

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第11期

Vol.34 No.11

2013

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

北京不同污染事件期间气溶胶光学特性	施禅臻, 于兴娜, 周斌, 项磊, 聂皓浩 (4139)
秋季渤海、北黄海大气气溶胶中水溶性离子组成特性与来源分析	张岩, 张洪海, 杨桂朋 (4146)
中国北部湾地区夏季大气碳气溶胶的空间分布特征	杨毅红, 陶俊, 高健, 李雄, 施展, 韩保新, 谢文彰, 曹军骥 (4152)
改进的大气 CO ₂ 、CH ₄ 、N ₂ O、CO 在线观测 FTIR 系统	夏玲君, 刘立新, 周凌晔, 方双喜, 王红阳, 张振波 (4159)
长沙市郊大气 CH ₄ 浓度变化特征	刘鲁宁, 王迎红, 徐小娟, 王卫东, 王跃思 (4165)
麦草及其烟尘中正构烷烃的组成	刘刚, 李久海, 徐慧, 吴丹 (4171)
过二硫酸盐降解碱液吸收的甲硫醇恶臭	杨世迎, 王雷雷, 冯琳玉, 赵腊娟, 石超 (4178)
污泥堆肥及其土地利用全过程的温室气体与氨气排放特征	钟佳, 魏源送, 赵振凤, 应梅娟, 周国胜, 熊建军, 刘培财, 葛振, 丁刚强 (4186)
长江口沿岸及近海水体中胶体的分布和理化性质研究	顾丽军, 杨毅, 刘敏, 聂明华, 李涛, 侯立军 (4195)
海河流域主要河口区域沉积物中重金属空间分异及生态风险评价	吕书丛, 张洪, 单保庆, 李立青 (4204)
汾河流域太原段河水及沉积物中 PFOS 和 PFOA 的浓度分布特征	东口朋宽, 史江红, 张晖, 刘晓薇 (4211)
基于 L-THIA 模型的市桥河流域非点源氮磷负荷分析	李凯, 曾凡棠, 房怀阳, 林澍 (4218)
合流制排水系统雨天溢流污染 CMB 法源解析	戴梅红, 李田, 张伟 (4226)
微藻脂肪酸在中国近海缺氧海水-沉积物界面中的降解模拟研究	随伟伟, 丁海兵, 杨桂朋, 陆小兰, 李文娟, 孙立群 (4231)
太湖两种水生植物群落对沉积物中氮素的影响	马久远, 王国祥, 李振国, 许宽, 周锋, 张佳 (4240)
表面流人工湿地中硫丹的去除规律研究	秦晶, 高甫威, 谢慧君 (4251)
带菌盐藻对不同形态砷的富集和转化研究	王亚, 张春华, 王淑, 申连玉, 葛滢 (4257)
铜改性沸石活性覆盖控制重污染河道底泥溶解性磷酸盐和铵释放研究	李佳, 林建伟, 詹艳慧 (4266)
底栖动物扰动对河床渗透性的影响研究	任朝亮, 宋进喜, 杨小刚, 薛健 (4275)
铜绿微囊藻胞内物消毒副产物生成: 氯化化和溴化比较	田川, 郭婷婷, 刘锐平, William Jefferson, 刘会娟, 曲久辉 (4282)
天然有机物对混凝效果影响机制及絮体特性分析	徐磊, 俞文正, 梁亮, 王彤 (4290)
DOM 纳滤膜污染及对膜截留卡马西平性能的影响	丰桂珍, 董秉直 (4295)
零价铁去除废水中的汞	周欣, 张进忠, 邱昕凯, 王定勇 (4304)
Fe ₃ O ₄ 稳定化纳米 Pd/Fe 对水中 2,4-D 的催化还原脱氯研究	周红艺, 梁思, 曾思思, 雷双健 (4311)
不同粒径粉末活性炭对水中天然有机物吸附性能的比较研究	李政剑, 石宝友, 王东升 (4319)
