Zn²⁺对藻类生物膜生长生理特性影响研究

刘翠霞¹, 胡智泉^{1*}, 郭雪白², 李婷¹, 邓蕾¹

1. 华中科技大学环境科学与工程学院, 湖北 武汉 430074; 2. 河南理工大学万方科技学院, 河南 郑州 451400

摘要: 利用自制的简易生物膜反应器, 在3 500 lx的光照和14:10的光暗比下, 以Zn²⁺为模式重金属, 利用模拟氮磷废水驯化培养鞘藻 (*Oedogonium* sp.) 使其形成藻类生物膜, 研究不同Zn²⁺浓度对鞘藻形成的藻类生物膜生长及生理特性的影响。综合考虑藻类对Zn²⁺的耐受范围, 选定模拟氮磷废水中Zn²⁺ 5个质量浓度水平: 1.0、3.0、5.0、10.0、20.0 mg·L⁻¹, 定时从反应器中取一定量的藻类生物膜, 测定以下生理生化指标: 叶绿素、超氧化物歧化酶 (SOD)、硝酸盐还原酶 (NR)、蛋白质及胞外多聚糖, 并以藻细胞干质量为基准。研究表明: 藻类生物膜对Zn²⁺有一定的耐受性, 且质量浓度为5 mg·L⁻¹的Zn²⁺对藻类生物膜的生长有明显的促进作用, 但当质量浓度增大至20 mg·L⁻¹时, 藻体大量死亡, 藻类生物膜生长明显受到抑制。Zn²⁺质量浓度为3 mg·L⁻¹的实验组对鞘藻的叶绿素含量有明显的促进作用, 而当Zn²⁺质量浓度为20 mg·L⁻¹时, 鞘藻内的叶绿素含量明显减少。不同Zn²⁺质量浓度对鞘藻的生理生化指标也表现出不同的作用, 其中SOD含量随着Zn²⁺质量浓度的升高明显受到抑制; 10 mg·L⁻¹的Zn²⁺对NR有明显的促进作用; 各实验组蛋白质含量在实验初期均有增加, 但随之又均有降低; 在实验前2 d, 20 mg·L⁻¹的Zn²⁺对胞外多聚糖有明显的促进作用, 其含量为对照的1.4倍。以上现象均表明藻类生物膜在重金属的作用下其生长代谢会发生一定的变化, 使藻类生物膜能够在一定重金属浓度范围内较好地生长, 为藻类生物膜的进一步利用奠定理论基础。

关键词: 藻类生物膜; 鞘藻; Zn²⁺; 生长生理特性

中图分类号: X173 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5906 (2013) 05-0838-06

引用格式: 刘翠霞, 胡智泉, 郭雪白, 李婷, 邓蕾. Zn²⁺对藻类生物膜生长生理特性影响研究[J]. 生态环境学报, 2013, 22(5): 838-843.

LIU Cuixia, HU Zhiqian, GUO Xuebai, LI Ting, DENG Lei. Effects of Zn²⁺ on the growth physiological characteristics of algal biofilm [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2013, 22(5): 838-843.

藻类生物膜是利用某些藻体易于附着在载体上并能形成很高生物量的特点进行藻体固定化的一种生物膜技术^[1]。近年来该技术已经发展成为一种新型的污水处理技术^[2-5], 与传统悬浮藻类处理污水技术相比, 藻类生物膜技术具有藻细胞浓度高、反应速率快、运行稳定可靠、藻类细胞易于收获及再利用等优势^[6], 而且收获的藻细胞还可以转化为生物能源^[7]。许多藻类对特定的重金属具较强富集能力, 因此可以筛选重金属整合能力强的藻株构建藻类生物膜用于重金属废水处理^[8-10]。大量研究^[11-13]表明: 悬浮藻体在某一重金属浓度范围内, 可以使生长代谢得到有效促进, 刺激藻细胞分泌更多抵御重金属的生化物质, 提高酶活性; 但当重金属达到一定的浓度时, 就对藻细胞的生长代谢产生抑制作用, 使其

