

# Zn<sup>2+</sup> 胁迫对绿球藻生长、生理特性及细胞结构的影响

邱昌恩<sup>1,2</sup> 毕永红<sup>1</sup> 胡征宇<sup>1</sup>

(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. 湖北师范学院生物系, 黄石 435002)

**摘要:** Zn<sup>2+</sup> 对绿球藻胁迫的实验浓度为 0.1、1、10、50、100、200、400mg/L, BG11 培养基作对照。实验结果表明, 在特定浓度条件下, Zn<sup>2+</sup> 对绿球藻的生长、生理特性以及细胞结构具有显著影响。低浓度 Zn<sup>2+</sup> (0.1—1mg/L) 对绿球藻生长基本没有影响; 浓度在 10—50mg/L 时, 绿球藻能维持一定的生长速率; 但当 Zn<sup>2+</sup> 浓度大于 100mg/L 时, 绿球藻的生长受到显著抑制。绿球藻 Chl a+Chl b 以及 Chl a 含量均随培养基中 Zn<sup>2+</sup> 浓度的升高而逐渐减少。当 Zn<sup>2+</sup> 浓度低于 10mg/L 时, 绿球藻的净光合强度和呼吸强度均随 Zn<sup>2+</sup> 浓度的增加而逐渐增加, 之后则随浓度的增加而逐渐降低。在设计的浓度下, 绿球藻丙二醛含量和过氧化物酶(POD)活性都随培养基中 Zn<sup>2+</sup> 浓度的升高而逐渐增强; 过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)则随 Zn<sup>2+</sup> 浓度的增大酶活性先升高后降低。与对照 BG11 培养基相比, 在低浓度, 即 Zn<sup>2+</sup> 浓度 < 10mg/L 条件下培养的绿球藻, 细胞壁无明显增厚, 色素变化不大; 暴露到高浓度 Zn<sup>2+</sup> 的绿球藻, 细胞壁明显增厚, 蛋白核消失。在 ≤ 10mg/L Zn<sup>2+</sup> 浓度下, 绿球藻 Zn<sup>2+</sup> 的去除率最高为 100%; 在能维持生长的 Zn<sup>2+</sup> 浓度下, 去除率均高达 80% 以上。结果显示, 绿球藻是一种耐受 Zn<sup>2+</sup> 胁迫的藻类, 对锌的去除率也高, 可以应用于含锌污水的处理。

**关键词:** 绿球藻; Zn<sup>2+</sup>; 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: 1000-3207(2007)04-0503-06

随着社会经济的迅猛发展, 有害重金属, 如: 汞、镉、铅、铜、锌、铬、镍等的排放量日趋增加, 对水环境造成的污染和破坏越来越严重。迄今所做的许多研究表明, 过量的重金属对水生生物具有毒性。藻类是一类光合自养型生物, 是水体中的初级生产者, 对维持水生态系统的平衡起着十分重要的作用。进入水体的重金属首先对藻类产生毒性效应, 并通过食物链影响其他水生生物的正常生长代谢, 甚至最终进入人体而引起各种疾病, 危害人类的身体健康<sup>[1]</sup>。同时, 藻类对许多重金属具有良好的生物富集能力, 可广泛应用于治理遭受重金属污染的水域, 故此, 筛选能耐受高浓度重金属污染的藻类用于重金属废水的处理, 已受到全世界环保学者的广泛关注<sup>[2-6]</sup>。作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, 由于其耐污性较好, 因而作者对其对锌等重金属的耐受性及耐受机理以及去除能力进行了研究, 旨在进一步利用藻类净化重金属污染的水域以及将绿球藻应用于含锌等重金属污水处

理提供依据。

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料** 绿球藻 *Chlorococcum* sp. 采自美国亚里桑那州一家污水处理厂, 应用微藻分离纯化的方法, 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 ± 1℃, 光照强度 35—40 μmol/m<sup>2</sup>·s, 在获得足够生物量后用于试验。

