

龙须菜对水体 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 的去除效率及其生理响应

吴小松, 黄鹤忠, 丁飞飞, 陈金凤

(苏州大学生命科学院, 苏州大学水产研究所, 江苏 苏州 215123)

摘要:通过室内实验,研究了龙须菜对水体 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 的去除效率及其部分生理生化指标的变化状况。结果显示,龙须菜对水体低浓度(0.05 mg/L) Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 的去除率分别达到了99.9%和93.1%;对较高浓度(0.5 mg/L) Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 的去除率分别为55.24%和86.15%;水体较高浓度(0.5 mg/L) Cu^{2+} 会导致龙须菜叶绿素 a、b 和藻红素的含量均显著下降($P < 0.05$),而高浓度(2.5 mg/L) Cd^{2+} 不会导致色素含量的显著下降;龙须菜对环境中 Cu^{2+} 的生理响应浓度也明显小于 Cd^{2+} ,藻体 SOD 活性出现峰值且 MDA 含量显著高于($P < 0.05$)对照组的浓度水平分别为 Cu^{2+} 0.05 mg/L 及 Cd^{2+} 0.5 mg/L。龙须菜更适宜作为对海水 Cd^{2+} 污染进行生物修复的植物。

关键词: 龙须菜;铜;镉;去除率;生理响应

中图分类号: X55, X820.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-3075(2009)05-0041-05

近年来,随着城市建设规模和工农业生产的发展,大量污水通过各种途径最终进入大海,导致近海环境中铜、镉等重金属离子的含量不断增高,并可进入食物链危害动物及人体健康(Sugiyama M, 1994)。因此,重金属对水体污染及由此造成的对水生植物的毒害已成为各国同行的研究热点之一(G F Leborans et al, 1996; Dursun AY et al, 2003)。利用海洋环境中的天然生物如大型海藻进行海洋环境的修复已日益受到人们重视(Rainbow PS et al, 1993; Volesky B et al, 1993)。本文旨在通过大型海藻龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)对 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 的去除率及其部分生理生化指标的研究,以探讨藻类对重金属的耐受机制,寻求利用大型海藻对海水重金属污染进行生物修复和环境监测的有效途径。

1 材料与方法

1.1 材料来源及其预培养

龙须菜采自福建海区,经空运带回实验室,选择健康藻体,以海水反复冲洗藻体去除表面附着物,放入略加改进的 f/2 培养液中预培养。培养条件为:水温(23 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,光照强度 2 000 lx,光照周期 12L:12D,盐度 25, pH 值 8.0。

1.2 实验设计

在 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 浓度对龙须菜生长影响的试验中

发现,龙须菜在 Cu^{2+} 浓度为 2.5 mg/L 的环境中 3 d 时,藻体即褪色发白、变软,6 d 时即死亡;而在相同浓度的 Cd^{2+} 环境下培养 6 d 时其藻体基本正常。因此,我们分别设置了 3 个 Cu^{2+} 浓度组(0.05、0.25、0.5 mg/L)和 3 个 Cd^{2+} 浓度组(0.05、0.5、2.5 mg/L)以及 1 个对照组(Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 浓度均为 0)进行实验,每组均分别设置 3 个平行,培养条件同预培养的条件。

1.3 实验方法

1.3.1 龙须菜对水体中 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 去除效率的测定 分别于实验后的第 4 天取各组水样 5 mL,密封保存,用等离子发射光谱仪(Vista MPX)测定水体中各重金属离子的含量。按以下公式计算龙须菜对水体中各重金属离子的去除率:去除率(%) = [(重金属离子的起始浓度 - 培养后重金属离子的浓度)/重金属离子起始浓度] $\times 100\%$ 。

1.3.2 龙须菜生理生化指标的测定 于实验后的第 6 天取各组实验藻体分别测定。

叶绿素含量的测定:采用丙酮提取,分光光度法测定 663 nm、645 nm 波长下的吸光值,单位为 mg/g(汤章城, 1999);藻红素(PE)含量的测定:参照达维斯 C, J(1989)的方法,测定 565 nm 处的吸光值,单位为 mg/g(达维斯 C J, 1989);丙二醛(MDA)含量测定:参照 Heath 等的硫巴比妥酸(TBA)比色法,单位为 $\mu\text{g/g}$ (Heath R L et al, 1968);SOD 活性的测定:参照氯化硝基四氮唑蓝(NBT)光化学还原法,以抑制 NBT 光化还原 50% 为 1 个酶活性单位,单位 NU/g(姜虎生等, 2005);POD 活性测定:参照愈创木酚方法,在 470 nm 下每隔 1 min 读一次吸光值,

