

综 述

重金属对藻类的致毒效应

况琪军 夏宜琤 惠 阳

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

TOXIC EFFECTS OF HEAVY METALS ON ALGAE

Kuang Qijun, Xia Yicheng and Hui Yang

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

关键词 重金属, 藻类, 致毒效应

Key words Heavy metals, Algae, Toxic effect

重金属对水环境的危害是人们日益关注的问题, 至今所做的许多研究表明, 重金属对水生生物有不利影响^[1,2]。藻类是水体中的初级生产者, 在水生态系统的食物链中起着十分重要的作用。重金属通过各种途径进入水体后, 首当其冲的受害者就是藻类生物。因此, 从环境的角度来看, 研究重金属对藻类的致毒效应至关重要。自六十年代以来, 国外许多学者在这方面进行了大量的研究工作, 积累了丰富的科学资料, 并取得较为满意的结果^[3-6]。

1 重金属对藻类生长、代谢的影响

一般情况下, 重金属对藻类的致毒效应主要表现在: 影响藻类的生长代谢、抑制光合作用、减少细胞色素, 导致细胞畸变, 改变天然环境中藻类的种类组成^[7,8]。重金属对藻类的毒性强弱因藻类的不同而各异。天然水体中常见的几种重金属污染物对藻类生长代谢所构成的威胁分述如下。

1.1 汞 许多研究证明, Hg 抑制或完全终止藻类的生长, 影响光合作用的电子传递系统, 导致光合色素损害和叶绿素含量下降; Hg 通过降低固 N 酶的活性使蓝藻的固 N 能力下降; 通过增加细胞的渗透性, 使 K 离子大量丧失; Hg 还能诱使藻类的细胞形态发生畸变^[9-11]。

据报道, 岐岖鱼腥藻对 Hg 离子十分敏感, 浓度低至 2ppb 时, 生长即受到显著抑制,

1995年8月8日收到。

0.5ppb 的水平即使能使该藻类的生长下降。使普通小球藻生长受到抑制的 Hg 浓度为 0.2ppm; 1ppm 时, 生长完全停止。当 Hg 的浓度为 $10\mu\text{mol}$ 时, 杜氏藻形成巨细胞而不分裂, 这可能是由于生长和分裂解偶联, 抑制了蛋氨酸的合成所致; 在 Hg 的亚致死浓度条件下, 浮游硅藻-星杆藻由正常的 8—16 个细胞组合的星形群体突变为由 20—30 个群体堆积成的圆柱形块状物^[12]。Hg 对海洋鞭毛藻的毒理学研究结果表明, 当 Hg 浓度 $>10\text{ppm}$ 时, 盐藻的生长率和最终细胞产量明显减少, 在亚致死浓度条件下, Hg 引起该藻细胞体积增大, 运动能力丧失^[13]。在添加 HgCl_2 到藻类培养基之后, 小球藻中的 RNA 和 DNA 以及蛋白质的水平提高, 细胞干重大大增加; 相反, 醋酸苯汞酯引起 RNA, DNA 和蛋白质的水平下降。有些资料表明, 甲基汞比二甲基汞对藻类的毒害作用更甚, 0.1ppb 甲基汞即可降低柔弱菱形藻的光合作用, 1.0ppb 时, 该藻类的 ^{14}C 吸收和生长率均下降; 0.6ppb 二甲基汞对褐指藻, 小球藻和衣藻的生长均有抑制。Hg 常常由于试验瓶壁吸收等原因造成损失, 一般报道中的 Hg 的亚致死浓度可能比实际亚致死浓度更高。

