

Pb²⁺ 胁迫对绿球藻 (*Chlorococcum* sp.) 的影响研究

邱昌恩^{1,2}, 胡征宇^{1*}

(1. 中国科学院水生生物研究所淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072;

2. 湖北师范学院生化分析技术湖北省重点实验室, 湖北黄石 435002)

摘要: 研究了不同 Pb²⁺ 浓度 (0.1、1、10、50、100、200、400 mg/L) 处理对绿球藻 (*Chlorococcum* sp.) 生长、形态结构及生理特性的影响。与对照 BG11 培养的绿球藻比较, Pb²⁺ 浓度 ≤ 50 mg/L 条件下培养的绿球藻细胞壁无明显增厚, 色素变化不大; 而暴露到 Pb²⁺ 浓度 > 50 mg/L 条件下培养, 绿球藻细胞壁明显增厚, 蛋白核消失。低浓度 Pb²⁺ (0.1 ~ 10 mg/L) 对绿球藻生长基本没有影响; 浓度在 50 mg/L 时, 绿球藻仍能维持一定的生长速率; 但当 Pb²⁺ 浓度 ≥ 100 mg/L 时, 绿球藻的生长受到显著抑制。绿球藻的 Chl a + Chl b 以及 Chl a 含量均随培养基中 Pb²⁺ 浓度的升高而逐渐减少。绿球藻净光合作用强度随培养基中 Pb²⁺ 浓度的增大而逐渐降低, Pb²⁺ 浓度 ≥ 100 mg/L 时净光合作用强度检测不到; 当 Pb²⁺ 浓度 < 50 mg/L 时, 绿球藻呼吸作用强度逐渐升高, 之后呼吸作用强度逐渐降低。在实验的浓度下, 绿球藻的丙二醛 (MDA) 含量、超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 活性都随培养基中 Pb²⁺ 浓度的升高而逐渐增强; 过氧化氢酶 (CAT) 则随 Pb²⁺ 浓度的增大酶活性先升高后降低。当 Pb²⁺ 浓度 ≤ 100 mg/L 时, 绿球藻对 Pb²⁺ 的去除率都在 95% 以上; 之后逐渐降低, 浓度到 400 mg/L 时仍然达 56.7%。结果显示, 绿球藻是一种耐受 Pb²⁺ 胁迫的藻类, 对铅的去除率也高, 可以应用于含铅污水的处理。

关键词: 绿球藻; Pb²⁺; 生长; 生理特性; 细胞结构

中图分类号: X173

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2007)05-0521-06

The Effects of Pb²⁺ Stress on *Chlorococcum* sp.

QIU Chang-En^{1,2}, HU Zheng-Yu^{1*}

(1. The State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. Hubei Key Laboratory of Bioanalytical Technique, Hubei Normal University, Huangshi, Hubei 435002, China)

Abstract: The effects of different concentration Pb²⁺ (0.1, 1, 10, 50, 100, 200, 400 mg/L) in BG11 on the growth, morphostructure and physiological characteristics of *Chlorococcum* sp. were studied. Compared with the cell cultured in BG11, the cell cultured in low concentrations (≤ 50 mg/L) showed few changes in pigment and thickness of cell wall; the cell wall of the cell cultured in high concentrations of Pb²⁺ (> 50 mg/L) became thicker, and the pigment decreased and the pyrenoid disappeared. When the concentrations of Pb²⁺ were 0.1 – 10 mg/L, the growth of *Chlorococcum* sp. showed no obvious difference compared with the control; when the concentration of Pb²⁺ was 50 mg/L, *Chlorococcum* sp. could maintain certain growth rate yet; however, when the concentration of Pb²⁺ was higher than 100 mg/L, the growth of *Chlorococcum* sp. was inhibited markedly. The contents of Chl a + Chl b or Chl a decreased gradually with the increase of the concentrations of Pb²⁺ in the medium. The photosynthesis of *Chlorococcum* sp. decreased gradually with the increase of Pb²⁺ concentrations, when the concentration of Pb²⁺ was higher than 100 mg/L, the photosynthesis of *Chlorococcum* sp. could not be detected; when the concentration of Pb²⁺ was less than 50 mg/L, the respiration of *Chlorococcum* sp. increased gradually with the increase of Pb²⁺ concentrations, and when the concentration of Pb²⁺ was higher than 50 mg/L, they decreased gradually with the increase of Pb²⁺ concentrations. The content of malondialdehyde and activities of superoxide dismutase and peroxidase increased gradually with the increase of Pb²⁺ concentrations, and the activity of catalase increased at beginning and then decreased with the increase of Pb²⁺ concentrations. When the concentration of Pb²⁺ was ≤ 100 mg/L, the removal rate of *Chlorococcum* sp. on Pb²⁺ was > 95%, and it was up 56.7% yet when the concentration of Pb²⁺ was 400 mg/L. The