形态发生畸变, 细胞分裂被阻止, 细胞内含物被破坏, 酶活性降低。但关于藻类生物膜可承受重金属浓度范围的研究还鲜少。因此, 本实验选用Zn²⁺作为模式金属, 研究不同浓度的Zn²⁺对藻类生物膜生长生理特性产生的影响, 揭示藻类生物膜与重金属的相互作用原理, 探寻其耐受重金属胁迫的生存策略与保护机制, 为藻类生物膜技术应用于重金属废水处理奠定理论基础。

1 实验

1.1 实验材料与仪器

藻种: 本实验所选的藻种为鞘藻 (*Oedogonium* sp.), 来自于中国科学院水生生物研究所, 采用BG11培养基进行培养。

单人净化工作台 (SW-CJ-1G), 苏州净化设备有限公司;

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2008ZX07012-005); 湖北省自然科学基金项目 (2010CDB01103); 中华环境保护基金会TOTO水环境基金项目

作者简介: 刘翠霞 (1987年生), 女, 硕士研究生, 主要从事藻类生物膜技术研究。E-mail: dy0323@126.com

*通信作者: 胡智泉 (1971年生), 男, 副教授, 硕士生导师, 主要从事藻类环境生物学与生态修复研究。E-mail: zhiquanhu@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012-11-20

紫外可见分光光度计 (752), 上海菁华科技仪器有限公司;

电子天平 (FA2004), 北京赛多利斯仪器系统有限公司;

手提式不锈钢蒸汽消毒器 (YX280A), 上海三申医疗器械有限公司;

高速离心机 (TGL-20M), 长沙平凡仪器仪表有限公司。

1.2 实验装置

本实验采用简易藻类生物膜装置, 如图 1a) 所示的 3 L 烧杯作为藻类生物膜生长的容器, 烧杯中放入图 1b) 所示的弹性填料, 填料重 20 g, 直径 15 cm, 长度 20 cm。

图 1a) 简易实验装置

Fig.1a) Simple environmental setup

图 1b) 弹性填料

Fig.1b) Elastic packing

1.3 实验方法

1.3.1 藻类挂膜及驯化

将处于对数增长期的鞘藻液平均分成6份, 每份200 mL, 加入藻类生物膜装置中, 再加入 2.8 L BG11培养基, 用玻璃棒将藻液搅拌均匀进行静态培养。在装置一侧安装4 盏20 W的荧光灯管进行光照培养, 光照强度为3 500 lx, 光暗比 14 : 10, 室温。鞘藻在BG11培养基中静态培养7 d, 然后加入模拟氮磷污水 (表1) 进行驯化培

表 1 模拟氮磷污水配制

Table 1 Preparation of simulated nitrogen and phosphorus wastewater

药品名称	ρ /(mg·L ⁻¹)
葡萄糖	169
蛋白胨	169
NaCl	63
(NH ₄) ₂ SO ₄	63
KH ₂ PO ₄	44
NaHCO ₃	94
MgSO ₄ ·7H ₂ O	94
CaCl ₂ ·2H ₂ O	31
FeSO ₄ ·2H ₂ O	2.2

养, 每天用模拟氮磷污水置换出0.5 L的培养基, 连续置换6 d, 最后用模拟氮磷污水将培养基全部置换, 稳定1—2周, 直至在填料上形成长势良好的藻类生物膜。

1.3.2 Zn²⁺对藻类生物膜生长的影响实验

称取七水硫酸锌 1.96 g, 溶于 500 mL 蒸馏水中, 配制成含 Zn²⁺的母液。首先在 6 组烧杯中加入模拟氮磷污水 3 L, 然后分别加入含 Zn²⁺的母液 0、3、9、15、30、60 mL, 配制成 Zn²⁺质量浓度为 0、1.0、3.0、5.0、10.0、20.0 mg·L⁻¹ 梯度系列。

用配制好的Zn²⁺梯度系列污水置换出模拟氮磷污水, 摇匀。同时, 取样测定鞘藻的初始生理指标, 并记录。保证鞘藻生物膜的生长条件为光照强度3 500 lx、光暗比14 : 10、室温。每隔24 h 取样, 测定鞘藻的生理指标。

