

张海涛, 郭西亚, 张杰, 等. 铜绿微囊藻对锌、镉胁迫的生理响应[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(1): 33-41.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2019.01.005

## 铜绿微囊藻对锌、镉胁迫的生理响应

张海涛<sup>1,2</sup>, 郭西亚<sup>1,2</sup>, 张杰<sup>1,2</sup>, 邓建才<sup>1</sup>

(1. 中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与环境国家重点实验室, 江苏 南京 210008; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 为了明确藻类对重金属的耐受性和富集特征, 采用室内培养法, 研究铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 对不同质量浓度  $Zn^{2+}$  和  $Cd^{2+}$  的富集能力以及对其胁迫的生理响应。结果表明, 铜绿微囊藻对  $Zn^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  均有一定的富集作用, 而且  $Zn^{2+}$  的富集量明显高于  $Cd^{2+}$ 。当  $Zn^{2+}$  质量浓度为 0.05 mg/L 时, 铜绿微囊藻的比生长速率最快, 当  $Zn^{2+}$  质量浓度超过 0.05 mg/L 时, 铜绿微囊藻的生长受到抑制, 即  $Zn^{2+}$  对铜绿微囊藻的生长具有低质量浓度促进, 高质量浓度抑制的作用。  $Cd^{2+}$  对铜绿微囊藻的生长不具有低质量浓度促进作用, 质量浓度为 0.05 mg/L 的  $Cd^{2+}$  作用 96 h 后, 铜绿微囊藻的生长受到明显抑制,  $Cd^{2+}$  质量浓度越高, 其对铜绿微囊藻生长的抑制作用越明显。  $Zn^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  质量浓度分别为 0.20 mg/L 和 0.15 mg/L 时, 连续培养 24 h 后, 铜绿微囊藻的酯酶活性均显著升高, 当  $Zn^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  质量浓度分别达到 0.20 mg/L 和 0.25 mg/L 时, 与对照相比, 藻细胞光系统 II (PSII) 最大光能转化效率 ( $F_v/F_m$ ) 显著降低。在  $Zn^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  胁迫下, 铜绿微囊藻的超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、过氧化氢酶 (CAT) 活性以及丙二醛 (MDA) 含量均发生变化。

**关键词:** 铜绿微囊藻; 锌; 镉; 生理响应; 富集能力

**中图分类号:** X171.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2019)01-0033-09

## Physiological response of *Microcystis aeruginosa* to $Zn^{2+}$ and $Cd^{2+}$ stresses

ZHANG Hai-tao<sup>1,2</sup>, GUO Xi-ya<sup>1,2</sup>, ZHANG Jie<sup>1,2</sup>, DENG Jian-cai<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** In order to study the tolerance and enrichment characteristics of algae to heavy metals, the enrichment ability and physiological response of *Microcystis aeruginosa* to different concentrations of  $Zn^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  were investigated by using indoor culture methods. The results showed that *Microcystis aeruginosa* had a certain enrichment effect on  $Zn^{2+}$  and  $Cd^{2+}$ , and the enrichment of  $Zn^{2+}$  in *Microcystis aeruginosa* was obviously higher than that of  $Cd^{2+}$ . *Microcystis aeruginosa* grew fastest when the concentration of  $Zn^{2+}$  was 0.05 mg/L, while the growth was inhibited when the concentration of  $Zn^{2+}$  exceeded 0.05 mg/L. The low concentrations of  $Zn^{2+}$  could promote the growth of *Microcystis aeruginosa*, while high concentrations could inhibit its growth, which was called the hormesis effect. However, the growth of *Microcystis aeruginosa* was not promoted by low concentration of  $Cd^{2+}$  and was obviously inhibited after being treated with 0.05 mg/L  $Cd^{2+}$  for 96 h. With the increase of  $Cd^{2+}$  concentration, the inhibitory effect of  $Cd^{2+}$  on the growth of *Microcystis aeruginosa* became more and more obvious. When the concentration of  $Zn^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  reached 0.20 mg/L and 0.15 mg/L, the esterase activity of *Microcystis aeruginosa* increased

significantly after continuous culture for 24 hours. When the concentration of  $Zn^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  reached 0.20 mg/L and 0.25 mg/L, respectively, the  $F_v/F_m$  value was significantly decreased. The activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) and the content of malondialdehyde (MDA) changed under the stresses of  $Zn^{2+}$  and  $Cd^{2+}$ .

收稿日期: 2018-04-10

基金项目: 水体污染控制与治理科技重大专项 (2014ZX07101-011);

国家自然科学基金项目 (41271213)

作者简介: 张海涛 (1992-), 男, 安徽利辛人, 硕士研究生, 主要从事藻类生态毒理学研究。 (E-mail) htzhang1992@163.com

通讯作者: 邓建才, (E-mail) jcdeng@niglas.ac.cn

**Key words:** *Microcystis aeruginosa*; Zn; Cd; physiological response; enrichment ability

随着工农业的快速发展,大量重金属进入水环境,这不仅污染水体,还导致其在生物体内富集,并通过食物链传递,将其作用放大,最终危害人类健康<sup>[1]</sup>。藻类是水域生态系统的初级生产者,藻细胞壁及细胞内含有的可与重金属离子结合的功能基团,如氨基、硫代基等<sup>[2-4]</sup>,对水体中的重金属具有一定的耐受性<sup>[5]</sup>。在相同质量浓度条件下,铜绿微囊藻对  $\text{Cd}^{2+}$  的吸附效率大于  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$ ,而且自然条件下生长的铜绿微囊藻的吸附能力比室内培养的铜绿微囊藻强<sup>[6-7]</sup>。不同藻类对  $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  的耐受性存在较大差异,点状念珠藻(*Nostoc punctiforme*)可以耐受 1.43 mg/L 的  $\text{Zn}^{2+}$ ,聚球藻(*Synechococcus* sp. IU 625)可耐受 25.00 mg/L 的  $\text{Zn}^{2+}$ <sup>[8]</sup>。

