

ISSN 1000-0933

CN 11-2031/Q

生态学报

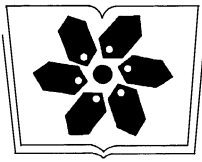
Acta Ecologica Sinica



第 32 卷 第 22 期 Vol.32 No.22 **2012**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 32 卷 第 22 期

2012 年 11 月 (半月刊)

目 次

CO ₂ 浓度和温度升高对噬藻体 PP 增殖的联合作用	牛晓莹,程 凯,荣茜茜,等 (6917)
1956—2009 年内蒙古苏尼特左旗荒漠草原的降水格局	陈 军,王玉辉 (6925)
两个污水处理系统的能值与经济综合分析	李 敏,张小洪,李远伟,等 (6936)
退化草地阿尔泰针茅种群个体空间格局及关联性	赵成章,任 珩 (6946)
地表覆盖栽培对雷竹林凋落物养分及其化学计量特征的影响	刘亚迪,范少辉,蔡春菊,等 (6955)
福州酸雨区次生林中台湾相思与银合欢叶片的 12 种元素含量	郝兴华,洪 伟,吴承祯,等 (6964)
“雨花露”水蜜桃主要害虫与其捕食性天敌的关系	柯 磊,施晓丽,邹运鼎,等 (6972)
大兴安岭林区 10 小时时滞可燃物湿度的模拟	胡天宇,周广胜,贾丙瑞 (6984)
陕北风沙区不同植被覆盖下的土壤养分特征	李文斌,李新平 (6991)
南方型杨树人工林土壤呼吸及其组分分析	唐罗忠,葛晓敏,吴 麟,等 (7000)
黑河下游土壤水盐对生态输水的响应及其与植被生长的关系	鱼腾飞,冯 起,刘 蔚,等 (7009)
树木胸径大小对树干液流变化格局的偏度和时滞效应	梅婷婷,赵 平,倪广艳,等 (7018)
外来植物紫茎泽兰入侵对土壤理化性质及丛枝菌根真菌(AMF)群落的影响	于文清,刘万学,桂富荣,等 (7027)
基于 Landsat TM 的热带精细地物信息提取的模型与方法——以海南岛为例	王树东,张立福,陈小平,等 (7036)
雪被去除对川西高山冷杉林冬季土壤水解酶活性的影响	杨玉莲,吴福忠,杨万勤,等 (7045)
不同土壤水分处理对水稻光合特性及产量的影响	王唯逍,刘小军,田永超,等 (7053)
木蹄层孔菌不同居群间生长特性、木质素降解酶与 SRAP 标记遗传多样性	曹 宇,徐 晔,王秋玉 (7061)
加拿大一枝黄花入侵对土壤动物群落结构的影响	陈 雯,李 涛,郑荣泉,等 (7072)
间作对玉米品质、产量及土壤微生物数量和酶活性的影响	张向前,黄国勤,卞新民,等 (7082)
接种 AM 真菌对玉米和油菜种间竞争及土壤无机磷组分的影响	张宇亭,朱 敏,钱岩相注,等 (7091)
大亚湾冬季不同粒级浮游生物的氮稳定同位素特征及其与生物量的关系	柯志新,黄良民,徐 军,等 (7102)
太湖水华期间有毒和无毒微囊藻种群丰度的动态变化	李大命,叶琳琳,于 洋,等 (7109)
锌胁迫对小球藻抗氧化酶和类金属硫蛋白的影响	杨 洪,黄志勇 (7117)
基于国家生态足迹账户计算方法的福建省生态足迹研究	邱寿丰,朱 远 (7124)
能源活动 CO ₂ 排放不同核算方法比较和减排策略选择	杨喜爱,崔胜辉,林剑艺,等 (7135)
基于生境等价分析法的胶州湾围填海造地生态损害评估	李京梅,刘铁鹰 (7146)
县级生态资产价值评估——以河北丰宁县为例	王红岩,高志海,李增元,等 (7156)
专论与综述	
丛枝菌根提高宿主植物抗旱性分子机制研究进展	李 涛,杜 娟,郝志鹏,等 (7169)
城市土壤碳循环与碳固持研究综述	罗上华,毛齐正,马克明,等 (7177)
基于遥感的光合有效辐射吸收比率(FPAR)估算方法综述	董泰锋,蒙继华,吴炳方 (7190)
光衰减及其相关环境因子对沉水植物生长影响研究进展	吴明丽,李叙勇 (7202)
浮游动物化学计量学稳态性特征研究进展	苏 强 (7213)
研究简报	
2010 年两个航次獐子岛海域浮游纤毛虫丰度和生物量	于 莹,张武昌,张光涛,等 (7220)
基于熵值法的我国野生动物资源可持续发展研究	杨锡涛,周学红,张 伟 (7230)
残落物添加对农林复合系统土壤有机碳矿化和土壤微生物量的影响	王意锟,方升佐,田 野,等 (7239)
人工湿地不同季节与单元之间根际微生物多样性	陈永华,吴晓芙,张珍妮,等 (7247)
期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 338 * zh * P * ¥70.00 * 1510 * 36 * 2012-11	

封面图说:水杉农田防护林中的小麦熟了——水杉曾广泛分布于北半球,第四纪冰期以后,水杉属的其他种类全部灭绝,水杉却在中国川、鄂、湘边境地带得以幸存,成为旷世奇珍,野生的水杉是国家一级保护植物。由于水杉耐水,适应力强,生长极为迅速,其树干通直挺拔,高大秀颀,树冠呈圆锥形,姿态优美,自发现后被人们在中国南方广泛种植,不仅成为了湖边、道路两旁的绿化观赏植物,更成为了农田防护林的重要树种。此图中整齐划一的水杉防护林像忠实的哨兵一样,为苏北农村即将成熟的麦田站岗。

彩图提供:陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201110231567

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. 生态学报, 2012, 32(22): 7117-7123.

Yang H, Huang Z Y. Activities of antioxidant enzymes and Zn-MT-like proteins induced in *Chlorella vulgaris* exposed to Zn^{2+} . Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(22): 7117-7123.