1.3.3 藻类生物膜生理指标测定

(1) 样品制备。从藻类生物膜装置中取一定量的鞘藻, 加入 60 mL 蒸馏水稀释, 搅拌, 打散藻细胞; 摇匀, 分别取 3 mL 于离心管和称量瓶中, 测定叶绿素和藻细胞干质量浓度; 取 10 mL 用于测定胞外多聚糖含量; 剩余藻液用超声波粉碎 5 min, 离心, 取上清液测定硝酸盐还原酶、蛋白质以及超氧化物歧化酶 (SOD)。在以上过程中, 保证藻类处于冰浴中。

(2) 测定方法。干质量的测定: 取 3 mL 藻液放入已称质量的称量瓶中, 把称量瓶放入烘箱中 2 h 后, 取出放入干燥器中, 待冷却至室温后称质量, 根据前后差值计算藻细胞的干质量浓度。

叶绿素的测定^[14]: 采用丙酮提取——分光光度法测定叶绿素。取预处理藻液各 3 mL, 离心 (9 000 r·min⁻¹, 10 min) 后去上清液收集藻细胞, 加入 90%的丙酮 3 mL 浸泡于 10 mL 具塞离心管中, 充分振荡, 于 4 °C 黑暗下提取 24 h, 离心后取上清液, 分别在 630、645、665 nm 波长下测定吸光度。并根据下式计算: 叶绿素总量 = 11.6 A_{665 nm} - 0.14 A_{630 nm} - 1.31 A_{645 nm}。

蛋白质的测定^[15]: 采用考马斯亮蓝法测定。取 5 mL 的具塞试管数支, 准确加入 1 mL 样品提取液, 空白试验用蒸馏水代替样品提取液, 然后分别加入 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 试剂, 充分混合, 放置 2 min 后, 以空白做参比, 在 595 nm 波长下比色, 记录吸光度。

超氧化物歧化酶 (SOD) 的测定^[16]: 采用氮蓝四唑 (NBT) 光化还原法。取 5 mL 具塞试管数支, 其中 2 支为对照管, 按下列顺序加入各溶

液: $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液 1.5 mL , $130 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Met 溶液 0.3 mL , $750 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NBT 溶液 0.3 mL , $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA- Na_2 液 0.3 mL , $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 核黄素 0.3 mL , 酶液 0.3 mL (2支对照管以缓冲液代替酶液), 总体积 3.0 mL 。混匀后将1支对照管置暗处, 其他各管于 4000 lx 日光下反应 20 min (要求各管受光情况一致, 温度高则时间缩短, 低时则延长)。至反应结束后, 以不照光的对照管做空白, 分别测定其他各管的吸光度。

硝酸盐还原酶(NR)的测定^[17]: 吸取 3 mL 藻类提取液, 加入 3 mL KNO_3 , 置于暗处反应 30 min 后, 吸取反应液 1 mL 与试管中, 加入磺胺试剂 2 mL 和 α -萘胺试剂 2 mL , 混合均匀, 静置 30 min , 蒸馏水做参比, 用分光光度法在 520 nm 处进行测定。

胞外多聚糖的测定^[18]: 藻体细胞中的胞外多聚糖有两类, 分别是胶质状和胶囊状的胞外多聚糖, 需要采用不同的方法进行提取, 胶质状的胞外多聚糖是松散的依附于藻体细胞上, 胶囊状的胞外多聚糖是比较紧密的固定在藻体细胞上, 需要借助 EDTA 的帮助才能提取。

以下是采用改进的方法分别提取两种类型的胞外多聚糖, 取 10 mL 藻液于锥形瓶中, 放入摇床中摇动 1 h , 保温 $30 \text{ }^\circ\text{C}$, 离心, 取上清液 1 mL , 测定胶质状胞外多聚糖含量, 然后于沉淀物中加入 $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA 5 mL , 放置在室温中 3 h , 离心, 取上清液测定胶囊状胞外多聚糖。胞外多聚糖的测定采用苯酚-硫酸比色法。

1.3.4 数据处理

每组样品平行测定3次, 采用SPSS 18.0软件

对数据进行处理, 叶绿素、SOD、NR、蛋白质及胞外多聚糖分别以藻细胞干质量为基准, 得出质量浓度, 处理结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。对数据进行ANOVA分析, $P<0.05$ 为组间差异显著, $P<0.01$ 为差异极显著。