藻类在吸附重金属离子的过程中也会遭受其毒害,与藻类亲和性越强的重金属离子对藻类生长的抑制作用越强<sup>[9]</sup>。已有研究结果表明,江苏省 5 大湖泊(太湖、洪泽湖、洪泽湖、高宝邵伯湖和骆马湖)  $\text{Cd}^{2+}$  的平均质量浓度为 1.02  $\mu\text{g/L}$ ,其中太湖南泉湖区  $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  全年平均质量浓度可达 31.89  $\mu\text{g/L}$  和 0.29  $\mu\text{g/L}$ ,最高质量浓度分别为 77.00  $\mu\text{g/L}$  和 2.20  $\mu\text{g/L}$ <sup>[10-11]</sup>。锌是藻类生长所必须的微量元素,适量的  $\text{Zn}^{2+}$  能维持藻类正常的生理代谢,但过量的  $\text{Zn}^{2+}$  会与类金属硫蛋白结合,导致细胞膜受损,光合作用下降<sup>[12-13]</sup>。 $\text{Cd}^{2+}$  是常见的重金属污染物之一,能破坏藻类叶绿体结构,抑制叶绿素合成,也能导致抗氧化酶失活、蛋白质变性以及细胞膜损伤等<sup>[14]</sup>。有研究结果表明,0.05 mg/L 的  $\text{Cd}^{2+}$  可显著抑制铜绿微囊藻生长,在  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫下,藻细胞会发生膜脂过氧化和膜蛋白的聚合作用,使膜系统变性,高质量浓度  $\text{Cd}^{2+}$  导致藻细胞表面及周围絮状物增多,部分藻细胞甚至破碎溶解,细胞趋于死亡, $\text{Cd}^{2+}$  对斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)生长的影响表现为低质量浓度(<0.10 mg/L)促进,高质量浓度抑制<sup>[15]</sup>。高质量浓度的  $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  均会导致铜绿微囊藻细胞内叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素、藻胆素等色素含量以及光系统 II(PSII)最大光能转化效率降低,并抑制藻胆体向 PSII 反应中心进行能量传递<sup>[16-17]</sup>。

在一些经济发达地区,水体正遭受重金属污染,且常伴有大规模的藻类水华。在适宜风场作用下,水柱中的蓝藻上浮至水面,并进行水平漂移运动,这

使得较大区域的藻类大量聚集在某特定区域<sup>[18]</sup>。在水体表面的水平漂移过程中,藻类也会携带其吸收、吸附的物质一起运动,当聚积的藻类死亡分解后,其体内富集的物质被释放,又重新回到水环境中,从而改变物质的空间分布<sup>[19-20]</sup>。铜绿微囊藻是形成藻类水华的主要物种,对重金属具有较强的富集能力。因此,本研究拟采用室内培养法,开展不同锌质量浓度、镉质量浓度下铜绿微囊藻毒理学试验,以期阐明铜绿微囊藻对重金属胁迫的生理响应机制和耐受能力,以及藻细胞密度、酯酶活性、PSII 最大光能转化效率( $F_v/F_m$ )、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、丙二醛(MDA)含量在不同锌质量浓度、镉质量浓度下的变化。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验藻种及培养

试验使用的铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库。培养试验前,玻璃器皿均用 10% 的盐酸溶液浸泡 3 d,再用去离子水冲洗并烘干。铜绿微囊藻扩大培养前,根据 Rippka 等<sup>[21]</sup>方法配制的 BG11 培养基及玻璃器皿均经 120  $^{\circ}\text{C}$  高压蒸汽灭菌锅(YXQ-LS-50A,博讯公司产品)灭菌 30 min。在无菌操作台(ESCO AC2-4S,艺思高公司产品)中,将适量藻液转接至含有 500 ml BG11 培养基的锥形瓶中,并置于光照培养箱(GZX-300BSH-III,新苗公司产品)中进行扩大培养,光照度为  $(35 \pm 5) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,光暗比为 1:1,温度控制在  $(25 \pm 1) ^{\circ}\text{C}$ ,在培养过程中定期摇动锥形瓶,保持试验藻种健康生长。

### 1.2 试验处理

与扩大培养条件相同,使用改良的 BG11 培养基(无  $\text{Zn}^{2+}$ )对铜绿微囊藻进行 3 d 饥饿培养<sup>[22]</sup>,以减少 BG11 培养基中原有  $\text{Zn}^{2+}$  的干扰。无菌条件下,取 290 ml 改良的 BG11 培养基加入 500 ml 锥形瓶中,然后分别加入 5 ml 不同质量浓度的  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ (分析纯)溶液,再加入 5 ml 经过饥饿培养的铜绿微囊藻液,使  $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  质量浓度梯度均为 0 mg/L、0.05 mg/L、0.10 mg/L、0.15 mg/L、0.20 mg/L 和 0.25 mg/L。采用流式细胞仪检测铜绿微囊藻的初始状态,以保证新接入藻的状态符合试验要

求。根据经济合作与发展组织(OECD)标准,利用藻类进行毒性试验时,藻的初始密度多设定在1 ml 约 $1.00 \times 10^5$ 个(对数生长期),以此来比较不同物质的毒性大小<sup>[23]</sup>。本试验初始时刻藻的密度为1 ml  $1.14 \times 10^6$ 个,铜绿微囊藻处在对数生长期。 $Zn^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$ 每个质量浓度均设3个重复,连续培养144 h。在铜绿微囊藻培养的第0 h、24 h、48 h、72 h、96 h、120 h和144 h测定藻密度、酯酶活性、PSII最大光能转化效率( $F_v/F_m$ ),在铜绿微囊藻培养的第0 h、48 h、96 h和144 h测定超氧化物歧化酶活性、过氧化氢酶活性、丙二醛含量,在铜绿微囊藻培养的第144 h测定藻细胞中 $Zn^{2+}$ 和 $Cd^{2+}$ 的富集量。

### 1.3 指标测定

1.3.1 藻密度和酯酶活性 无菌条件下,铜绿微囊藻培养的第0 h、24 h、48 h、72 h、96 h、120 h和144 h,采集藻液2 ml,使其通过孔径为45  $\mu m$ 的尼龙筛网,将藻液分成2份(体积各约1 ml),分别测定酯酶活性和藻细胞密度。向1份藻滤液中加入二乙酸荧光素(FDA, Sigma公司产品),使FDA浓度为25  $\mu mol/L$ ,25  $^{\circ}C$ 暗室温育8 min后,使用流式细胞仪(BD Accuri™ C6,贝克顿-狄金森公司产品)测定酯酶活性,用流式细胞仪直接测定另一份藻滤液的藻细胞密度。流式细胞仪为双激光配置:第1激光的激发波长为488 nm,异硫氰酸荧光检测通道(FL1)(530 nm/30 nm)收集FDA荧光,甲藻素-叶绿素-蛋白质复合荧光检测通道(FL3,长通滤光片670 nm)收集藻密度荧光,第2激光激发波长为640 nm,进样流速为1  $\mu l/s$ ,上样体积为10  $\mu l$ <sup>[24]</sup>。酯酶活性用荧光强度百分比表示,即:相对荧光强度=测定荧光强度/初始荧光强度 $\times 100\%$ 。

1.3.2 总蛋白质含量、SOD活性、CAT活性以及MDA含量 无菌条件下,于铜绿微囊藻培养的第0 h、48 h、96 h和144 h,采集适量藻液至15 ml离心管中,在冷冻台式离心机(5810R,艾本德公司产品)中离心(4  $^{\circ}C$ 、10 000 r/min)10 min,收集藻细胞,使藻细胞重悬于无菌预冷的0.05 mol/L磷酸盐缓冲液(PBS, pH=7.8)中,冰浴下采用超声波细胞破碎仪(X0-1000D,先欧公司产品)破碎藻细胞,直至镜检无完整细胞,离心(4  $^{\circ}C$ 、10 000 r/min)10 min,取上清液,上清液为待测粗酶液。提取藻细胞内的MDA时,将离心收集的藻细胞重悬于10%的三氯乙酸(TCA)中,超声破碎,离心,取上清液,上清液为待测粗MDA提取液。

