

一种评价重金属污染对大型海藻毒性效应的新方法^{*}

于志刚 张 经 史峰岩[†] 吴超元^{††}

(青岛海洋大学化学化工学院 青岛 266003)

[†] (华东师范大学河口海岸研究所 上海 200062)

^{††} (中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 提出一种监测污染物对大型海藻毒性效应的新方法。该方法仅需将在有害环境中生长或培养的大型海藻置于一封闭的、经0.45 μ m膜过滤的海水体系中,在一定条件下培养1h(设白、黑二瓶),之后测定白、黑二瓶pH值并计算其差值 $\Delta\text{pH}_{(0)}$,再同样测定对照组白、黑二瓶pH差值 $\Delta\text{pH}_{(c)}$,计算 $\Delta\text{pH}_{(0)}/\Delta\text{pH}_{(c)}$,则此计算值即可用来代表相对光合作用速率,并用于评价毒性效应大小。另外,还较详尽地论证了该方法的水化学依据。

关键词 光合作用 大型海藻 毒性效应 重金属

学科分类号 P734.2

在研究大型海藻的生长或评价污染物(如石油、重金属、农药等)对海洋大型藻类的毒性效应时,最常用的方法主要有称重法、测量体长法和光合速率法(Rueness,1987)。作为辅助手段,也有的研究者测定海藻膜透性(Axelsson *et al*, 1987)、叶绿素含量等(于志刚等,1994)。但实践表明,光合速率法和称重法仍是最为基本和可靠的方法,且以光合速率法的应用更为普遍,这是由于海洋大型藻类在受到污染物的毒害作用后,通常表现为光合作用速率降低,因此光合作用速率的大小可作为评价污染物对大型海藻毒性效应的指标。光合速率的测定一般应用测氧法,这需要使用溶氧仪或Wenkler滴定法,由于溶氧仪在一般实验室并不普及而Wenkler滴定法又较为繁琐,故光合速率法的应用常常受到限制。

本文提出一种通过测定海藻发生光合作用前后pH值的改变来代表海藻光合作用速率大小进而评价毒性效应的新方法,并介绍该方法的水化学依据。

1 材料、方法及其水化学依据

1.1 材料与方法

实验中所用材料为缘管浒苔(*Enteromorpha linza*)和孔石莼(*Ulva pertusa* Kjellm)。材料与海水均取自青岛太平角。光照培养在LRH-250G型生物培养箱(广东医疗器械厂)中进行,光照强度约为5000lx,温度为20 $^{\circ}\text{C}$ 。pH测定使用pHs-3c型数显酸度计(浙江萧山仪器厂)。

^{*} 国家自然科学基金资助项目,49206064号。于志刚,男,出生于1962年10月,副教授, Fax:0086-0532-2032799

收稿日期:1996-10-18,收修改稿日期:1998-07-16

将在不同环境中生长或培养的大型海藻取出并吸干水分,称取 1.0g 二份,分别置于 100ml 磨口锥形瓶中,用虹吸法注满经 0.45 μm 滤膜过滤的海水,盖紧瓶塞。设白、黑二瓶,于一定温度和光照条件下培养 1h,测定白、黑二瓶 pH 值并计算其差值 $\Delta\text{pH}_{(i)} = \text{pH}_{(i)\text{白}} - \text{pH}_{(i)\text{黑}}$ 。用同样方法测定并计算对照组白、黑二瓶 pH 值的差值 $\Delta\text{pH}_{(c)}$,则 $\Delta\text{pH}_{(i)}/\Delta\text{pH}_{(c)}$ 即为海藻的相对光合速率近似值,此值可用于评价毒性效应大小。

在进行本文方法和测氧法对比实验时,锥形瓶改用 250ml,每瓶中加入海藻 2.5g (仍保持 0.01g 海藻 / ml 海水),以保证有足够的海水用于同时测定 pH 和溶解氧。溶解氧用 Wenkler 法测定 (韩舞鹰, 1986)。重金属对海藻的毒性实验在 4L 水族箱中进行,培养液用 0.45 μm 膜过滤海水配制。每 2 天换一次培养液,培养密度为海藻 8g/L 海水。室温 (18—22 $^{\circ}\text{C}$),白色 40W (8 支) 日光灯照明 (约为 8 000lx),每天用充气泵通空气 6—8h,光/暗比为 12/12。