收稿日期: 2007-03-12, 修回日期: 2007-05-22。

基金项目: 863 计划 (2002AA601021); 湖北省教育厅重点项目 (D200522005); 黄石市科技攻关重点项目资助。

作者简介: 邱昌恩 (1966 -), 男, 汉族, 湖北鄂州市人, 博士, 湖北师范学院副教授, 主要从事植物生理生化及环境生物学研究。

* 通讯作者 (E-mail: huzy@ihb.ac.cn)。

results demonstrated that the *Chlorococcum* sp. could be applied to the treatment of wastewater containing Pb^{2+} , because the *Chlorococcum* sp. could endure the stress of Pb^{2+} and was of high removal rate on Pb^{2+} .

Key words: *Chlorococcum* sp.; Pb^{2+} ; Growth; Physiological characteristic; Cell structure

重金属对水环境造成的污染已经引起人们的日益关注,研究表明,包括铅(Pb)在内的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,首当其冲的受害者是藻类生物,并将通过食物链进而危害人类。反过来,利用从污染严重的水体或污水中筛选出耐受重金属并可去除重金属的藻类,并利用藻类生物技术来治理含重金属污水、净化被重金属污染的水域成为一种值得探索的方法。目前,国内外文献主要报道利用藻类吸附法处理去除铅等重金属^[3-9],而且主要研究 pH、温度、离子强度等外界条件对藻吸附重金属的影响;也有铅等重金属或重金属污染对藻生长、生理、吸收、积累的基础研究^[10-14]。笔者从美国亚里桑那州一家污水处理厂的污水中分离纯化了一种绿球藻,从绿球藻对铅胁迫的响应及耐胁迫的生理机制等方面的研究,看其是否能作为一种耐污和去污的微藻,使人们能进一步运用氧化塘法、生物膜法、生物反应器,特别是运用固定化技术等藻类生物技术来处理含铅等重金属污水,以及治理被铅等重金属污染的水域。

1 材料与方法

1.1 试验藻种

绿球藻(*Chlorococcum* sp.) 采自美国亚里桑那州一家污水处理厂,应用微型藻类分离纯化的方法,用 BG11 琼脂培养基分离纯化后保种培养。在无菌条件下,将琼脂培养基上的单个藻落转接到 BG11 液体培养基中,置 LRH-250-G 光照培养箱中培养,培养温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,光照强度 $35 \sim 40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,在获得足够生物量后用于试验。

1.2 试验仪器

Perkin Elmer Analyst 800 原子吸收仪(Perkin Elmer, USA)、Leica DM5000B 研究显微镜(Leica, Germany)、氧电极(Rank Brothers, England)、紫外可见分光光度计(UV-1601, Shimadzu, Germany)等。

1.3 Pb^{2+} 浓度设置与培养条件

以 BG11 为基本培养基,灭菌的 100 mg/L 和 2000 mg/L Pb^{2+} [用分析纯 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 配制] 为母

液,配制成 0.1 、 1 、 10 、 50 、 100 、 200 、 400 mg/L 7 个 Pb^{2+} 处理浓度,以 BG11 作为对照。每个浓度组 3 个重复,均用 250 mL 锥形瓶盛装培养液,配后体积为 150 mL 。

取适量液体藻种 4000 r/min 离心 10 min ,用 15 mg/L NaHCO_3 悬浮洗涤 2 次(洗去藻体上附着的培养基),然后对每个实验组进行等量接种后,置于上述光照培养箱中培养。培养温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,光照强度 $35 \sim 40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光暗时间比为 $14:10$,光照期间每天定时摇动藻液 4 次。

