

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16356

Hg²⁺和 Pb²⁺胁迫对脆江蓠生长及光合生理的影响

陈琼琳^{1,2}, 李加琦^{2,3}, 姜娓娓², 薛素燕^{2,3}, 李阳^{1,2}, 沈淑芳^{1,2},
卞大鹏⁴, 方建光¹, 毛玉泽^{2,3}

1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306;
2. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东省渔业资源与生态环境重点实验室, 中国水产科学研究院
黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;
3. 海洋国家实验室, 海洋生态与环境科学功能实验室, 山东 青岛 266071;
4. 国家海产贝类工程技术研究中心, 山东 威海 264316

摘要: 采用实验生态学方法研究了不同质量浓度 Hg²⁺和 Pb²⁺胁迫对脆江蓠(*Gracilaria chouae*)生长及光合生理的影响。实验设置 Hg²⁺质量浓度为 0.01 mg/L、0.025 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.25 mg/L 和 0.5 mg/L, Pb²⁺质量浓度为 0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L、2 mg/L 和 4 mg/L, 以未添加重金属的实验组为对照, 持续培养 7 d, 分别测定不同处理藻体的生长速率、光合放氧速率、光合色素含量、叶绿素荧光和光合碳代谢途径中关键酶活等生理生化指标。结果表明, 在 Hg²⁺胁迫下, 藻体特定生长率(SGR)显著下降($P<0.05$), 质量浓度达到 0.5 mg/L 时藻体出现负增长; 光合放氧速率降低 35.48%~77.59%; 叶绿素 a、类胡萝卜素含量显著下降($P<0.05$), Hg²⁺质量浓度高于 0.1 mg/L 时藻体藻蓝蛋白和藻红蛋白含量显著降低($P<0.05$); 最大光合效率(F_v/F_m)和实际光合效率($Y(II)$)随着 Hg²⁺浓度增加先降低后升高, 0.05 mg/L 时出现第二个峰值, 丙酮酸磷酸双激酶(PPDK)也出现相似趋势。藻体对 Pb²⁺的敏感程度低于 Hg²⁺, Pb²⁺质量浓度为 0.5 mg/L 时, 光合产氧速率显著下降($P<0.05$), 质量浓度到达 1 mg/L 时, 藻体 SGR 和叶绿素 a、类胡萝卜素出现显著下降($P<0.05$), 而叶绿素荧光参数和藻蓝蛋白含量则无显著性差异; Pb²⁺质量浓度达到 4 mg/L 时 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶(RuBisCO)出现显著下降($P<0.05$), PPDK 酶活性则显著上升($P<0.05$)。实验结果证实: 重金属 Hg²⁺和 Pb²⁺胁迫对脆江蓠的生长和光合作用都有不利影响, 藻体对 Hg²⁺胁迫的敏感度要高于 Pb²⁺, Hg²⁺质量浓度为 0.01 mg/L 时, 藻体出现胁迫, 并随着浓度的增加而加剧, Pb²⁺质量浓度超过 1 mg/L 时, 藻体胁迫明显。

关键词: 脆江蓠; Hg²⁺; Pb²⁺; 光合生理

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)04-0766-08

重金属在环境中的毒性、难降解及在食物链中的传递积累效应, 使得重金属污染成为全球关注的热点^[1-2], 重金属胁迫对藻类的生理生化特性具有显著影响^[3]。藻类是水生系统的初级生产者, 海洋初级生产力所产出的有机物是海洋生态系统食物网的基点, 是海洋中一切有机体的直接或间接的食物来源, 在水生态系统食物链中起着

十分重要的作用^[3]。许多研究表明, 藻类对重金属具有生物吸附和聚集作用, 其在重金属胁迫下会产生一系列生理生化变化, 因此可作为反映海水环境中重金属危害程度的指示生物^[4]。当重金属对藻体产生胁迫后, 藻类会通过一系列复杂的酶和非酶抗氧化反应进行自身调整以保证正常的生理活动^[5]。但是当这些保护机制不足以对抗外界

收稿日期: 2016-12-05; 修订日期: 2016-12-23.

基金项目: 国家自然科学基金项目(41676147); 国家自然科学基金委员会-山东省联合资助项目(U1606404); 中国水产科学研究院基本科研业务费项目(2017HY-8D0608).

作者简介: 陈琼琳(1993-), 女, 硕士研究生, 主要从事海藻生物修复研究. E-mail: chenqionglin2333@163.com

通信作者: 毛玉泽, 研究员. E-mail: maoyz@ysfri.ac.cn

胁迫时,藻类就会出现生长速率下降^[6],光合色素含量发生变化,从而导致一系列光合速率及电子传递速率下降^[7]等现象;有报道还指出,重金属胁迫使得藻体的超微结构发生改变^[8]。

脆江蓠(*Gracilaria chouae*)隶属于红藻门(Rhodophyta),杉藻目(Gigartinales),江蓠科(Gracilariaceae),江蓠属(*Gracilaria*),曾广泛分布于中国东南沿海地区^[9]。脆江蓠以其藻体质脆、肥厚多汁、容易消化等特点,成为鲍的优良饵料^[10]。因其口感独特,该藻也适宜于作为食品。目前对环境因子尤其是重金属对该藻类生理生化的影响方面的研究较少。本文研究了不同浓度的 Hg^{2+} 和 Pb^{2+} 对脆江蓠生长及光合生理的影响,分析讨论了 Hg^{2+} 和 Pb^{2+} 对脆江蓠的胁迫程度和藻体响应,旨在探讨 Hg^{2+} 和 Pb^{2+} 对大型藻类的毒害机理及藻类对重金属的适应机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