1.2 隔 Cd 是一种潜在危害的重金属, 在水环境中非常稳定, 除了直接影响藻类及其它水生植物外, 对整个水生食物链网也具有潜在的威胁。据报道, 0.08ppm 浓度的 Cd 可完全抑制羊角月牙藻的生长; 0.15、0.20、0.25ppm 的 Cd 浓度可使栅藻的生长稍微下降; 0.5ppm 时, 该藻类的生长受到显著影响。5ppm 的 Cd, 纤维藻和斜生栅藻的生长被抑制; 小球藻仍能显示一定的生长; 当浓度增加到 10ppm 时, 3 种绿藻均被杀死。Lasheen 的工作表明, 0.05ppm 的 Cd 对天然藻类的生长无明显影响, 而当浓度大于 1.0ppm 时, 藻类的生长受到严重威胁^[14]。经 Cd 处理后, 纤细裸藻的运动力丧失, 细胞变形; 美丽星杆藻的色素含量显著下降。鱼腥藻在暴露到 Cd 96h 后, 细胞的光合作用和对 NH_4 的吸收受阻, 细胞内叶绿素和藻胆蛋白的含量降低, Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 的浓度减少, 细胞结构发生变化^[15]。另有研究表明, $>0.02\text{ppm}$ 的 Cd 浓度, 对歧岖鱼腥藻的生长具有显著的抑制作用; 0.06ppm 时, 第十二天, 生长被完全中止; 1ppm 时, 光合作用和乙炔还原受到明显影响, 两者分别在 4 和 20ppm 时被完全抑制^[16]。Cd 在 0.03ppm 和高光强下, 对天然浮游植物群落产生急性致毒; 当 Cd 的浓度高于 0.05ppm 时, 小球藻的细胞分裂中断, 叶绿素合成停止。Klass 等人用四尾栅藻试验的结果是, 6.1ppb Cd 浓度, 生长率抑制为显著水平 ($P=0.05$); 61ppb Cd 浓度时, 为极显著水平 ($P=0.01$)^[1], 这与上述结果有一定差异。

Joseph 等人观察到, 96h 后, Cd 对水华鱼腥藻的 EC_{50} 值是 $0.12\mu\text{mol}$, 当浓度比 EC_{50} 值高 3 个数量级时, Cd 结合到藻类的细胞质和细胞的多磷酸体中, 使多磷酸体中的镁和钙丧失, 以致这些细胞内含物的元素组成发生离子变化; 他们用电子显微技术观测到, 比 EC_{50} 值高 1, 2, 3 个数量级的 Cd 都能导致细胞类囊体的表面体积显著减小, 并引起多磷酸体、脂内含物、藻蓝素颗粒等的数目与相对体积, 以及细胞壁层的体积发生改变^[17]。

Silverberg 在研究 Cd 对几种淡水绿藻结构的影响时发现, 镰形纤维藻, 蛋白核小球藻和四尾栅藻暴露到氯化隔后, 细胞结构发生明显变化, 线粒体内出现大量的密集颗粒物^[18]。

1.3 铜 痕量的 Cu 是藻类代谢过程中所必需的, 但是, 高浓度的 Cu 对藻类具有毒害作用。Cu 主要抑制藻类的生长和光合作用, 影响原生质膜的渗透性, 使 K 从细胞内丧失; 经 Cu 处理的谷皮菱形藻, 光合作用受到的抑制比生长更厉害。Cu 对镰形纤维藻光合系

统 II 的抑制作用亦十分明显, 经 $2\mu\text{mol}$ 浓度的硫酸铜处理一定时间后, 黑色鞘丝藻的呼吸率增加, 细胞内出现许多分散的圆形和空泡形物体。在高浓度 Cu 时, 小球藻和栅藻的细胞畸变成内含物颗粒粗大的细胞, 当转移到没有 Cu 的培养基后, 大细胞分裂, 恢复到正常形态^[19], 在 Cu 浓度为 0.05ppm 时, 室内培养的栅藻品系, 生长率只有对照的 75%; 而野生种类, 即使 Cu 浓度升至 0.4ppm , 生长仍然正常; 当 Cu 浓度高达 1.5ppm 时, 其生长率仅下降 35%。过量的 Cu 还可引起小球藻和水华束丝藻为优势种的天然浮游植物的光合色素消失。有些资料证明, 影响栅藻生长率的 Cu 浓度为 0.2ppm ; 0.5ppm 时, 该藻类的生长受到严重损害; 在 0.75ppm Cu 时, 黄群藻和锥囊藻的生长被完全抑制; 使月牙藻和小球藻的细胞体积减少一半的 Cu 浓度分别为 $85\mu\text{g}/\text{l}$ 和 $70\mu\text{g}/\text{l}$ 。Cu 还能使小球藻和纤维藻形成巨细胞; 使组囊藻形成球形个体, 与正常的形态完全两样^[20]。Ballan 借助电子探测显微分析 (EPMA) 显示, 海洋藻类 (*Tetraselmis suecica*) 在 $50\mu\text{g}/\text{l}$ Cu 浓度中暴露 5d 之后, 其代谢作用受阻, 细胞内淀粉消失^[21]。许多作者认为, Cu 对藻类的毒性与总 Cu 无关, 而与游离 Cu 离子的浓度关系密切^[22-25]。