收稿日期:2008-10-20

基金项目:江苏省社会发展项目(BS2002016)资助。

通讯作者:黄鹤忠, E-mail: suda-shui@163.com

作者简介:吴小松,女,1983年生,硕士研究生,主要从事水生生物和环境保护学研究。

以每分钟吸光值的变化表示酶的活性的大小,单位为 $\Delta 470\text{nm}/(\text{min} \cdot \text{g})$ (Kochba J et al, 1977)。

2 结果

2.1 龙须菜对水体中 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 的去除效率

从图1中可以看出,龙须菜对水体中 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 的去除效率均随金属离子浓度的升高呈下降趋势,但2种重金属离子去除效率的差异明显。在 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 浓度均为 0.05 mg/L 时的去除率分别达到了 99.9% 和 93.1% ,且对 Cu^{2+} 的去除率略高于 Cd^{2+} ;而 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 浓度均提高至 0.5 mg/L 时,龙须菜对 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 的去除率分别为 55.24% 、 86.15% ,且对 Cd^{2+} 的去除率显著高于 Cu^{2+} ($P < 0.05$);在 Cd^{2+} 浓度 2.5 mg/L 时的去除率也达 63.1% 。

2.2 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 浓度对龙须菜中叶绿素含量的影响

由图2、图3可见,当 Cu^{2+} 浓度为 0.05 mg/L 、 Cd^{2+} 浓度在 0.5 mg/L 以内时,龙须菜体内叶绿素a和叶绿素b的含量均高于对照组;随着 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 浓度的增加,叶绿素a、b的含量均呈现下降趋势。在高浓度 Cu^{2+} (0.5 mg/L) 处理下,叶绿素a、b含量较对照组显著下降 ($P < 0.05$),也显著低于 Cd^{2+} 在此浓度下的叶绿素a、b含量 ($P < 0.05$);但在高浓度 Cd^{2+} (2.5 mg/L) 处理下,叶绿素a、b含量较对照组虽有下降但不显著 ($P > 0.05$)。

2.3 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 浓度对龙须菜藻红素(PE)含量的影响

图4显示了藻红素含量随 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 浓度的升高均呈下降趋势,其中 0.5 mg/L Cu^{2+} 组的藻红素含量显著低于对照组 ($P < 0.05$),且显著低于 0.5 mg/L Cd^{2+} 组的藻红素含量水平 ($P < 0.05$)。

2.4 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 浓度对龙须菜 SOD 活性的影响

从图5中可看出,随着2种重金属离子处理浓度的增高,藻体SOD活性均呈现显著升高而后下降的变化过程,SOD活性出现峰值的处理浓度分别为 $0.05 \text{ mg/L}(\text{Cu}^{2+})$ 及 $0.5 \text{ mg/L}(\text{Cd}^{2+})$,且均显著高于对照组的SOD活性水平 ($P < 0.05$)。

2.5 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 浓度对龙须菜 MDA 含量的影响

由图6可见,随 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 处理浓度的升高,藻体MDA含量呈明显上升趋势,在 Cu^{2+} 处理浓度 0.05 、 0.25 、 0.5 mg/L 组和 Cd^{2+} 处理浓度 0.5 、 2.5 mg/L 组,藻体MDA含量显著高于对照组的水平 ($P < 0.05$)。

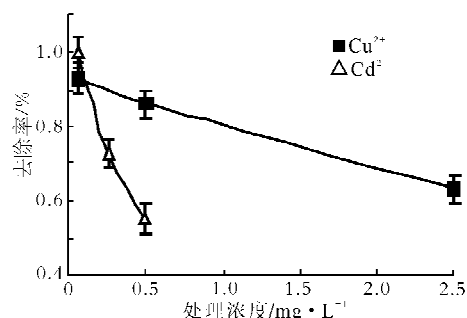


图1 龙须菜对 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 去除率

Fig.1 *G. lemaneiformis* to wipe off ratio of Cu^{2+} and Cd^{2+}

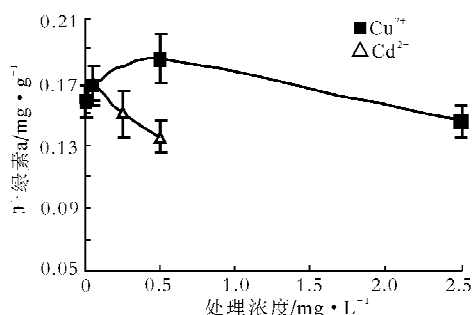


图2 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 浓度对龙须菜叶绿素a含量的影响

Fig.2 Effect on Chl. a content of *G. lemaneiformis* to diffeconcentrations of Cu^{2+} and Cd^{2+}