2 结果

2.1 Zn^{2+} 对藻类生物膜生长的影响

各实验组 8 d 后藻类生物膜生长情况及不同浓度的 $\rho(\text{Zn}^{2+})$ 对鞘藻叶绿素含量的影响分别见图 2、3。

由图 2 可见, 对照组和 5 个实验组中的鞘藻在第 8 天时的生长情况有比较明显的差别, 其中生长较好的为第 3 组, 即 $\rho(\text{Zn}^{2+})$ 浓度为 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 生长最差的为第 5 组, 即 $\rho(\text{Zn}^{2+})$ 浓度为 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 该组大量的藻体已经死亡; 第 2 组和第 4 组的生长情况比第 1 组和对照组的生长情况相对较好, 由图 3 可见, $\rho(\text{Zn}^{2+})$ 浓度小于等于 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的各实验组与对照组的叶绿素含量在实验的前 3 d, 各组之间的差异性不显著 ($P>0.05$), 在之后的 5 d 内, 各组的差异性极显著 ($P<0.01$); 且在实验初期, $\rho(\text{Zn}^{2+})$ 浓度为 $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的实验组对鞘藻的叶绿素含量有明显的促进作用, 而 $\rho(\text{Zn}^{2+})$ 浓度为 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的实验组对鞘藻的生长产生明显的抑制作用, 使鞘藻内的叶绿素含量逐渐减少。

这说明低浓度的 Zn^{2+} 模拟废水对藻类生物膜的生长有很好的促进作用, 但当 Zn^{2+} 浓度过高时, 就会对藻类的生长产生抑制作用, 降低藻细胞内叶绿素的含量, 使藻体大量死亡。

2.2 Zn^{2+} 对藻类生物膜生理生化特性的影响

在藻类的生长过程中, 藻体会依靠光合作用

图2 各实验组 8 d 后的藻类生物膜生长情况

Fig.2 The growth condition of algal biofilm after 8 days

图3 Zn²⁺对鞘藻叶绿素含量的影响

Fig.3 The effects of Zn²⁺ on the chlorophyll content in *Oedogonium* sp.

合成一些自身生长所需的生物物质, 例如, 蛋白质、胞外多聚糖、硝酸还原酶 (NR)、超氧化物歧化酶 (SOD) 等等。不同浓度的Zn²⁺对鞘藻中NR、SOD、蛋白质及胞外多聚糖含量的影响分别见图4、5、6、7。

由图4可见, 在实验前4 d, Zn²⁺浓度为1和3 mg·L⁻¹的2组对鞘藻SOD含量有明显的促进作用

图4 Zn²⁺对鞘藻SOD含量的影响

Fig.4 The effects of Zn²⁺ on the SOD content in *Oedogonium* sp.

图5 Zn²⁺对鞘藻硝酸盐还原酶含量的影响

Fig.5 The effects of Zn²⁺ on the nitrate reductase content in *Oedogonium* sp.

图6 Zn²⁺对鞘藻蛋白质含量的影响

Fig.6 The effects of Zn²⁺ on the protein content in *Oedogonium* sp.

图7 Zn²⁺对鞘藻胞外多聚糖含量的影响

Fig.7 The effects of Zn²⁺ on the exocellular polysaccharide content in *Oedogonium* sp.

用, 其余4组差异较小 ($P>0.05$), 且各组均呈现上升趋势; 但第4天到第8天, 在Zn²⁺的作用下, 鞘藻SOD的含量均呈现下降趋势, 且与对照组差异显著 ($P<0.05$), 到第8天时差异极显著 ($P<0.01$)。由图5可见, 当浓度低于10 mg·L⁻¹时, Zn²⁺对鞘藻中硝酸盐还原酶有明显的促进作用, 硝酸盐还原酶的变化近似呈现M型, 但各组含量均低于对照组, 实验前4 d, 差异性不显著 ($P<0.05$); 浓度为20 mg·L⁻¹时, 藻体中硝酸盐还原酶含量呈现直线下降趋势, 实验第8天, 各组之间差异性极显著 ($P<0.01$)。由图6可见, Zn²⁺对鞘藻细胞中蛋白质的含量有一定的影响, 在实验的前2 d, 各组藻体中蛋白质的含量均有增加, 且均高于对照组, 组间没有显著性差异 ($P>0.05$), 但实验的第4天, 藻体中蛋白质的开始发生不同的变化, 且均有不同程度的下降, 低于对照组, 各组之间差异显著 ($P<0.05$); 实验后期, 所有实验组蛋白质含量均呈现下降趋势。由图7可见, 实验初期, 各组藻体中胞外多聚糖含量均呈现上升趋势, 且均高于对照组, 尤其是