1.4 生长测定和比增长率(μ)计算

10 d 内,每隔 48 h ,用 Shimadzu UV-1601 分光光度计,在 660 nm 波长处测一次藻液的吸光值(OD)。用细胞个数与光密度之间的线性回归方程计算细胞密度。回归方程为 $C = 0.02776 + 16.76748X$ ($R^2 = 0.998$),式中 C 代表细胞密度, X 代表 OD 值。以公式 $\mu = (\log N - \log N_0)/t$ 计算比生长率,式中 N_0 , N 表示培养物生长计时起始和结束时的藻类生物量即光密度, t 为结束与起始时间差(d)。

1.5 叶绿素含量测定

培养第 6 d ,每个处理取藻液 5 mL , 4000 r/min 离心 10 min ,上清液用作 Pb^{2+} 含量测定用,藻体用 80% 丙酮提取 2 次,每次 24 h 。采用文献[15]的方法测叶绿素含量。每组 3 个重复。

1.6 Pb^{2+} 含量测定

培养第 6 d ,每个处理组取 5 mL 藻液,在 4000 r/min 离心 10 min ,取上清液进行 Pb^{2+} 含量测定,3 个重复。用起始 Pb^{2+} 含量减去培养后的 Pb^{2+} 含量,计算每个处理绿球藻对 Pb^{2+} 的去除率。

1.7 光合作用强度和呼吸作用强度测定

培养第 8 d ,每个处理取 2 mL 藻液,用氧电极法^[15]测量各处理的光合作用和呼吸作用强度,每组处理做 3 个重复样。

1.8 丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)的提取和测定

培养 10 d 后,将培养液用 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜进行抽滤,得藻体,用分析天平称取鲜重,采用文

献[12]中的 SOD 酶提取方法配制提取液,用液氮法研磨提取,在 12 000 r/min 离心 15 min 后,用酶提取液将每个处理粗酶提取液定容至 25 mL,此为 SOD、POD 和 CAT 的粗酶液,用来测定 MDA 含量及 SOD、POD、CAT 活性。MDA 含量以及 SOD 活性参照文献[15]中的方法测定。POD、CAT 活性参照文献[16]中的方法测定。以 NBT 的光化还原刚好被 SOD 抑制 50% 时加入的酶量为 1 个 SOD 酶单位。POD 酶活性以每分钟内 A_{470} 变化 0.01 为 1 个酶活力单位(U),CAT 酶活性用每分钟内分解 H_2O_2 1 mg 为 1 个酶活力单位(U)。每个浓度处理 3 个重复。

1.9 显微结构观察

培养 10 d 后,每个处理制成玻片,用 DM5000B 显微镜在 40×物镜下观察拍照。

1.10 统计分析方法

用生物统计的单因子方差分析(ANOVA),以及平均数 LSD 多重比较检验本研究指标间的差异。

2 结果

2.1 Pb^{2+} 对绿球藻生长的影响

当 Pb^{2+} 浓度 ≤ 10 mg/L 时,绿球藻生长与对照 BG11 培养基相近,最大比生长速率均出现在第 6 d,其中 10 mg/L 时最大比生长率在第 2 d(见图 1),说明低浓度 Pb^{2+} 对绿球藻生长基本没多大影响;在 50 mg/L 浓度时与对照 BG11 相比尽管 Pb^{2+} 对绿球藻的生长有一定的抑制作用,但绿球藻仍能维持一定的生长,最大比生长速率在第 8 d,说明绿球藻能耐受此浓度;100、200、400 mg/L Pb^{2+} 浓度下培养,开始 4 d 有一定生长,之后出现负生长, Pb^{2+} 对绿球

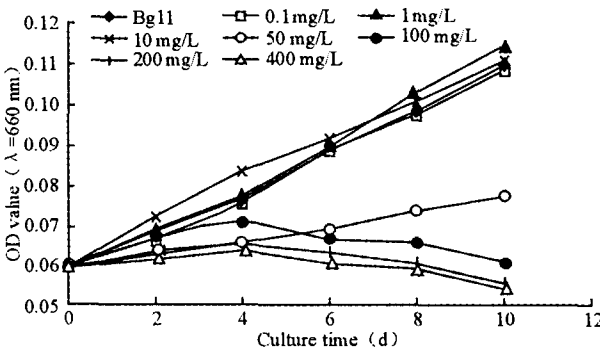


图 1 Pb^{2+} 对绿球藻生长的影响
Fig. 1 The effect of Pb^{2+} on the growth of *Chlorococcum* sp.