锌胁迫对小球藻抗氧化酶和类金属硫蛋白的影响

杨 洪, 黄志勇 *

(集美大学生物工程学院, 厦门 361021)

摘要:通过对抗氧化酶活性和类金属硫蛋白的测定, 考察在 0、5、10、20、50 和 100 $\mu\text{mol/L}$ Zn^{2+} (氯化锌) 胁迫下锌对普通海洋小球藻的生物学影响。结果表明: 不同浓度 Zn^{2+} 均能抑制小球藻的生长, 当 Zn^{2+} 浓度大于 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 小球藻生物量随培养时间延长而迅速下降; 过氧化物歧化酶 (SOD) 活性随 Zn^{2+} 胁迫浓度的增加而增加, 当 Zn^{2+} 浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 时 SOD 活性达到最大, 但继续增加 Zn^{2+} 胁迫浓度反而导致 SOD 活性下降; 而过氧化物酶 (POD) 活性则随着 Zn^{2+} 胁迫浓度的增加而降低。同时, 实验发现藻细胞内有两种主要的锌结合形态, 其中 Zn 结合类金属硫蛋白 (Zn-MT-like) 与兔肝金属硫蛋白 (MT) 的分子量相近, 且随着 Zn^{2+} 胁迫浓度的增加而出现规律性地增多。因此, 藻细胞内 Zn-MT-like 蛋白的诱导量可作为小球藻受 Zn^{2+} 胁迫的响应指标。

关键词: 小球藻; 锌; 类金属硫蛋白; 过氧化物酶; 超氧化物歧化酶

Activities of antioxidant enzymes and Zn-MT-like proteins induced in *Chlorella vulgaris* exposed to Zn^{2+}

YANG Hong, HUANG Zhiyong *

College of Bioengineering, Jimei University, Xiamen 361021, China

Abstract: *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*), a fast-growing unicellular micro-alga, is commonly used as a supplement of food for human and animal consumption. As *C. vulgaris* readily absorbs metals, this micro-algae has also been employed as an important indicator for monitoring the pollution and toxicity of metals in aquatic environments. Due to both natural geological sources as well as anthropogenic sources, the escalating contamination of aquatic environments by metals such as zinc (Zn) is becoming of increasing concern. A limited concentration of Zn is essential for growth of *C. vulgaris*, but limited knowledge exists concerning toxic impacts of Zn on the alga. The present study investigated various biochemical variables including biomass, the activities of antioxidant enzymes including superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD), the intracellular Zn assimilated, and the inducement of Zn-MT-like proteins in *C. vulgaris* when the alga was exposed to various Zn^{2+} concentrations. Results showed that the growth of *C. vulgaris* was inhibited by exposure to Zn^{2+} at concentrations ranging from 5—100 $\mu\text{mol/L}$. The algal biomass rapidly decreased with increased Zn^{2+} exposure concentration. Algal biomass also decreased with increased exposure time to concentrations of $Zn^{2+} > 10 \mu\text{mol/L}$. The results indicated that the growth of the alga was significantly inhibited by exposure to Zn^{2+} , especially at higher exposure concentrations. The activities of SOD increased with the increase of Zn^{2+} exposure concentrations within the ranges of 0—50 $\mu\text{mol/L}$, but slight decreases in SOD activity occurred with exposure concentrations of $Zn^{2+} > 50 \mu\text{mol/L}$. The highest activity of SOD was evident when the alga was exposed to 50 $\mu\text{mol/L}$ of Zn^{2+} , in which the value of SOD activity was two times more than that of the control

基金项目: 国家自然科学基金项目 (40771185); 福建省基金项目 (2012J01046); 福建省科技计划重点项目 (2012Y0052); 集美大学创新团队基金资助项目 (2010A007)

收稿日期: 2011-10-23; **修订日期:** 2012-06-14

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhyhuang@jmu.edu.cn

group. However, the activities of POD within the alga significantly decreased ($P < 0.05$) with the increase of Zn^{2+} exposure concentrations. For example, the activity of POD was 7.4 times less than that of the control group when *C. vulgaris* was exposed to $10 \mu\text{mol/L}$ of Zn^{2+} . The results also showed that *C. vulgaris* has a strong ability to assimilate waterborne Zn^{2+} . For example, the concentrations of intracellular Zn were about 17 and 34 times more than that of the control group when the alga were exposed to $5 \mu\text{mol/L}$ and $10 \mu\text{mol/L}$ of Zn^{2+} , respectively. However, the concentrations of intracellular Zn did not increase when the exposure concentrations of $\text{Zn} > 10 \mu\text{mol/L}$. A slight decrease of intracellular Zn was observed when the alga were exposed to $100 \mu\text{mol/L}$ of Zn^{2+} . After being homogenized and centrifuged, the cell extracts of *C. vulgaris* after exposure to Zn^{2+} were separated with a size-exclusion high-performance liquid chromatography coupled with the detector of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Two Zn-binding species were observed within the cells of *C. vulgaris*, in which the compounds of the Zn-binding fraction at the retention time (t_R) of 6.3 min were referred to as the Zn-MT-like proteins because the retention time (t_R) was found to be similar to that (t_R 6.1 min) of the standard Zn-MTs derived from rabbit liver. In addition, the amounts of Zn-MT-like proteins induced in the alga were found to increase with the increase of the Zn^{2+} exposure concentrations. The results indicate that the Zn-MT-like proteins induced in *C. vulgaris* can be used as the indicator to reflect the pollution of Zn^{2+} in aquatic environments.