1.2 水化学依据

1.2.1 相对变化函数 RCF 的推导 考虑对大气封闭的海水体系,海水的碱度 $[Alk]$ 为:

$$[Alk] = C_T(\alpha_1 + 2\alpha_2) + [\text{OH}^-] - [\text{H}^+] + X \quad (1)$$

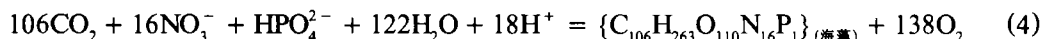
式中: $C_T = [\text{H}_2\text{CO}_3] + [\text{CO}_2 \cdot aq] + [\text{HCO}_3^-] + [\text{CO}_3^{2-}]$ 为体系的总二氧化碳, X 为其它形式弱酸盐 (如磷酸盐、硼酸盐、硅酸盐等) 对碱度的贡献。

$$\alpha_1 = ([\text{H}^+]/K_1 + 1 + K_2/[\text{H}^+])^{-1} \quad (2)$$

$$\alpha_2 = ([\text{H}^+]^2/K_1K_2 + 1 + [\text{H}^+]/K_2)^{-1} \quad (3)$$

K_1 、 K_2 分别为碳酸在海水中的二级和一级电离常数,它们是海水盐度 (S) 和温度 (T) 的函数 (斯塔姆等, 1981)。

将一定量大型海藻置于这样一个封闭的海水体系中,并假定按下式发生光合 (或呼吸) 作用:



光合 (或呼吸) 开始前以 “0”、结束以 “i” 表示,则据 (1) 式,光合 (或呼吸) 前后的 $[Alk]$ 可分别写成:

$$[Alk]_{(0)} = C_{T(0)}(\alpha_{1(0)} + 2\alpha_{2(0)}) + [\text{OH}^-]_{(0)} - [\text{H}^+]_{(0)} + X_{(0)} \quad (5)$$

$$[Alk]_{(i)} = C_{T(i)}(\alpha_{1(i)} + 2\alpha_{2(i)}) + [\text{OH}^-]_{(i)} - [\text{H}^+]_{(i)} + X_{(i)} \quad (6)$$

光合作用发生时, C_T 将降低,而溶解氧、pH 及 $[Alk]$ 均将升高;呼吸作用发生则反之。按 (4) 式,光合作用从海水中每同化 106mol CO_2 将吸收 18mol H^+ ,若不考虑过程中分泌的少量有机物的影响,并无 CaCO_3 沉淀形成 (控制 pH 值不要太高,例如 $\text{pH} < 9.0$),则该过程将导致 $[Alk]$ 升高 18mol。若按 (4) 式相反方向发生耗氧呼吸,则有 106mol CO_2 释放入海水中,并放出 18mol H^+ ,即使 $[Alk]$ 降低 18mol。此两种情况可统一表示为:

$$([Alk]_{(i)} - [Alk]_{(0)}) / (C_{T(i)} - C_{T(0)}) = -18/106 = A \quad (7)$$

硼酸盐和硅酸盐一般不参与大型底栖海藻的光合作用。磷酸盐虽参与光合作用,但由于本方法一般引起体系总二氧化碳变动 10%—20% (pH 改变 0.5—1.0),按海水中总二氧化碳为 2 100 $\mu\text{mol/L}$ 计,将导致体系总二氧化碳变动 210—420 $\mu\text{mol/L}$ 。据式 (7) 可估算体系碱度的改变为 36—72 $\mu\text{mol/L}$,而海水中的磷酸盐一般不会超过 1.0 $\mu\text{mol/L}$,即便全部耗尽也不致对碱度产生很大影响。因此 (1) 式中 X 项的影响可忽略。据此并联立式 (5)—(7) 可

得：

$$\begin{aligned} RCF &= -(C_{T(i)} - C_{T(0)}) / C_{T(0)} \\ &= \{[(\alpha_{1(i)} + 2\alpha_{2(i)}) - (\alpha_{1(0)} + 2\alpha_{2(0)})] + [([\text{OH}^-]_{(i)} - [\text{OH}^-]_{(0)}) - ([\text{H}^+]_{(i)} - [\text{H}^+]_{(0)})] / C_{T(0)}\} / (\alpha_{1(i)} + 2\alpha_{2(i)} - A) \end{aligned} \tag{8}$$