藻生长具明显抑制作用(ANOVA, $p < 0.05$)(见图 1)。

2.2 Pb^{2+} 对绿球藻叶绿素含量的影响

随培养基中 Pb^{2+} 浓度增加,绿球藻 Chl a + Chl b 含量以及 Chl a 含量逐渐降低(见表 1),说明 Pb^{2+} 可能抑制了绿球藻叶绿素合成,且可能导致叶绿素分解破坏。各浓度组 Chl a + Chl b 含量以及 Chl a 含量与对照有显著性差异($p < 0.05$)。

2.3 Pb^{2+} 对绿球藻光合作用和呼吸作用的影响

绿球藻净光合作用强度随培养基中 Pb^{2+} 浓度的增大而逐渐降低,但在低浓度(0.1 mg/L)时有微弱增高,当 Pb^{2+} 浓度 ≥ 100 mg/L 时净光合作用强度检测不到;当 Pb^{2+} 浓度小于 50 mg/L 时,绿球藻呼吸作用强度逐渐升高,之后呼吸作用强度逐渐降低。处理组净光和强度和呼吸强度与对照有显著差异和极显著差异($p < 0.05$, $p < 0.01$),结果见表 2。

表 1 Pb^{2+} 对绿球藻叶绿素含量的影响(培养 6 天)
Table 1 The effects of Pb^{2+} on the chlorophyll contents in *Chlorococcum* sp. (Cultivating period 6 days)

色素含量 Contents of chlorophyll	BG11 (Control)	Pb^{2+} 培养浓度 (mg/L)				Pb^{2+} concentration		
		0.1	1	10	50	100	200	400
Chl a + Chl b (pg/cell)	1.773	1.560	1.527	1.416	1.370	1.111	1.010	0.704
Chl a (pg/cell)	1.096	0.986	0.841	0.797	0.702	0.714	0.636	0.445

表 2 Pb^{2+} 对绿球藻光合作用和呼吸作用的影响(培养 8 天)
Table 2 The effects of Pb^{2+} on photosynthesis and respiration in *Chlorococcum* sp. (Cultivating period 8 days)

生理特性 Physiological characteristic	BG11 (Control)	Pb^{2+} 培养浓度 (mg/L)				Pb^{2+} concentration		
		0.1	1	10	50	100	200	400
净光合强度 Net photosynthetic rate $\mu\text{mol O}_2/(\text{h} \cdot 10^{10} \text{ cell})$	13059	13281	11446	10340	7486	未检出	未检出	未检出
呼吸强度 Respiration rate $\mu\text{mol O}_2/(\text{h} \cdot 10^{10} \text{ cell})$	4160	4551	4608	4610	5825	2100	1458	1084

2.4 Pb^{2+} 对绿球藻丙二醛(MDA)含量的影响

绿球藻体内丙二醛含量随培养基中 Pb^{2+} 含量的增大而逐渐增大,低浓度时增大不是很显著(见图2),各浓度组丙二醛含量与对照有极显著性差异($p < 0.01$)。丙二醛产生是细胞发生过氧化的一个指标,结果表明低浓度的 Pb^{2+} 对绿球藻伤害不明显,这与前面结果相吻合,即低浓度 Pb^{2+} (0.1、1、10 mg/L) 培养下绿球藻生长与对照 BG11 培养基相近,但随 Pb^{2+} 浓度的增大, Pb^{2+} 胁迫造成的氧化伤害也越来越大。

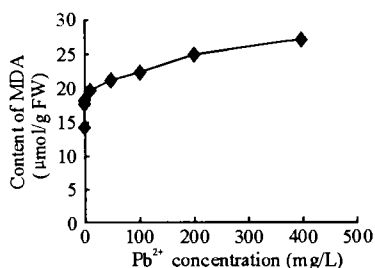


图2 Pb^{2+} 对绿球藻丙二醛含量的影响

Fig. 2 Effects of Pb^{2+} on malondialdehyde content in *Chlorococcum* sp.

2.5 Pb^{2+} 对绿球藻超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

绿球藻超氧化物歧化酶(SOD)活性随培养基中 Pb^{2+} 含量的增大而逐渐增大,说明 Pb^{2+} 胁迫导致绿球藻体内抗氧化保护酶 SOD 活性的提高。各处理组 SOD 活性与对照有极显著性差异($p < 0.01$),结果见图3。

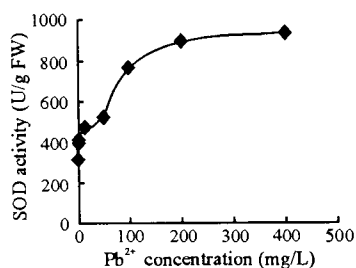


图3 Pb^{2+} 对绿球藻超氧化物歧化酶活性的影响

Fig. 3 Effects of Pb^{2+} on superoxide dismutase activity in *Chlorococcum* sp.