处理的最高 Zn^{2+} 浓度为 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,胞外多聚糖含量最高,为对照的1.4倍。但 Zn^{2+} 浓度大于 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的实验组在第2天之后,胞外多聚糖含量均开始下降,浓度越高,下降速率越大,其余几组也有不同的变化,各组之间差异性显著($P<0.05$)。

这说明藻类在 Zn^{2+} 模拟废水的刺激下表现出不同的生理生化特性,其表现在藻体中各种生化物质含量的变化。从以上结果可知,当藻体刚接触 Zn^{2+} 时,各种生化物质的含量均开始增加,使藻类能够适应 Zn^{2+} 模拟废水,抵御 Zn^{2+} 的毒害。但随着时间的加长,各种生化物质的含量发生了不同的变化,SOD在实验后期受 Zn^{2+} 的影响较为明显,高浓度的 Zn^{2+} 抑制了NR的合成,高浓度的 Zn^{2+} 对蛋白质和胞外多聚糖的合成影响较大。

3 讨论

叶绿素是反映藻体的生长状态的重要指标之一,其含量可以指示藻体中各个器官的生理状况,反应藻体光合作用的强弱^[19]。NR和SOD是藻体在生长中所需要的一些主要酶类,它们的含量受外界条件及藻体生长状况的影响^[20-21]。蛋白质和胞外多聚糖对藻细胞抵御外界一些有毒有害物质有很大的帮助,而且它们还是藻细胞壁的重要组成物质。

本文通过研究不同浓度 Zn^{2+} 对藻类生物膜生长状况及鞘藻中叶绿素、NR、SOD、蛋白质、胞外多聚糖含量的影响,得出藻类生物膜对 Zn^{2+} 呈现出一定的耐受能力。藻类生物膜在低浓度的 Zn^{2+} 环境下,表现出较好的生长状况,且能够刺激藻细胞合成更多的叶绿素,提高光合作用效率,但过高浓度的 Zn^{2+} 导致叶绿素含量降低,藻体大量死亡,有研究^[22]表明,高浓度的重金属会增加叶绿素酶活力,加速叶绿素的分解,使其含量降低。藻类生物膜在不同浓度的 Zn^{2+} 环境中,为了防御 Zn^{2+} 对藻细胞产生毒害,给其生理活动带来伤害,藻细胞中某些生化物质的合成会发生变化,藻体细胞合成的胞外多聚糖一方面可以增加细胞的厚度阻碍 Zn^{2+} 的侵入,另一方面又可以与 Zn^{2+} 发生络合反应,使 Zn^{2+} 离子不能进入藻细胞内部,同时又降低了水体中的 Zn^{2+} 含量^[23]。某些蛋白质如金属硫蛋白也可以通过巯基与 Zn^{2+} 结合,从而降低 Zn^{2+} 对藻细胞的毒性^[24]。

因此本文的结果可以表明,由于重金属对藻类生物膜有毒害作用,藻类生物膜在长期响应重金属胁迫过程中,建立起一系列的适应和解毒机制,不仅可以使藻类生物膜能够适应重金属离子

环境,又能降低水体中重金属离子浓度,达到净化水质的效果,有研究^[25]表明,藻体处理的重金属浓度通常在 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下,以 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右居多,这是因为藻类对重金属的耐受性有一定限度。所以进一步研究藻类生物膜对一定浓度重金属废水的处理效果,为重金属治理提供一条新的“绿色”途径具有重要意义。