从(8)式可见, RCF 是光合(或呼吸)作用导致的体系总二氧化碳减少(或增加)的量占体系中原有总二氧化碳的百分数。光合作用发生使 $RCF > 0$, $\text{pH}_{(i)} > \text{pH}_{(0)}$; 呼吸作用发生时反之。 RCF 是海水 $\text{pH}_{(0)}$ 、总二氧化碳浓度 $C_{T(0)}$ 、温度、盐度、参数 A 及过程发生后之 $\text{pH}_{(i)}$ 的函数, 在海水确定(即 $C_{T(0)}$ 和 $\text{pH}_{(0)}$ 确定)、 A 值和实验温度一定的前提下, RCF 仅是光合(或呼吸)作用后海水 $\text{pH}_{(i)}$ 的函数。

1.2.2 影响相对变化函数 RCF 的因素 温度和盐度对 RCF 的影响是通过对 K_1 、 K_2 的影响而产生的, 经验式(张正斌等, 1989)为:

$$\lg K_1 = 13.7201 - 0.031334T - 3235.76/T - 1.300 \times 10^{-5} \times T \times S + 0.1032S^{0.5} \tag{9}$$

$$\begin{aligned} \lg K_2 &= -5371.9645 - 1.67122T - 0.22913S - 18.3802 \lg S \\ &\quad + 128375.28/T + 2194.3055 \lg T + 8.0944 \times 10^{-4} \times T \\ &\quad \times S + 5617.11 \lg S/T - 2.136S/T \end{aligned} \tag{10}$$

将(2)、(3)、(9)、(10)代入(8)式, 即可计算出 RCF 。

按青岛近海海水的一般情况考虑, 取 $T = 293\text{K}$ 、 $S = 30$ 、 $\text{pH}_{(0)} = 8.0$ 、 $C_{T(0)} = 2.1 \times 10^{-3} \text{mol/L}$, 并按 Redfield 比值取 $A = -18/106$, 计算结果见图 1 及表 1 第 1 行数据。

以此为基础, 按可预见的变动范围分别改变 $C_{T(0)}$ 、 S 、 A 、 T 、 pH , 可计算出同样 $\text{pH}_{(i)}$ 下的 $RCF'_{(i)}$, 其与表 1 第 1 行的对应值的相对百分偏差绝对值的算术平均可用以估计上述因素对相对变化函数 RCF 的影响程度, 结果见表 1。

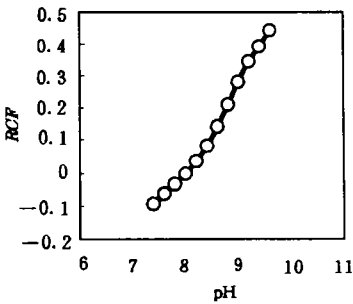


图1 RCF - $\text{pH}_{(i)}$ 曲线
Fig.1 RCF - pH_0 curve

表1 影响相对变化函数 RCF 的因素

Tab.1 Factors affecting the relative change function RCF

序号	影响因素					pH						相对偏差 (%)
	$T(\text{K})$	S	$C_{T(0)}$	$\text{pH}_{(0)}$	A	8.0	8.2	8.4	8.6	8.8	9.0	
1	293	30	0.0021	8.0	-18/106	0	0.027	0.061	0.10	0.16	0.21	/
2	293	30	0.0024	8.0	-18/106	0	0.027	0.061	0.10	0.16	0.21	0.0
3	293	33	0.0021	8.0	-18/106	0	0.028	0.064	0.11	0.16	0.22	3.9
4	288	30	0.0021	8.0	-18/106	0	0.024	0.055	0.095	0.14	0.20	7.7
5	293	30	0.0021	8.0	-9/106	0	0.029	0.066	0.11	0.17	0.22	6.0
6	293	30	0.0021	7.8	-18/106	0.021	0.048	0.082	0.12	0.17	0.23	20.0

可见, 总二氧化碳浓度 $C_{T(0)}$ 、海水盐度 S 和温度 T 对 RCF 的影响很小(表 1 第 2、3、4 行数据), 故在实验中其影响可以不予考虑。 A 是每一单位的碳固定(或释放)引起的体系碱度的改变, 它应是一个受生物学和水化学因素影响的参数(如海藻种类、生长阶段、海水中

营养盐的种类与供给等)。按(4)式同化 NO_3^- 时, $A = -18/106$; 但若按下式同化 NH_4^+ :

$$106\text{CO}_2 + 16\text{NH}_4^+ + \text{HPO}_4^{2-} + 108\text{H}_2\text{O} = \{\text{C}_{106}\text{H}_{263}\text{O}_{110}\text{N}_{16}\text{P}_1\}_{\text{(海藻)}} + 107\text{O}_2 + 14\text{H}^+ \quad (11)$$