**1.2 Zn<sup>2+</sup> 浓度设置与培养条件** 用分析纯 ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 配成 100mg/L 和 2000mg/L Zn<sup>2+</sup> 浓度的母液, 然后用 BG11 液体培养基稀释成所需实验浓度。Zn<sup>2+</sup> 实验浓度为 0.1、1、10、50、100、200、400mg/L 7 个浓度处理, 以 BG11 作对照。每个浓度组三个重复, 均用 250mL 锥形瓶盛装培养液, 配后体积 150mL。

收稿日期: 2006-04-04; 修订日期: 2007-01-13

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

作者简介: 邱昌恩(1966—), 男, 汉族, 湖北鄂州市人; 湖北师范学院副教授, 博士。主要从事植物生理生化及环境生物学研究。E-mail: qshqce2002@yahoo.com.cn

通讯作者: 胡征宇, E-mail: huzy@ihb.ac.cn

取适量液体藻种在 4000r/min 离心 10min, 用 15mg/L NaHCO<sub>3</sub> 悬浮洗涤两次, 然后对每个实验组进行等量接种后, 置上述光照培养箱中培养。培养温度 25 ± 1 °C, 光照强度 35—40 μmol/m<sup>2</sup>·s, 光暗时间比 14: 10, 光周期时每天定时摇动锥形瓶 4 次。

**1.3 生长测定和比增长率(μ)计算** 10 天内, 每隔 48h, 用 SHIMADZU UV-1601 分光光度计(有关光密度测定均采用此仪器), 在 660nm 波长处测一次藻液的 OD 值(吸光值)。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( $\times 10^5$  个), 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)。

**1.4 叶绿素含量测定** 培养第 6 天, 每个处理取藻液 5mL, 4000r/min 离心 10min, 上清液用于 Zn<sup>2+</sup> 含量测定, 藻体用 80% 丙酮提取 2 次, 每次 24h。采用文献[7]方法测叶绿素含量。每组 2 个重复。

**1.5 光合作用强度和呼吸作用强度测定** 培养第 8 天, 每个处理取 2mL 藻液, 用氧电极(Rank Brothers, England)测量每个处理净光合速率和呼吸速率。净光合速率是在 25 °C, 光照强度为 84 μmol/m<sup>2</sup>·s 条件下测定的, 呼吸速率是在 25 °C 条件下测定的。每个处理 2 个重复。

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

培养第 10 天, 将培养液用 0.45 μm 微孔滤膜进行抽滤, 得藻体, 用分析天平称取鲜重, 采用文献[7]中的 SOD 酶提取方法配制的提取液, 用液氮法研磨提取, 定容提取液到 25mL, 此为 SOD、POD 和 CAT 的粗酶液, 用来进行 MDA 含量及 SOD、POD 和 CAT 活性测定用。MDA 含量以及 SOD 活性参照文献[7]方法测定。POD、CAT 活性参照文献[8]方法测定。NBT 的光化还原刚好被 SOD 抑制 50% 时加入的酶量为一个 SOD 酶单位。POD 酶活性以每分钟内 A<sub>470</sub> 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1mg 为 1 个酶活力单位(U)。每个浓度处理 2 个重复。

**1.7 显微结构观察** 培养第 10 天, 每个处理制成玻片, 用 DM5000B 研究显微镜在 40× 物镜下观察拍照。

**1.8 Zn<sup>2+</sup> 含量测定** 每个处理培养第 6 天, 每组 2 个重复, 每个取 5 mL 藻液, 在 4000r/min 离心 10 min,

取上清液进行 Zn<sup>2+</sup> 含量测定, Zn<sup>2+</sup> 含量用 Perkin Elmer Analyst 800 原子吸收仪测定。用培养起始 Zn<sup>2+</sup> 含量减去测定时 Zn<sup>2+</sup> 含量再除以起始 Zn<sup>2+</sup> 含量, 计算每个处理绿球藻对 Zn<sup>2+</sup> 的去除率。实验所用玻璃仪器实验前用洗液洗涤干净后再用稀盐酸洗涤, 以避免玻璃仪器对 Zn<sup>2+</sup> 的吸附作用。离心所得藻体用于叶绿素含量测定。