蛋白质含量采用考马斯亮蓝法测定<sup>[25]</sup>。SOD活性采用氮蓝四唑(NBT)光还原法测定,以1 mg蛋白质在1 ml反应液中使NBT光还原反应抑制率达50%时所对应的SOD量为1个活力单位,SOD活性单位为U/mg。CAT活性采用紫外吸收法<sup>[26]</sup>测定,以1 mg蛋白质1 s分解1  $\mu mol$   $H_2O_2$ 的量为1个活力单位,CAT活性单位为U/mg。MDA含量采用硫代巴比妥酸法(TBA)<sup>[27]</sup>测定,单位为nmol/mg。

1.3.3 光合荧光 采用浮游植物荧光仪(Phyto-PAM, Walz公司产品)测定叶绿素荧光参数。取藻液2 ml,暗适应3 min后进行测量,直接在仪器上读取PSII最大光能转化效率( $F_v/F_m$ )数值,该数值可反映铜绿微囊藻潜在的最大光合速率。

1.3.4 藻细胞中锌和镉的富集量 铜绿微囊藻毒理试验培养第144 h,采集藻液50 ml至离心管,在离心机(TDL-40B,安亭公司产品)中以4 000 r/min离心15 min,将铜绿微囊藻与改良的BG11培养基分离,倾倒入培养基,将沉淀的藻细胞重悬于无菌去离子水中,10 min后小心吸取上部藻细胞悬液,弃去离心管底部杂质,再将吸取的藻液以4 000 r/min离心15 min,收集藻细胞,倾倒入清洗液。将含有铜绿微囊藻的离心管置于冷冻干燥机(FD-1A-50,博医康公司产品)中,待藻样冻干至恒质量后称取0.05 g至聚四氟乙烯消解管中,加5 ml硝酸,过夜,12 h后将消解管置于微波消解罐中,开盖,130  $^{\circ}C$ 消解2 h,然后加高氯酸2 ml,160  $^{\circ}C$ 消解1 h,再升温至180  $^{\circ}C$ 消解赶酸,直至溶液近干时停止加热,冷却至室温后加5 ml 2%的稀盐酸,直至粘在消解管壁的消解产物完全溶解,用去离子水将消解管中的溶液和沉淀全部转移至50 ml容量瓶中,定容,摇匀,放置过夜,12 h后将容量瓶中的上层清液倒入15 ml离心管中,采用电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS, Agilent 7700X,安捷伦公司产品)分别测定藻细胞中锌和镉的富集量。

### 1.4 数据处理与统计

采用Microsoft Excel 2010处理数据,用SPSS 21.0对试验结果进行单因素方差分析(ANOVA),并用最小显著性差异法(LSD)对组间差异进行多重比较,采用GraphPad Prism 5软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 铜绿微囊藻对锌、镉的富集作用

图1显示,铜绿微囊藻对锌、镉的富集量均随

$\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 初始质量浓度的升高而增大。当  $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 的初始质量浓度由 0.05 mg/L 增加至 0.25 mg/L 时,铜绿微囊藻对  $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 的富集量分别为 238.27~2 071.45  $\mu\text{g/g}$ 和 43.72~961.67  $\mu\text{g/g}$ ,5 个处理下的平均含量分别为 850.21  $\mu\text{g/g}$ 和 368.57  $\mu\text{g/g}$ 。铜绿微囊藻对  $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 均有一定的富集能力,当初始质量浓度相同时,单位质量藻体对  $\text{Zn}^{2+}$ 的富集量显著高于其对  $\text{Cd}^{2+}$ 的富集量( $P<0.05$ )。

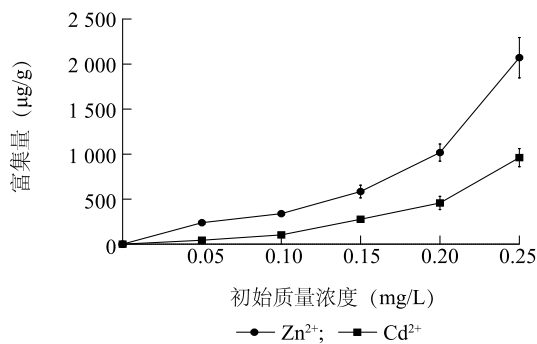
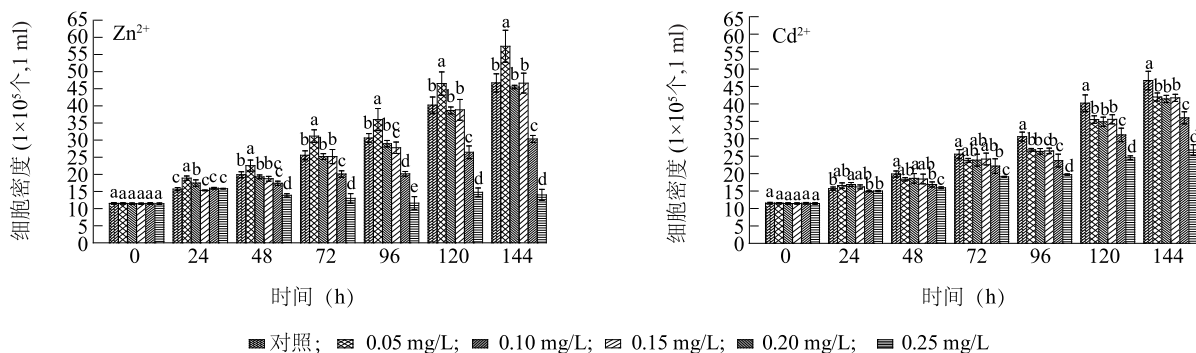


图1 铜绿微囊藻中  $\text{Zn}^{2+}$ 和  $\text{Cd}^{2+}$ 的富集量

Fig.1 Enrichment of  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  in *Microcystis aeruginosa*

## 2.2 $\text{Zn}^{2+}$ 和 $\text{Cd}^{2+}$ 对铜绿微囊藻细胞密度的影响

图2显示,在培养期间, $\text{Zn}^{2+}$ 质量浓度为0.05



图中不同小写字母表示同时刻不同质量浓度重金属处理的藻细胞密度差异显著。

图2  $\text{Zn}^{2+}$ 和  $\text{Cd}^{2+}$ 对铜绿微囊藻细胞生长的影响

Fig.2 Effects of  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  on the growth of *Microcystis aeruginosa*