1.4 铅 Pb 可在藻体内积累并产生毒害作用已被许多学者所验证^[9,26]。在 $0.05-10\text{mg}/\text{l}$ Pb 中生长的骨条藻, 其生长率、最高产量和细胞呼吸作用均有不同程度的下降, 相反, 细胞体积和每个细胞的光合作用强度增加。Pb 对单独或混合培养的三角褐指藻和亚心形扁藻的毒性影响是: 在有三角褐指藻的情况下, Pb 对亚心形扁藻的毒性极小; 对数生长期的亚心形扁藻比静止期的细胞对 Pb 更敏感, 高浓度的 Pb 可使该藻类丧失运动能力, 最终鞭毛不是变形就是脱落。另有资料表明, 野生型细胞比鞭毛少或无鞭毛的突变型细胞对 Pb 的忍耐力更强, 因此认为, 细胞对 Pb 的吸收与鞭毛无关。

在有些研究中, 藻类显示了对较高 Pb 浓度的忍耐力, 在 30ppm Pb 浓度时, 96h 内栅藻的生长保持良好, 随后仅显示生长率的缓慢下降, 当 Pb 的浓度高达 100ppm 时, 藻类仍能正常细胞分裂; 但也有作者证明, 32ppm 浓度的 Pb 可使藻类细胞的叶绿素含量下降 18.1%。藻类对 Pb 的高忍耐力, 可能是由于 Pb 离子容易从细胞壁排出或是高浓度的 Pb 易于从溶液中沉淀所致。

1.5 镍 Ni 同样能为藻类积累并抑制藻类的生长。在 $0.002-1.0\text{ppm}$ Ni 浓度的实验河流中, 藻类的种类组成发生变化, 硅藻种类的多样性和丰度减少, 绿藻和蓝藻的丰度增加; 在 $0.05-0.7\text{ppm}$ 范围内, Ni 抑制尖胞栅藻、小球藻、血球藻和卵配衣藻等的生长^[27]。有人在实验室条件下测定到, 降低淡水硅藻 50% 的 Ni 浓度为 0.1ppm , 偏缝硅藻在 0.1ppm Ni 中, 14d 的生物量降到只有对照的 18%; 在 0.6ppm 时, 水华鱼腥藻的生长也受到抑制。

有些藻类对 Ni 具有较大的忍耐力, 0.5ppm 的 Ni 对三角褐指藻的生长不发生影响; 1ppm 时, 生长仅有轻度下降; 念珠藻和组囊藻能忍耐高达 10ppm 的总 Ni; 在 10ppm Ni 中的小球藻、斜生栅藻和纤维藻, 除生长率有所下降外, 无其它任何影响。藻类对 Ni 的高忍耐力可能是由于培养基中有降低 Ni 毒性的螯合因子存在所致。

1.6 锌 Zn 也是藻类生长代谢必需的微量元素, 在保持蛋白核的完整中起着重要作用。在缺 Zn 的条件下, 裸藻中的蛋白核消失, 当添加 Zn 之后, 蛋白核又恢复。但是过量的 Zn 对藻类的生长不利, 据报道, 高浓度的 Zn 抑制藻类的生长, 影响光合作用, 使叶绿