**1.9 统计分析方法** 生物统计的单因子方差分析(ANOVA)以及平均数 LSD 多重比较用于检验本研究指标间的差异。

## 2 结 果

### 2.1 Zn<sup>2+</sup> 对绿球藻生长的影响

从图 1 可以看出, 低浓度 Zn<sup>2+</sup> (0.1mg/L 和 1mg/L) 培养下生长曲线与对照 BG11 相近, 说明低浓度 Zn<sup>2+</sup> 对绿球藻生长基本没多大影响, 最大比生长率都在第 6 天; 在 10—50mg/L 浓度范围内, 与对照 BG11 相比 Zn<sup>2+</sup> 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, 最大比生长速率都在第 2 天, 说明绿球藻能耐受此浓度范围; 100 和 200mg/L Zn<sup>2+</sup> 浓度下培养, 开始 4 天有一定生长, 之后出现负生长, Zn<sup>2+</sup> 对绿球藻生长具明显抑制作用; 400mg/L 浓度下开始显著抑制绿球藻的生长(ANOVA,  $p < 0.05$ )。

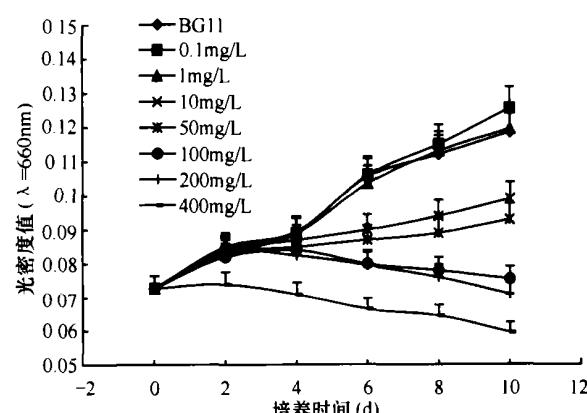


图 1 Zn<sup>2+</sup> 对绿球藻生长的影响

Fig 1 The effect of Zn<sup>2+</sup> on the growth of *Chlorella* sp.

### 2.2 Zn<sup>2+</sup> 对绿球藻色素含量的影响

培养第 6 天, 测定每个处理的色素含量, 结果表明随培养基中 Zn<sup>2+</sup> 浓度增加, 绿球藻 Chl a + Chl b 含量以及 Chl a 含量逐渐降低, 说明 Zn<sup>2+</sup> 可能抑制了绿球藻叶绿素合成, 且造成叶绿素分解破坏。各浓度组 Chl a + Chl b 含量以及 Chl a 含量与对照有

极显著性差异( $p < 0.01$ ) (见表 1)。

表 1  $Zn^{2+}$  对绿球藻色素含量的影响(培养 6d)

Tab. 1 The effect of  $Zn^{2+}$  on the chlorophyll contents in *Chlorococcum* sp. (Cultivating period 6 days)

$Zn^{2+}$ 培养浓度 concentration of $Zn^{2+}$ (mg/L)	BG11 (Control)	0.1	1	10	50	100	200	400
Chl a + Chl b (pg/cell)	1.715±0.075	1.551±0.078	1.405±0.058	1.402±0.092	1.03±0.027	0.986±0.103	0.983±0.075	0.811±0
Chl a (pg/cell)	0.893±0.029	0.833±0.029	0.759±0.008	0.762±0.034	0.471±0.043	0.428±0.037	0.384±0.009	0.379±0

## 2.3 $Zn^{2+}$ 对绿球藻光合作用和呼吸作用的影响

表 2  $Zn^{2+}$  对绿球藻光合作用和呼吸作用的影响(培养 8d)

Tab. 2 The effect of  $Zn^{2+}$  on photosynthesis and respiration in *Chlorococcum* sp. (Cultivating period 8 days)

$Zn^{2+}$ 培养浓度 concentration of $Zn^{2+}$ (mg/L)	BG11 (Control)	0.1	1	10	50	100	200	400
净光合作用强度 Net photosynthesis rate ( $\mu\text{mol O}_2/\text{h} \cdot \text{cell} \times 10^{10}$ )	14670±174.5	16615±3088.5	17829±3243	17075±241	577±452.5	33±33		
呼吸强度 Respiration rate ( $\mu\text{mol O}_2/\text{h} \cdot \text{cell} \times 10^{10}$ )	3568±228	3675±1106	4880±244.5	6357±664	1803±82.5	1681±33.5	1502±4	1613±39