Key Words: *C. vulgaris*; Zn; Zn-MT-like protein; superoxide dismutase (SOD); peroxidase (POD)

随着工矿业的发展和农药、化肥的使用,重金属对水体的污染日趋严重。由于水体中藻类可以吸收和累积重金属,通过食物链的传递和生物放大最终将进入人体从而造成严重危害。锌在生物体的新陈代谢中起着重要作用,但高浓度锌会引起细胞内组织损伤,并抑制代谢过程^[1-2]。普通海洋小球藻 (*Chlorella. vulgaris*) 对重金属胁迫敏感,且易于培养和分离、生长周期短,是较为理想的生物试验材料。因此,利用小球藻进行水体锌污染的生物监测具有灵敏、可靠等优点。目前,国内外许多学者对微藻重金属胁迫下的抗氧化酶活性研究做了大量工作,有学者认为可以将超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)等抗氧化酶作为监测重金属污染的生物指标^[3-5]。然而除了重金属以外,大量的其它化学污染物已被证实同样会引起抗氧化酶活性的变化,因此生物体中抗氧化酶活性的影响因素很多。事实上藻类在锌胁迫下不仅抗氧化酶活性发生变化,金属硫蛋白及谷胱甘肽等物质也会受到影响^[6-9]。故本实验通过观察不同浓度锌胁迫下抗氧化酶系统中 SOD、POD 活性的变化以及金属硫蛋白的含量变化,以研究藻类在锌胁迫下的生物学响应。

1 材料与方法

1.1 实验材料

小球藻藻种由集美大学水产学院提供,本实验室保种并扩大培养。沙滤海水用电炉加热至微沸灭菌,冷却至室温。培养液由灭菌海水以及营养盐[NaHCO_3 , 1.0 g/L ; KNO_3 , 0.5 g/L ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.5 g/L ; K_2HPO_4 , 0.02 g/L ; 0.6 mg/L VB_1 和 $2 \mu\text{g/L VB}_{12}$]组成^[10]。藻种与培养液以体积分数 1:1 的比例接种在 PGX 多段光照培养箱中,温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,光照度为 2500 lx (24h 光照)。培养 3 d 至对数生长中期($A_{686\text{nm}} = 0.7$),将藻液分装到已杀菌的 250 mL 三角瓶中,每瓶 200 mL 藻液,加入 ZnCl_2 溶液使 Zn^{2+} 的浓度分别达到 0、5、10、20、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 。试验获得吸光度($A_{686\text{nm}}$)与细胞密度(ρ)的关系为 $\rho = (2E + 07) \times A + 889331$ ($R^2 = 0.9971$),由此计算单位体积培养液的藻细胞个数。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 锌对小球藻生长的影响

小球藻生长至对数生长中期时,加入 ZnCl_2 溶液使藻液中的 Zn^{2+} 浓度分别达到 5、10、20、50、100 $\mu\text{mol/L}$,每个浓度平行 3 次,同时设置对照组。每天定时人工摇瓶 3 次,并且随机调换锥形瓶的位置以尽可能使藻液受光均匀。分别在 12、24、48、72、96 和 120 h 取样,在 686 nm 下测其吸光度值,根据吸光度与生物量的关系曲

线,得出不同时间小球藻的生物量。

1.2.2 SOD 酶活性的测定

不同浓度 Zn^{2+} 胁迫培养 72 h 后,取已知吸光度值的藻液 40 mL 放入离心管(50 mL)中,4 000 r/min 离心 10 min 后收集藻泥,加入 10 mL Tris-HCl (10 mmol/L, pH 值 8.0)混匀,在冰浴下超声波破碎 9 min,经 10 000 r/min 冷冻离心 20 min 后收集上清液。采用邻苯三酚自氧化法^[11]根据 325 nm 处吸光度的变化测定 SOD 酶活性,一个 SOD 酶活力单位 U 定义为能引起反应初速度(指不加酶提取液时)抑制 50% 时的酶用量,根据下式计算不同浓度 Zn^{2+} 胁迫下小球藻 SOD 活性:

$$\text{SOD 活性} = \frac{\text{自氧化速率} - \text{样液速率}}{\text{自氧化速率}} \times \frac{100\%}{50\%} \times \frac{\text{提取液总体积} \times 10^8}{\text{反应酶液体积} \times \text{藻细胞个数}}$$

SOD 活性以每 10^8 个藻细胞所含酶单位来表示

1.2.3 POD 酶活性的测定

藻泥中加入 7 mL 4 °C 下预冷的磷酸盐缓冲液(50 mmol/L, pH 值 6.5),经超声破碎,匀浆液冷冻离心 10 min 后,收集的上清液即为粗酶液。采用比色法测定过氧化物酶活性^[12],酶活性单位定义为每分钟内在 A_{470} 变化 0.01 为一个过氧化物酶活力单位。

计算方法:

$$\text{POD}(U) = \frac{\Delta A_{470} \times \text{提取液总体积} \times 10^8}{\text{藻细胞个数} \times 0.01 \times \text{反应酶液体积}}$$

POD 活性以每 10^8 个藻细胞所含酶单位来表示

1.2.4 细胞内锌含量的测定

小球藻培养 72 h 后取 40 mL 藻液,经离心(4 000 r/min, 10 min),藻泥用 EDTA-2Na(10 mmol/L)及超纯水清洗 3 次。向藻泥中加 3 mL 浓硝酸并微波消解后定容至 10 mL,用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)测定藻细胞内锌的含量。

1.2.5 细胞内 Zn-MT-like 的测定

藻泥中加入 10 mL Tris-HCl(10 mmol/L, pH 值 8.0),经超声波细胞破碎、冷冻离心后,上清液过 0.45 μm 水相滤膜,实验通过高效液相色谱-质谱联用测定 Zn-MT-like 的含量。色谱柱为 TSK-gel 公司的 G3000PWxl 尺寸体积排阻色谱柱(7.8 mm i. d $\times$ 300 mm, 6 μm)(SEC),流动相为 10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0),流速 1 mL/min,进样量 20 μL ,检测波长 254 nm。操作过程中控制柱温箱为 25 °C。样品经过 SEC 分离,经紫外光谱检测后,通过 PTF 管连接到 ICP-MS (7500a, 美国 Agilent 公司)以检测样品的 Zn 信号^[13]。

1.3 数据分析

采用 SPSS 17.0 统计软件,在 $P=0.05$ 的置信水平对 SOD、POD 及藻细胞内锌含量进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)。