## 2.3 $\text{Zn}^{2+}$ 和 $\text{Cd}^{2+}$ 对铜绿微囊藻酯酶活性的影响

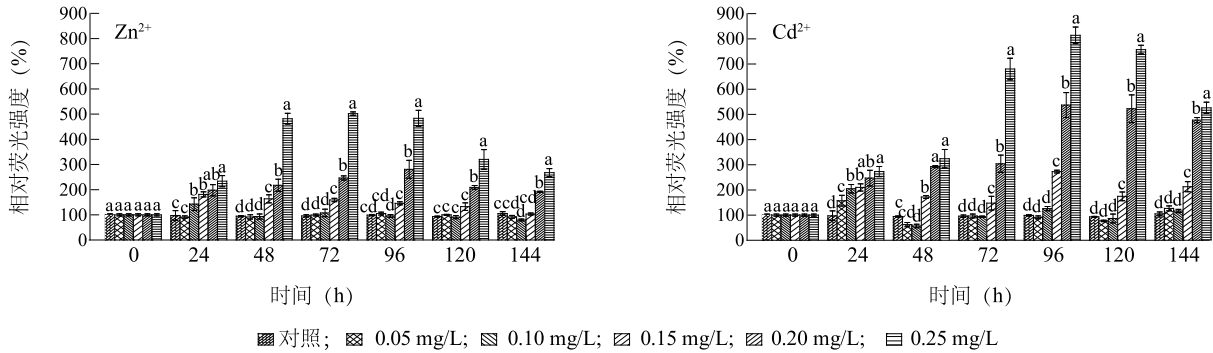
酯酶活性可以反映细胞的新陈代谢特性,是比较敏感可靠的毒理学指标。二乙酸荧光素(FDA)染料能够透过细胞膜被酯酶水解,本身没有荧光,但其水解产物可以发出荧光。因此,可以通过检测相应的荧光信号来反映藻细胞的活性<sup>[28]</sup>。

图3显示, $\text{Zn}^{2+}$ 培养24 h,0.05 mg/L处理组的相对荧光强度与对照组无显著性差异( $P>0.05$ ),但  $\text{Zn}^{2+}$ 质量浓度高于0.10 mg/L处理组的相对荧光强

度均明显高于对照组。48 h后,0.15 mg/L处理组的相对荧光强度不断下降,96 h后与同期对照组无显著性差异( $P>0.05$ ),但0.20 mg/L和0.25 mg/L处理组的相对荧光强度始终显著高于同期对照组( $P<0.05$ )。培养48~144 h,0.20 mg/L  $\text{Zn}^{2+}$ 和0.25 mg/L  $\text{Zn}^{2+}$ 处理组的相对荧光强度分别是同期对照组的217.5%、246.5%、280.7%、209.2%、191.3%和481.8%、502.2%、483.5%、320.2%、267.6%。 $\text{Cd}^{2+}$ 培养24 h,各质量浓度处理组藻细胞的相对荧光强

度均显著高于同期对照组 ( $P < 0.05$ )。培养 48 h 后, 0.05 mg/L 和 0.10 mg/L 处理组的相对荧光强度与同期对照组无显著性差异, 但 0.15 mg/L、0.20 mg/L 和 0.25 mg/L 处理组的相对荧光强度始终显著高于同期对照组 ( $P < 0.05$ ), 培养 96 h 时达到最大,

分别是对照组相对荧光强度的 272.8%、537.2% 和 757.3%。重金属培养 48 h, 质量浓度为 0.25 mg/L 的  $Zn^{2+}$  和  $Cd^{2+}$  处理组的相对荧光强度分别是培养 24 h 时相对荧光强度的 206.1% 和 118.7%。



图中不同小写字母表示同时刻不同质量浓度重金属处理的藻细胞相对荧光强度差异显著。

图3  $Zn^{2+}$  和  $Cd^{2+}$  对铜绿微囊藻酯酶活性的影响

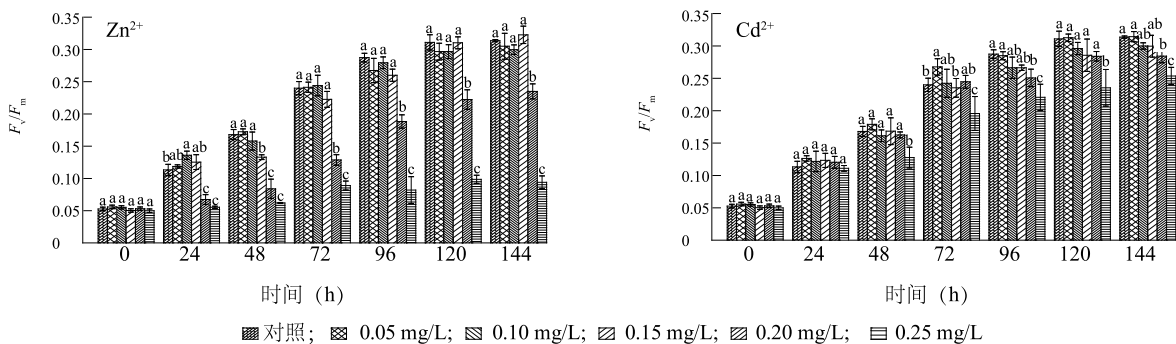
Fig.3 Effects of  $Zn^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  on the esterase activity of *Microcystis aeruginosa*

## 2.4 $Zn^{2+}$ 和 $Cd^{2+}$ 对铜绿微囊藻光合作用的影响

PSII 最大光能转化效率又称 PSII 的光化学最大量子产量, 是暗适应下 PSII 的最大光化学效率, 反映了光合自养生物潜在的最大光合作用能力, 常作为植物光合性能是否受损的敏感性指标<sup>[29]</sup>。

图 4 显示, 在培养 120 h 内,  $Zn^{2+}$  质量浓度低于 0.25 mg/L 处理组藻细胞  $F_v/F_m$  值持续快速增长, 120 h 后逐渐稳定, 而且除了 0.20 mg/L 处理组的  $F_v/F_m$  值显著低于其他组外 ( $P < 0.05$ ), 各组间差异不显著。  $Zn^{2+}$  浓度为 0.25 mg/L 处理组的  $F_v/F_m$  值

在培养 24 h 后显著低于同期对照组 ( $P < 0.05$ ), 培养期间各采样时刻的  $F_v/F_m$  值之间无显著差异, 72 h 后, 0.25 mg/L 处理组的  $F_v/F_m$  值均显著低于同期各质量浓度组的  $F_v/F_m$  值 ( $P < 0.05$ )。  $Cd^{2+}$  对铜绿微囊藻  $F_v/F_m$  值的影响与  $Zn^{2+}$  类似, 培养期间, 各质量浓度组的  $F_v/F_m$  值在 120 h 前持续上升, 120 h 后保持稳定。 48 h 后,  $Cd^{2+}$  质量浓度为 0.25 mg/L 处理组的  $F_v/F_m$  值显著低于同期各质量浓度组 ( $P < 0.05$ ), 但高于同质量浓度  $Zn^{2+}$  胁迫下藻细胞的  $F_v/F_m$  值。