从表 2 可知, 在  $1\text{mg/L}$   $Zn^{2+}$  浓度以下, 绿球藻净光合强度逐渐升高, 浓度大于  $1\text{mg/L}$  时净光合强度逐渐降低, 直到  $Zn^{2+}$  浓度大于等于  $200\text{mg/L}$  时, 净光合作用强度检测不到; 当  $Zn^{2+}$  浓度小于  $10\text{mg/L}$  时, 绿球藻呼吸强度随  $Zn^{2+}$  浓度的增大而逐渐增高, 当  $Zn^{2+}$  浓度大于  $10\text{mg/L}$  时, 绿球藻呼吸强度随  $Zn^{2+}$  浓度的增大而逐渐降低。处理组净光合强度和呼吸强度与对照有显著差异( $p < 0.05$ )。

## 2.4 $Zn^{2+}$ 对绿球藻丙二醛(MDA)含量的影响

由图 2 可知, 绿球藻体内丙二醛含量随培养基中  $Zn^{2+}$  含量的增大而逐渐增大, 低浓度时增大不是很显著, 各浓度组丙二醛含量与对照有显著性差异( $p < 0.05$ )。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  $Zn^{2+}$  对绿球藻伤害不明显, 这与前面结果相吻合即低浓度  $Zn^{2+}$  ( $0.1\text{mg/L}$ 、 $1\text{mg/L}$ ) 对绿球藻生长基本无影响, 但随  $Zn^{2+}$  浓度的增大,  $Zn^{2+}$  胁迫造成的氧化伤害也越来越大。

## 2.5 $Zn^{2+}$ 对绿球藻超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

当培养基中  $Zn^{2+}$  浓度小于  $10\text{mg/L}$  时, 绿球藻 SOD 活力逐渐增大; 而当  $Zn^{2+}$  浓度大于  $10\text{mg/L}$  时, 绿球藻 SOD 活力随培养基中  $Zn^{2+}$  浓度的增大而逐渐降低, 但到  $400\text{mg/L}$  时, SOD 活力仍然高于对照组。降低原因可能与体内丙二醛(MDA)过多积累有关,

MDA 反过来抑制保护酶的活性和降低抗氧化物含量<sup>[9]</sup>, 也说明  $10\text{mg/L}$  浓度以后  $Zn^{2+}$  对绿球藻的伤害才开始加大。各处理组 SOD 活力与对照有显著性差异( $p < 0.05$ ) (结果见图 3)。

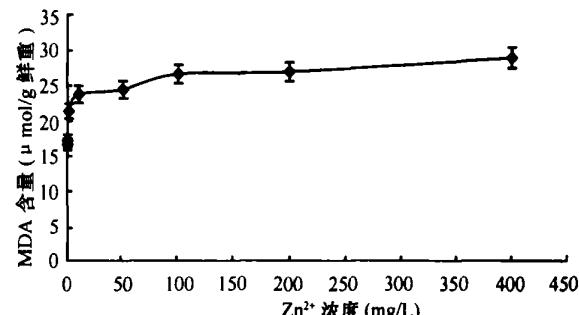


图 2  $Zn^{2+}$  对绿球藻丙二醛含量的影响

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

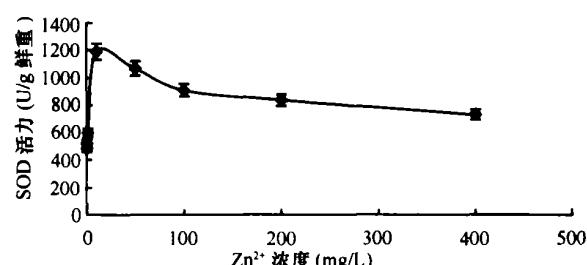


图 3  $Zn^{2+}$  对绿球藻超氧化物歧化酶的影响

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

## 2.6 $Zn^{2+}$ 对绿球藻过氧化物酶(POD)活性的影响

由图4可知,绿球藻过氧化物酶(POD)活性总的变化趋势是随着培养基中 $Zn^{2+}$ 含量的增大而逐渐增大,其中 $Zn^{2+}$ 浓度在10mg/L以下POD活性增高比较明显,之后增高比较平缓,说明 $Zn^{2+}$ 胁迫导致了绿球藻体内抗氧化保护酶POD活性的提高。各处理组POD活性与对照有显著性差异( $p < 0.05$ )。