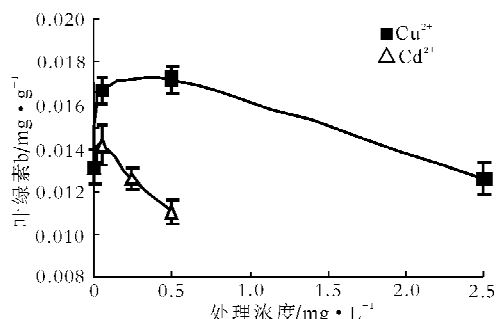


图3 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 浓度对龙须菜叶绿素b含量的影响

Fig.3 Effect on Chl. b content of *G. lemaneiformis* to different concentrations of Cu^{2+} and Cd^{2+}

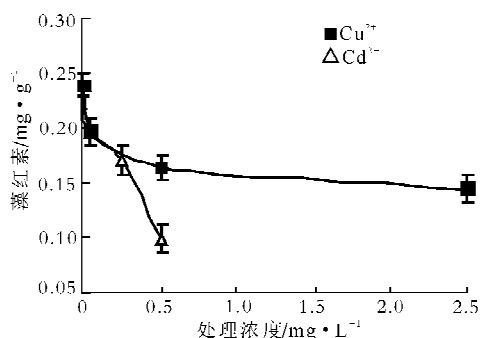


图4 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 浓度对龙须菜藻红素含量的影响

Fig.4 Effect on PE content of *G. lemaneiformis* to different concentrations of Cu^{2+} and Cd^{2+}

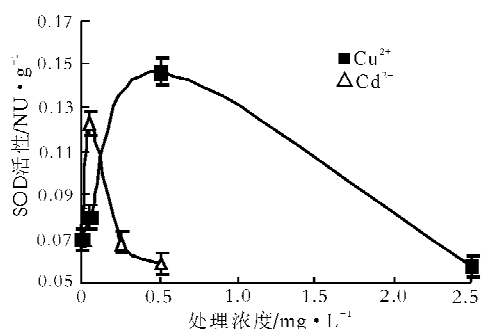


图 5 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 浓度对龙须菜 SOD 活性的影响

Fig. 5 Effect on SOD content of *G. lemaneiformis* to different concentrations of Cu^{2+} and Cd^{2+}

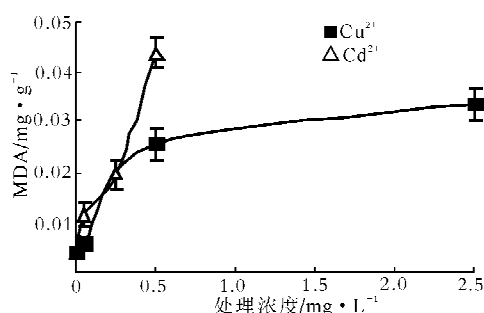


图 6 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 浓度对龙须菜 MDA 含量的影响

Fig. 6 Effect on MDA content of *G. lemaneiformis* to different concentrations of Cu^{2+} and Cd^{2+}

3 讨论

植物对环境中重金属离子的去除能力反映了该植物对重金属的生物修复能力,本实验结果显示了龙须菜对水体中 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 的去除率与该离子浓度呈负相关。龙须菜对低浓度 (0.05 mg/L) Cu^{2+} 有很高的去除率,这一浓度正是我国海水水质标准中的 IV、V 类水质限量水平,表明龙须菜对普通海水 Cu^{2+} 污染的生物修复具有一定的应用价值;龙须菜对 Cd^{2+} 的去除能力更强,对高浓度 Cd^{2+} (2.5 mg/L, 相当于我国海水水质标准中的 IV 类水质 Cd^{2+} 限量水平的 250 倍) 的去除率仍可达到 86.15%。因此,龙须菜是理想的对海水 Cd^{2+} 污染进行生物修复的植物。

本实验结果发现,叶绿素 a 和 b 含量在低浓度 (0.05 mg/L) Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 处理下比对照组有所升高,这与付世景等 (2007) 得出的低浓度 Cd^{2+} 促进叶绿素合成的结果是一致的,其原因有待进一步研究。而随着 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 浓度的升高,叶绿素 a 和 b 含量则呈明显下降趋势,且 Cu^{2+} 的负面作用更加显著。这可能是因为高浓度 Cu^{2+} 导致叶绿体片层中捕光 $\text{chl}a/b - \text{pro}$ 复合体合成受到抑制 (Alberte R S, 1997)。同时,本实验中较低浓度 (0.25 mg/L) 的