2.6 Pb^{2+} 对绿球藻过氧化物酶(POD)活性的影响

绿球藻过氧化物酶(POD)活性随培养基中 Pb^{2+} 含量的增大而逐渐增大,说明 Pb^{2+} 胁迫导致了绿球藻体内抗氧化保护酶 POD 活性的提高(见图4)。各处理组 POD 活性与对照有极显著性差异($p < 0.01$)。

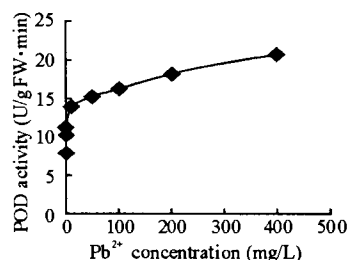


图4 Pb^{2+} 对绿球藻过氧化物酶活性的影响

Fig. 4 Effects of Pb^{2+} on peroxidase activity in *Chlorococcum* sp.

2.7 Pb^{2+} 对绿球藻过氧化氢酶(CAT)活性的影响

绿球藻过氧化氢酶(CAT)活性在 10 mg/L 以下随培养基中 Pb^{2+} 浓度的增高而逐渐增大,浓度大于 10 mg/L 时随 Pb^{2+} 浓度的增高 CAT 活性逐渐降低。各处理组 CAT 活性与对照有显著性差异($p < 0.05$),结果见图5。

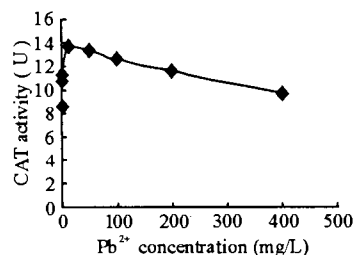


图5 Pb^{2+} 对绿球藻过氧化氢酶活性的影响

Fig. 5 Effects of Pb^{2+} on catalase activity in *Chlorococcum* sp.

2.8 Pb^{2+} 对绿球藻显微结构的影响

在正常 BG11 培养基培养条件下,绿球藻的显微结构具明显细胞壁,壁较厚,色素深,具一个蛋白核(见图6:A)。在 0.1、1、10、50 mg/L Pb^{2+} 浓度下,与对照相比细胞壁不见明显增厚,色素没多大变化,但蛋白核由一个变为多个(图6:B~E);100~400 mg/L Pb^{2+} 浓度条件下,细胞壁明显增厚,色素含量减少,蛋白核消失(图6:F~H)。

2.9 绿球藻对 Pb^{2+} 的去除

不同 Pb^{2+} 浓度条件下培养 6 d 后,测定绿球藻对 Pb^{2+} 的去除情况,结果见图7。绿球藻对 Pb^{2+} 的去除率非常高,当 Pb^{2+} 浓度 ≤ 100 mg/L 时,去除率都在 95% 以上;之后逐渐降低,到 400 mg/L 时仍然达 56.7%。各处理组去除率与对照有极显著性差异($p < 0.01$)。绿球藻对 Pb^{2+} 具有较高的去除率,以及结果中 0.1~50 mg/L 的去除率几乎相同的原因可能是由于在培养过程中 Pb^{2+} 易于从溶液中沉淀所致,对实验结果产生影响。