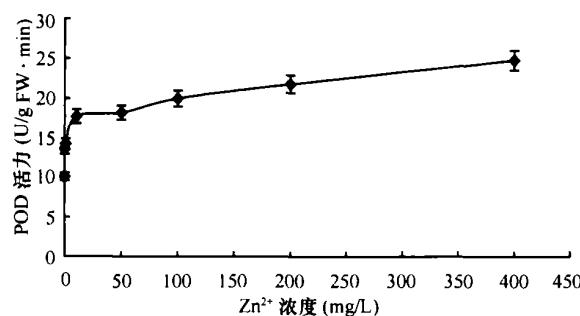


图4  $Zn^{2+}$  对绿球藻过氧化物酶活性的影响

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

## 2.7 $Zn^{2+}$ 对绿球藻过氧化氢酶(CAT)活性的影响

当培养基中 $Zn^{2+}$ 浓度小于10mg/L时,绿球藻CAT活性随培养基中 $Zn^{2+}$ 含量的增大而逐渐增大;而当 $Zn^{2+}$ 浓度大于10mg/L时,绿球藻CAT活性随培养基中 $Zn^{2+}$ 浓度的增大而逐渐降低,但到400mg/L时,CAT活性仍然高于对照组。降低原因可能与体内丙二醛(MDA)过多积累有关,MDA反过来抑制保护酶的活性和降低抗氧化物含量<sup>[9]</sup>,也说明10mg/L浓度以后 $Zn^{2+}$ 对绿球藻的伤害才开始加大。各处理组CAT活性与对照有显著性差异( $p <$

0.05)(结果见图5)。

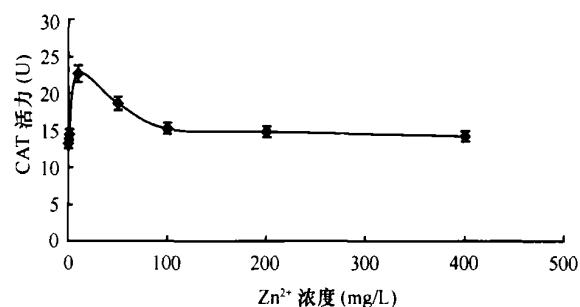


图5  $Zn^{2+}$  对绿球藻过氧化氢酶活性的影响

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

## 2.8 $Zn^{2+}$ 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,如图6(A)。 $Zn^{2+}$ 对绿球藻显微结构的影响见图6(B-H):在0.1、1、10mg/L $Zn^{2+}$ 浓度下,与对照比细胞壁不见明显增厚,色素没多大变化(B-D);50—400mg/L $Zn^{2+}$ 浓度条件下,细胞壁明显增厚,色素含量减少,蛋白核消失(E-H)。

## 2.9 绿球藻对 $Zn^{2+}$ 的去除

不同 $Zn^{2+}$ 浓度条件下培养第6天,测定绿球藻对 $Zn^{2+}$ 的去除情况,结果见图7。在小于等于10mg/L $Zn^{2+}$ 浓度下培养,绿球藻对 $Zn^{2+}$ 的去除率最高达100%,之后随 $Zn^{2+}$ 浓度的增高而逐渐降低,到400mg/L时仍然高达60.53%。各处理组去除率与对照有极显著性差异( $p < 0.01$ )。

