促进作用,且随着 La^{3+} 添加浓度的增大,这种促进作用逐渐减弱.当 La^{3+} 的添加浓度大于 $2\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 时,微囊藻的生长受到抑制.

(2) 微囊藻对 La^{3+} 的吸附可能以物理吸附为主,随着时间的延长,富集系数逐渐提高,达到平衡,这一吸附动力学过程可由表面配位模型来解释.

参 考 文 献

- [1] Sun Hao, Wang Xiaorong, Wang Qin et al., The Species of Spiked Rare Earth Elements in Sediment and Potential Bioavailability to Algae. *Chemosphere*. 1998, **36** (2): 329-337
- [2] 杨维东,王艇,雷衡毅等,稀土生物效应研究进展. *稀土*, 2000, **3** (6): 62-70
- [3] Laura Sigg, Surface Chemical Aspects of the Distribution and Fate of Metal Ions in Lakes. *Aquatic Surface Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc, 1978
- [4] 胡泗才,张晓敏,邱奕,硝酸稀土对几种水生藻类毒性的初步观察. *江西大学学报(自然科学版)*, 1984, (1): 22-24
- [5] 胡勤海,管丽莉等,稀土元素对小球藻生长的影响. *环境科学*, 1996, **17** (4): 36-38
- [6] 胡勤海,叶兆杰等,新月藻对稀土镧(La)的吸收富集. *浙江农业大学学报*, 1996, **22** (3): 241-243
- [7] 王晓蓉,孙昊等,La及其EDTA配合物在藻体中的富集和对其生长的影响. *南京大学学报*, 1996, (7): 460-465

THE KINETIC STUDY ON THE EFFECT OF LANTHANUM
ON THE GROWTH OF *MICROCYSTIS* AND THE
ACCUMULATION OF LANTHANUM BY *MICROCYSTIS*

LIN Jun LI Tao¹⁾ SHEN Hong ZHENG Zheng-hua ZHOU Pei-jiang

(Department of Environmental Sciences, Wuhan University, Wuhan, 430072)

SONG Li-rong SHEN Yin-wu LIU Yong-ding

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 430072)

ABSTRACT

In this paper, the kinetics process of the effect of rare earth element La^{3+} on the growth of *microcystis* and the accumulation of La^{3+} by *microcystis* were investigated. The results indicates that the growth of *microcystis* can be stimulated at below $2\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ of La^{3+} , and it was inhibited at above $2\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ of La^{3+} . The kinetics process of accumulation of La^{3+} by *microcystis* can be described by a surface coordination model.

Keywords: rare earth element La^{3+} , *microcystis*, accumulation, the effects on the growth of *microcystis*, surface coordination model.