则 $A = +14/106$; 若 CO_2 固定过程中不伴随营养盐的同化, 则 $A = 0$ (斯塔姆等, 1981)。由表 1 第 5 行数据可见, A 对 RCF 影响也不大。

表 1 第 6 行数据为实验用海水的 pH 值 ($\text{pH}_{(0)}$) 对 RCF 的影响。可见 $\text{pH}_{(0)}$ 的影响最大。

1.2.3 RCF 和相对光合速率的关系 据(8)式:

$$RCF_{(i)} = -(C_{T(i)} - C_{T(0)})/C_{T(0)} \quad (12)$$

对白瓶和黑瓶, 可分别写成

$$RCF_{(i)\text{白}} = -(C_{T(i)\text{白}} - C_{T(0)})/C_{T(0)} \quad (13)$$

$$RCF_{(i)\text{黑}} = -(C_{T(i)\text{黑}} - C_{T(0)})/C_{T(0)} \quad (14)$$

由(13)(14)得:

$$\Delta RCF_{(i)} = RCF_{(i)\text{白}} - RCF_{(i)\text{黑}} = -(C_{T(i)\text{白}} - C_{T(i)\text{黑}})/C_{T(0)} \quad (15)$$

对照组以 C 表示, 则亦有相同结果:

$$\Delta RCF_{(c)} = RCF_{(c)\text{白}} - RCF_{(c)\text{黑}} = -(C_{T(c)\text{白}} - C_{T(c)\text{黑}})/C_{T(0)} \quad (16)$$

(15)(16)二式相除

$$\Delta RCF_{(i)}/\Delta RCF_{(c)} = (C_{T(i)\text{白}} - C_{T(i)\text{黑}})/(C_{T(c)\text{白}} - C_{T(c)\text{黑}}) \quad (17)$$

海藻对碳的同化速率(即光合速率)

$$PROD_{(i)} = -dC_T/dt \approx -(C_{T,\text{白}(i)} - C_{T,\text{黑}(i)})/\Delta t \quad (18)$$

对于对照组, 将实验组的角标 i 换作 c , 则得:

$$PROD_{(c)} \approx -(C_{T,\text{白}(c)} - C_{T,\text{黑}(c)})/\Delta t \quad (19)$$

上述二式(18, 19)相除并结合(17)式可得:

$$\Delta RCF_{(i)}/\Delta RCF_{(c)} = PROD_{(i)}/PROD_{(c)} \quad (20)$$

由式(20)可见, $\Delta RCF_{(i)}/\Delta RCF_{(c)}$ 代表了光合作用发生后, 实验组碳的同化速率相对于对照组的百分数, 即 $\Delta RCF_{(i)}/\Delta RCF_{(c)}$ 就是相对光合速率。

1.2.4 pH 和相对光合速率的关系 上述已经证明, $\Delta RCF_{(i)}/\Delta RCF_{(c)}$ 就是相对光合速率, 因此, 理论上, 只要测定实验组和对照组光合作用发生后白、黑二瓶 pH 值, 即可计算相对光合速率。但实际上, RCF 为 $C_{T(0)}$ 、 T 、 S 、 $\text{pH}_{(0)}$ 、 A 、 $\text{pH}_{(i)}$ 的函数, 它除取决于 $\text{pH}_{(i)}$ 外, 还受 $C_{T(0)}$ 、 T 、 S 、 A 、 $\text{pH}_{(0)}$ 的影响。 T 、 S 、 $\text{pH}_{(0)}$ 是易测参数, 特别是 $C_{T(0)}$ 、 T 、 S 对 RCF 影响很小, 实际上可依经验设定一个值(如 0.002 mol/L , 293 , 30), 而不必测定。但 A 值受多种因素影响, 也没有经验值可借鉴, 式(7)中, $A = -18/106$, 这是据 Redfield 比值(赖利等, 1974)而得的适合于开阔海洋中混合浮游植物的一个数值, 对大型海藻不能简单借用。当然 A 可据(7)式进行实验测定, 但这样做就违背了本文的初衷: 找寻一个比测氧法更简单、快速和实用的表征相对光合速率的方法。为此, 进行近似处理。