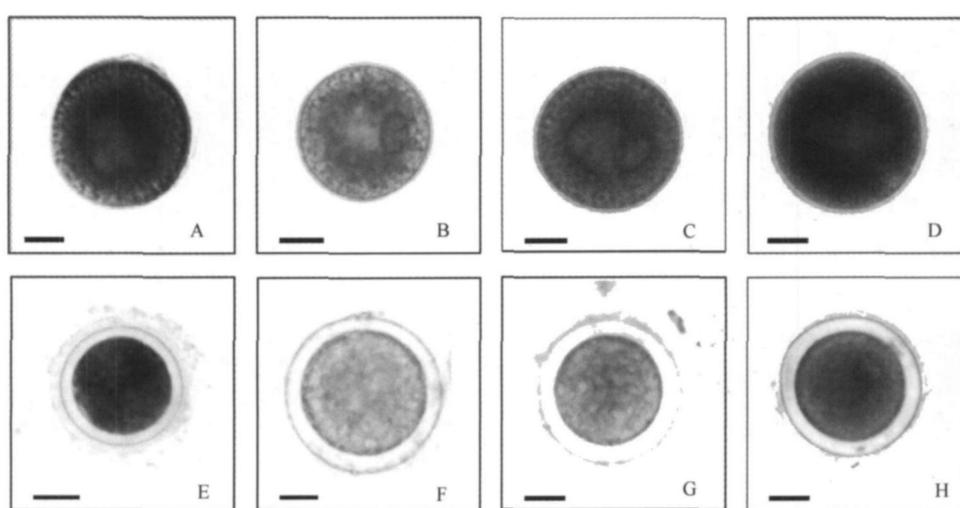
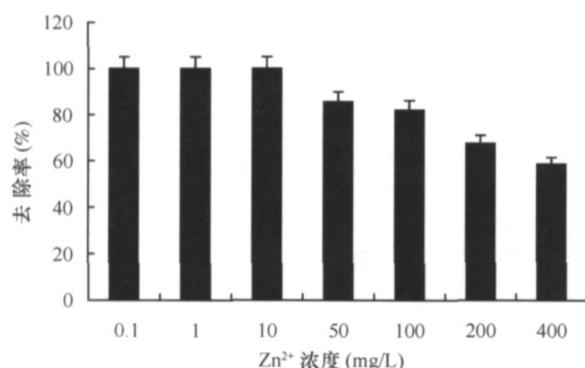


图6  $Zn^{2+}$  对绿球藻显微结构的影响 (比例尺= 10 微米)

Fig. 6 The effect of  $Zn^{2+}$  on the microstructure of *Chlorococcum* sp (Bar= 10 $\mu$ m)

A: BG11; B: 0 mg/L  $Zn^{2+}$ ; C: 1 mg/L  $Zn^{2+}$ ; D: 10 mg/L  $Zn^{2+}$ ; E: 50 mg/L  $Zn^{2+}$ ; F: 100 mg/L  $Zn^{2+}$ ;

G: 200 mg/L  $Zn^{2+}$ ; H: 400 mg/L  $Zn^{2+}$

图 7 绿球藻对  $Zn^{2+}$  的去除率(培养 6d)Fig. 7 The removal rate of *Chlorococcum* sp on  $Zn^{2+}$ 

### 3 讨 论

低浓度  $Zn^{2+}$  (0.1mg/L 和 1mg/L) 对绿球藻生长基本没有多大影响; 在 10—100mg/L 浓度范围内, 与对照 BG11 相比尽管  $Zn^{2+}$  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, 说明绿球藻可以耐受此较高的  $Zn^{2+}$  浓度。降低普通小球藻 50% 生长率的  $Zn^{2+}$  浓度为 2.4ppm, 在 20ppm 时小球藻的生长完全停止<sup>[10]</sup>, 绿球藻耐受的  $Zn^{2+}$  浓度比这个浓度高很多。培养 6d 后, 在  $\leq 10\text{mg/L}$   $Zn^{2+}$  浓度下, 绿球藻对  $Zn^{2+}$  的去除率高达 100%, 并在能维持生长的浓度下去除率也高达 80% 以上。应用于重金属废水处理的藻类应具备两个特点: 既要对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, 说明绿球藻应该是一种处理重金属废水很好的材料, 可以应用于含锌等重金属污水的处理。