图中不同小写字母表示同时刻不同质量浓度重金属处理的藻细胞  $F_v/F_m$  值差异显著。

图4  $Zn^{2+}$  和  $Cd^{2+}$  对铜绿微囊藻光合作用的影响

Fig.4 Effects of  $Zn^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  on the photosynthesis of *Microcystis aeruginosa*

## 2.5 $Zn^{2+}$ 和 $Cd^{2+}$ 对铜绿微囊藻抗氧化性的影响

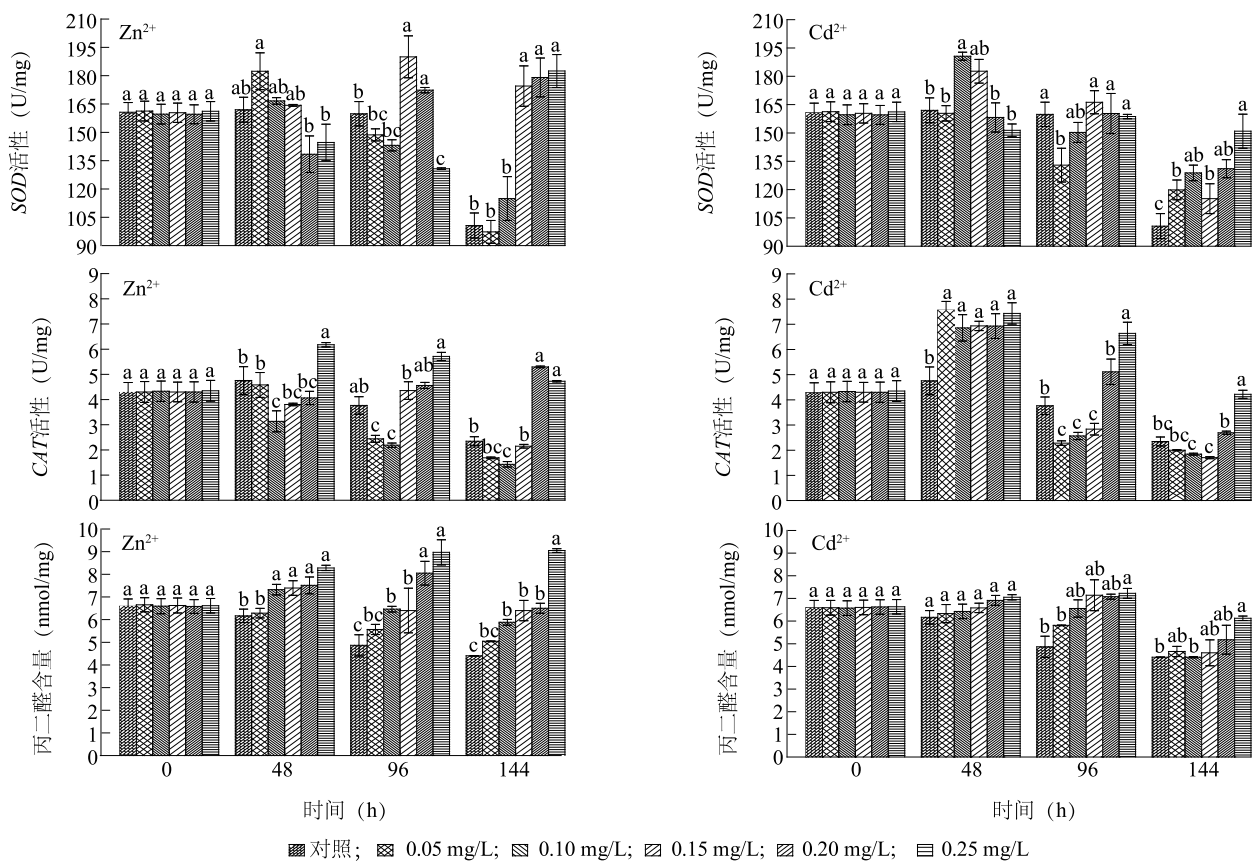
图 5 显示,  $Zn^{2+}$  暴露 48 h, 各质量浓度处理下藻

细胞内 SOD 活性与同期对照组相比无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。 0.10 mg/L 和 0.25 mg/L  $Zn^{2+}$  处理组的

*CAT* 活性分别显著低于和高于同期对照组 ( $P < 0.05$ ), 表明高质量浓度的  $Zn^{2+}$  刺激了藻细胞内 *CAT* 活性的升高。培养 96 h, 0.15 mg/L 和 0.20 mg/L  $Zn^{2+}$  处理组的 *SOD* 活性显著高于同期对照组 ( $P < 0.05$ ), 但 0.25 mg/L  $Zn^{2+}$  处理组的 *SOD* 活性显著低于同期对照组 ( $P < 0.05$ )。培养 96 h, 0.05 mg/L 和 0.10 mg/L  $Zn^{2+}$  处理组的 *CAT* 活性显著低于同期对照组 ( $P < 0.05$ ), 0.15~0.25 mg/L 处理组的 *CAT* 活性与对照组相比, 无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 表明低质量浓度  $Zn^{2+}$  在一定程度上抑制了藻细胞内 *CAT* 活性。培养 144 h, 0.15~0.25 mg/L  $Zn^{2+}$  处理组藻细胞内 *SOD* 活性显著高于同期对照组 ( $P < 0.05$ ), 0.20 mg/L 和 0.25 mg/L 处理组的 *CAT* 活性也显著高于同期对照组 ( $P < 0.05$ ), 表明高质量浓度的  $Zn^{2+}$  长时间暴露后刺激了藻细胞抗氧化酶活性的升高。

培养 48 h, 0.10 mg/L  $Cd^{2+}$  处理组藻细胞内 *SOD* 活性显著高于同期对照组 ( $P < 0.05$ ), 而

0.05~0.25 mg/L 处理组的 *CAT* 活性也显著高于同期对照组 ( $P < 0.05$ )。  $Cd^{2+}$  暴露 96 h, 0.05 mg/L 处理组的 *SOD* 活性显著低于同期对照组 ( $P < 0.05$ ), 0.05~0.15 mg/L 处理组的 *CAT* 活性也显著低于同期对照组 ( $P < 0.05$ ), 但 0.25 mg/L 处理组的 *CAT* 活性显著高于同期对照组 ( $P < 0.05$ )。培养 144 h, 各  $Cd^{2+}$  处理组藻细胞内 *SOD* 活性均显著高于同期对照组 ( $P < 0.05$ ), 且 0.25 mg/L  $Cd^{2+}$  处理组的 *SOD* 活性最高, 0.25 mg/L  $Cd^{2+}$  处理组的 *CAT* 活性显著高于同期对照组 ( $P < 0.05$ ), 表明高质量浓度  $Cd^{2+}$  处理提高了细胞内 *SOD* 和 *CAT* 活性。与  $Zn^{2+}$  的胁迫类似, 藻细胞内 MDA 的产生表现出一定的剂量效应, 即重金属质量浓度越高, MDA 的含量越多, 但同时刻高质量浓度 (0.20~0.25 mg/L)  $Cd^{2+}$  处理藻细胞产生的 MDA 含量低于同质量浓度  $Zn^{2+}$  处理藻细胞产生的 MDA 含量。