2 结果与分析

2.1 Zn^{2+} 胁迫对小球藻生长的影响

不同浓度 Zn^{2+} 胁迫对小球藻生长的影响如图 1 所示:当 Zn^{2+} 浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 时,对小球藻生长抑制明显,且 Zn^{2+} 浓度达到 10 $\mu\text{mol/L}$ 时,小球藻的生物量随培养时间迅速下降。同时由图 1 可见, Zn^{2+} 对小球藻的抑制作用在胁迫 12 h 时已经十分显著,随着时间的延长,抑制作用加强。

2.2 Zn^{2+} 胁迫对小球藻 SOD、POD 活性的影响

如图 2 所示,不同浓度 Zn^{2+} 胁迫下,小球藻 SOD 活

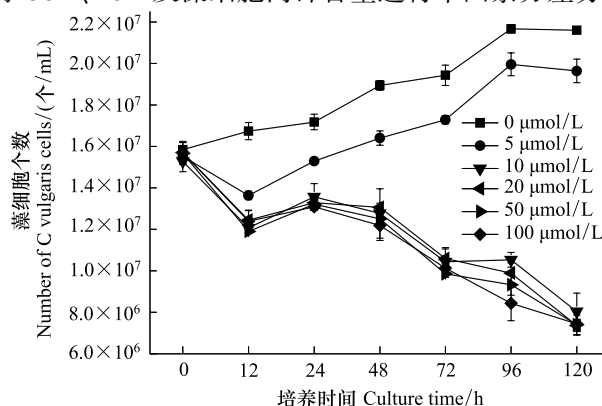


图 1 锌胁迫对小球藻生长的影响

Fig. 1 Effects of Zn^{2+} stress on the growth of *C. vulgaris*

性变化较大。当胁迫浓度大于 10 $\mu\text{mol/L}$ 时 SOD 活性显著提高 ($P < 0.05$), Zn^{2+} 为 50 $\mu\text{mol/L}$ 时, SOD 活性达到最大值, 约为对照组的 2 倍, 而当 Zn^{2+} 继续增加到 100 $\mu\text{mol/L}$ 时 SOD 活性反而下降。相反, POD 活性随 Zn^{2+} 的升高而下降 ($P < 0.05$), 特别是当 Zn^{2+} 为 10 $\mu\text{mol/L}$, POD 活性显著下降, 约为对照组的 1/9, 这一变化规律与许晓路等^[14]关于重金属影响藻类 POD 的研究结果相似。

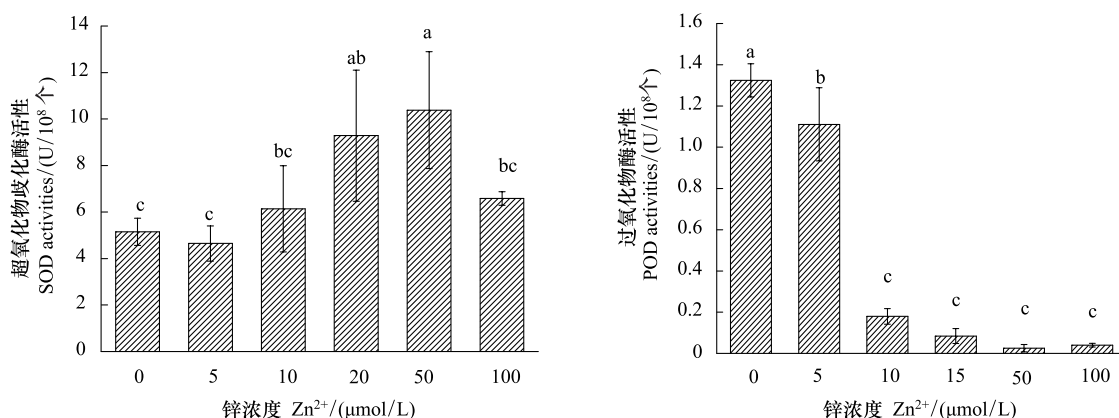


图2 不同浓度锌胁迫下小球藻 SOD 和 POD 活性的变化

Fig. 2 Activities of SOD and POD in *C. vulgaris* exposed to Zn^{2+} at different concentrations

2.3 不同浓度 Zn^{2+} 胁迫下小球藻细胞内锌含量

从图 3 中可以发现, 所有 Zn^{2+} 胁迫组藻细胞内的锌含量都比对照组有显著性增加 ($P < 0.05$)。但当胁迫浓度达到 10 $\mu\text{mol/L}$ 后, 藻细胞内锌含量不随 Zn^{2+} 胁迫浓度的增加而增加。例如, Zn^{2+} 浓度为 5、10、20、50 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 藻细胞内锌含量分别是对照组的 17.1、34.3、30.0、33.1 和 27.0 倍。

2.4 藻细胞内锌的结合形态

通过 SEC-ICP-MS 分析可知, Zn^{2+} 胁迫下小球藻细胞内有两种锌结合形态 (图 4A), 而且第二个峰与兔肝 Zn-MTs 的保留时间 (图 4B) 基本一致, 基于以往的研究报道^[13], 此结合形态为锌结合类金属硫蛋白 (Zn-MTs-like)。此外, 由图 5 可知, 随着 Zn^{2+} 胁迫浓度的增大, 小球藻细胞内 Zn-MTs-like 的含量也随之明显增加, 当 Zn^{2+} 胁迫浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 时, Zn-MTs-like 为对照组的 1.3 倍, 而胁迫浓度达到 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 其含量约为对照组的 3 倍。

3 讨论

目前关于 Zn^{2+} 胁迫对小球藻生长影响的研究结果有较大的差异。例如, Muysen 等^[15]发现 1.6 $\mu\text{mol/L}$ Zn^{2+} 胁迫 72 h 就达到 EC_{50} , 梁英等^[16]报道 0.308 mmol/L Zn^{2+} 胁迫 72 h 达到 EC_{50} ; 而 Bilgrami^[17]则报道 1.5 mmol/L 的 Zn^{2+} 对小球藻生长几乎没有影响。这些差异迥然的研究结果可能是由于培养基质、光照强度、锌源、初始生物量、藻细胞生理年龄等不同造成的^[18-21]。本实验发现小球藻在 5 $\mu\text{mol/L}$ 锌胁迫 12 h 就有显著性抑制, 此结果与吴海锁等^[22]报道一致, 都说明了藻细胞对锌敏感。