脆江蓠于2016年4月7日采自福建省宁德霞浦海域人工筏式养殖区,用泡沫箱低温(约4℃)空运至黄海水产研究所实验室。选择健康一致的藻体,去除表面附着物,经过滤灭菌海水冲洗后放于流水槽中充气暂养1周。培养水体为过滤灭菌的自然海水(pH 8.1,盐度 32,无机氮浓度 86.17 $\mu\text{mol/L}$,无机磷浓度 1.44 $\mu\text{mol/L}$,无重金属污染),培养温度为(20±1)℃,光照强度为 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,光周期为 12 L : 12 D。

1.2 实验设计

选择部位一致、健康的藻体放在 3 L 灭菌自然海水中,培养密度为 1 g/L,置于 GXZ 智能光照培养箱(宁波江南仪器厂)中培养 7 d。根据国家海水水质标准(GB 3097-1997)分别设置 Hg^{2+} 和 Pb^{2+} 5 个处理组,不加重金属的作为对照,每个处理重复 3 次。其中, Hg^{2+} 质量浓度为 0.01 mg/L、0.025 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.25 mg/L 和 0.5 mg/L,用 HgCl_2 分析纯试剂配制; Pb^{2+} 质量浓度为 0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L、2 mg/L 和 4 mg/L,用 PbCl_2 分析纯试剂配制。所有处理组的其他培养条件与暂养条件一致,每天更换培养水体一次。培

养结束后,分别测定脆江蓠的生长、光合放氧速率、光合色素含量、叶绿素荧光和光合碳代谢途径中的关键酶活等生理指标。

1.3 生长测定

特定生长率(SGR)通过测定实验前后藻体鲜重(FW,藻体称量前先用吸水纸将表面多余水分吸干),利用公式计算^[11]:

$$\text{SGR}(\%\cdot\text{d}^{-1})=[\ln(W_t/W_0)/t]\times 100$$

式中, W_0 为初始藻体湿重(g); W_t 为结束时藻体湿重(g); t 为培养时间(d)。

1.4 光合放氧速率的测定

取实验过程中的藻体 2 g 放入相应实验环境的 2 L 海水中封闭培养 2 h 后将实验藻体放入培养环境中。实验前后的溶解氧(DO)用 YSI(Multi 3420, WTW, Germany)进行测定,光合作用产氧速率(RO),单位 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。通过实验前后的 O_2 浓度进行计算^[11]:

$$\text{RO}=(\text{O}_2-\text{O}_0)\times V/W/t$$

式中, O_2 表示实验结束时水样的 O_2 浓度($\mu\text{mol/L}$); O_0 是实验开始前 O_2 的浓度; V 代表封闭水体的体积(L); W 是实验藻类的湿重(g); t 代表实验时间(h)。

1.5 叶绿素荧光参数的测定

用德国 Walz 公司生产的 Dual-PAM-100 叶绿素荧光仪(Walz, Effeltrich, Germany)测定脆江蓠叶绿素荧光参数。测量前将脆江蓠暗适应 30 min,先用检测光照射测得初始荧光 F_0 ,再用强饱和脉冲光(10000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 300 ms)激发,测得最大荧光参数 F_m ,然后,光化光被打开,使样品开始进行光合作用,光照样品的最大荧光值(F'_m)被记录,从而计算出脆江蓠 PS II 在不同重金属胁迫下的最大光合效率 F_v/F_m 和实际光化学效率 $Y(\text{II})$ ^[12]:

$$F_v/F_m=(F_m-F_0)/F_m$$

$$Y(\text{II})=(F'_m-F)/F'_m$$

1.6 光合色素的测定

1.6.1 叶绿素 a (Chla) 和类胡萝卜素(Car)含量的测定

实验结束后,称取洗净擦干的藻体 0.2 g,放入研钵中,加入适量的石英砂和碳酸钙粉末以及 3 mL 80%丙酮,冰浴匀浆,暗处静置 1 h,然后

离心(4000 r/min, 4℃) 10 min, 取上清液, 以 80% 丙酮为空白对照, 测定 663 nm、646 nm、510 nm 和 480 nm 下的吸光度, 依据下列公式计算 Chla 和 Car 的含量^[13]:

$$\text{Chla (mg/L)} = 12.21 \times A_{663} - 2.81 \times A_{646}$$

$$\text{Car (mg/L)} = 7.60 \times (A_{480} - 1.49 \times A_{510})$$

1.6.2 藻红蛋白(PE)和藻蓝蛋白(PC)含量的测定

称取洗净擦干的藻体 0.2 g, 放入研钵内, 加入适量石英砂和磷酸缓冲液(pH 6.8)研碎藻体, 冷冻 2 h 后取出, 离心(4000 r/min, 4℃)20 min, 取上清液, 以磷酸缓冲液为参比, 测定 645 nm、618 nm、592 nm、564 nm 和 455 nm 处的吸光度。依据下列公式计算 PE 和 PC 的含量^[14]:

$$\text{PE} = [(A_{564} - A_{592}) - (A_{455} - A_{592}) \times 0.2] \times 0.12$$

$$\text{PC} = [(A_{618} - A_{645}) - (A_{592} - A_{645}) \times 0.15] \times 0.15$$

1.7 光合碳代谢途径中关键酶活的测定

脆江蓼 RuBisCO 酶及 PPDK 酶活性用试剂盒进行测定, 具体方法参见试剂盒使用说明书。

1.8 数据处理

实验数据采用 Excel 2010 进行数据处理并作图; 采用 SPSS 16.0 进行显著性分析, 显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度 Hg^{2+} 和 Pb^{2+} 处理对脆江蓼特定生长率的影响