由图 1 可以看到, $RCF - \text{pH}$ 是一条曲线, 但在实验室控制的 pH 范围 ($7.8 - 9.0$), 可以近似按直线处理, 即假定:

$$RCF \approx b + k \times \text{pH} \quad (b, k \text{ 为常数}) \quad (21)$$

这样可推出:

$$(\text{pH}_{(i)\text{白}} - \text{pH}_{(i)\text{黑}})/(\text{pH}_{(c)\text{白}} - \text{pH}_{(c)\text{黑}}) = \Delta \text{pH}_{(i)}/\Delta \text{pH}_{(c)} \approx \Delta RCF_{(i)}/\Delta RCF_{(c)}. \quad (22)$$

结合 (20) 式可得：

$$\Delta p H_{(i)} / \Delta p H_{(c)} \approx PROD_{(i)} / PROD T_{(c)} \tag{23}$$

(23) 式表明，测定实验组和对照组光合作用发生后白、黑二瓶 pH 值并计算 $\Delta p H_{(i)} / \Delta p H_{(c)}$ ，即可近似表示海藻的相对光合速率。这就是本方法的水化学依据。

1.2.5 方法的适用的条件 由上述推导不难看出，本方法要求：体系必须完全密闭，每组实验所用海水应当用相同的一批；实验过程中温度应基本稳定，海水 $p H_{(i)}$ 应控制在 < 9 ， $p H_{(i)}$ 最好大于或等于 8，若低于此值，可加少量 NaOH 调节，因为由图 1 可见， $p H_{(i)} < 8$ 时，曲线弯曲度增大，近似的线性处理易引起较大误差。培养时间不宜过长，一般以 1h 为佳，控制 $p H_{(i)} < 9$ 。原因是过长会引起 pH 升得过高而产生 $CaCO_3$ ，这将使 A 发生剧变，这是本方法所不允许的；另一方面，海藻分泌物过多也可能对 [Alk] 产生较大影响。

2 结果与讨论

2.1 不同浓度 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 对孔石莼的毒性效应

按“1.1”中所述方法试验了不同浓度 Cd^{2+} (0.0、0.2、1.0、5.0、10.0mg/L) 和 Hg^{2+} (0.0、0.05、0.20、0.50mg/L) 对孔石莼的毒性效应，旨在将用本文方法测定的近似相对光合速率与用测氧法测定的相对光合速率进行比较，以验证本文方法。图 2 为 Cd^{2+} 对孔石莼的毒

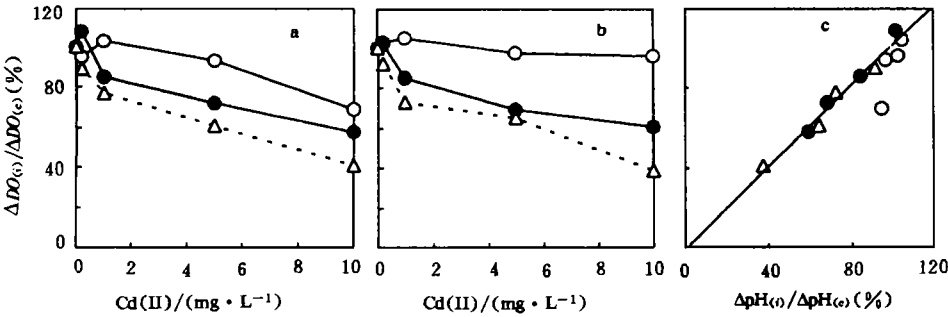
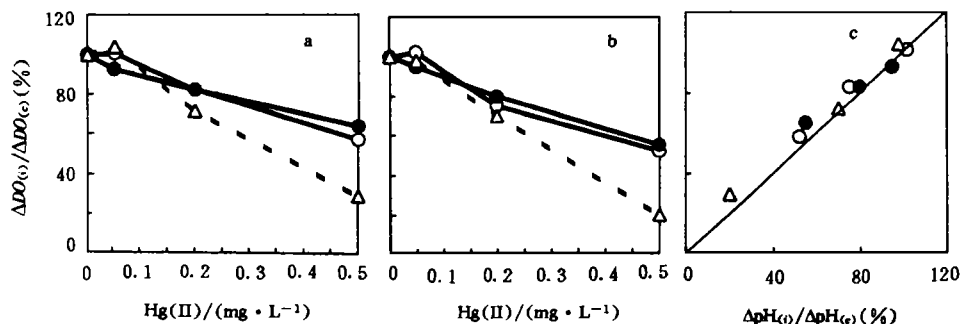