Cu^{2+} 处理即可导致龙须菜体内 SOD 活性显著下降,导致对 O_2^- 歧化能力减弱,大量的氧自由基不能迅速清除,破坏了线粒体和叶绿体的结构和功能,并造成色素蛋白被氧化,抑制叶绿素的合成,导致叶绿素破坏,从而造成叶绿素 a 和 b 含量下降,这将影响藻体的光合作用和正常生长发育 (李影等, 2006)。本实验结果表明,龙须菜的叶绿素 a、b 含量在 Cd^{2+} 高浓度 (2.5 mg/L) 处理组比低浓度处理组要低,这是由于过量的 Cd^{2+} 被植物吸收后,细胞内的重金属离子作用于叶绿素生物合成途径中酶的肽链中富含 -SH 的部分,改变了正常构型,抑制了酶的活性和阻碍了叶绿素的合成 (Somashekaraiah B V et al, 1992)。

红藻的光合色素是叶绿素和藻胆蛋白,藻胆蛋白包括藻红蛋白 (即藻红素, PE)、藻蓝蛋白 (PC) 和别藻蓝蛋白 (APC) (王广策等, 2004)。其中藻红蛋白在藻胆体复合结构中位于外端,既能直接吸收光能,作为天线色素参与光合作用,但同时又容易受环境因素的影响。本实验结果显示,随着 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 处理浓度的增大,藻红素 (PE) 的含量呈明显下降趋势,说明藻红素极易受到重金属的破坏,同时藻红素对 Cu^{2+} 的敏感性明显大于 Cd^{2+} 。

植物体内活性氧的清除主要由抗氧化酶系统和非酶性保护系统来完成。在各种清除系统中, SOD 处于第一道防线。作为一种抗性酶,其在高等植物的氧伤害、器官衰老及抗逆性中所起的作用已经得到证实 (罗通等, 2005)。SOD 作为超氧自由基清除剂,活性高低与植物的抗性大小有一定的相关性。本实验中显示,随着 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 处理浓度的逐渐升高,龙须菜 SOD 活性先显著升高而后下降。这可能是由于在低浓度 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 处理下所产生的活性氧能被 SOD 及时清除,保护细胞免受氧化胁迫的伤害;但在高浓度 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 处理下,活性氧的增加超过了正常的歧化能力,细胞内多种酶及膜系统遭到破坏,生理代谢紊乱, SOD 活性反而受到抑制而下降。活性氧清除系统的第一道防线的破坏,引发了活性氧的积累,进而引起膜脂过氧化,导致膜脂过氧化产物丙二醛 (MDA) 含量的增高 (苏玲等, 2000; Koeppe DE, 1997)。这与本实验中龙须菜体内丙二醛 (MDA) 含量随 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 处理浓度的增大而升高的结果是一致的。

4 结论

(1) 龙须菜对水体中低浓度 (0.05 mg/L) 的

Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 的去除率均很高,分别达到了 99.9% 和 93.1%;对水体较高浓度(0.5 mg/L) Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 的去除率有明显不同,分别为 55.24% 和 86.15%;对高浓度(2.5 mg/L) Cd^{2+} 的去除率也达 63.1%。因此,相比而言,龙须菜更适宜作为对海水 Cd^{2+} 污染进行生物修复的植物。

(2) 水体低浓度(0.05 mg/L) Cu^{2+} 或 Cd^{2+} 环境下,龙须菜叶绿素 a 和 b 含量均有一定的提高但不显著($P > 0.05$);而在水体较高浓度(0.5 mg/L) Cu^{2+} 环境下,会导致龙须菜叶绿素 a、b 和藻红素的含量均显著下降($P < 0.05$);环境 Cd^{2+} 浓度从 0.5 mg/L 至 2.5 mg/L 条件下,龙须菜叶绿素 a、b 和藻红素含量均无显著下降。说明龙须菜的上述光合色素对 Cd^{2+} 胁迫的适应性好于对 Cu^{2+} 。

(3) 随着环境中 Cu^{2+} 或 Cd^{2+} 浓度的逐渐升高,龙须菜 SOD 活性均呈现先显著升高而后下降的变化规律,同时其藻体的 MDA 含量呈明显上升趋势。但龙须菜对环境中 Cu^{2+} 的生理响应浓度明显小于 Cd^{2+} ,藻体 SOD 活性出现峰值且 MDA 含量显著高于($P < 0.05$)对照组的浓度水平分别为 Cu^{2+} 0.05 mg/L 及 Cd^{2+} 0.5 mg/L。