脆江蓼经不同质量浓度 Hg^{2+} 海水培养 7 d, 特定生长率(SGR)与对照组(Co)相比呈显著下降

趋势($P < 0.05$), Hg^{2+} 质量浓度达到 0.5 mg/L 时, 脆江蓼呈负生长(图 1a)。 Hg^{2+} 质量浓度达到 0.1 mg/L 时, 藻体褪色, 到 0.5 mg/L 时呈白色。 Pb^{2+} 质量浓度在 0~0.5 mg/L 时 SGR 无显著性差异, 浓度大于 1 mg/L 时, SGR 显著降低($P < 0.05$, 图 1b)。

2.2 不同质量浓度 Hg^{2+} 和 Pb^{2+} 处理对脆江蓼光合放氧速率的影响

随着 Hg^{2+} 质量浓度的升高, 脆江蓼的光合放氧速率显著降低($P < 0.05$)。各浓度下, 脆江蓼光合放氧速率与对照组相比分别降低了 35.48%、46.68%、50.21%、58.30%、74.27%、77.59%(图 2a)。 Pb^{2+} 处理中, 对照组与实验组的光合放氧速率存在显著性差异($P < 0.05$), 但各个处理组之间的光合放氧速率无显著差异(图 2b)。

2.3 不同质量浓度 Hg^{2+} 和 Pb^{2+} 处理对脆江蓼光合色素含量的影响

实验结束后, 对实验藻体的光合色素含量进行测定, 对照组的叶绿素 a 含量显著高于实验组($P < 0.05$), 并随着海水中 Hg^{2+} 质量浓度增加而下降。 Pb^{2+} 质量浓度大于 1 mg/L 时, 脆江蓼的叶绿素 a 含量显著低于其他处理组, 类胡萝卜素含量也出现类似现象(图 3a, 图 3b)。 Hg^{2+} 质量浓度小于 0.05 mg/L 时, 对藻体藻红蛋白和藻蓝蛋白含量影响不显著, 大于 0.1 mg/L 时, 藻红蛋白和藻蓝蛋白含量显著下降($P < 0.05$, 图 3c)。 Pb^{2+} 胁迫对脆江蓼的藻红蛋白和藻蓝蛋白的影响差异性不显著($P > 0.05$, 图 3d)。

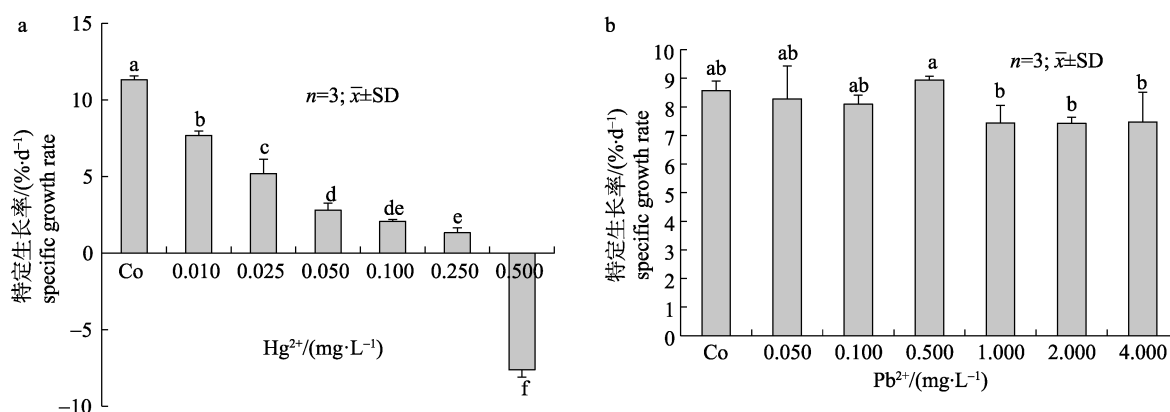


图 1 不同 Hg^{2+} (a)、 Pb^{2+} (b) 浓度处理下脆江蓼特定生长率的变化

Co: 对照组。小写字母不同代表差异性显著($P < 0.05$)。

Fig. 1 Specific growth rate of *Gracilaria chouae* at different concentrations of Hg^{2+} (a) and Pb^{2+} (b)
Co: Control group. Values with different letters means significantly different from each other ($P < 0.05$).

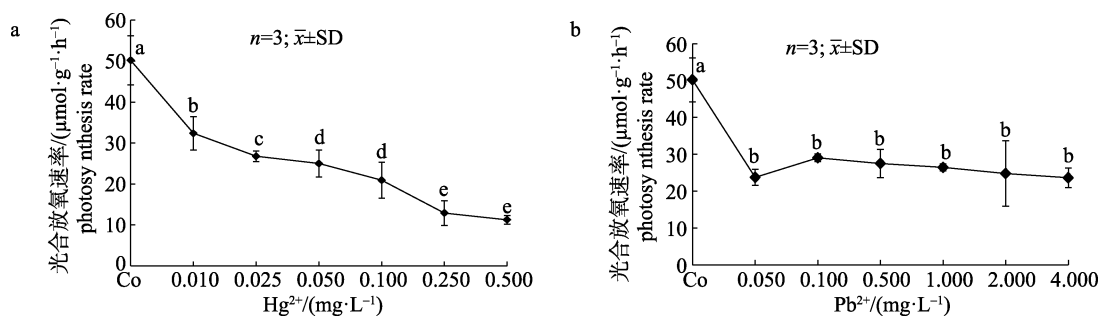


图2 不同 Hg^{2+} (a)、 Pb^{2+} (b) 浓度处理对脆江蕨光合放氧速率的影响

Co: 对照组. 小写字母不同代表差异性显著 ($P<0.05$).