绿球藻体内丙二醛含量随培养基中  $Zn^{2+}$  浓度的增大而逐渐增大, 丙二醛是细胞发生过氧化的一个指标, 说明  $Zn^{2+}$  胁迫造成了绿球藻细胞发生了过氧化作用。原因是由于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<sup>[9]</sup>。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。实验结果显示,  $Zn^{2+}$  胁迫诱导绿球藻体内 SOD、CAT、POD 三种抗氧化酶活性升高, 增强了绿球藻由于  $Zn^{2+}$  胁迫导致的氧化胁迫的抗性。因而它是绿球藻耐受  $Zn^{2+}$  胁迫的一个重要生理原因。其中在 10mg/L 浓

度以下 SOD、CAT 活性逐渐升高, 之后逐渐降低, 降低原因可能与体内丙二醛 (MDA) 过多积累有关, MDA 反过来抑制保护酶的活性和降低抗氧化物含量<sup>[9]</sup>, 也说明 10mg/L 浓度以后  $Zn^{2+}$  对绿球藻的伤害才开始加大。绿球藻在 10mg/L 浓度以下, 净光合强度和呼吸强度都增强, 之后都逐渐降低, 这是绿球藻对  $Zn^{2+}$  胁迫产生的生理上的适应, 同时也印证上面所述在 10mg/L  $Zn^{2+}$  浓度以后  $Zn^{2+}$  对绿球藻的伤害才开始加大, 两者也说明了低浓度的  $Zn^{2+}$  对绿球藻生长基本没有影响。绿球藻 Chl *a* + Chl *b* 以及 Chl *a* 含量随培养基中  $Zn^{2+}$  浓度的增大而逐渐降低, 说明  $Zn^{2+}$  可能使叶绿素分解破坏或抑制叶绿素合成, 这是高浓度  $Zn^{2+}$  导致绿球藻光合作用降低的一个原因。低浓度  $Zn^{2+}$  (0.1、1、10mg/L) 叶绿素含量逐渐减少, 而净光合强度逐渐升高, 似有矛盾; 但是经过统计学分析低浓度  $Zn^{2+}$  条件下叶绿素含量和净光合强度之间没有显著性差异 ( $p > 0.05$ ), 即低浓度  $Zn^{2+}$  对它们的影响不显著。另外绿球藻耐受  $Zn^{2+}$  胁迫还有结构上的适应: 绿球藻形成非常厚的细胞壁。由于壁上的多糖和蛋白质分子中的  $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NH$ 、 $-SH$  等基团与锌离子结合, 结果  $Zn^{2+}$  过多地被吸附在细胞壁上<sup>[11]</sup>, 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  $Zn^{2+}$  胁迫的适应。有文献报道  $Cd^{2+}$  胁迫诱导雪松聚球藻 *Synechococcus oednorum* Sauvageau 藻体内产生抗性蛋白金属硫蛋白<sup>[12]</sup>, 镉和铜还可使藻胞内胞外产生金属配体<sup>[13]</sup>, 因而  $Zn^{2+}$  胁迫也有可能诱导绿球藻产生这些物质从而增强对  $Zn^{2+}$  的抗性, 有关方面的研究, 作者将进行进一步研究。

### 参考文献:

- [1] Baker M D, Mayfield C I, Inniss W E. Toxicity of pH, heavy metals and bisulphite to a freshwater green algae [J]. *Chemosphere*, 1983, 12(1): 35—44
- [2] Travieso L, Caizares K O, Borja K, et al. Heavy metal removal by microalgae [J]. *Bulletin of Environmental Contamination And Toxicology*, 1999, 62: 141—151
- [3] Valdman E, Leite S G F. Biosorption of Cd, Zn and Cu by *Sargassum* sp. waste biomass [J]. *Bioprocess Engineering*, 2000, 22: 171—173
- [4] Vymazal J. Short-term uptake of heavy metals by periphyton algae [J]. *Hydrobiologic*, 1984, 119: 171—179
- [5] 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*