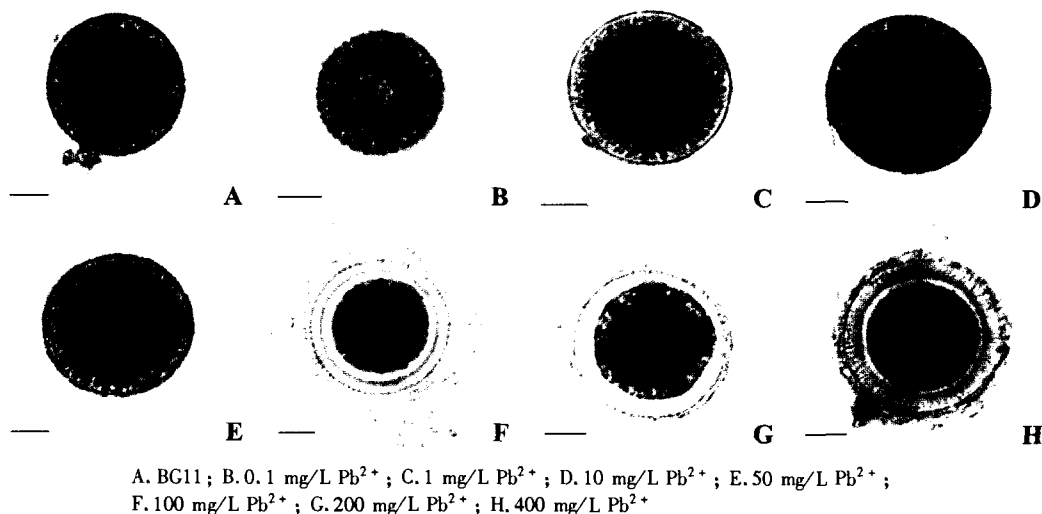


图6 Pb^{2+} 对绿球藻显微结构的影响 (比例尺 = 10 μm)
Fig. 6 The effect of Pb^{2+} on the microstructure of *Chlorococcum* sp. (Bar = 10 μm)

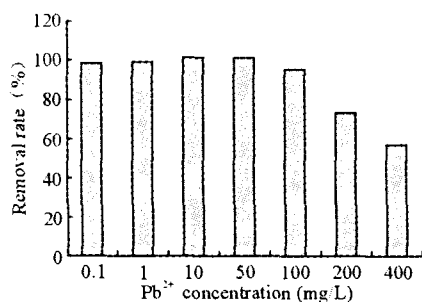


图7 绿球藻对 Pb^{2+} 的去除率
Fig. 7 The removal rate of *Chlorococcum* sp. on Pb^{2+}

3 讨论

研究结果显示,较低浓度的 Pb^{2+} (≤ 10 mg/L) 对绿球藻生长基本无影响,绿球藻在 50 mg/L Pb^{2+} 浓度下仍能维持一定的生长,浓度大于 100 mg/L 时才抑制绿球藻生长。 Pb^{2+} 浓度为 0.01 mg/L 和 0.05 mg/L 时,小形月牙藻 (*Selenastrum minutum* (Näg.) Coll.) 的生长与对照相近,当 Pb^{2+} 浓度达到 50 mg/L 时,小形月牙藻生长停止,第 8 至 10 天藻体全部死亡^[17]; Pb^{2+} 在 20 $\mu g/100$ mL 以下对衣藻 (*Chlamydomonas* Ehr.) 的生长具有促进作用,40 $\mu g/100$ mL 以上对衣藻的生长逐渐有一定的抑制作用^[18]; Pb^{2+} 在 200 $\mu g/L$ 时对绿色巴夫藻 (*Pavlova viridis* Tseng et Chen) 生长有较好的促进作用^[19]; Pb^{2+} 对湛江叉鞭金藻 (*Dicrateria zhanjiangensis*)、球等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*)、小球藻 (*Chlorella vulgaris* Beij.) 的 96 h EC_{50} 分别为 9.03、8.83 和 >20.00 mg/L^[12]。从 Pb^{2+} 对绿球藻生长的影响与以上已报道的 Pb^{2+} 对有关绿藻生长影响的结果比

较看,绿球藻是一种能耐受 Pb^{2+} 胁迫的藻类,而且耐受浓度也较高;在较高浓度 (≤ 100 mg/L) 下绿球藻对 Pb^{2+} 的去除率也很高,达 95% 以上。应用于重金属废水处理的藻类应具备两个特点:既要重金属有较高的耐受性,又必须对重金属要有较强的富集能力。因此,从这两方面看,绿球藻应该是一种处理重金属废水很好的材料,可以应用于含铅等重金属污水的处理。