植物体内存在着一套负责清除活性氧的抗氧化防御系统^[23], 在逆境条件下, 植物就会启动自身的防御机制, 通过清除自由基, 抵抗氧化损伤, 以维持体内环境的相对稳定。SOD 可通过歧化反应消除 O_2^- , 是生物体

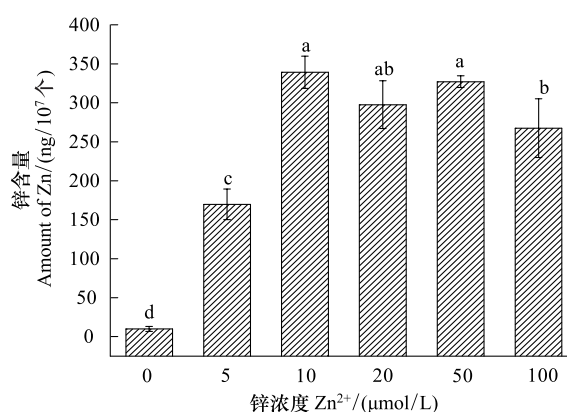


图3 不同浓度 Zn^{2+} 胁迫下藻细胞内锌含量的变化

Fig. 3 Contents of intracellular Zn in *C. vulgaris* exposed to Zn^{2+} at different concentrations

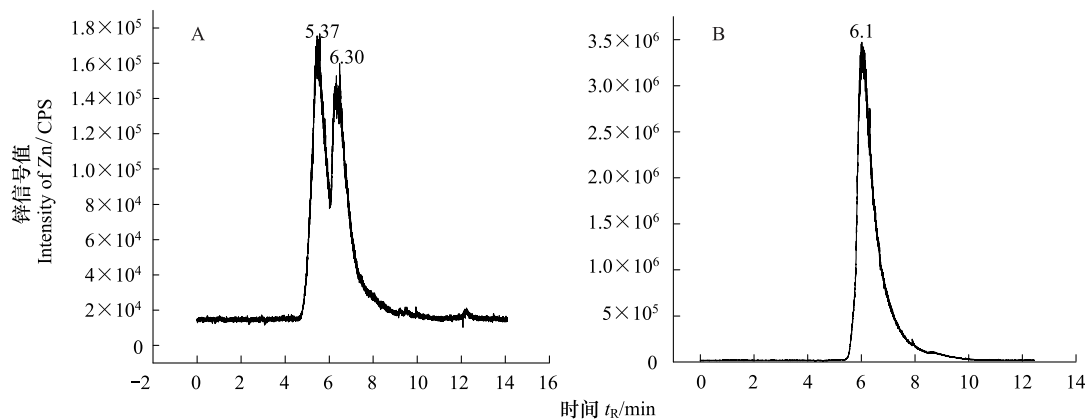


图 4 20 $\mu\text{mol/L}$ 锌胁迫下小球藻的锌结合形态(A)和标准品兔肝金属硫蛋白(B)的 SEC-ICP-MS 图谱

Fig. 4 Zn-bound species in *C. vulgaris* exposed to 20 $\mu\text{mol/L}$ of Zn^{2+} (A) and the standard Zn-MT-like (B) and standard Zn-MTs from rabbit liver measured with SEC-ICP-MS

防护机制的中心酶, SOD 活性的增加代表 O_2^- 的产生速率增加^[24-25]。因此, 几乎所有的胁迫都可诱导 SOD 活性增加。本实验中当 Zn^{2+} 浓度达到 10 $\mu\text{mol/L}$ 时藻细胞 SOD 活性显著增加, SOD 活性增加不仅与藻细胞受到的逆境有关, 可能还因为锌是 SOD 的重要组成部分^[26]。相反, 随着 Zn^{2+} 浓度的增加, 小球藻细胞内的 POD 活性逐渐下降, 这说明 Zn^{2+} 会抑制 POD 活性^[27]。在锌胁迫下 POD 活性变化比 SOD 更快, 这可能意味着 POD 对锌胁迫更敏感^[28]。

图 3 的结果表明, 锌胁迫下小球藻细胞内锌含量可显著增加, 但不会随着 Zn^{2+} 浓度的增大而一直累积, 可见藻细胞对 Zn^{2+} 的吸收达到一定程度后细胞内金属含量将达到平衡状态^[29]。当 Zn^{2+} 胁迫浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 时藻细胞内锌含量反而下降, 且 SOD 活性也下降, 这可能是由于锌浓度过高造成藻细胞损伤, 生理活性下降的缘故。在多种高等植物中类金属硫蛋白诱导量会随着重金属胁迫浓度的增大而增加^[30], 而本实验发现小球藻中锌结合类金属硫蛋白的诱导量也随着 Zn^{2+} 胁迫浓度的增大而增加, 其诱导量与锌胁迫浓度呈良好的对数增长关系 ($y = 470.21 \ln(x) + 271.45$, $R^2 = 0.9898$)。

通过对比不同浓度 Zn^{2+} 胁迫下藻细胞内总锌含量与 Zn-MTs-like 含量的变化, 发现当锌胁迫浓度大于 10 $\mu\text{mol/L}$ 时藻细胞内锌含量不再增加, 而 Zn-MTs-like 随着锌胁迫浓度的增大而增加, 这可能是因为不同浓度锌胁迫下, 小球藻对 Zn^{2+} 的解毒机制不同。在较高浓度下, 大量的 Zn^{2+} 快速进入到细胞内, 随后一部分的锌被排出胞外; 而在较低浓度下, Zn^{2+} 进入藻细胞后在胞内累积, 通过不同浓度锌胁迫小球藻 72 h 后细胞内总锌含量相近的结果可以说明这一点。而 Zn-MTs-like 的合成不仅与藻细胞内游离 Zn^{2+} 的含量有关, 且与细胞内 Zn^{2+} 的累积时间有关, 随时间的延长而增加。因此, 当锌胁迫浓度大于 10 $\mu\text{mol/L}$ 时藻细胞内锌含量不再增加, 而 Zn-MTs-like 含量却不断增大。