氯化十六烷基吡啶改性活性炭对水中硝酸盐的吸附作用	郑雯婧, 林建伟, 詹艳慧, 方巧, 杨孟娟, 王虹 (4325)
改性石墨烯对水中亚甲基蓝的吸附性能研究	吴艳, 罗汉金, 王侯, 张子龙, 王灿, 王雨微 (4333)
经典等温吸附模型在重金属离子/硅藻土体系中的应用及存在问题	朱健, 吴庆定, 王平, 李科林, 雷明婧, 张伟丽 (4341)
硝酸盐对矿化垃圾中兼/厌氧甲烷氧化的影响	刘妍妍, 龙焰, 尹华, 叶锦韶, 何宝燕, 张娜 (4349)
硫酸盐/氨的厌氧生物转化试验研究	张丽, 黄勇, 袁怡, 李祥, 刘福鑫 (4356)
硫酸盐还原-氨氧化反应的特性研究	袁怡, 黄勇, 李祥, 张春蕾, 张丽, 潘杨, 刘福鑫 (4362)
UASB 系统低 pH 运行时对产氢性能的分析	赵健慧, 张百惠, 李宁, 王兵, 李永峰 (4370)
响应面法优化赤泥负载 Co 催化剂制备及活性评价	李华楠, 徐冰冰, 齐飞, 孙德智 (4376)
高浓度氨氮胁迫对纤细裸藻的毒性效应	刘炎, 石小荣, 崔益斌, 李梅 (4386)
NAPLs 污染物垂向指流迁移分形表征中图像处理的影响研究	李慧颖, 杜晓明, 杨宾, 伍斌, 徐竹, 史怡, 房吉敦, 李发生 (4392)
近 50 年浙江省耕作土壤有机质和酸碱度的变化特征	章明奎, 常跃畅 (4399)
浙中典型富硒土壤区土壤硒含量的影响因素探讨	黄春雷, 宋明义, 魏迎春 (4405)
黄河口新生湿地土壤 Fe 和 Mn 元素的空间分布特征	孙文广, 甘卓亭, 孙志高, 李丽丽, 孙景宽, 孙万龙, 牟晓杰, 王玲玲 (4411)
崇明岛土壤中 MCCPs 的污染水平、组成与来源研究	孙阳昭, 王学彤, 张媛, 孙延枫, 李梅, 马中 (4420)
福建戴云山土壤有机氯农药残留及空间分布特征	瞿程凯, 祁士华, 张莉, 黄焕芳, 张家泉, 张原, 杨丹, 刘红霞, 陈伟 (4427)
电子垃圾拆解地周边土壤中二噁英和二噁英类多氯联苯的浓度水平	邵科, 尹文华, 朱国华, 巩宏平, 周欣, 王玲, 刘劲松 (4434)
外源水溶性氟在茶园土壤中赋存形态的转化及其生物有效性	蔡荟梅, 彭传燧, 陈静, 侯如燕, 宛晓春 (4440)
丛枝菌根真菌在不同类型煤矸石山植被恢复中的作用	赵仁鑫, 郭伟, 付瑞英, 赵文静, 郭江源, 毕娜, 张君 (4447)
丛枝菌根真菌在矿区生态环境修复中应用及其作用效果	李少朋, 毕银丽, 孔维平, 王瑾, 余海洋 (4455)
超积累植物垂序商陆 (<i>Phytolacca americana</i> L.) 吸收锰机制的初步探讨	徐向华, 李仁英, 刘翠英, 施积炎, 林佳 (4460)
<i>Shewanella oneidensis</i> MR-1 对硫化汞的生物利用性研究	陈艳, 王卉, 司友斌 (4466)
基于我国西南地区儿童行为模式的 IEUBK 模型本地化研究	蒋宝, 崔晓勇 (4473)
不同结构有机磷在 (氢) 氧化铝表面的吸附与解吸特征	柳飞, 张延一, 严玉鹏, 刘凡, 谭文峰, 刘名茗, 冯雄汉 (4482)
煤中铁元素赋存状态的超声逐级化学提取研究	熊金钰, 李寒旭, 董众兵, 张颂, 钱宁波, 武成利 (4490)
植物对纳米颗粒的吸收、转运及毒性效应	杨新萍, 赵方杰 (4495)
《环境科学》征订启事 (4239) 《环境科学》征稿简则 (4369) 信息 (4225, 4265, 4303, 4375)	