Fig. 2 Effect on photosynthetic rate of *Gracilaria chouae* at different concentrations of Hg^{2+} (a) and Pb^{2+} (b)
Co: Control group. Values with different letters means significantly different from each other ($P<0.05$)

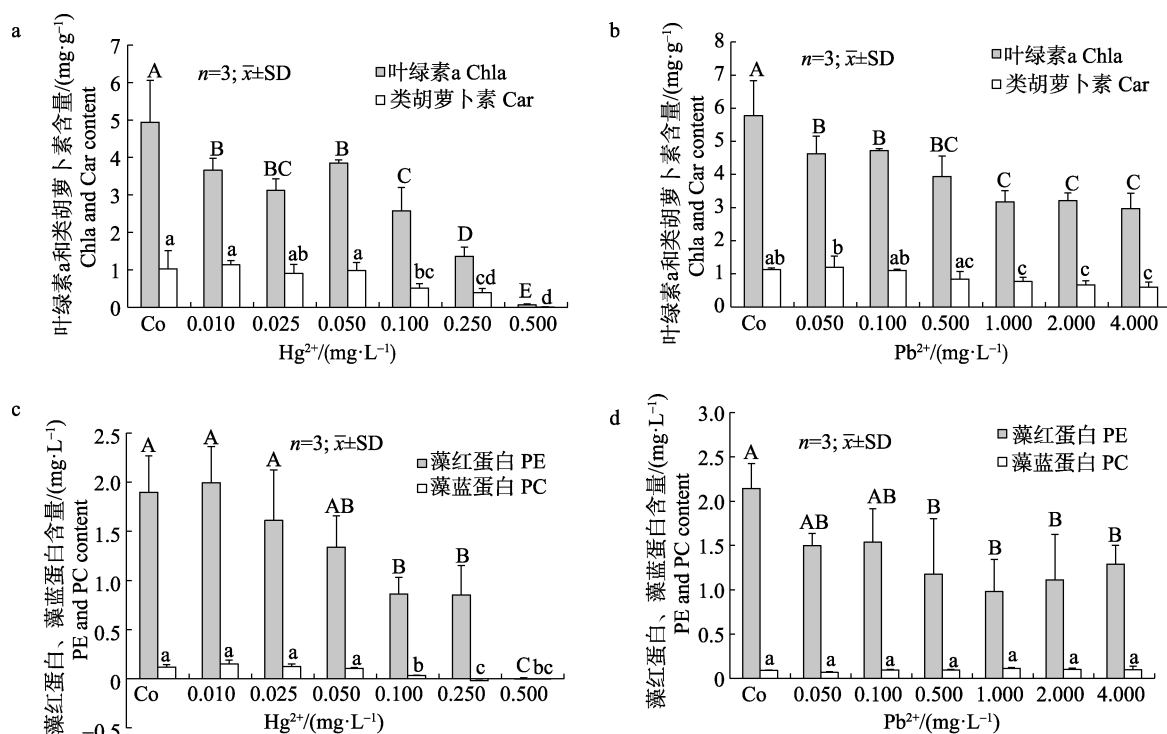


图3 不同 Hg^{2+} (a)、(c)、 Pb^{2+} (b)、(d) 浓度处理下的脆江蕨光合色素含量

Co: 对照组; 同一参数字母不同代表差异性显著 ($P<0.05$).

Fig. 3 Photosynthetic pigment contents in *Gracilaria chouae* at different concentrations of Hg^{2+} (a), (c) and Pb^{2+} (b), (d)
Co: Control group. Values with different letters at the same characteristic are significantly different from each other ($P<0.05$).

2.4 不同质量浓度 Hg^{2+} 和 Pb^{2+} 处理对脆江蕨叶绿素荧光参数的影响

Hg^{2+} 胁迫对脆江蕨最大光合效率和实际光合效率的影响趋势基本相同, 出现双峰现象。随着 Hg^{2+} 量浓度的增加, F_v/F_m 及 $Y(II)$ 起初下降, 在 0.05 mg/L 时出现第二峰值, 然后随着质量浓度的升高又降低(图 4a), Hg^{2+} 达到 0.5 mg/L 时, 两者均最低, 且存在显著性差异 ($P<0.05$)。 Pb^{2+} 浓度在

0.05~2 mg/L 时, 对照组与实验组的差异性不显著, Pb^{2+} 量浓度达到 4 mg/L 时, 其最大及实际光合效率显著降低 ($P<0.05$, 图 4b)。

2.5 不同质量浓度 Hg^{2+} 和 Pb^{2+} 处理对脆江蕨光合碳代谢途径中关键酶活的影响

实验终止时, 测定了不同处理藻体的 RuBisCO 和 PPDK 酶活性, Hg^{2+} 培养后的藻体 RuBisCO 活性显著低于对照组 ($P<0.05$)。 Hg^{2+} 在 0.01~0.25 mg/L,

脆江蓼 RuBisCO 活性无显著性差异, 质量浓度达到 0.05 mg/L 时, 活性显著降低($P<0.05$, 图 5a)。Pb²⁺ 质量浓度为 4 mg/L 时, 藻体的 RuBisCO 活性显著下降($P<0.05$, 图 5b); 其他处理组除在 0.5 mg/L 出现低值, 差异不显著。Hg²⁺ 质量浓度达到 0.05 mg/L 时, PPDK 活性出现第二峰值(图 5c)。Pb²⁺ 质量浓度除在 4 mg/L 时藻体 PPDK 活性显著上升外, 其他处理组与对照组均无显著性差异($P>0.05$, 图 5d)。

