

# 叶绿素-a法测定滇池叶绿素-a生长变化案例研究

段刚<sup>1</sup>, 刘晓海<sup>1</sup>, 宁平<sup>2</sup>, 高云涛<sup>3</sup>, 杜刚<sup>3</sup>, 铁金刚<sup>3</sup>

(1. 云南省环境科学研究院, 云南 昆明 650034; 2. 昆明理工大学, 云南 昆明 650093;

3. 云南民族大学, 云南 昆明 650031)

**摘要:** 在滇池水域中取藻样, 过滤、接种在 MDM 培养基中, 置于光照温室中培养, 提取出叶绿素-a, 然后测定在不同波长下的吸光度值, 用叶绿素-a法计算公式计算出叶绿素-a含量。确定适宜的波长范围是用叶绿素-a法测定滇池叶绿素-a生长变化的关键。实验研究结果表明, 滇池藻类的叶绿素-a吸收光谱有两个最强的收区: 一个是在波长为 400~460 nm 的蓝紫光部分, 另一个是在波长为 640~660 nm 的红光部分。在这两个波段下, 可测定  $Fe^{2+}$  对滇池叶绿素-a生长的影响情况。

**关键词:** 叶绿素-a; 波长; 吸光度; 藻类; 滇池

**中图分类号:** X501 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-855X(2006)03-0061-03

## Case Study on Growth of Chlorophyll-a in Dianchi Lake by Chlorophyll-a Method

DUAN Gang<sup>1</sup>, LIXiao-hai<sup>1</sup>, NIPing<sup>2</sup>, GAO Yun-tao<sup>3</sup>, DU Gang<sup>3</sup>, TEJing-gang<sup>3</sup>

(1. Yunnan Institute of Environmental Science, Kunming 650034, China; 2. Kunming University of Science and Technology,

Kunming 650093, China; 3. Yunnan Nationalities University, Kunming 650031, China)

**Abstract:** The water samples are taken from Dianchi Lake. After filtered, it is inoculated in MDM, then it is put in glasshouse, the chlorophyll-a of algae is abstracted, the absorbance values of chlorophyll a are measured at the various wavelength, the content of chlorophyll a could be calculated with a formula. Therefore, to determine the suitable scope of wavelength in chlorophyll-a method was a key factor. The experimental results show that absorbance values are strong in the wavelength scope of 400~460 nm and 640~660 nm. The case study is carried out by adding  $Fe^{2+}$  into experiment sample for measurement effects of  $Fe^{2+}$  on chlorophyll-a in Dianchi Lake under these two wavelength scope.

**Key words:** Chlorophyll-a; wavelength; absorbance; algae; Dianchi

## 0 引言

滇池是中国最为重要的高原淡水湖泊之一, 素有“高原明珠”之称<sup>[1]</sup>, 20世纪80年代以来, 入湖污染物不断增加, 富营养化日趋严重, 导致湖内蓝藻不断繁殖<sup>[2]</sup>。1992年蓝藻水华大面积爆发, 造成鱼类死亡<sup>[3]</sup>。滇池水体富营养化带来的一个突出问题就是藻类水华的暴发。据有关研究表明, 近几年来滇池蓝藻水华发生频率和数量均明显增加<sup>[4]</sup>。

滇池水体日益严重的富营养化及蓝藻水华暴发问题已引起学术界和工程界的关注, 近期围绕富营养化成因、蓝藻水华暴发成因及防治措施相继报道了一些有价值的研究成果<sup>[5~9]</sup>。

藻类和其它一些水生植物的大量繁殖, 最终破坏了滇池的生态平衡。藻类是一类极其古老, 微小的原核生物, 长期的进化形成了极强的生态竞争优势。在通气条件下, 藻类的生长历程均经历4个时期: 即延滞

收稿日期: 2006-03-01. 基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目 (项目编号: 2002CB412310).

第一作者简介: 段刚 (1958~), 男, 高级工程师. 主要研究方向: 污染控制及环境影响评价. E-mail: librad@vip.sina.com

期、对数期、稳定期和下降期。在适合的环境条件下,即可获得最大生长率,并以指数级迅速生长。藻类含有叶绿素-a,能通过光合作用将无机物化为有机物。藻类细胞壁表面含有氧、氮和硫的官能团对金属离子有相当大的亲和性,从而能对金属离子进行吸附<sup>[10-11]</sup>。

通过测定在不同波长下叶绿素-a的吸光度值,发现叶绿素-a吸收光谱有两个最强的吸收区,在这两个吸收区波长下测定叶绿素-a的吸光度值,再用叶绿素-a法计算公式计算出叶绿素-a含量,可测定在叶绿素生长情况。通过在这两个波段下,加入  $Fe^{2+}$  到实验样品中,可测定其对滇池叶绿素生长的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

藻种样:采至滇池外海,用两层纱布过滤除去固体杂质,滤液于自然条件下保存备用。经分析其中计有蓝藻、绿藻、硅藻、甲藻和黄藻等 5 个门类,蓝藻和绿藻种类分别有 20 种和 38 种,两者数量占 90% 以上。