高浓度氨氮胁迫对纤细裸藻的毒性效应

刘炎, 石小荣, 崔益斌, 李梅*

(南京大学环境学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京 210023)

摘要: 采用室内培养方法, 通过检测纤细裸藻生长、光合色素含量、抗氧化酶活性及 DNA 损伤(彗星实验)研究了高浓度氨氮胁迫对纤细裸藻(*Euglena gracilis*)的毒性效应, 以期为氨氮的水生态风险评价以及藻类污水净化提供科学依据。结果表明, 氨氮在所设定的浓度范围内抑制藻类的生长, 浓度越高, 抑制越明显, 2 000 mg·L⁻¹时相比对照抑制率达 55.7%; 叶绿素含量随氨氮浓度增加先升高后下降, 蛋白质含量与叶绿素变化趋势基本吻合; 抗氧化酶系统中超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性随氨氮浓度增加而上升, 2 000 mg·L⁻¹时比对照分别增加了 30.7% 和 49.4%, 提示氨氮胁迫可诱导抗氧化酶活性增加; 彗星实验中, 纤细裸藻细胞 DNA 损伤程度随氨氮浓度增加而加重, 表明高浓度氨氮具有潜在的致突变性。

关键词: 氨氮; 纤细裸藻; 毒性效应; 光合色素; 抗氧化酶活性; 彗星实验

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)11-4386-06

Toxic Effects of High Concentrations of Ammonia on *Euglena gracilis*

LIU Yan, SHI Xiao-rong, CUI Yi-bin, LI Mei

(State Key Laboratory of Pollution Control & Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210023, China)

Abstract: Ammonia is among the common contaminants in aquatic environments. The present study aimed at evaluation of the toxicity of ammonia at high concentration by detecting its effects on the growth, pigment contents, antioxidant enzyme activities, and DNA damage (comet assay) of a unicellular microalga, *Euglena gracilis*. Ammonia restrained the growth of *E. gracilis*, while at higher concentrations, ammonia showed notable inhibition effect, the growth at 2 000 mg·L⁻¹ was restrained to 55.7% compared with that of the control; The contents of photosynthetic pigments and protein went up with increasing ammonia dosage and decreased when the ammonia concentration was above 1 000 mg·L⁻¹; In addition, there was an obvious increase in SOD and POD activities, at higher concentration (2 000 mg·L⁻¹), activities of SOD and POD increased by 30.7% and 49.4% compared with those of the control, indicating that ammonia could promote activities of antioxidant enzymes in *E. gracilis*; The degree of DNA damage observed in the comet assay increased with increasing ammonia concentration, which suggested that high dose of ammonia may have potential mutagenicity on *E. gracilis*.

Key words: ammonia; *Euglena gracilis*; toxicity effect; photosynthetic pigments; antioxidant enzyme activities; comet assay

近年来,随着工业的发展和经济水平的提高,大量废弃物质排入水中,使我国水环境富营养化问题日趋严重。富营养化水体中总氮浓度的升高,特别是氨氮浓度升高,可造成水质恶化,增加水生生物对氧气的消耗和氨氮的排泄,抑制其生长,严重时甚至可导致大量水生生物死亡^[1, 2]。氨氮是水环境中常见的污染物之一,在水体中主要以非离子氨(NH₃)和铵离子(NH₄⁺)两种形式存在,其中对生物体产生毒害作用的主要是非离子氨,而铵离子的毒性很小^[3, 4]。水体中氨氮随着环境的变化,其存在形式以及对水生生物的毒性会发生明显的变化。

藻类对水生生态系统的平衡和稳定起着十分重要的作用。水生毒理学研究中,藻类作为水体的初级生产者,其种类多样性和初级生产量直接影响水生生态系统的结构和功能,因而成为监测评价水环境质量的重要指标^[5]。已有充分证据表明氨氮对水生

无脊椎动物和鱼类具有毒性效应^[6]。尽管氨氮是藻类生长的重要氮源之一,但其对藻类生长及其它生理功能的影响也有报道。如 Abeliovich 等^[7]研究发现当氨氮浓度大于 2.0 mmol·L⁻¹, pH 值大于 8.0 时,会抑制斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)的生长及光合作用。同样,小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)、组囊藻(*Anacystis nidulans*)以及织线藻(*Plectonema boryanum*)的光合作用也容易受到氨氮的抑制; Azov 等^[8]研究了不同 pH 条件下氨氮的毒性效应,结果表明¹⁴C 的吸收率和藻类生物量均随着 NH₄Cl 浓度的增加而下降; Admiraal^[9]研究了深海硅藻对