素含量下降,以致类胡萝卜素与叶绿素的比率失调。但也有研究证明,较低浓度的 Zn 可使海生浮游植物天然群落的光合能力下降^[28]。已经查明,降低普通小球藻 50% 生长率的 Zn 浓度为 2.4ppm,在 20ppm 时,小球藻的生长完全停止。0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度的 Zn 可使藻类的 $^{14}\text{CO}_2$ 吸收率下降 69%。Zn 还能导致藻类的渗透性增加,使电介质漏失;甚至引起藻类的形态变异^[29]。

2 影响重金属毒性的环境因素

重金属虽然是一类保守性、非降解的元素型污染物,但是在理化条件复杂的水环境中,有着十分复杂的迁移转化过程和多变的形态。重金属在水环境中的迁移能力和生物效应与其化学形态和含量有关。同一种重金属,由于价态、化合态和结合态的不同,对藻类的毒性也不一样。许多环境因素都直接或间接地影响到重金属对藻类的毒性。

2.1 pH 值和氧化还原电位势 pH 值和氧化还原电位势是影响水体中重金属迁移转化的两个重要的理化因子,它们对 Zn、Fe、Mn、Cu 这一类重金属的迁移转化起着决定作用,在酸性和还原条件下,Fe 和 Mn 以容易溶解的 Fe^{2+} 和 Mn^{2+} 的化合物形式存在;而在碱性或近中性和氧化的条件下,则形成不溶性 Fe^{3+} 和 Mn^{4+} 的氧化物和氢氧化物。Rai 等人的研究表明,在酸性条件下,重金属的毒性最大,碱性 pH 时,金属的毒性降低,分析认为,在酸性 pH 时,金属以游离离子型存在,在碱性条件下,它们形成不溶性碳酸盐、磷酸盐、硫酸盐、氧化物或氢氧化物沉淀。不同的金属沉淀所要求的电位势和 pH 值不同,尤其是那些不只一个价态的金属阳离子,它们的价态、形态和生物可给性极大地受到环境 pH 值和氧化还原电位势所制约,因此,在酸性 pH 时,大多数重金属是游离阳离子型,藻类最能利用,毒性也最大;而在碱性条件下则相反^[2,30]。Peterson 的研究结果是,pH 每升高 1 个单位,Cd 对月牙藻的毒性增加 8 倍,Cu 的毒性变化相应小些,在 pH6 时,Cd 的毒性比 Cu 低 500 倍,而在 pH 为 10 时,Cd 的毒性两倍于 Cu^[31]。

2.2 温度 温度也是环境中金属离子浓度和金属对藻类毒性的调节因素之一,通常情况下,重金属对藻类的毒性大小与温度的高低呈正相关性。在 Cu 对栅藻毒性影响的研究中发现,低于最适温度,Cu 对栅藻的毒性降低,而在最适温度时,Cu 的毒性增加;在从 22—30 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下 Zn 对线形菱形藻和梅尼小环藻的毒性随温度的升高而增加;而对四尾栅藻和衣藻则相反。用有毒的酸性硫酸盐离子试验得到同样的结果,最大毒性出现在代谢最旺盛的温度条件下。这可能是因为温度的升高增强了呼吸活性,从而促进了藻类对金属的吸收作用。Klotz 的研究结果表明,温度的变化明显影响 Cu 对栅藻和小球藻的毒性,影响 Cu 对藻类细胞分裂的致毒作用,经 0.15ppm Cu 处理的小球藻,在温度 6 $^{\circ}\text{C}$ 左右时的分裂率大大下降^[20]。

2.3 磷酸盐 许多研究表明,磷酸盐在降低 Zn、Cu、Hg、甲基汞、Fe、Ni 等对不同藻类的毒性中起着很重要的作用,磷酸盐能与很多重金属一起沉淀,结果重金属完全或部分解毒。增加环境中磷酸盐的浓度,金属的毒性下降;毒性越大的金属,磷酸盐的解毒作用越小。Chen 的研究结果表明,Hg 对羊角月牙藻的 EC_{50} 随 $\text{PO}_4\text{—P}$ 浓度的增加而减小,其 r 值为 0.87^[32]。磷酸盐中和重金属毒性的主要机制是形成不溶性磷酸盐沉淀。