TFE 细菌滤膜;丙酮;硫酸亚铁溶液: 1 000.0 mg/L;MDM 培养基液成分见表 1。

IDL-40B 台式离心机(上海安亭科学仪器厂);WFJ-7200 可见分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司)。

表 1 MDM 培养基液成分

Tab 1 Ingredients in culture medium of MDM

成分	KNO <sub>3</sub>	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	NaCl	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O
浓度 / g · L <sup>-1</sup>	1.0	0.25	0.25	0.1	0.01

所用试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

### 1.2 方法

取 MDM 培养基液 100 mL,稀释到 1 L,用 1.0 mol/L NaOH 溶液调节 pH,使其与滇池外海(含藻样) pH 值相等(pH = 6.3),分别取 50 mL 于锥形瓶中,加入 10 mL 藻种样,用 PTFE 细菌滤膜包扎瓶口,于光照强度为 400050 LX,光暗比为 12 h 12 h,温度为 25 ℃ 的培养室中培养,根据所需培养周期取出在不同波长下测定藻体叶绿素 a 叶绿素-a的测定采用丙酮萃取-分光法测定。

取相应周期的藻体培养液,用离心机以 4 000 r/min 的速度离心 6 min,倾出上部清液,以 10 mL 丙酮室温下密封浸泡离心管底部藻体 24 h 取其上清液入 1 cm 的比色皿中,以丙酮作参比溶液,测定其在不同波长下的吸光度值 OD (为波长)。在同样的条件下,分别加入不同浓度的  $Fe^{2+}$ ,测定其在不同波长下的吸光度值 OD (为波长),通过下面的公式可计算出叶绿素-a含量 Chla<sup>[12]</sup>。

$$Chla(g/L) = (11.64OD_{669} - 2.16OD_{645} + 0.1OD_{630}) \times \frac{V_d}{V_c}$$

式中:  $V_d$  和  $V_c$  分别为丙酮的体积 (mL) 和过滤培养物体积 (mL)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 叶绿素-a法适宜波长范围的确定

藻类是一种单细胞的绿色植物,其体内含有叶绿体,而叶绿体是进行光合作用的主要细胞器,在叶绿体中含有叶绿素-a光波是一种电磁波,各种电磁波的波长不同,对光合作用有效的可见光的波长是在 400 ~ 700 nm 之间。而太阳光不是单一的光,到达地表的光是波长大约从 300 nm 的紫外光到 2 600 nm 的红外光,其中只有波长大约在 390 ~ 770 nm 之间的光是可见光<sup>[15]</sup>。

叶绿素-a对光的吸收有极强的能力,利用这一特点,分别测定了滇池藻类在 320 nm, 340 nm, 360 nm, 380 nm, 400 nm, 420 nm, 440 nm, 460 nm, 480 nm, 500 nm, 520 nm, 540 nm, 560 nm, 580 nm, 600 nm, 620 nm, 640 nm, 660 nm, 700 nm, 720 nm, 740 nm, 780 nm 这些波长下的吸光度值,测定结果表明,滇池藻类的叶绿素-a吸收光谱有两个最强的吸收区:一个是在波长为 400 ~ 460 nm 的蓝紫光部分,另一个是在波长为 640 ~ 660 nm 的红光部分,测定结果见图 1。

### 2.2 叶绿素-a法测定 $Fe^{2+}$ 浓度对滇池叶绿素生长的影响

加入不同  $Fe^{2+}$  到实验样品中,用检验叶绿素-a法测定在不同  $Fe^{2+}$  浓度条件和不同培养时间下,叶绿

素 -a 含量的变化情况, 结果见图 2, 3.

图 2 是不同浓度  $Fe^{2+}$  培养周期对滇池藻类生长光和作用的影响, 从图 2 可知, 滇池叶绿素 a 的量随培养时间的增加, 总体上是增加  $Fe^{2+}$  浓度在 30 mg/L 以下, 增长最快; 在其它浓度条件下, 其增长速度较慢.

图 3 为不同培养周期铁浓度对叶绿素 -a 的影响, 该图反映铁浓度对叶绿素 -a 影响的动态变化,  $Fe^{2+}$  对滇池叶绿素的促进或抑制作用在不同培养周期 (t) 条件下是不同的,  $Fe^{2+}$  的影响在不同的时间段具有不同的特点. 在前 3 天内, 随  $Fe^{2+}$  浓度的增加叶绿素 -a 增加不明显; 3 天后,  $Fe^{2+}$  浓度低于 30 mg/L 时, 随  $Fe^{2+}$  浓度的增加, 叶绿素 -a 含量也随之增加, 说明  $Fe^{2+}$  在 30 mg/L 以下对叶绿素 -a 的生长有促进作用. 而  $Fe^{2+}$  浓度高于 30 mg/L 时, 随  $Fe^{2+}$  浓度的增加, 叶绿素 -a 反而下降, 说明  $Fe^{2+}$  在 30 mg/L 以上对叶绿素 -a 的生长有抑制作用.