收稿日期: 2013-03-15; 修订日期: 2013-06-18

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2012ZX07501-003-002); 国家自然科学基金项目(21077052); 江苏省科技支撑项目(BE2012737)

作者简介: 刘炎(1988~),女,硕士研究生,主要研究方向为环境毒理学, E-mail: huohuoliuyan@163.com

* 通讯联系人, E-mail: meili@nju.edu.cn

氨氮的耐受性. 浮游植物对氨氮通常具有较高的耐受性^[10]. 目前,仅有少数文献报道了藻类对高浓度营养盐的生理响应,有关氨氮对微藻的毒性评价还很有限^[6,9]. 因此,研究高浓度氨氮胁迫对微藻的毒性效应具有十分重要的意义.

纤细裸藻(*Euglena gracilis*),裸藻属(又称眼虫藻属),是一种分布广泛的淡水单细胞微藻,尤其常见于富营养化浅水池塘. 纤细裸藻兼具自养和异养两种营养方式,生长迅速,培养简单经济,已经作为一种模式生物被广泛应用于生态毒理学的研究^[11]. 研究发现纤细裸藻的运动性能、细胞形状、光合作用等参数对各种环境胁迫,如有机物、重金属、污染废水、强可见光及紫外线、盐度和除草剂等十分敏感. 因此,本研究选取纤细裸藻(*E. gracilis*)作为受试生物,采用光合色素、抗氧化酶活性(SOD 和 POD)及 DNA 损伤作为评价指标,分析氨氮对其的毒性效应,以期为氨氮的水生态风险评价以及藻类在污水净化中的应用提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 实验材料

纤细裸藻(*E. gracilis*)由中国科学院水生生物研究所典型培养物保藏委员会淡水藻类藻种库(FACHB)提供,并经室内扩大培养用于实验. 分析纯氯化铵购自成都科龙化工试剂厂,含量 $\geq 99.5\%$.

1.2 微藻培养

采用 Checcucci 等^[12]的培养基进行培养. 实验设置 3 个浓度组,氨氮浓度分别为:500、1 000 和 2 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,每组浓度 3 个平行,并设空白对照组. 染毒后,每天测定 pH 值,并保持 pH 值为 7.0 ± 0.2 ,经测定此时水中的氨氮浓度变化很小,96 h 内变化率不足 10%,符合急性毒性实验要求. 纤细裸藻接种密度为 1×10^5 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$,恒温光照箱培养,培养条件为:温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,光照强度 $80 \sim 90 \mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$,光暗周期 12 h:12 h,连续培养 7 d. 每天定时人工摇动 3~5 次,并随机移动各瓶位置以减少误差.

1.3 微藻生长及光合色素含量测定

通过血球计数板计数及纤细裸藻细胞液 D_{680} 值建立细胞密度与藻液吸光值之间的线性关系: $y = (94.31 \times D_{680} + 0.91) \times 10^4$,式中, y 为微藻细胞密度(个细胞 $\cdot\text{mL}^{-1}$),相关系数 $r = 0.999$. 培养过程中每隔 24 h 测定藻液的吸光度,以计算微藻的细胞

密度,结果取 3 个平行的平均值.

微藻培养 96 h 后,每瓶取适量藻液,3 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,弃上清后避光加入 80% 丙酮重新悬浮,室温黑暗放置 24 h 后离心,分光光度法测定并计算叶绿素 a(Chl-a)、叶绿素 b(Chl-b)和类胡萝卜素(CAR)含量^[13].

1.4 酶液制备及活性测定

离心收集一定藻液,以 1:9 比例(重量体积比)重新悬浮于适量预冷磷酸盐缓冲液(PBS)中,冰浴下超声破碎,低温高速离心,取上清液进行酶活分析^[14]. 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用黄嘌呤氧化酶法^[15],过氧化物酶(POD)活性测定参照愈创木酚法^[16],可溶性蛋白含量参考 Bradford 的考马斯亮蓝法^[17].