2.4 有机物 在天然水体中具有各种金属的有机配位体,如氮川三乙酸(NTA)、水杨酸

(SAL)、柠檬酸(CIT)、甘氨酸(GLY)、富里酸、腐殖酸等, 以及一些有机物的功能基团, 如 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{OH}$ 、 NH_3 等。这些有机物具有束缚金属的特性, 通过与金属形成络合物而降低金属的毒性。据报道, Zn 对铜绿微囊藻和 Ni 对绿藻的毒性均随 NTA 或 EDTA 浓度的增加而逐渐下降; 但在同一水平的 Zn 时, 降低 Zn 毒性的不同络合剂的浓度不同^[33,34]。脂类和多糖是各种藻类细胞壁和膜的主要成分, 二者含有多种氨基、磷酸基、羟基和半光氨酸基, 这些配位体通过扩散阻遏使膜保持完整, 为束缚金属离子提供适宜的空位; 通过与 Hg 结合, 使 Hg 的生物可给性和毒性均下降。分析认为, 硫化物和含硫氨基酸对重金属毒性的改变是因为硫基化合物能束缚 Co、Hg 等重金属所致, 重金属与磷酸基、羟基、硫醇基发生作用, 被束缚到细胞壁或细胞膜上, 因而毒性发生变化。

Mohapatra 等人报道, Hg 对双对栅藻的 LC_{50} 为 $0.025\text{mg}/\text{l Hg}^{2+}$ (置信界限为 95%), 当分别添加三种不同的碳源后, Hg 的毒性降低, 碳源对重金属的解毒效果取决于碳源的类型和浓度, 以及被试生物所暴露的时间^[35]。

2.5 硬度 硬度在重金属对藻类毒性的影响直到 1970 年才引起藻类学家的重视。据报道, 添加 Ca 和 Mn 盐能明显降低 Cu, Zn, Cd, Hg 等各种重金属对藻类的毒性, 其中 Ca 盐比 Mn 盐降低金属毒性的能力更大。引起毒性下降的原因可能是出现了沉淀, 或形成了重金属与 Ca, Mn 的碳酸盐和氢氧化物的络合物, 因为一旦形成络合物, 重金属就不能透入生物膜, 对藻类的可给性降低, 毒性也随之下降。

3 重金属之间的相互作用

无论是在人工培养液或天然水体中, 重金属的种类与数量都不可能是单一的和固定不变的, 各种水生生物, 包括藻类, 常受到多种重金属联合作用的综合影响。重金属彼此间的相互作用大致有拮抗、协同、相加和致敏等四种。已经查明, 许多成对的元素在生物学上表现出拮抗效应, 常见的有: Hg-Cu, Cd-Se, Cd-Zn, Fe-Mn, Cu-Hg, Cu-Au, Cu-Mo, Cu-Zn, Cu-Cd 等。有时是两种以上的元素起拮抗作用, 如: Co-Cu-Mn, Cu-Mo-Pb 等。不同的藻类对重金属及其相互间的联合作用有不同的反应。据报道, Mn+Pb 对月牙藻的联合效应是拮抗, Mn+Cu 对同一藻类的作用却是协同。Hg+Cd 对崎岖鱼腥藻生物量的影响是拮抗, 而对这种藻类的光和作用固 N 能力的毒性则是协同。用 Cd, Pb 和 Ni 分别组合处理纤维藻, 结果, Ni+Cd 各以 0.5ppm 混合时, 与它们单独使用时相比, 反而刺激藻类生长; 各以 5ppm 混合时, 试验藻也不致于死亡, 而单独使用 5ppm 的 Cd, 纤维藻完全死亡; Cd+Pb 各以 0.5ppm 混合时, 与对照或它们单独使用时相比, 对生长的刺激作用更明显; Pb+Ni 的混合与它们单独使用相比没有明显差别^[27]。某些重金属的组合变换对组囊藻的综合效应显示: 在 Fe 存在时, Cu 的毒性降低, Pb 的存在明显降低 Cd 的毒性; Fe 和 Zn 使 Cd 的毒性下降; Cu 对 Cd 的毒性无明显影响。Hg+Cd 的拮抗作用可能是由于二者竞争同一吸附位置所致, 因 Hg 对束缚位置的亲和力高, 首先占据了空位, 使后来的 Cd 得不到无阻碍的位置而不能产生预期的影响; 协同作用则是因为在细胞释放固 N 酶时, 固 N 酶让出了新的空位, 重金属束缚到这些位置上, 使毒性进一步增加^[17]。有人对 Ni+Cd 和 Hg+Cd+Ni 的相互作用提出了同样的解释, 认为这些二价金属的毒性顺序是: $\text{Hg}^{2+} \gg \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$ 。Maksimov 发现, 当 Cu 以 100ppb