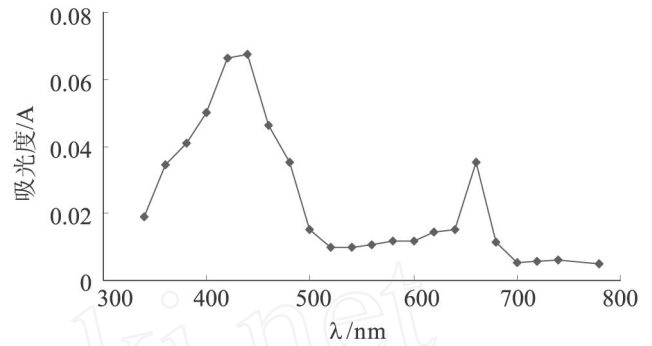


图1 吸光度与波长的变化曲线图

Fig.1 Variation curve of absorbency and wavelength

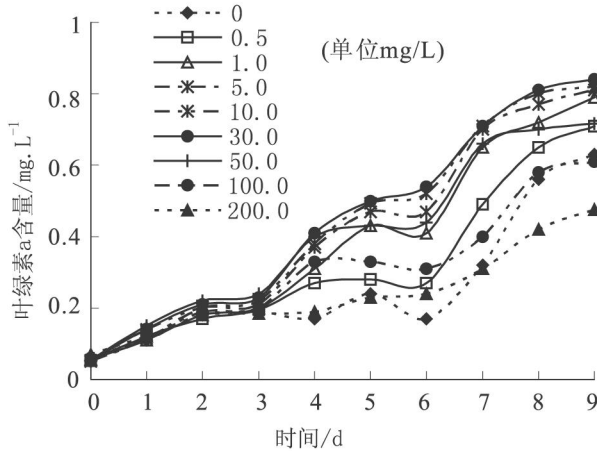


图2 培养时间与叶绿素a含量的关系

Fig.2 The relationship between cultivating time and Chlorophyll a

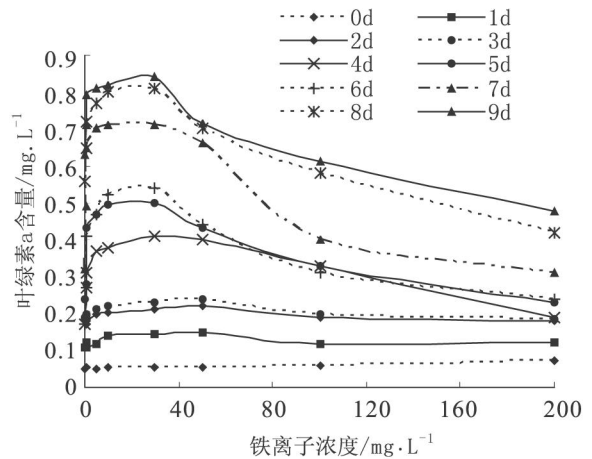


图3  $Fe^{2+}$  浓度和叶绿素-a含量之间的关系

Fig.3 The relationship between  $Fe^{2+}$  concentration and content of Chlorophyll a

### 3 结论

通过在实验溶液中加入  $Fe^{2+}$ , 可用叶绿素 -a 法研究  $Fe^{2+}$  对滇池叶绿素 -a 生长的影响情况.

#### 参考文献:

[1] 杨一光, 杨桂华. 滇池自然地理概要 [J]. 云南大学学报 (自然科学版), 1985 (增刊): 1 - 8

[2] 张海, 李原, 王若南. 滇池浮游植物的生物多样性调查研究 [J]. 云南大学学报 (自然科学版), 2005, 27 (2): 170 - 75.

[3] 李原, 张海, 王若南. 滇池水华蓝藻的时空变化 [J]. 云南大学学报 (自然科学版), 2005, 27 (3): 272 - 276

[4] 吴为梁. 滇池水体中主要藻种毒素研究 [J]. 云南环境科学, 1997, 16 (2): 26 - 29.

[5] 郑丙辉, 鄧永宽, 郑凡东, 等. 滇池流域生态环境动态变化研究 [J], 2002, 15 (2): 16 - 18, 33.

[6] 郭怀成, 孙延枫. 滇池水体富营养化特征分析及控制对策探讨 [J]. 地理科学进展, 2002, 21 (5): 500 - 506

[7] 吕晓玲, 徐清艳. 滇池污染现状、趋势及其综合防治对策 [J]. 闽江学院学报, 2002, 23 (2): 108 - 111.

[8] 王金南, 葛察中, 张勇, 等. 中国水污染防治体制与政策 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2003: 105 - 136

[9] 刘忠翰, 贺彬, 王宣明, 等. 滇池不同流域类型降雨径流对河流氮磷入湖总量的影响 [J]. 地理研究, 2004, 23 (5): 593 - 604

[10] Geoffrey Michael Gadd Biosorption [J]. Chemistry Industry, 1990 (3): 421 - 426

[11] KAPLAN D, TADLER T Algal biotechnology [M]. London: Elsevier Applied Science, 1988: 179.

[12] 朗波, 赵晓蕾. 灭藻剂评价方法的研究 [J]. 工业水处理, 2001, 21 (4): 27 - 29.