综上所述, 当小球藻受到环境中 Zn^{2+} 胁迫时会通过 SOD、POD 活性变化和诱导 Zn-MTs-like 来适应和调控, 但由于水体污染物复杂, SOD、POD 活性与 Zn^{2+} 胁迫浓度并未显现线性量化关系, 而 Zn-MTs-like 诱导量则随 Zn^{2+} 胁迫浓度的增加而增大, 且保持了良好的对数关系, 表明其含量可作为 Zn 污染的生物学响应指标。

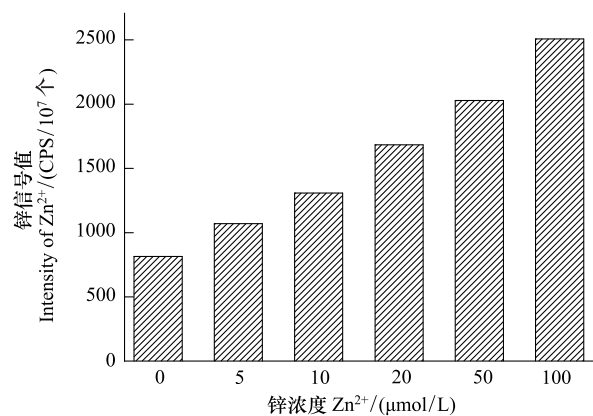


图 5 不同浓度 Zn^{2+} 胁迫下小球藻细胞内类金属硫蛋白含量的变化

Fig. 5 Contents of Zn-MTs-like proteins in *C. vulgaris* exposed to Zn^{2+} at different concentrations

References:

- [1] Vallee B L, Falchuk K H. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiological Reviews*, 1993, 73(1): 79-118.
- [2] Price N M, Morel F M M. Trace metal nutrition and toxicity in phytoplankton. *Algae and Water Pollution*, 1994, 42(42): 79-97.
- [3] Yan H, Wang X J, Lin Y X, Wen G. Toxic effects of Cu, Zn and Mn on the inhibition of *Chlorella pyrenoidosa* Growth. *Environment Science*, 2001, 22(1): 23-26.
- [4] Wang L P, Zheng B H, Meng W. Toxicity effects of heavy metal copper on two marine microalgae. *Marine Environment Science*, 2007, 26(1): 6-9.
- [5] Chen L L, Zhang G S, Chen J, Ren Z M. Exposure effects of mercury selenium on antioxidant enzymes of blue mussel *Mytilus edulis*. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2011, 6(4): 383-388.
- [6] Bačkor M, Skowrońska B P, Buňová J, Skowroński T. Response to copper and cadmium stress in wild-type and copper tolerant strains of the lichen alga *Trebouxia erici*: metal accumulation, toxicity and non-protein thiols. *Plant Growth Regulation*, 2007, 52(1): 17-27.
- [7] Kranner I, Cram W J, Zorn M, Wornik S, Yoshimura I, Stabentheiner E, Pfeifhofer H W. Antioxidants and photoprotection in a lichen as compares with its isolated symbiotic partners. *National Academy Sciences*, 2005, 102(8): 3141-3146.
- [8] Schat H, Kalff M M A. Are phytochelatins involved in differential metal tolerance or do they merely reflect metal-imposed strain? *Plant Physiology*, 1992, 99(4): 1475-1480.
- [9] Tsuji N, Hirayanagi N, Iwabe O, Namba T, Tagawa M, Miyamoto S, Miyasaka H, Takagi M, Hirata K, Miyamoto K. Regulation of phytochelatin synthesis by zinc and cadmium in marine green alga, *Dunaliella tertiolecta*. *Photochemistry*, 2003, 62(3): 453-459.
- [10] Li L P, Liang Y, Huang Z Y, Xu T L. Extraction and separation of Zn-MT-like induced from *C. vulgaris* under the stress of ZnCl₂. *Food and Fermentation Industries*, 2009, 35(6): 188-192.
- [11] Zhao Y B, Liu M, Yu Z Y. Determination of superoxide dismutase activity in blood by method of pyrogallol autoxidation. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2001, 11(4): 387-388.
- [12] Zhang Z L, Qu W. *Experimental Guidance of Plant Physiology*. Beijing: Higher Education Press, 2003: 154-155.
- [13] Huang Z Y, Li L P, Huang G L, Yan Q P, Shi B, Xu X Q. Growth-inhibitory and metal-binding proteins in *Chlorella vulgaris* exposed to cadmium or zinc. *Aquatic Toxicology*, 2009, 91(1): 54-61.
- [14] Xu X L, Cai Z B, Li Y X, Xu D M. Scenedemus rare earth Sm on the physiological and biochemical effects and mechanism of inquiry. *Jiangxi Science*, 2010, 28(3): 344-348, 375-375.
- [15] Muysen B T A, Janssen C R. Zinc acclimation and its effect on the zinc tolerance of *Raphidocelis subcapitata* and *Chlorella vulgaris* in laboratory experiments. *Chemosphere*, 2001, 45(4/5): 507-514.
- [16] Liang Y, Wang S. Current status and prospect of studies on microalgae stress by heavy metals. *Transaction of Oceanology and Limnology*, 2009, 14(4): 72-82.
- [17] Bilgrami K S, Kumar S. Effects of copper, lead and zinc on phytoplankton growth. *Biologia Plantarum*, 1997, 39(2): 315-317.
- [18] Liu Q, Zhang X F, Li T W, Su X R. Effects of light on growth rate, chlorophyll level and cell cycle in four alga species. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2006, 21(1): 24-30.
- [19] López-Suárez C E, Castro-Romero J M, González-Rodríguez M V, González-Soto E, Pérez-Lglesias J, Seco-Lago H M, Fernández-Solís J M. Study of the parameters affecting the binding of metals in solution by *Chlorella vulgaris*. *Talanta*, 2000, 50(6): 1313-1318.
- [20] Takamura N, Kasai F, Watanabe M M. Effects of Cu, Cd and Zn on photosynthesis of freshwater benthic algae. *Journal of Applied Phycology*, 1989, 1(1): 39-52.
- [21] Cai J L, Huang Y, Li X. Cytological mechanisms of pollutants adsorption by biosorbent. *Chinese Journal of Ecology*, 2008, 27(6): 1005-1011.
- [22] Wu H S, Zhang H L, Zhang A Q, Wang L S, Wang L J. Biosorption of heavy metals by *Chlorella*. *Environment Chemistry*, 2004, 23(2): 173-177.
- [23] Yin Y J, Hu J B, Deng M J. Latest development of antioxidant system and response to stress in plant leaves. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007, 23(1): 105-110.
- [24] McCord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein. *The Journal of Biological Chemistry*, 1969, 244(22): 6049-6055.
- [25] Yu J, Tang X X, Zhang P Y, Dong S L. Effects of CO₂ enrichment on growth, photosynthesis and activities of antioxidant enzymes of two marine micro-green-algae. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(2): 197-202.
- [26] Tian D, Zhao W, Wang Y, Xiang P. Effects of Cd stress on growth and antioxidative system in two marine microalgae. *Journal of Dalian Ocean*