- f Colloid and Interface Science*, 2004, **275**: 131—141
- [ 6 ] Chong A M Y, Warg Y S, Tam N F Y. Performance of different microalgal species in removing Nickel and Zinc from industrial wastewater [J]. *Chemosphere*, 2000, **41**: 251—257
- [ 7 ] Tang Z C. The experimental guide of modern plant physiology [M]. Beijing: Academic Press, 1999, 95, 305, 314 [ 汤章城主编. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999, 95, 305, 314]
- [ 8 ] Li H S. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000, 164—165 [ 李合生主编. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000, 164—165]
- [ 9 ] Chen S Y. Injury of membrane lipid peroxidation to plant cell [J]. *Plant Physiology Communications*, 1991, **27**(2): 84—90 [ 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害. 植物生理学通讯, 1991, **27**(2): 84—90]
- [ 10 ] Kuang Q J, Xia Y C, Hui Y. Toxic effects of heavy metals on algae [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1996, **20**(3): 277—283 [ 况琪军, 夏宜, 惠阳. 重金属对藻类的致毒效应. 水生生物学报, 1996, **20**(3): 277—283]
- [ 11 ] Sicko G L. A morphometric analysis of algae response to low dose, short term heavy metal exposure [J]. *Protoplasma*, 1982, **110**: 75—86
- [ 12 ] Dai L F, Gao H, Xia J R. Tolerance to heavy metal Cd and detoxification of *Synechococcus cedrorum* [J]. *Chin. J. Appl. Environ. Biol.*, 1998, **4**(3): 192—195 [ 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. 应用与环境生物学报, 1998, **4**(3): 192—195]
- [ 13 ] Pistocchi R, Momme A M, Guerrini F, et al. Increased production of extra and intracellular metal ligands in phytoplankton exposed to copper and cadmium [J]. *Journal of Applied phycology*, 2000, **12**: 469—477

## THE EFFECTS OF $Zn^{2+}$ STRESS ON THE GROWTH, PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS AND CELL STRUCTURE OF *CHLOROCOCCUM* SP.

QIU Chang-En<sup>1,2</sup>, BI Yong-Hong<sup>1</sup> and HU Zheng-Yu<sup>1</sup>

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

**Abstract:** In the  $Zn^{2+}$  stress experiments, the concentrations of  $Zn^{2+}$  were 0.1, 1, 10, 50, 100, 200 and 400 mg/L, BG11 culture medium was served as the control. The results showed that  $Zn^{2+}$  affected markedly on the growth, physiological characteristics and cell structure of *Chlorococcum* sp. under certain concentration. When the concentration of  $Zn^{2+}$  was 0.1—1mg/L, the growth of *Chlorococcum* sp. showed no obvious difference compared with the control. When the concentration of  $Zn^{2+}$  was 10—50mg/L, *Chlorococcum* sp. could maintain certain growth rate yet. When the concentration of  $Zn^{2+}$  was higher than 100mg/L, the growth of *Chlorococcum* sp. was inhibited markedly. The contents of Chl *a*+ Chl *b* and Chl *a* decreased gradually with the increase of the concentrations of  $Zn^{2+}$  in the medium. When the concentration of  $Zn^{2+}$  was less than 10mg/L, the photosynthesis and respiration of *Chlorococcum* sp. increased gradually with the increase of  $Zn^{2+}$  concentrations; and when the concentration of  $Zn^{2+}$  was higher than 10mg/L, they decreased gradually with the increase of  $Zn^{2+}$  concentrations. The content of malondialdehyde and activity of peroxidase increased gradually with the increase of  $Zn^{2+}$  concentrations, and the activities of catalase and superoxide dismutase increased at first and later decreased with the increase of  $Zn^{2+}$  concentrations. Compared with the cell cultured in BG11, the cell cultured in low concentrations ( $\leqslant 10$ mg/L) showed few changes in pigment and thickness of cell wall. The cell wall of cell cultured in high concentrations of  $Zn^{2+}$  became thicker, and the pigment decreased and the pyrenoid disappeared. When the concentration of  $Zn^{2+}$  was  $\leqslant 10$ mg/L, the removal rate of *Chlorococcum* sp. on  $Zn^{2+}$  reached the maximum and was 100%, and it was above 80% under the concentrations that *Chlorococcum* sp. could maintain the growth. The results demonstrated that the *Chlorococcum* sp. could be applied to the treatment of wastewater containing  $Zn^{2+}$ , because the *Chlorococcum* sp. could endure the stress of  $Zn^{2+}$  and was of high removal rate on  $Zn^{2+}$ .

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