图2 Cd^{2+} 对孔石莼光合作用的影响
Fig.2 Effect of Cd^{2+} on photosynthesis of *Ulva pertusa* Kjellm
—○— 1d; —●— 2d; ---△--- 14d

性实验结果。图 2a 是测氧法确定的相对光合速率 ($\Delta DO_{(i)} / \Delta DO_{(c)}$) 与 Cd^{2+} 浓度的关系，图 2b 是本文方法确定的近似相对光合速率 ($\Delta p H_{(i)} / \Delta p H_{(c)}$) 与 Cd^{2+} 浓度的关系，两图的基本规律是一致的，即：(1) 0.20mg/L Cd^{2+} 在 4d 内对孔石莼基本无毒性效应，14d 以后才略有毒性效应；(2) 1.0mg/L Cd^{2+} 经 4d 对孔石莼显示明显的毒性效应，即 Cd^{2+} 对孔石莼的 96h 毒性效应阈值在 0.20—1.0mg/L 之间；(3) Cd^{2+} 浓度愈大，毒性愈强，培养时间愈长，毒性效应愈明显。图 2c 为两种方法的比较，可见其良好的一致性。图 3 为 Hg^{2+} 对孔石莼的毒性实验结果。图 3a 是测氧法的结果，图 3b 是本文法的结果，两图所反映的基本规律一致，即：(1) 0.05mg/L Hg^{2+} 对孔石莼经 7d 培养未见明显毒性效应；(2) 0.20mg/L Hg^{2+} 经 4d 培养对孔石莼有明显毒性效应，即 Hg^{2+} 对孔石莼的 96h 毒性效应阈值在 0.05—0.20mg/L 之间；(3) Hg^{2+} 浓度愈大，毒性愈强，培养时间愈长，毒性效应愈明显。图 3c 是两种方法所得结果的比较，同样表现了良好的一致性。

图3 Hg^{2+} 对孔石莼光合作用的影响Fig.3 Effect of Hg^{2+} on photosynthesis of *Ulva pertusa* Kjellm

—○— 1d; —●— 2d; ---△--- 7d

2.2 不同浓度和形态的 Cu^{2+} 对缘管浒苔的毒性效应

关于不同浓度和形态的 Cu^{2+} 对缘管浒苔的毒性效应,作者曾主要用称重法,配合其

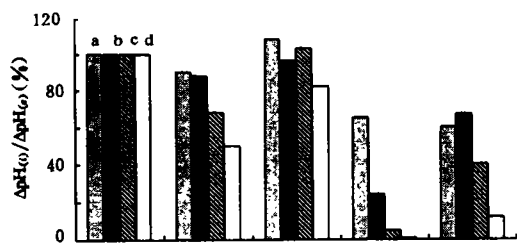


图4 不同浓度和形态的铜对缘管浒苔的毒性效应

Fig.4 Toxicity of copper on *Enteromorpha linza*横坐标: 1.对照; 2. 0.20mg/L Cu^{2+} ; 3. 0.20mg/L Cu^{2+} +EDTA; 4. 0.20mg/L Cu^{2+} +8-羟基喹啉;5. 0.50mg/L Cu^{2+}

图中: a为8h; b为10h; c为20h; d为48h

它方法做过比较仔细的实验研究(于志刚等, 1994; 雷清新等, 1998), 其主要结论为:

- (1) Cu^{2+} 对缘管浒苔有很强毒性, 0.20mg/L Cu^{2+} 即表现出明显毒性, 0.50mg/L Cu^{2+} 可在较短时间内使缘管浒苔死亡;
- (2) 配合剂的加入对 Cu^{2+} 的毒性有明显影响, 即铜离子形态决定了其毒性。EDTA 可基本消除 Cu^{2+} 的毒性, 8-羟基喹啉可加剧 Cu^{2+} 的毒性, 但 EDTA 和 8-羟基喹啉本身对缘管浒苔无毒性。配合剂对毒性有重要影响的原因在于: EDTA 和 Cu^{2+} 形成了水溶性配合物, 阻止缘管浒苔对 Cu^{2+} 的吸收, 而 8-羟基喹啉与 Cu^{2+} 可形成脂溶性配合物, 加速(促进) Cu^{2+} 的累积。本方法对这一实验的主要内容进行了重新研究, 结果如图 4。该图表明了上述结果, 从另一侧面验证了本方法的可靠性。