3 讨论

3.1 Hg²⁺ 对脆江蓼生长及光合生理的影响

Hg²⁺ 被认为是对藻类毒性最大的重金属, 可

以抑制藻类的正常生长活动^[15]。在本实验条件下, 随着 Hg²⁺ 浓度的增加, 脆江蓼藻胆蛋白、叶绿素 a 和类胡萝卜素含量均显著降低, 引起光合产氧速率下降, 生长受到抑制。类似情况在其他藻类中也有发现, Hg²⁺ 浓度 ≥ 0.02 mg/L 时, 龙须菜 (*Gracilaria lemaneiformis*) 的生长和光合放氧速率分别下降了 43.61% 和 12.93%^[16]。Hg²⁺ 处理 24 h 后, 1 mg/L 的角毛藻 (*Chaetoceros calcitrans*) 细胞全部破碎死亡, 而 0.1 mg/L 时也仅有 10% 的藻细胞存活^[17]。Hg²⁺ 处理后的塔胞藻 (*Paeonia suffruticosa* Andrews) 细胞内各种化合物的代谢过程受到阻碍, 细胞密度降低, 细胞体积减小, 细胞内

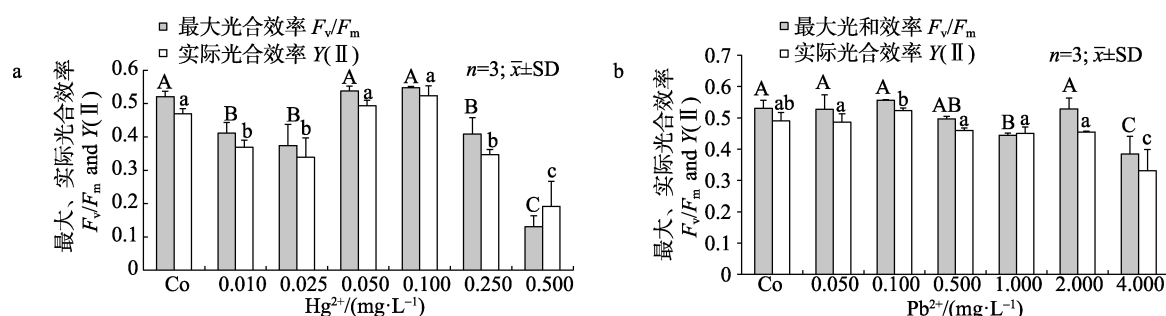


图 4 不同 Hg²⁺ (a)、Pb²⁺ (b) 浓度处理下的脆江蓼最大光合效率 F_v/F_m 和实际光合效率 $Y(II)$ 的影响

Co: 对照组; 同一参数字母不同代表差异性显著 ($P<0.05$).

Fig. 4 F_v/F_m and $Y(II)$ of *Gracilaria Chouae* at different concentrations of Hg²⁺ (a) and Pb²⁺ (b)
Co: Control group. Values with different letters at the same characteristic are significantly different from each other ($P<0.05$).

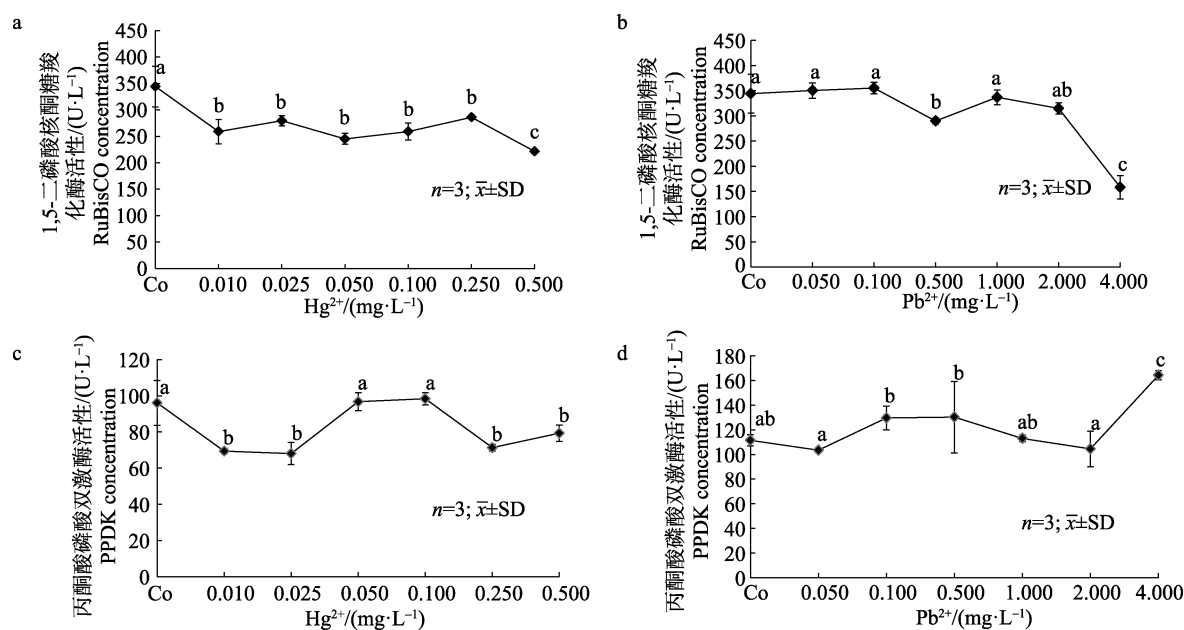


图 5 不同 Hg²⁺ (a)、(c)、Pb²⁺ (b)、(d) 浓度处理对脆江蓼 RuBisCO 酶、PPDK 酶活性的影响

Co: 对照组; 小写字母不同代表差异性显著 ($P<0.05$).

Fig. 5 Effects on the activities of RuBisCO and PPDK in *Gracilaria chouae* at different concentrations of Hg²⁺ (a), (c) and Pb²⁺ (b), (d)
Co: Control group. Values with different letters means significantly different from each other ($P<0.05$).