University, 2010, 25(5): 417-421.

- [27] Ding H D, Zhu W M, Yang S J, Yang X F. Dynamic changes in antioxidative systems in roots of tomato seedling under Zn stress and recovery. Chinese Journal of Applied and Environment Biology, 2005, 11(5): 531-535.
- [28] Mo C K, Zhou X Q. The physiological and ecological responses of the seed germination and resistant difference of Zea mays L. under chronic stress. Agriculture and Technology, 2007, 27(5): 39-44.
- [29] Liang J R, Tang C T, Chen C P, Gao Y H. The toxic effects of Zn on a Benthic Biatom *Cylindrotheca closterium*. Journal of Xiamen University: Natural Science, 2006, 45(S1): 225-229.
- [30] Wu H F, Gong C F, Liu P, Wang Z Y, Chen J L. Phytochelatin and metallothionein like proteins in *Solanum nigrum* L. and *Conyza Canadensis* L. roots and leaves under Mn stress. Acta Scientiae Circumstantiae, 2010, 30(10): 2058-2064.

参考文献:

- [3] 阎海, 王杏君, 林毅雄, 温官. 铜、锌和锰抑制蛋白核小球藻生长的毒性效应. 环境科学, 2001, 22(1): 23-26.
- [4] 王丽平, 郑丙辉, 孟伟. 重金属 Cu 对两种海洋微藻的毒性效应. 海洋环境科学, 2007, 26(1): 6-9.
- [5] 陈琳琳, 张高生, 陈静, 任宗明. 汞、硒暴露对紫贻贝 (*Mytilus edulis*) 抗氧化酶系统的影响. 生态毒理学报, 2011, 6(4): 383-388.
- [10] 李连平, 梁英, 黄志勇, 徐同玲. 小球藻锌结合类金属硫蛋白的提取和分离. 食品与发酵工业, 2009, 35(6): 188-192.
- [11] 赵云斌, 刘敏, 余忠谊. 邻苯三酚自氧化法测定血中超氧化物歧化酶的活性. 中国卫生检验杂志, 2001, 11(4): 387-388.
- [12] 张志良, 瞿伟. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2003: 154-155.
- [14] 许晓路, 蔡振宾, 李月香, 徐冬梅. 稀土钐对若干淡水藻类的毒性作用研究. 江西科学, 2010, 28(3): 344-348, 375-375.
- [16] 梁英, 王帅. 重金属对微藻胁迫的研究现状及前景. 海洋湖沼通报, 2009, (4): 72-82.
- [18] 刘青, 张晓芳, 李太武, 苏秀榕. 光照对 4 种单胞藻生长速率、叶绿素含量及细胞周期的影响. 大连水产学院学报, 2006, 21(1): 24-30.
- [21] 蔡佳亮, 黄艺, 礼晓. 生物吸附剂对污染物吸附的细胞学机理. 生态学杂志, 2008, 27(6): 1005-1011.
- [22] 吴海锁, 张洪玲, 张爱茜, 王连生, 王连军. 小球藻吸附重金属离子的试验研究. 环境化学, 2004, 23(2): 173-177.
- [23] 尹永强, 胡建斌, 邓明军. 植物叶片抗氧化系统及其对逆境胁迫的响应研究进展. 中国农学通报, 2007, 23(1): 105-105.
- [25] 于娟, 唐学玺, 张培玉, 董双林. CO₂ 加富对两种海洋微绿藻的生长、光合作用和抗氧化酶活性的影响. 生态学报, 2005, 25(2): 197-202.
- [26] 田丹, 赵文, 王媛, 向蓓. 镉胁迫对两种海洋微藻生长和抗氧化系统的影响. 大连水产学院学报, 2010, 25(5): 417-421.
- [27] 丁海东, 朱为民, 杨少军, 杨晓峰. Zn²⁺ 胁迫及恢复下番茄幼苗根系中抗氧化系统的动态变化. 应用与环境生物学报, 2005, 11(5): 531-535.
- [28] 莫灿坤, 周希琴. 紫香糯、白糯玉米对铬胁迫的生理生态反应与抗性差异研究. 农业与技术, 2007, 27(5): 39-44.
- [29] 梁君荣, 唐川宁, 陈长平, 高亚辉. 底栖硅藻新月筒柱藻对锌胁迫的生理学效应. 厦门大学学报: 自然科学版, 2006, 45(Z1): 225-229.
- [30] 吴惠芳, 龚春风, 刘鹏, 王志颖, 陈佳丽. 锰胁迫下龙葵和小飞蓬根叶中植物螯合肽和类金属硫蛋白的变化. 环境科学学报, 2010, 30(10): 2058-2064.