4 结论

通过比较不同浓度 Zn^{2+} 对藻类生物膜生长状况及鞘藻中叶绿素、NR、SOD、蛋白质、胞外多聚糖含量的影响结果可以显示:藻类生物膜对 Zn^{2+} 有一定的耐受性,浓度为 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Zn^{2+} 对鞘藻的叶绿素含量有明显的促进作用,而浓度增大至 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,藻类生物膜的生长受到明显的抑制;SOD含量随着 Zn^{2+} 浓度的升高明显受到抑制, $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Zn^{2+} 对NR有明显的促进作用,各处理组蛋白质含量在实验初期均有增加,但随之又均有降低,在实验前2d, $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Zn^{2+} 对胞外多聚糖有明显的促进作用,其含量为对照的1.4倍。以上现象均表明藻类生物膜在重金属的作用下其生长代谢会发生一定的变化,使藻类生物膜能够在一定重金属浓度范围内较好地生长,为藻类生物膜的进一步利用奠定理论基础。

参考文献:

- [1] ABE K, MATSUMUR I, IMAMAKI A. Removal of inorganic nitrogen sources from water by the algal biofilm of the aerial microalga *Trentepohlia aurea*[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2003, 19: 325-328.
- [2] 孔进,李智,刘连光.固定藻技术在污水处理领域的研究进展[J].*山东建筑大学学报*, 2010, 25(1): 79-84.
- [3] 马沛明,况琪军,凌晓欢,等.藻类生物膜技术脱氮除磷效果研究[J].*环境科学*, 2007, 28(4): 742-746.
- [4] N C BOELELE, H TEMMINK, M JANSSEN. Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater effluent using microalgal biofilms[J]. *Water Research*, 2011, 45: 5925-5933.
- [5] IGNACIO DE GODOS, HÉCTOR O GUZMAN, et al. Coagulation/flocculation-based removal of algal-bacterial biomass from piggery wastewater treatment[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102: 923-927.
- [6] FENGLIAN FU, QI WANG. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review[J]. *Journal of Environmental Management*, 2011, 92: 407-418.
- [7] MAIGORZATA RAJFUR, ANDRAEJ KÍOS, MARIA WACÍAWEK. Sorption properties of algae *Spirogyra* sp. and their use for determination of heavy metal ions concentrations in surface water[J]. *Bioelectrochemistry*, 2010, 80: 81-86.
- [8] R JALALI H, GHAFOURIAN Y. Removal and recovery of lead using nonliving biomass of marine algae[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2002, B92: 253-262.
- [9] KAMRA ANIANA, ANUBHA KAUSHIK. Biosorption of Cr (VI) by immobilized biomass of two indigenous strains of cyanobacteria

- isolated from metal contaminated soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2007, 148: 383-386.
- [10] SHENG P X, TING Y P, CHEN J P, et al. Sorption of lead, copper, cadmium, zinc and nickel by marine algal biomass: Characterization of biosorptive capacity and investigation of mechanisms[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2004, 275(1): 131-141.
- [11] 杜青平, 黄彩娜. 1,2,4-三氯苯对 3 种海洋微藻的毒性效应[J]. *生态环境*. 2007, 16(2): 352-357.
- [12] CAI ZHPING, HUANG WEIWEI. Iron Concentration-Induced Changes in Growth and Biochemical Compositions of Marine Diatom *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae) [J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(4): 1327-1333.
- [13] TIANYI FENG, CHAO SONG, JIAZHANG CHEN. Indication Function of Aquatic Algae for Environment[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2012, 13(5): 1060-1066.
- [14] 路艳君, 姜爱莉, 窦柏蕊, 等. Cd(II)、Zn(II)对新月菱形藻生长及生化成分的影响[J]. *大连水产学院学报*, 2010, 2(25): 178-182.
- [15] ANA L WINTERS, FRANK R MINCHIN. Modification of the Lowry assay to measure proteins and phenols in covalently bound complexes[J]. *Analytical Biochemistry*, 2005, 346: 43-48.
- [16] GARDEN TORRESDEY J L, BECKER HAPAK M K, DARNALL D W. Effect of chemical, modification of algal carboxyl groups on metal ion binding[J]. *Environmental Science and Technology*, 1990, 24(9): 372-378.
- [17] E ROMERA, F GONZALEZ. Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98: 3344-3353.
- [18] 张道勇, 赵勇胜, 潘响亮. 胞外聚合物(EPS)在藻菌生物膜去除污水中 Cd 的作用[J]. *环境科学研究*, 2004, 5(17): 52-55.
- [19] 姜闻新, 贾永, 王从彦. Pb²⁺和 Ni²⁺对铜绿微囊藻生长的影响以及铜绿微囊藻对这两种重金属离子的吸附作用[J]. *环境化学*, 2010, 3(29): 551-552.
- [20] 牟文, 熊丽, 胡芹芹, 等. HgCl₂对斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)生理生化特性的影响[J]. *生态毒理学报*, 2009, 4(6): 854-859.
- [21] 孟范平, 李卓娜, 赵顺顺, 等. BDE-47 对 4 种海洋微藻抗氧化酶活性的影响[J]. *生态环境学报*, 2009, 18(5): 1659-1664.
- [22] 刘慧, 张宇宏, 张少斌, 等. Cd²⁺胁迫对螺旋藻生长、光谱特性及藻胆蛋白质量浓度的影响[J]. *生态环境*, 2007, 16(3): 767-770.
- [23] J VIRIDIANA GARCI'A-MEZA, CHRISTIANE BARRANGUE. Biofilm formation by algae as a mechanism for surviving on mine tailings[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, 24(3): 573-581.
- [24] JIANLONG Wang, CAN CHEN. Biosorbents for heavy metals removal and their future[J]. *Biotechnology Advances*, 2009, 27: 195-226.
- [25] 支田田, 程丽华, 徐新华, 等. 藻类去除水体中重金属的机理及应用[J]. *化学进展*, 2011, 23(8): 1782-1794.