和 Hg 25ppb 浓度混合时,对浮游植物种类组成的影响比它们单独作用时的影响严重。当 Cd、Ni、Cr、Pb 和 Hg5 种重金属混合存在时,对天然藻类初级生产力的协同致毒作用比它们单独存在时严重的多。Cd+Cu 和 Cd+Cr 均有协同致毒效应,其中 Cd+Cu 的协同作用比 Cd+Cr 的更明显^[9,14]。

综上所述,重金属对藻类的毒性强弱取决于金属的形态、价态、浓度、环境因素和重金属之间的相互作用,取决于特定的试验藻种及藻类细胞的化学结构和生理生化过程。

参 考 文 献

- [1] Baker, M D, Mayfield C I, Inniss W E. Toxicity of pH, heavy metals and bisulfite to a freshwater green algae. *Chemosphere*. 1983. 12(1): 35—44.
- [2] Luderitz V, Andreas N. The effect of pH on Cu toxicity to blue-green algae. *Int. Revue ges Hydrobiol*. 1989. 74(3): 283—291.
- [3] Kushner D J. Morphological changes in the diatom, *Tabellaria flocculosa*, induced by very low concentrations of cadmium. *Bull Environ Contamin Toxicol*. 1981. 26(6): 745—748.
- [4] Nakajima A, Horikoshi T, Sakaguchi T. Uptake of copper ion by green microalgae. *Agric. Biol. Chem*. 1979. 43(7): 1455—1460.
- [5] Gaugush R F, Heath R T. A rapid manual method for nitrate determination in small volumes by a modification of the cadmium reduction method. *Water Res*. 1984. 18(4): 449—450.
- [6] Gotsis-Skretas O, Christaki U. Physiological responses of two marine phytoplanktonic species to Cu and Hg. *Mar. Tech. Rep. Ser*. 1992. 69: 151—164.
- [7] Herbert E A, Carol B, Thomas D B. An algal assay method for determination of copper complexation capacities of natural waters. *Bull Environ. Contam. Toxicol*. 1983. 30: 448—455.
- [8] Kaladharan P. et al. Inhibition of primary production as induced by heavy metal ions on phytoplankton population of Cochin. *Indian J Fish*. 1990. 37(1): 51—54.
- [9] Kumar D, Jha M, Kumar H D. Heavy-metal toxicity in the cyanobacterium *Nostoc linckia*. *Aquatic Botany*. 1982. 22: 101—105.
- [10] Maksimov V N, Gupta A. Combined effect of some heavy metals on marine phytoplankton. *Vestn. MGU(biol.)* 1992. 2: 51—57.
- [11] Stratton G W, Huber A L, Corke C T. Effect of mercuric ion on the growth, photosynthesis, and nitrogenase activity of *Anabaena inaequalis*. *Applied & Environ. Microb*. 1979. 38(3): 537—543.
- [12] Wong P T S, Chau Y K, Patel D. Physiological and biochemical responses of several freshwater algae to a mixture of metals. *Chemosphere*. 1982. 11(4): 367—376.
- [13] Bolanos L. et al. Differential toxicological response to Cd in *Anabaena* strain PCC 7119 growth with NO₃⁻ of NH₄⁺ as nitrogen source. *J Plant Physiol*, 1992. 140(3): 345—349.
- [14] Lasheen M R, Shehata S A, Ali G H. Effect of Cd, Cu and Cr on the growth of Nile water algae. *Wat Air Soil Pollut*. 1990. 50(1—2): 19—30.
- [15] Stratton G W, Corke C T. The effect of Cadmium ion on the growth, photosynthesis and nitrogenase activity of *Anabaena inaequalis*. *Chemosphere*. 1979. 8(5): 277—281.
- [16] Prasad P V D. Effect of Cd, Pb and Ni on three freshwater green algae. *Wat Air Soil Pollut*. 1982. 17(3): 263—268.
- [17] Joseph W R, Thomas E J, Barbara W. The toxicological response of the alga *Anabaena flos-aquae* to cadmium. *Arch. Environ. Contam. Toxicol*. 1984. 3: 143—151.
- [18] Silverberg B A. Cadmium-induced ultrastructural changes in mitochondria of freshwater green algae. *Phycologia*. 1976. 15(2): 155—159.
- [19] Christian B, Raynald C. Effect of Cu on the ultrastructure of *Scenedesmus quadricauda* and *Chlorella vulgaris*. *Int Revue ges. Hydrobiol*. 1989. 74(1): 51—71.
- [20] Klotz R L. Algal response to copper under riverine conditions. *Environ. Pollut. Series A*. 1981. 24(1): 1—19.