CONTENTS

The combined effects of elevated CO ₂ and elevated temperature on proliferation of cyanophage PP	NIU Xiaoying, CHENG Kai, RONG Qianqian, et al (6917)
Precipitation pattern of desert steppe in Inner Mongolia, Sunite Left Banner: 1956—2009	CHEN Jun, WANG Yuhui (6925)
Emergy and economic evaluations of two sewage treatment systems	LI Min, ZHANG Xiaohong, LI Yuanwei, et al (6936)
Individual spatial pattern and spatial association of <i>Stipa krylovii</i> population in Alpine Degraded Grassland	ZHAO Chengzhang, REN Heng (6946)
Litter characteristics of nutrient and stoichiometry for <i>Phyllostachys praecox</i> over soil-surface mulching	LIU Yadi, FAN Shaohui, CAI Chunju, et al (6955)
Characteristics of leaf element concentrations of twelve nutrients in <i>Acacia confusa</i> and <i>Leucaena glauca</i> in secondary forests of acid rain region in Fuzhou	HAO Xinghua, HONG Wei, WU Chengzhen, et al (6964)
Relationships between main insect pests and their predatory natural enemies in “Yuhualu” juicy peach orchard	KE Lei, SHI Xiaoli, ZOU Yunding, et al (6972)
Simulating 10-hour time-lag fuel moisture in Daxinganling	HU Tianyu, ZHOU Guangsheng, JIA Bingrui (6984)
Soil nutrient characteristics under different vegetations in the windy and sandy region of northern Shaanxi	LI Wenbin, LI Xinpeng (6991)
Partitioning of autotrophic and heterotrophic soil respiration in southern type poplar plantations	TANG Luozhong, GE Xiaomin, WU Lin, et al (7000)
Soil water and salinity in response to water deliveries and the relationship with plant growth at the lower reaches of Heihe River, Northwestern China	YU Tengfei, FENG Qi, LIU Wei, et al (7009)
Effect of stem diameter at breast height on skewness of sap flow pattern and time lag	MEI Tingting, ZHAO Ping, NI Guangyan, et al (7018)
Invasion of exotic <i>Ageratina adenophora</i> Sprengel. alters soil physical and chemical characteristics and arbuscular mycorrhizal fungus community	YU Wenqing, LIU Wanxue, GUI Furong, et al (7027)
Models and methods for information extraction of complex ground objects based on LandSat TM images of Hainan Island, China	WANG Shudong, ZHANG Lifu, CHEN Xiaoping, et al (7036)
Effects of snow pack removal on soil hydrolase enzyme activities in an alpine <i>Abies faxoniana</i> forest of western Sichuan	YANG Yulian, WU Fuzhong, YANG Wanqin, et al (7045)
Effects of different soil water treatments on photosynthetic characteristics and grain yield in rice	WANG Weixiao, LIU Xiaojun, TIAN Yongchao, et al (7053)
Growth characteristics, lignin degradation enzyme and genetic diversity of <i>Fomes fomentarius</i> by SRAP marker among populations	CAO Yu, XU Ye, WANG Qiuyu (7061)
Effects of the invasion by <i>Solidago canadensis</i> L. on the community structure of soil animals	CHEN Wen, LI Tao, ZHENG Rongquan, et al (7072)
Effects of intercropping on quality and yield of maize grain, microorganism quantity, and enzyme activities in soils	ZHANG Xiangqian, HUANG Guoqin, BIAN Xinmin, et al (7082)
Influence of mycorrhizal inoculation on competition between plant species and inorganic phosphate forms	ZHANG Yuting, ZHU Min, XIAN Yanxiangwa, et al (7091)
The stable nitrogen isotope of size-fractionated plankton and its relationship with biomass during winter in Daya Bay	KE Zhixin, HUNG Liangmin, XU Jun, et al (7102)
Dynamics of toxic and non-toxic <i>Microcystis</i> spp. during bloom in the large shallow hypereutrophic Lake Taihu	LI Daming, YE Linlin, YU Yang, et al (7109)
Activities of antioxidant enzymes and Zn-MT-like proteins induced in <i>Chlorella vulgaris</i> exposed to Zn ²⁺	YANG Hong, HUANG Zhiyong (7117)
Ecological footprint in Fujian based on calculation methodology for the national footprint accounts	QIU Shoufeng, ZHU Yuan (7124)
The comparison of CO ₂ emission accounting methods for energy use and mitigation strategy: a case study of China	YANG Xiai, CUI Shenghui, LIN Jianyi, et al (7135)
Ecological damage assessment of Jiaozhou Bay reclamation based on habitat equivalency analysis	LI Jingmei, LIU Tieying (7146)
The value assessment of county-level ecological assets: a case in Fengning County, Hebei Province	WANG Hongyan, GAO Zhihai, LI Zengyuan, et al (7156)
Review and Monograph	
Molecular basis for enhancement of plant drought tolerance by arbuscular mycorrhizal symbiosis: a mini-review	LI Tao, DU Juan, HAO Zhipeng, et al (7169)
A review of carbon cycling and sequestration in urban soils	LUO Shanghua, MAO Qizheng, MA Keming, et al (7177)
Overview on methods of deriving fraction of absorbed photosynthetically active radiation (FPAR) using remote sensing	DONG Taifeng, MENG Jihua, WU Bingfang (7190)
Research progress on influencing of light attenuation and the associated environmental factors on the growth of submersed aquatic vegetation	WU Mingli, LI Xuyong (7202)
The framework of stoichiometry homeostasis in zooplankton elemental composition	SU Qiang (7213)
Scientific Note	
Abundance and biomass of planktonic ciliates in the sea area around Zhangzi Island, Northern Yellow Sea in July and August 2010	YU Ying, ZHANG Wuchang, ZHANG Guangtao, et al (7220)
Research of wildlife resources sustainable development based on entropy method in China	YANG Xitao, ZHOU Xuehong, ZHANG Wei (7230)
Influence of residue composition and addition frequencies on carbon mineralization and microbial biomass in the soils of agroforestry systems	WANG Yikun, FANG Shengzuo, TIAN Ye, et al (7239)
Seasonal changes in microbial diversity in different cells of a wetland system constructed for municipal sewage treatment	CHEN Yonghua, WU Xiaofu, ZHANG Zhenni, et al (7247)

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的生态学专业性高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,300 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 32 卷 第 22 期 (2012 年 11 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 32 No. 22 (November, 2012)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:1000717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元