图中不同小写字母表示同时刻不同质量浓度重金属处理的藻细胞 *SOD* 活性、*CAT* 活性和 MDA 含量的差异显著。

图5  $Zn^{2+}$  和  $Cd^{2+}$  对铜绿微囊藻 *SOD* 活性、*CAT* 活性和 MDA 含量的影响

Fig.5 Effects of  $Zn^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  on *SOD* activity, *CAT* activity and MDA content of *Microcystis aeruginosa*

### 3 讨论

藻类细胞壁上存在大量的氨基、羟基、硫代基、酰胺基等官能团,可与重金属离子结合,与重金属亲和力和强的官能团数量、水合离子半径以及电子层结构特性等均是导致藻类对不同重金属离子亲和性及富集能力存在差异的重要因素<sup>[30-32]</sup>。锌、镉均为过渡金属元素,具有相同电荷数和配位键数,但在本研究中铜绿微囊藻对锌、镉的富集量之比随二者初始质量浓度的增加而下降,比值由 4.5 逐渐下降至 2.2。Fisher<sup>[9]</sup>认为, $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 易与含硫、氮和氧官能团结合, $\text{Zn}^{2+}$ 水合半径比 $\text{Cd}^{2+}$ 小,使得铜绿微囊藻对 $\text{Zn}^{2+}$ 的亲合力强于 $\text{Cd}^{2+}$ ,这可能是导致铜绿微囊藻对 $\text{Zn}^{2+}$ 有更高富集性的主要原因。刘璐等<sup>[15]</sup>的研究结果表明,随着 $\text{Cd}^{2+}$ 初始质量浓度的升高,铜绿微囊藻和斜生栅藻对 $\text{Cd}^{2+}$ 的富集量逐渐增多,当 $\text{Cd}^{2+}$ 质量浓度为 0.20 mg/L 时,铜绿微囊藻和斜生栅藻细胞内的 $\text{Cd}^{2+}$ 含量分别为 546.00  $\mu\text{g/g}$  和 769.00  $\mu\text{g/g}$ ,与本研究相同初始 $\text{Cd}^{2+}$ 质量浓度处理下的铜绿微囊藻 $\text{Cd}^{2+}$ 富集量(457.52  $\mu\text{g/g}$ )基本相当。当 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 质量浓度持续增大到 0.25 mg/L 时,部分藻细胞膜遭受到损伤,甚至死亡,细胞比表面积增大,表面暴露出更多可与重金属结合的活性官能团,故仍能富集一定量的重金属,但藻体富集重金属的机制由细胞吸收转变为吸附<sup>[33]</sup>。

碳酸酐酶催化水体中的无机碳转化为碳水化合物,而锌是碳酸酐酶的重要组分,适量的 $\text{Zn}^{2+}$ 能提高光合作用强度,促进藻类生长,但高浓度的 $\text{Zn}^{2+}$ 阻碍叶绿体还原型辅酶 II 形成,导致核酸分解<sup>[34]</sup>。聚球藻(*Synechococcus* sp. IU 625)可耐受高达 25 mg/L 的 $\text{Zn}^{2+}$ ,但 50 mg/L 的 $\text{Zn}^{2+}$ 使聚球藻细胞丧失活力,藻细胞分裂不完全,细胞表面出现褶皱,对细胞产生直接的毒害作用<sup>[8]</sup>。 $\text{Cd}^{2+}$ 是铜绿微囊藻生长的非必需元素,当 $\text{Cd}^{2+}$ 积累到一定量时会对铜绿微囊藻产生毒害作用,这与刘璐等<sup>[15]</sup>的研究结果一致。当 $\text{Cd}^{2+}$ 质量浓度达到 25 mg/L 时,对螺旋藻细胞生长的抑制率接近 50%,并且藻胆蛋白质的质量浓度显著下降<sup>[35]</sup>。随着 $\text{Cd}^{2+}$ 质量浓度的增加,四尾栅藻(*Scenedesmus quadricauda*)细胞内叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素等色素以及可溶性酚的含量下降,超氧化物阴离子和过氧化氢的含量增加<sup>[17,36]</sup>。可见,由于不同藻类的形态、细胞膜和细胞壁等生理结构

存在差异,所以其对同种重金属会表现出不同的耐受性。

连续培养 24 h 后, $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 质量浓度分别达到 0.20 mg/L 和 0.15 mg/L 时,铜绿微囊藻的酯酶活性均显著高于同期对照组,但藻细胞密度始终低于同期对照组,表明 $\text{Zn}^{2+}$ 和 $\text{Cd}^{2+}$ 的胁迫作用抑制了铜绿微囊藻的生长,但却促使藻细胞酯酶活性升高。酯酶活性的升高表明藻细胞新陈代谢活动增强,一方面可能是重金属加速了细胞膜上磷脂代谢,从而刺激了胞内的酯酶,进而提供更多的能量来维持细胞生长,是重金属压力下短时间内生物进行自我保护和修复的一种应急方式<sup>[37-38]</sup>。另一方面,可能是高质量浓度重金属促使藻细胞膜的生理状态发生改变,膜系统代谢功能紊乱,抑制了铜绿微囊藻的生长繁殖<sup>[38]</sup>,从而使藻细胞密度降低。有研究指出,当 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 浓度分别达到 0.15  $\mu\text{mol/L}$  和 0.12  $\mu\text{mol/L}$  时,近头状伪蹄形藻(*Pseudokirchneriella subcapitata*)的酯酶活性均受到显著抑制,当 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 浓度分别达到 0.60  $\mu\text{mol/L}$  和 0.50  $\mu\text{mol/L}$  时,酯酶活性抑制率分别达到 17% 和 28%,表明藻细胞对锌、镉胁迫的耐受性较低<sup>[39]</sup>。用 $\text{Cu}^{2+}$ 处理铜绿微囊藻 1 h 后,藻细胞酯酶活性略有升高, $\text{Cu}^{2+}$ 质量浓度为 13~101  $\mu\text{g/L}$  时,胞内酯酶活性先升高后降低,表明细胞内的酯酶受到了刺激<sup>[40]</sup>。Lage 等<sup>[41]</sup>认为,这种刺激可能是因为 $\text{Cu}^{2+}$ 的进入使细胞内离子重新调节,进而引起细胞内 pH 上升导致的,也有可能是 $\text{Cu}^{2+}$ 胁迫下,生物短时间内进行自我保护的一种应急方式。