的蛋白质和叶绿素含量减少^[20]。条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)叶状体中藻胆蛋白对 Hg^{2+} 较为敏感,不同浓度 Hg^{2+} 处理后藻胆蛋白先受到破坏^[21]。海带不同阶段对 Hg^{2+} 的敏感程度不同,配子体阶段影响最大^[19]。不同大型藻类对 Hg^{2+} 的敏感程度不同,羊栖菜(*Hizikia fusiformis*)在 Hg^{2+} 作用下光合色素含量先上升后下降,坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)也有类似趋势^[22],脆江蓠则呈现显著性下降。重金属通过抑制光合色素合成、破坏藻细胞的捕光系统、阻断藻胆蛋白对光能及电子的捕获和传递、改变光合作用关键酶活性等方式,抑制藻类的光合作用^[18]。

叶绿素荧光是光合作用的指针和探针, F_v/F_m 和 $Y(\text{II})$ 可以反映藻类生长良好与否的一个重要指标^[23]。本实验条件下,脆江蓠叶绿素荧光参数在 Hg^{2+} 胁迫下出现双峰现象,类似现象也在其他藻类中出现过。一定浓度 Hg^{2+} 胁迫下,斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)和莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)的 PS II 反应中心受到损害,阻碍了光合电子传递过程,但一段时间后对 Hg^{2+} 产生了抗体, F_v/F_m 有所上升^[24]。龙须菜在低浓度 Hg^{2+} 刺激下,藻体光合色素含量也出现上升现象。这种现象可能是藻体对一定浓度重金属的一种抗性和应激反应,是藻类应对胁迫的一种有效的保护机制^[16]。

胁迫条件经常消极地影响植物关键代谢过程^[25],而一些植物在高温、低温、高盐、强光、重金属等非生物胁迫下,植物 PPDK 活性上升, RuBisCO 活性则呈现相反的趋势^[26]。本实验中, Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 胁迫下脆江蓠 RuBisCO 活性降低, PPDK 活性在 Hg^{2+} 浓度为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时出现第二个峰值, Pb^{2+} 浓度为 $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时显著上升,这可能是由于在非生物胁迫条件下,通过补偿代谢改变基本代谢通路以保证植物的生命活动, PPDK 作为补偿代谢的关键酶在这一过程中起到了重要的作用^[27]。此外,植物在病毒感染等生物胁迫下 PPDK 活性也有所增加,以期提高植物的耐受性^[28]。

3.2 Pb^{2+} 对脆江蓠光合生理生化的影响

不同重金属胁迫对脆江蓠的影响程度不同,

脆江蓠对 Pb^{2+} 的胁迫响应没有对相同浓度下的 Hg^{2+} 敏感。光合放氧速率是 Pb^{2+} 胁迫下最敏感的指标,较低浓度(0.05 mg/L)胁迫下出现降低,但随着浓度的增加差异不显著,降低 40%~52%。高浓度 Pb^{2+} 胁迫($>1 \text{ mg/L}$)导致脆江蓠生长速率下降、光合色素减少、 F_v/F_m 和 $Y(\text{II})$ 下降、RuBisCO 活性降低, PPDK 活性升高。 Pb^{2+} 对藻类的毒性作用主要体现在其能在藻体内积累, Rivkin 等在实验中发现 在 $0.05 \sim 10 \text{ mg/L}$ Pb^{2+} 中生长的骨条藻(*Sheletonema cortatum*)生长率、最高产量和细胞呼吸作用均有不同程度的下降,而细胞体积与细胞光合作用则增强。低浓度的 Pb^{2+} 对藻类生长有促进作用, Pb^{2+} 浓度低于 3 mg/L 时促进铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)的生长,而高浓度才抑制其生长。高浓度 Pb^{2+} 破坏细胞通透性,使大量无机盐和有机物质外渗,细胞出现粘连现象,还使细胞膜脂过氧化增强,抗氧化酶系统开始升高^[29]。低浓度 Pb^{2+} 对江蓠(*Gracilaria tenuistipitata*)的形态和生长作用不明显,到 10 mg/L 时江蓠枝条变白,生长速率显著下降^[30]。 Pb^{2+} 能有效抑制张氏马尾藻(*Sargassum zhangii* Tseng et Lu)幼孢子体的生长,并随着时间的增长效果愈加明显^[31]。

本研究中脆江蓠对重金属 Hg^{2+} 和 Pb^{2+} 胁迫的敏感程度不同,敏感度: $\text{Hg}^{2+} > \text{Pb}^{2+}$ 。 Hg^{2+} 毒性主要体现在降低脆江蓠光合色素含量、阻止 PS II 电子传递,降低光合效率和显著降低光合产氧速率,从而抑制藻体生长甚至死亡现象,并随着浓度的升高而胁迫加重。 Pb^{2+} 对脆江蓠的毒性主要体现在藻体富集上,低浓度 Pb^{2+} 对藻体影响不显著, Pb^{2+} 质量浓度超过 1 mg/L 时,藻体特定生长率和叶绿素含量显著下降。

致谢: 徐东老师在本实验中进行了悉心的指导, 王晓芹、吕旭宁和李敏同学在实验过程给予了帮助, 谨致谢忱!