- [21] Ballan, D C, et al. Response of the phytoplanktonic algae to Cu and Ag exposure: Vesicular metal bioaccumulation and lack of starch bodies. *Biol. Cell.* 1991. 72(1-2): 103—112.
- [22] Verweij W, Glazewski R, De Haan H. Speciation of Cu in relation to its bioavailability. *Chem Specia Bioavailab.* 1992. 4(2): 43—52.
- [23] Warren L J. Contamination of sediments by lead, zinc and cadmium: A review. *Environ. Pollut. Series B.* 1981. 2(6): 401—436.
- [24] Bastien C, Raynald C. Temporal variations of the ultrastructure in *Scenedesmus quadricauda* exposed to copper in a long term experiment. *Int Revue ges Hydrobiol.* 1989. 74(2): 207—219.
- [25] Peterson H G, et al. Metal toxicity to algae: A highly pH dependent phenomenon. *Can J Fish Aquat Sci.* 1984. 41: 974—979.
- [26] Capelo S, et al. Effect of lead on the uptake of nutrients by unicellular algae. *Water Res.* 1993. 27(10): 1563—1568.
- [27] David F S. Effects of nickel on seven species of freshwater algae. *Environ Pollut Ser A*; 1981. 25(4): 241—247.
- [28] Rai L C, Singh A K, Mallick N. Employment of CEPEX enclosures for monitoring toxicity of Hg and Zn on *in situ* structural and functional characteristics of algal communities of River Ganga in Varanasi, India. *Ecotoxic Environ Saf.* 1990. 20(2): 211—221.
- [29] Richard P. Influence of copper and zinc on the growth of a freshwater algae, *Scenedesmus quadricauda*: the significance of chemical speciation. *Environ. Sci. Technol.* 1982. 16(8): 443—447.
- [30] Albin Les, et al. Toxicity and binding of Cu, Zn and Cd by the blue-green algae, *Chroococcus parisi*. *Wat. Air Soil Pollut.* 1984. 23(2): 129—139.
- [31] Peterson H G. Toxicity testing using a chemostatgrown green alga, *Selenastrum capricornutum*. *Plant. Toxic. Assess.* 1990. 2: 1058—1189.
- [32] Chen C Y. Theoretical evaluation of the inhibitory effects of Hg on algal growth at various orthophosphate levels. *Water Res.* 1994. 28(4): 931—937.
- [33] David F S, Lori H N. Free nickel ion inhibits growth of two species of green algae. *Environ Pollut Ser A*; 1983. 31(2): 97—104.
- [34] Herbert E A, Richard H H, Thomas D B. Metal speciation. Effects on aquatic toxicity. *Environ Sci Technol.* 1980. 14(4): 441—443.
- [35] Mohapatra P K, Mohanty L, Mohanty R C. Reduction in Hg toxicity to *Scenedesmus bijuga* with addition of glucose, glutamate and 2-oxoglutarate. *J Ecotoxic Environ.* 1993. 3(1): 19—26.