致谢 王修林教授曾与作者进行过有益的讨论。参加实验或曾给予帮助的还有马延军、吴莹、于鸿雁、林伟杰、刘文涛, 谨致谢忱。

参 考 文 献

- 于志刚, 张 经, 吴 莹等, 1994. 铜对缘管浒苔的毒性效应. 环境科学学报, 14(4): 494—500
- 张正斌, 刘莲生, 1989. 海洋物理化学. 北京: 科学出版社, 480—481
- 郭文清, 陈浩如, 李飞泳等, 1991. 不同环境条件下重金属对江蓠的毒性效应. 海洋环境科学, 10(3): 14—19
- 韩舞鹰, 1986. 海水化学要素调查手册. 北京: 海洋出版社, 59—65
- 斯塔姆 W, 摩尔根 J J 著, 1981. 汤鸿霄等译, 1987. 水化学. 北京: 科学出版社, 129—199
- 赖利 J P, 斯基罗 J 主编, 1974. 崔清晨等译, 1982. 化学海洋学(第二卷). 北京: 海洋出版社, 317—320

雷清新, 于志刚, 张经等, 1998. 铜对缘管浒苔生理状态的影响. 海洋环境科学, 17(1): 11—14

Axelsson B, Axelsson L, 1987. A rapid and reliable method to quantify environmental effects on *Laminaria* based on measurements of ion leakage. *Botanica Marina*, 30: 55—61

Rueness J, 1987. Culture and field observations on *Gracilaria verrucosa* (Hads.) Papenf. (Rhodophyta) from Norway. *Botanica Marina*, 30: 267—276

NEW METHOD FOR EVALUATING TOXICITY OF HEAVY METALS ON MARINE MACROALGAE

YU Zhi-gang, ZHANG Jing, SHI Feng-yan[†], Wu Chao-yuan^{††}

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of Qingdao, Qingdao, 266003)

[†] (Institute of Estuarine and Coastal Research, East China Normal University, Shanghai, 200062)

^{††} (Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Science, Qingdao, 266071)

Abstract A new method for evaluating toxicity of heavy metal pollutants to marine macroalgae was developed. According to this method, macroalgae which lived in heavy metal contaminated waters were cultured in 250ml airtight bottle filled with 0.45 μ m membrane filtrated seawater for 1 hour, then pH of culture medium in light and black bottles were measured. The value $\Delta\text{pH}_{(i)} / \Delta\text{pH}_{(c)}$ = $(\text{pH}_{(i)\text{light}} - \text{pH}_{(i)\text{black}}) / (\text{pH}_{(c)\text{light}} - \text{pH}_{(c)\text{black}})$ (*i* and *c* denote experiment and control samples respectively) indicates the approximate relative photosynthetic rate. It can be used to evaluate toxicity of heavy metal pollutants to marine macroalgae. Using this method, the toxicity of Cd^{2+} (0.0, 0.2, 1.0, 5.0, 10.0mg/L) and Hg^{2+} (0.0, 0.05, 0.20, 0.50mg/L) on *Ulva pertusa* Kjellm were tested and compared with the results obtained from traditional method i.e. the dissolved oxygen method; the results are comparable. It was found that the 96h threshold concentrations of Cd^{2+} and Hg^{2+} on the toxicity of *Ulva pertusa* Kjellm are 0.20—1.00mg/L and 0.05—0.20mg/L, respectively. Using this method, the effect of Cu^{2+} and its chelators on *Enteromorpha linza*'s growth were also studied. The result shows that Cu^{2+} has a large effect on the growth of *Enteromorpha linza*. The growth is inhibited when the concentration of copper ions is higher than 0.20mg/L. The toxicity of copper was changed significantly with the existence of EDTA or 8-hydroxy quinaldine in the culture medium. The chemical speciation is an important factor affecting toxicity of heavy metals. Due to EDTA inhibits while 8-hydroxy quinaldine enhances the absorbance of copper by *Enteromorpha linza*, so EDTA alleviates the toxicity but 8-hydroxy quinaldine significantly exacerbates copper toxicity to *Enteromorpha linza*. These results are quite comparable to the results obtained by using weighting method. The aquatic chemistry principle of this method was discussed in detail.

Key words Photosynthesis Marine macroalgae Toxicity Heavy metal

Subject classification number P734.2