参考文献:

- [1] Miao L, Yan W, Zhong L, et al. Effect of heavy metals (Cu, Pb, and As) on the ultrastructure of *Sargassum pallidum* in Daya Bay, China[J]. Environ Monit Assess, 2014, 186(1): 87-95.
- [2] Pekey H. The distribution and sources of heavy metals in

- Izmit Bay surface sediments affected by a polluted stream[J]. *Mari Pollut Bull*, 2006, 52(10): 1197–1208.
- [3] Qiu C E. Overview of six kinds of common heavy metals toxicity in algae[J]. *Journal of Chongqing Medical University*, 2006, 31(5): 776–778. [邱昌恩. 六种常见重金属对藻类的毒性效应概述[J]. *重庆医科大学学报*, 2006, 31(5): 776–778.]
- [4] Andrade L R, Leal R N, Nosedá M, et al. Brown algae overproduce cell wall polysaccharides as a protection mechanism against the heavy metal toxicity[J]. *Mari Pollut Bull*, 2010, 60(9): 1482–1488.
- [5] Linden T. Regulation of activity and gene expression of antioxidant enzymes in *Ulva fasciata* Delile (*Ulva*, Chlorophyta) in response to excess[J]. *Phycologia*, 2008, 47(4): 346–360.
- [6] Bouzon Z L, Ferreira E C, Santos R D, et al. Influences of cadmium on fine structure and metabolism of *Hypnea musciformis*, (Rhodophyta, Gigartinales) cultivated in vitro[J]. *Protoplasma*, 2012, 249(3): 637–650.
- [7] Santos R W D, Eder C, Schmidt, Martins R D P, et al. Effects of Cadmium on growth, photosynthetic pigments, photosynthetic performance, biochemical parameters and structure of chloroplasts in the *Agarophyte gracilaria domingensis* (Rhodophyta, Gracilariaceae)[J]. *Am J Plant Sci*, 2012, 3(8): 1077–1084.
- [8] Simioni C, Eder C, Schmidt, Rover T, et al. Effects of cadmium metal on young gametophytes of *Gelidium floridanum*: metabolic and morphological changes[J]. *Protoplasma*, 2015, 252(5): 1347–1359.
- [9] Xia M B. Chinese Algae[M]. Beijing: Science Press, 1999: 41–42. [夏邦美. 中国海藻志[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 41–42.]
- [10] Yan X Z, Wang G Z, Li S J, et al. Energy budgets of *Haliotis Diversicolor* aquatilis fed by *Gracilariaceae* Lichenodes and formula feed[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2004, 10(6): 757–761. [阎希柱, 王桂忠, 李少菁, 等. 九孔鲍摄食江蓠与人工配合饲料的能量收支比较[J]. *应用与环境生物学报*, 2004, 10(6): 757–761.]
- [11] Sui H D. Studies on the impact of Carbon dioxide and other environmental factors on photosynthetic characteristics and growth of *Gracilaria chouae*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2015. [隋海东. CO₂和其他环境因子对脆江蓠(*Gracilaria chouae*)光合固碳和生长影响的初步研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.]
- [12] Fleming E D, Bebout B M, Castenholz R W. Effects of salinity and light intensity on the resumption of photosynthesis in rehydrated cyanobacterial mats from Baja California Sur, Mexico[J]. *J Phycol*, 2007, 43(1): 15–24.
- [13] Wellburn A R. The spectral determination of chlorophylls a, and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution[J]. *J Plant Physiol*, 1994, 144(3): 307–313.
- [14] Beer S, Eshel A. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extracts of red algae[J]. *Mar Freshwater Res*, 1985, 36(6): 785–792.
- [15] Jiang B H, Lin B Q. Toxicological effect of heavy metals on algae[J]. *Journal of Liaoning University: Natural Sciences Edition*, 2000, 27(3): 281–287. [姜彬慧, 林碧琴. 重金属对藻类的毒性作用研究进展[J]. *辽宁大学学报: 自然科学版*, 2000, 27(3): 281–287.]
- [16] Zhu X F, Zou D H, Du H. Physiological responses of *Gracilaria lemaneiformis* to mercury stress[J]. *Marine Science Bulletin*, 2012, 31(4): 460–465. [朱喜锋, 邹定辉, 杜虹. 龙须菜对重金属汞胁迫的生理响应[J]. *海洋通报*, 2012, 31(4): 460–465.]
- [17] Xu Z C. Toxic effect of four heavy metals on unicellular marine algae[J]. *J Oceanogr Taiwan Strait*, 1999, 18(3): 303–308.
- [18] Zhao J, Chang X X, Wu C, et al. Effect of nickel on growth and photosynthetic pigment of *Microcystis aeruginosa* and *Synechocystis* sp[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2010, 5(5): 679–684. [赵瑾, 常学秀, 吴程, 等. Ni²⁺胁迫对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)和集胞藻(*Synechocystis* sp.)的生长和光合色素的影响[J]. *生态毒理学报*, 2010, 5(5): 679–684.]
- [19] Hopkin R, Kain J M. The effects of some pollutants on the survival, growth and respiration of *Laminaria hyperborea*[J]. *Estuar Coastl Mar*, 1978, 66(3): 375–378.
- [20] Zhang J M, Zhu Q Z, Zhang X K, et al. Progress on the soilless culture of *Paeonia Suffruticosa Andrews* [J]. *Journal of Liaocheng University Natural Science*, 2004, 17(1): 41–43. [张健民, 朱启忠, 张小葵, 等. 汞毒害对塔胞藻生长和生理特性影响的研究[J]. *聊城大学学报: 自然科学版*, 2004, 17(1): 41–43.]
- [21] Shao S G, Yan F L, Xu Y H, et al. Effect of Cd²⁺ stress on *Porphyra Yezoensis*[J]. *Journal of Henan Normal University: Natural Science*, 2006, 34(2): 113–116. [邵世光, 阎斌伦, 许云华, 等. Cd²⁺对条斑紫菜的胁迫作用[J]. *河南师范大学学报: 自然科学版*, 2006, 34(2): 113–116.]
- [22] Zhu X F. Studies on the toxic effects of mercury, copper, and cadmium to three economic marine macroalgae[D]. Shantou: Shantou University, 2010. [朱喜锋. 重金属汞、铜和镉对三种大型经济海藻毒性效应的研究[D]. 汕头: 汕头大学, 2010.]
- [23] Wang S, Liang Y, Tian C Y. Effect of Cd²⁺ exposure on the growth and chlorophyll fluorescence of six microalgae strains[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2009, 3(3): 155–166. [王帅, 梁英, 田传远. Cd²⁺胁迫对6株微藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 2009, 3(3): 155–166.]
- [24] Li M, Pan X J, Zou Y, et al. Effect of Hg²⁺ exposure on the growth and chlorophyll fluorescence of three microalgal strains[J]. *Journal of Hydroecology*, 2012, 33(2): 96–99. [李明, 潘晓洁, 邹怡, 等. Hg²⁺胁迫对3种微藻生长和叶绿素荧光特性的影响[J]. *水生态学杂志*, 2012, 33(2): 96–99.]
- [25] Wang Z M, Li H X, He Y, et al. Advanced in plant pyruvate, orthophosphate dikinase [J]. *Plant Physiology Journal*, 2012, 48(10): 949–957. [王真梅, 李海霞, 何莹, 等. 植物丙酮酸磷酸双激酶(PPDK)研究进展[J]. *植物生理学报*, 2012, 48(10): 949–957.]
- [26] Xu J F, Zhang X W, Ye N H, et al. Activities of principal photosynthetic enzymes in green macroalga *Ulva linza*: functional implication of C4 pathway in CO₂ assimilation[J]. *Sci China Life Sci*, 2013, 56(6): 571–580.
- [27] Doubnerova V, Janoskova M, Synkova H, et al. Effect of