$\text{Zn}^{2+}$ 和 $\text{Cd}^{2+}$ 胁迫下铜绿微囊藻的 $F_v/F_m$ 值和藻细胞密度的变化趋势相似,即高质量浓度 $\text{Zn}^{2+}$ 和 $\text{Cd}^{2+}$ 胁迫均能降低藻细胞密度和 $F_v/F_m$ 值, $F_v/F_m$ 值的降低说明 PSII 活性受损严重,电子传递过程受阻,铜绿微囊藻的光合作用受到了抑制<sup>[42]</sup>,进而使铜绿微囊藻的生长受到抑制,藻细胞密度降低。培养 24 h 后,当 $\text{Zn}^{2+}$ 和 $\text{Cd}^{2+}$ 质量浓度分别达到 0.20 mg/L 和 0.25 mg/L 时,铜绿微囊藻的 $F_v/F_m$ 值均显著低于同期对照组,说明藻的光合作用受到了抑制,重金属质量浓度越高,铜绿微囊藻光合作用受抑制的程度越大,且在相同高质量浓度(0.25 mg/L)的胁迫下, $\text{Zn}^{2+}$ 对铜绿微囊藻生长的抑制作用比 $\text{Cd}^{2+}$ 明显。锌浓度高于 23  $\mu\text{mol/L}$  时,会抑制大多数蓝藻的光合作用和生长<sup>[43]</sup>。1 mmol/L 的 $\text{Zn}^{2+}$ 和 $\text{Cd}^{2+}$

可在短期(0.5~2.0 h)内迅速降低蛋白核小球藻 S-39(*Chlorella pyrenoidosa* Chick S-39)的光合放氧速率和  $F_v/F_m$  值,使 PSII 光合电子传递过程受到抑制<sup>[44]</sup>。 $Zn^{2+}$ 和  $Cd^{2+}$ 胁迫均能降低普通小球藻(*Chlorella vulgaris*)的生物量,但暴露 96 h 后,PSII 光化学最大量子产量增长了约 10%,这可能是低浓度重金属刺激效应的结果<sup>[22]</sup>。

在藻体正常的生理代谢过程中,活性氧自由基的产生和清除处于动态平衡状态,但当藻体受到不良环境胁迫时,细胞内会产生大量的氧自由基,*SOD*、*CAT* 等抗氧化酶组成了清除细胞内多余氧自由基的防护体系,氧自由基可被抗氧化酶最终分解为  $H_2O$  和  $O_2$ ,从而阻止其对藻细胞的伤害。当抗氧化酶保护系统受到破坏时,活性氧的积累会引起膜组分不饱和脂肪酸的过氧化,导致 MDA 等膜脂质过氧化产物增多<sup>[45]</sup>。低质量浓度  $Zn^{2+}$  和  $Cd^{2+}$  可对铜绿微囊藻的生长产生抑制作用,但藻细胞可通过 *SOD* 和 *CAT* 逐渐清除多余的氧自由基,从而达到保护藻细胞的目的。当  $Zn^{2+}$  和  $Cd^{2+}$  质量浓度达到 0.25 mg/L 时,随着培养时间的延长,*CAT* 活性先升高后降低,表明细胞前期受到抗性诱导作用,但仍无法清除大量的氧自由基,最终使酶结构遭到破坏,发生膜脂过氧化和膜蛋白聚合作用,使膜系统变性,MDA 含量增加,进而使藻细胞生长受到强烈抑制甚至死亡,使藻细胞密度降低。Choudhary 等<sup>[46]</sup> 研究了不同质量浓度  $Zn^{2+}$  (0.05~0.20 mg/L) 对螺旋藻-S5(*Spirulina platensis*-S5)的毒性作用,发现螺旋藻-S5 细胞内的 MDA 含量、*SOD* 活性以及脯氨酸含量均显著增加,且脯氨酸的增长百分比由 0.05 mg/L  $Zn^{2+}$  处理的 38.4% 增加到 0.20 mg/L  $Zn^{2+}$  处理的 93.3%,MDA 含量的增加表明螺旋藻-S5 在  $Zn^{2+}$  胁迫下形成了活性氧自由基,而 *SOD* 活性和脯氨酸含量升高则表明,藻细胞受到抗性诱导作用后细胞内清除氧自由基的机制开始发挥作用。

## 参考文献:

- [1] 陈祯东,陈日钊,张紫英,等. 南宁市罗非鱼池塘表层沉积物铜、锌、氮、磷含量及其生态风险分析[J]. 南方农业学报, 2018, 49(9): 1865-1872.
- [2] PEREIRA S, MICHELETTI E, ZILLE A, et al. Using extracellular polymeric substances (EPS)-producing cyanobacteria for the bioremediation of heavy metals: do cations compete for the EPS functional groups and also accumulate inside the cell? [J]. Microbiology, 2011, 157(2): 451-458.
- [3] 汪 苹,胡章立. 衣藻细胞的重金属结合特性及其抗性机制[J]. 环境科学与技术, 2009, 32(1): 84-89.
- [4] 陈镜伊,唐婉莹,尹洪斌,等. 蓝藻的生消过程对镉污染沉积物的生物有效性[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(20): 320-324.
- [5] CHAKRABORTY N, BANERJEE A, PAL R. Biomonitoring of lead, cadmium and chromium in environmental water from Kolkata, North and South 24-Parganas using algae as bioagent[J]. Journal of Algal Biomass Utilization, 2011, 2(3): 27-41.
- [6] 吴文娟,李建宏,刘 畅,等. 微囊藻水华的资源化利用: 吸附重金属离子  $Cu^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  和  $Ni^{2+}$  的实验研究[J]. 湖泊科学, 2014, 26(3): 417-422.
- [7] SINGH S, PRADHAN S, RAI L C. Comparative assessment of  $Fe^{3+}$  and  $Cu^{2+}$  biosorption by field and laboratory-grown *Microcystis* [J]. Process Biochemistry, 1998, 33(5): 495-504.
- [8] NEWBY J R R, LEE L H, PEREZ J L, et al. Characterization of zinc stress response in cyanobacterium *Synechococcus* sp. IU 625 [J]. Aquatic Toxicology, 2017, 186: 159-170.
- [9] FISHER N S. On the reactivity of metals for marine phytoplankton [J]. Limnology and Oceanography, 1986, 31(2): 443-449.
- [10] 王 伟,樊祥科,黄春贵,等. 江苏省五大湖泊水体重金属的监测与比较分析[J]. 湖泊科学, 2016, 28(3): 494-501.
- [11] SU Y, LIU H, YANG J. Metals and metalloids in the water-bloom-forming cyanobacteria and ambient water from nanquan coast of Taihu lake, China [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2012, 89(2): 439-443.
- [12] SUMAN T Y, RAJASREE S R R, KIRUBAGARAN R. Evaluation of zinc oxide nanoparticles toxicity on marine algae *Chlorella vulgaris* through flow cytometric, cytotoxicity and oxidative stress analysis [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015, 113: 23-30.
- [13] 杨 洪,黄志勇. 锌胁迫对小球藻抗氧化酶和类金属硫蛋白的影响[J]. 生态学报, 2012, 32(22): 7117-7123.
- [14] FERNANDEZ-GARCÍA N, MARTÍ M C, JIMENEZ A, et al. Sub-cellular distribution of glutathione in an *Arabidopsis* mutant (vte1) deficient in ascorbate [J]. Journal of Plant Physiology, 2009, 166(18): 2004-2012.
- [15] 刘 璐,闫 浩,夏文彤,等. 镉对铜绿微囊藻和斜生栅藻的毒性效应[J]. 中国环境科学, 2014, 34(2): 478-484.
- [16] XU K, LI Z K, QIU B S, et al. Different responses to high light stress of toxic and non-toxic *Microcystis aeruginosa* acclimated under two light intensities and zinc concentrations [J]. Toxicological & Environmental Chemistry, 2013, 95(7): 1145-1156.
- [17] 尹文珂,程金凤,肖婉露,等. 四尾栅藻对重金属镉胁迫的响应[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(4): 633-638.
- [18] 孔繁翔,马荣华,高俊峰,等. 太湖蓝藻水华的预防、预测和预警的理论与实践[J]. 湖泊科学, 2009, 21(3): 314-328.
- [19] 倪利晓,马艳艳,叶 祥,等. 藻细胞活性及营养盐水平对铜绿微囊藻吸附镉的影响研究[J]. 环境科技, 2013, 26(3): 1-4.
- [20] 江 江,李玉成,王 宁,等. 巢湖蓝藻聚集对重金属迁移释放