参考文献:

- 付世景,宗良纲,孙静克. 2007. 镉污染板蓝根生理指标的变化及其对镉积累的研究[J]. 安徽农业科学,35(3):649-651.
- 姜虎生,石德成. 2005. Hg、 Cd^{2+} 复合污染对玉米生理指标的影响[J]. 陕西农业科学,(6):7-9.
- 李影,刘登义. 2006. 铜对节节草生理代谢及抗氧化酶活性的影响[J]. 应用生态学报,17(3):498-501.
- 罗通,邓骞远,曾妮. 2005. Ag^+ 、 Pb^{2+} 对轮藻生理生化指标的影响[J]. 四川师范大学学报(自然科学版),28(6):723-726.
- 苏玲,章永松,林咸永,等. 2000. 维管植物的隔毒和耐性机制[J]. 植物营养与肥科学报,6(1):106-112.
- 汤章城. 1999 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:科学出版社:12.
- 王广策,邓田,曾呈奎. 2004. 藻胆蛋白的研究概况(I)-藻胆蛋白的种类与组成[J]. 海洋科学,24(2):22-24.
- 达维斯 C J. 1989. 海洋植物学[M]. 厦门大学植物生态研究室,译. 厦门:厦门大学出版:58.
- Alberte R S. 1997. Water stress effects on the content and organization of chlorophyll in Mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize[J]. Plant Physiol, 59: 351-353.
- Dursun AY, Ulsu G, Cuci Y, Aksu Z. 2003. Bioaccumulation of copper(II), lead(II) and chromium(VI) by growing *Aspergillus niger*[J]. Process. Biochem,38(10):1647-1651.
- G F Leborans, A Novillo. 1996. Toxicity and bioaccumulation of cadmium *Olisthodiscus luteus* (Raphidophyceae) [J]. Water Research, 30:57-62.
- Heath R L, Packer L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. Arch Biochem Biophys,125: 189-198.
- Kochba J, Lavee S, Spiegel P. 1977. Differences in peroxidase activity and isoenzymes in embryonic and non-embryonic *Shamouti orange* ovular callus lines [J]. Plant Cell Physiol, 18:463.
- Koeppel DE. 1997. The uptake, distribution and effect of cadmium and lead in plants[J]. Sci Tot Environ, 7:197-206.
- Rainbow PS, Phillips DJH. 1993. Cosmopolitan biomonitors of trace metals[J]. Mar Pollut Bull, 26: 593-601.
- Somashekaraiah B V, Padmaja K, Prasa R K. 1992. Phytotoxicity of cadmium ions germination seedling of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): Involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation [J]. Physiol Plant, 85: 85-89.
- Sugiyama M. 1994. Role of cellular antioxidants in metal-induced damage[J]. Cell Bio Toxicol, 10: 1-22.
- Volesky B, May H and Holan Z R. 1993. Cadmium biosorption by *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Biotechnol Bioeng, 41: 826-829.

(责任编辑 张俊友)

Phytoremediation and Physiological Response of Cu^{2+} , Cd^{2+} Contaminated Water by *Gracilaria lemaneiformis*

WU Xiao-song, HUANG He-zhong, Ding Fei-fei, CHEN Jin-feng

(Institute of Life Science, Suzhou University, Fisheries
Research Institute of Suzhou University, Suzhou 215123, China)

Abstract: Experiments of phytoremediation and physiologic index variability of *Gracilaria lemaneiformis* under the persecution of different Cu^{2+} and Cd^{2+} contaminated water were conducted. The results showed that, the respective efficiencies of removal were 99.9% and 93.1% when treated *G. lemaneiformis* with 0.05 mg/L Cu^{2+} and Cd^{2+} , the respective efficiencies of removal were 55.24% and 86.15% when treated with 0.5 mg/L Cu^{2+} and Cd^{2+} ; the high concentration Cu^{2+} (0.5 mg/L) led a significant decrease of PE and chlorophyll a and chl. b in *G. lemaneiformis*, while the high concentration Cd^{2+} (2.5 mg/L) didn't led an insignificant decrease; the concentration of physiological response of Cu^{2+} was lower than Cd^{2+} , the metal concentration levels that of SOD activity had a peak and the content of MDA had a significant increase was at 0.05 mg/L (Cu^{2+}) and 0.5 mg/L (Cd^{2+}) respectively. *G. lemaneiformis* is more suitable as a bioremediation plant to Cd^{2+} contaminated water.

Key words: *Gracilaria lemaneiformis*; Copper; Cadmium; Removal rate; Physiological response