Okamoto 等^[20] 的研究表明,在 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 离子诱导的氧化胁迫中,单细胞藻 (*Gonyaulax polyedra*) 体内叶绿体中的抗氧化酶超氧化物歧化酶 (SOD) 和抗坏血酸氧化酶活性提高,而且非酶性抗氧化剂谷胱甘肽含量升高。胡晓辉等^[21] 的研究认为,黄瓜幼苗根系中 SOD、POD 和 CAT 活性在低氧胁迫下显著提高,抗低氧胁迫能力强的品种 3 种氧化酶活性增幅较大。本研究结果显示 Pb^{2+} 胁迫同样诱导了绿球藻体内抗氧化酶 SOD、POD 活性增高;同时 CAT 活性先增高后降低,降低原因可能与体内丙二醛 (MDA) 过多积累有关 (因为结果显示绿球藻体内 MDA 含量随培养基中 Pb^{2+} 浓度的增加而逐渐增多),MDA 反过来抑制保护酶的活性和降低抗氧化物含量^[22]。大量研究表明污染物对植物的伤害都与自由基有关。植物在逆境胁迫下细胞内自由基的代谢平衡被破坏而有利于自由基的产生,过剩自由基的毒害之一是引发或加强膜脂过氧化作用,造成细胞膜系统的伤害,严重时可导致植物细胞死亡^[22]。酶促防御系统中的 SOD、CAT、POD 等氧化酶可使 O_2^- 、 H_2O_2 等自由基变为活性较低的物质,降低或消除它们对膜脂的攻击,使膜脂不

致发生过氧化作用而得到保护。因此, Pb^{2+} 胁迫诱导绿球藻体内 SOD、CAT、POD 抗氧化酶活性升高是绿球藻耐受 Pb^{2+} 的一个重要生理原因。绿球藻 Chl a + Chl b 以及 Chl a 含量降低, 说明 Pb^{2+} 可能使叶绿素分解破坏或抑制叶绿素合成, 这是导致绿球藻光合作用降低的一个原因。呼吸作用先增后降, 说明 Pb^{2+} 在低浓度胁迫时使呼吸加强, 随着胁迫加大导致的伤害加大, 因而高浓度 Pb^{2+} 逆境时呼吸强度降低。这些是 Pb^{2+} 胁迫造成绿球藻产生的一些生理性适应。绿球藻形成非常厚的细胞壁是对 Pb^{2+} 胁迫产生的结构上的适应。由于壁上的多糖和蛋白质分子中的 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NH$ 、 $-SH$ 等基团与 Pb^{2+} 结合, 结果 Pb^{2+} 过多的被吸附在细胞壁上^[23], 而转运到藻体内的量相对减少, 从而提高了绿球藻对高浓度 Pb^{2+} 胁迫的适应。同时绿球藻形成多个蛋白核以储存能量, 能提供因呼吸作用增强而导致的能量消耗。这两点是绿球藻能耐受 Pb^{2+} 胁迫的另两个结构上的原因。 Pb^{2+} 胁迫可诱导一些藻产生硫醇肽来增强对胁迫的抗性, 从而降低 Pb^{2+} 的毒性^[24-27]。因而 Pb^{2+} 胁迫也有可能诱导绿球藻产生这种硫醇肽或产生其它抗性胁迫蛋白如金属硫蛋白^[28]或产生胞内胞外金属配体^[29]来增强对 Pb^{2+} 的抗性, 这还有待进一步研究。因此, Pb^{2+} 胁迫下绿球藻在结构上和生理上会产生一些相应的适应, 细胞壁的增厚和蛋白核的形成以及抗氧化酶活性的提高都可以增强绿球藻抵抗 Pb^{2+} 胁迫的能力。

参考文献:

- [1] Bake M D, Mayfield C I, Inniss W E. Toxicity of pH, heavy metals and bisulfite to a freshwater green algae [J]. *Chemosphere*, 1983, 12(1): 35-44.
- [2] Capelo S, Villena M F, Simões G. Effect of lead on the uptake of nutrients by unicellular algae [J]. *Water Res*, 1993, 27(10): 1563-1568.
- [3] 李英敏, 杨海波, 张欣华. 新月藻生物吸附 Pb^{2+} 影响因素的研究[J]. *生物学杂志*, 2002, 19(3): 18-19.
- [4] 李英敏, 杨海波, 吕福荣. 小球藻对 Pb^{2+} 的吸附及生物吸附机理初探[J]. *农业环境科学学报*, 2004, 23(4): 696-699.
- [5] 徐鲁荣, 王亮, 陈丽丹, 李文权. 环境因子对海藻吸附重金属的影响[J]. *厦门大学学报*, 2003, 42(6): 772-776.
- [6] Gin K Y H, Tang Y Z, Aziz M A. Derivation and application of a new model for heavy metal biosorption by algae [J]. *Water Res*, 2002, 36: 1313-1323.
- [7] Sheng P X, Ting Y P, Chen J P. 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: 131-141.
- [8] Slaveykova V I, Wilkinson K J. Effect of pH on Pb biouptake by the freshwater alga *Chlorella kesslerii* [J]. *Environ Chem Lett*, 2003, 1: 185-189.
- [9] Tien C T. Biosorption of metal ions by freshwater algae with different surface characteristics [J]. *Process Biochemistry*, 2002, 38: 605-613.
- [10] 李建宏, 曾昭琪, 薛宇鸣, 邵子厚. 环境条件对极大螺旋藻金属元素吸收的影响[J]. *湖泊科学*, 1996, 8(2): 119-124.
- [11] 周长芳, 吴国荣, 路长梅. 铅污染对钝顶螺旋藻生长及某些生理性状的影响[J]. *湖泊科学*, 1999, 11(2): 135-140.
- [12] 何学佳, 彭兴跃. 应用流式细胞仪研究 Pb 对海洋微藻生长的影响[J]. *海洋环境科学*, 2003, 22(1): 1-5.
- [13] 姬乃建, 鲍慈光, 许良知. 重金属及其形态对斜生栅藻生长的影响[J]. *云南大学学报*, 2003, 25(增刊): 101-106.
- [14] Chen B L, Hang Q, Lin X J. Accumulation of Ag, Cd, Co, Cu, Hg, Ni and Pb in *Pavlova viridis* Tseng (Haptophyceae) [J]. *Journal of Applied phycology*, 1998, 10: 371-376.
- [15] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会编. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999. 86-87, 95-96, 305-306, 314-315.
- [16] 李合生主编. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000. 164-167.
- [17] 周宏, 项斯瑞. 重金属铜、锌、铅、镉对小形月芽藻生长及亚显微结构的影响[J]. *杭州大学学报*, 1998, 25(2): 86-91.
- [18] 赵广宇, 于安源, 董飒英. 衣藻对铅离子的耐受性研究[J]. *腐蚀科学与防护技术*, 2001, 13: 387-388.
- [19] 周银环, 刘东超. 4 种微量重金属对绿色巴夫藻生长、叶绿素 a 及大小的影响[J]. *湛江海洋大学学报*, 2003, 23(1): 22-28.
- [20] Okamoto O K, Pinto E, Latorre R. Antioxidant modulation in response to metal-induced oxidative stress algal in algal chloroplasts [J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2001, 40: 18-24.
- [21] 胡晓辉, 郭世荣, 李璟, 王素平, 贾永霞. 低氧胁迫对黄瓜幼苗根系无氧呼吸酶和抗氧化酶活性的影响[J]. *武汉植物学研究*, 2005, 23(4): 337-341.
- [22] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. *植物生理学通讯*, 1991, 27(2): 84-90.
- [23] Sioko G L. A morphometric analysis of algae response to low dose, short term heavy metal exposure [J]. *Protoplasma*, 1982, 110: 75-86.
- [24] Scarano G, Morelli E. Characterization of Cadmium- and Lead-phytochelatin complexes formed in a marine microalga in response to metal exposure [J]. *Bio Metals*, 2002, 95: 145-151.
- [25] Pawlik-skowrońska B. Relationships between acid-soluble thiol peptides and accumulated Pb in the green alga *Stichococcus bacillaris* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2000, 50: 221-230.
- [26] Pawlik-skowrońska B. Phytochelation production in freshwater algae *Stigeoclonium* in response to heavy metals contained in mining water; effects of some environmental factors [J]. *Aquatic Toxicology*, 2001, 52: 241-249.
- [27] Pawlik-skowrońska B. Correlations between toxic Pb effects and production of Pb-induced thiol peptides in the microalga *Stichococcus bacillaris* [J]. *Environmental Pollution*, 2003, 119: 119-127.
- [28] 戴玲芬, 高宏, 夏建荣. 雪松聚球藻对重金属镉的抗性和解毒作用[J]. *应用与环境生物学报*, 1998, 4(3): 192-195.
- [29] Pistocchi R, Mormile A M, Guerrini F. Increased production of extra- and intracellular metal-ligands in phytoplankton exposed to copper and cadmium [J]. *Journal of Applied phycology*, 2000, 12: 469-477.