Effects of Zn²⁺ on the growth physiological characteristics of algal biofilm

LIU Cuixia¹, HU Zhiquan^{1*}, GUO Xuebai², LI Ting¹, DENG Lei¹

1. School of Environmental Science and Engineering, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China

2. Wanfang College of Science and Technology, Henan Polytechnic University, Zhengzhou 451400, China

Abstract: Using simple biofilm reactor, under 3 500 lx illumination and ratio of light and dark of 14 : 10, algal biofilm was domesticated by simulate nitrogen and phosphorus wastewater. The algal species was *Oedogonium* sp.. The effects of different Zn²⁺ concentration on algal biofilm formed by *Oedogonium* sp. was evaluated by the growth and physiological property. Considering algal tolerance range of Zn²⁺, five concentration levels were selected: 1.0, 3.0, 5.0, 10.0, 20.0 mg Zn²⁺ per liter simulate nitrogen and phosphorus wastewater. A certain amount of algae biofilm was removed from the reactor regularly. The following physiological biochemical indexes were measured: Chlorophyll, Superoxide Dismutase (SOD), Nitrate Reductase (NR), Protein, Exocellular Polysaccharide. The dry weight was used as the standard. The results showed that: the algal biofilm could endure certain concentration of Zn²⁺. The Zn²⁺ concentration of 5 mg·L⁻¹ showed positive promotion effects on algal biofilm growth. When Zn²⁺ concentration increased to 20 mg·L⁻¹, inhibitory action was obvious. When Zn²⁺ concentration was 3 mg·L⁻¹, the content of algal chlorophyll was promoted. While the content was decreased under Zn²⁺ concentration increased to 20 mg·L⁻¹ obviously. The impact of Zn²⁺ on algal biofilm physiological property was different. The content of SOD was obviously restrained with Zn²⁺ concentration increased. The Zn²⁺ concentration of 10 mg·L⁻¹ showed positive promotion effects on the content of NR. In the initial stage of test, the content of Protein was increased. However, it was decreased in the last. In the first two days, the Zn²⁺ concentration of 20 mg·L⁻¹ showed positive promotion effects on the content of Exocellular polysaccharide. Its content was 1.4 times than the contrast. The above phenomenon showed that the growth and metabolism of algal biofilm would have some different changes under the impact of heavy metals. These changes could make the algal biofilm grow better under certain concentrations of heavy metals and provide the theoretical basis for the further use of algal biofilm.

Key words: algal biofilm; *Oedogonium* sp.; Zn²⁺; growth physiological characteristics