- Potato virus Y on the activities of antioxidant and anaplerotic enzymes in *Nicotiana tabacum* L. transgenic plants transformed with the gene for P3 protein[J]. *Bulg J Plant Physiol*, 2007, 33(3-4): 123-140.
- [28] Cowling S A, Jones C D, Cox P M. Consequences of the evolution of C_4 photosynthesis for surface energy and water exchange[J]. *J Geophys Res Biogeosciences*, 2007, 112(G1): 207-214.
- [29] Liu L, Yan H, Li C, et al. Interactions between heavy metal lead and two freshwater algae[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(7): 1690-1697. [刘璐, 闫浩, 李诚, 等. 重金属铅与两种淡水藻的相互作用[J]. *生态学报*, 2014, 34(7): 1690-1697.]
- [30] Shen H. Study on bioremediation effects of lead, nickel from aqueous solutions by *Gracilaria tenuistipitata* and its physiological response[D]. Suzhou: Suzhou University, 2008. [申华. 江蓠对水体重金属铅、镍的生物修复效果及其生理适应性研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2008.]
- [31] Ou Z K, Liu D C, Xie E Y, et al. Biototoxicity of Hg^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} in germlings of *Sargassum zhanggii* Tseng et Lu in seawater[J]. *South China Fisheries Science*, 2016, 12(5): 43-52. [欧泽奎, 刘东超, 谢恩义, 等. 海水环境中 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 对张氏马尾藻幼孢子体的生物毒性研究[J]. *南方水产科学*, 2016, 12(5): 43-52.]

Effects of Hg^{2+} and Pb^{2+} on the growth and photosynthetic physiological characteristics of *Gracilaria chouae*

CHEN Qionglin^{1,2}, LI Jiaqi^{2,3}, JIANG Weiwei², XUE Suyan^{2,3}, LI Yang^{1,2}, SHEN Shufang^{1,2}, BIAN Dapeng⁴, FANG Jianguang¹, MAO Yuze^{2,3}

1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;
3. Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China;
4. National Engineering and Research Center of Marine Shellfish, Weihai 264316, China

Abstract: In this study, we investigated the impact of Hg^{2+} and Pb^{2+} on the growth and photosynthetic physiological characteristics of *Gracilaria chouae* by exposing algal thalli to five concentrations of HgCl_2 (0.01 mg/L, 0.025 mg/L, 0.05 mg/L, 0.1 mg/L, 0.25 mg/L, and 0.5 mg/L) and PbCl_2 (0.05 mg/L, 0.1 mg/L, 0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L, and 4.0 mg/L); the reference group exposed to seawater without Hg^{2+} and Pb^{2+} . The growth rate, photosynthetic rate, pigment content, chlorophyll II fluorescence characteristics, and the activity of RuBisCO and PPDK in the thalli were measured after 7 days of incubation. The special growth rate (SGR) reduced significantly as the Hg^{2+} level increased ($P < 0.05$), mortality was observed following incubation with the highest concentration of Hg^{2+} , and the photosynthetic rate reduced by 35.48%–77.50%. Similar trends were also observed for chlorophyll a (Chla) and carotenoid (Car) levels ($P < 0.05$). Phycoerythrin (PE) and phycocyanin (PC) content was significantly lower at Hg^{2+} levels above 0.1 mg/L ($P < 0.05$). The trend of the variation of F_v/F_m and $Y(II)$ with Hg^{2+} concentration was close to a bimodal curve, and the second peak appeared at 0.05 mg/L; PPDK activity showed a similar trend. The specific growth rate and Chla and Car content was significantly lower at Pb^{2+} levels above 1 mg/L ($P < 0.05$). However, no significant change in either chlorophyll II fluorescence characteristics or the level in PC content was found among different Pb^{2+} levels. Significantly lower RuBisCO activity was found at the highest Pb^{2+} concentration than at lower concentrations, while PPDK activity was significantly higher ($P < 0.05$). In conclusion, Hg^{2+} and Pb^{2+} both showed detrimental effects on the growth and photosynthesis of *G. chouae*; however, this alga is more susceptible to Hg^{2+} . A stress response was observed after the Hg^{2+} concentration reached 0.01 mg/L, and this response increased as Hg^{2+} concentration increased, while no stress response was observed at Pb^{2+} concentrations below 1 mg/L.

Key words: *Gracilaria chouae*; Hg^{2+} ; Pb^{2+} ; photosynthetic physiological characteristics

Corresponding author: MAO Yuze. E-mail: maoyz@ysfri.ac.cn