- 的影响[J]. 湖泊科学, 2017, 29(3):558-566.
- [21] RIPPKA R, DERUELLES J, WATERBURY J B, et al. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria[J]. Microbiology, 1979, 111(1): 1-61.
- [22] OUYANG H L, KONG X Z, HE W, et al. Effects of five heavy metals at sub-lethal concentrations on the growth and photosynthesis of *Chlorella vulgaris*[J]. Chinese Science Bulletin, 2012, 57(25): 3363-3370.
- [23] 欧阳慧灵,孔祥臻,何纪霜,等.  $\text{Cu}^{2+}$ 对普通小球藻的光合毒性;初始藻密度的影响[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(5):499-506.
- [24] 吴洁,陈晓娣,韩萍芳,等. 离子液体对微藻的急性毒性效应[J]. 安全与环境学报, 2016, 16(1):381-386.
- [25] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [26] BEAUCHAMP C, FRIDOVICH I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels[J]. Analytical Biochemistry, 1971, 44(1): 276-287.
- [27] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant and Cell Physiology, 1981, 22(5): 867-880.
- [28] 王执伟,刘冬梅,张文娟,等. 溴酸盐对普通小球藻的生长以及生理特性的影响[J]. 环境科学, 2016, 37(6):2158-2163.
- [29] KUMAR K S, DAHMS H U, LEE J S, et al. Algal photosynthetic responses to toxic metals and herbicides assessed by chlorophyll a fluorescence[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2014, 104(2): 51-71.
- [30] VERHEYEN L, VERSIEREN L, SMOLDERS E. Natural dissolved organic matter mobilizes Cd but does not affect the Cd uptake by the green algae *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korschikov) in resin buffered solutions[J]. Aquatic Toxicology, 2014, 154: 80-86.
- [31] 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.
- [32] GONZÁLEZ-DÁVILA M. The role of phytoplankton cells on the control of heavy metal concentration in seawater[J]. Marine Chemistry, 1995, 48(3/4): 215-236.
- [33] DA COSTA A A, DE FRANCA F P. Cadmium uptake by *Spirulina maxima*: toxicity and mechanism[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1998, 14(4): 579-581.
- [34] 张铁明,杜桂森,杨忠山,等. 锌对2种淡水浮游藻类增殖的影响[J]. 西北植物学报, 2006, 26(8):1722-1726.
- [35] 刘慧,张宇宏,张少斌,等.  $\text{Cd}^{2+}$ 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]. 生态环境学报, 2007, 16(3):767-770.
- [36] KOVÁČIK J, KLEJDUS B, ŠTORK F, et al. Comparison of methyl jasmonate and cadmium effect on selected physiological parameters in *scenedesmus quadricauda* (chlorophyta, chlorophyceae)[J]. Journal of Phycology, 2011, 47(5): 1044-1049.
- [37] 冯政,郑新梅,刘红玲,等. 全氟辛酸对斜生栅藻细胞膜特性影响研究[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(4):537-542.
- [38] JIAO Y, OUYANG H L, JIANG Y J, et al. Effects of phosphorus stress on the photosynthetic and physiological characteristics of *Chlorella vulgaris* based on chlorophyll fluorescence and flow cytometric analysis[J]. Ecological Indicators, 2017, 78: 131-141.
- [39] MACHADO M D, SOARES E V. Use of a fluorescence-based approach to assess short-term responses of the alga *Pseudokirchneriella subcapitata* to metal stress[J]. Journal of Applied Phycology, 2015, 27(2): 805-813.
- [40] 于洋,孔繁翔,王美林,等. 应用流式细胞技术研究铜对藻细胞膜完整性及脂酶活性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(5):706-709.
- [41] LAGE O M, SANSONETTY F, O'CONNOR J E, et al. Flow cytometric analysis of chronic and acute toxicity of copper(II) on the marine dinoflagellate *Amphidinium carterae*[J]. Cytometry, 2001, 44(3):226-235.
- [42] MURCHIE E H, LAWSON T. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications[J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 64(13): 3983-3998.
- [43] XU K, JUNEAU P. Different physiological and photosynthetic responses of three cyanobacterial strains to light and zinc[J]. Aquatic Toxicology, 2016, 170: 251-258.
- [44] PLEKHANOV S E, CHERMERIS Y K. Early toxic effects of zinc, cobalt, and cadmium on photosynthetic activity of the green alga *Chlorella pyrenoidosa* Chick S-39[J]. Biology Bulletin of the Russian Academy of Sciences, 2003, 30(5):506-511.
- [45] COLLÉN J, PINTO E, PEDERSEN M, et al. Induction of oxidative stress in the red macroalga *Gracilaria tenuistipitata* by pollutant metals[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2003, 45(3): 337-342.
- [46] CHOUDHARY M, JETLEY U K, KHAN M A, et al. Effect of heavy metal stress on proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Spirulina platensis*-S5[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2007, 66(2): 204-209.

(责任编辑:王妮)