1.5 DNA 损伤检测

用于检测 DNA 损伤的单细胞凝胶电泳实验(彗星实验)参照文献^[18]并做适当修改. 常规方法制片后将载玻片浸入现配的细胞裂解液(2.5 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH, 1.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{-EDTA}$, 0.01% SDS, pH = 10,实验前加入 1% 体积的 TritonX-100, 10% DMSO)中,4 $^\circ\text{C}$ 避光裂解 20 min. 碱性电泳液(pH = 13.0)中静止解旋 20 min 后,于电压 20 V、电流 200 mA 条件下电泳 20 min. 随后用中性缓冲液中和,用溴化乙锭染色,荧光显微镜(BX41, Olympus)在绿光激发下观察并拍照.

1.6 数据分析

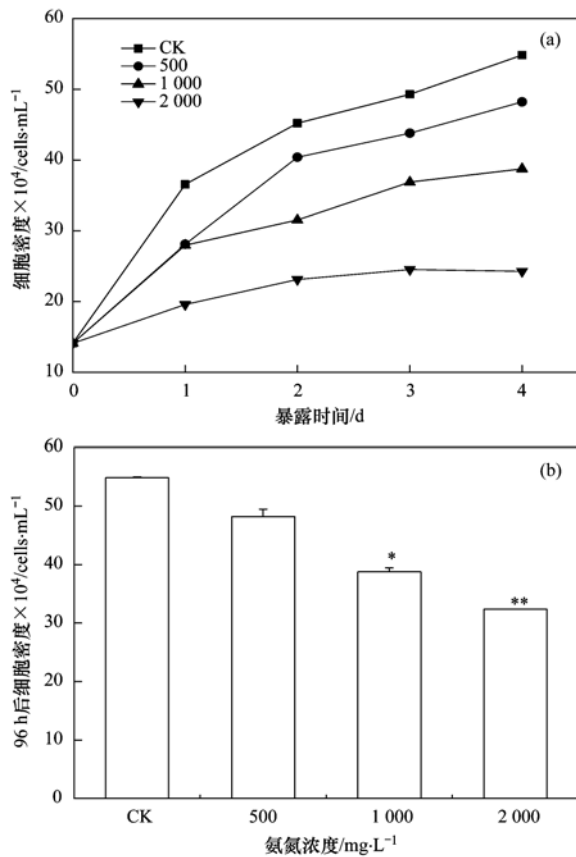
所有实验均设 3 个平行,并计算其平均值和标准差进行统计分析. Origin 8.5 软件进行 ANOVA 分析,将实验组与对照组进行显著性 t 检验,以 $P < 0.05$ 作为显著性依据. 彗星图像分析采用 CASP 软件,选择 Olive 尾矩(OTM)和尾动量(TM)作为 DNA 损伤的评价指标. 每张片子至少分析 50 个细胞.

2 结果与分析

2.1 高浓度氨氮对纤细裸藻生长的影响

接种后每天定时测定纤细裸藻的生长量,不同浓度氨氮暴露下其生长情况如图 1 所示. 从中可见,各组均呈现藻细胞密度随暴露时间升高的趋势,但随时间延长,生长速度逐渐减慢[图 1(a)]. 与对照组相比,各暴露组藻细胞的生长均受到不同程度的抑制,由图 1(b)可见,氨氮浓度为 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,暴露 96 h 后藻细胞密度与对照组相比无显著差异($P > 0.05$),随氨氮浓度进一步升高,纤细裸藻生长开始受到显著抑制,表现出明显的剂量-效应关

系,当浓度达到 $2\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,相对抑制率为55.7%,细胞密度不足对照组的一半,但纤细裸藻仍能缓慢生长。



数据为3个平行的平均值 $\pm$ 标准差,

其中*代表 $P < 0.05$, **代表 $P < 0.01$,下同

图1 不同浓度氨氮对纤细裸藻生长的影响

Fig. 1 Effects of different concentrations of ammonia on the growth of *E. gracilis*

2.2 高浓度氨氮对光合色素和蛋白质含量的影响

暴露96 h后,各浓度组无论Chl-a、Chl-b还是CAR,其含量均随暴露浓度呈现先升后降的趋势(见图2),但与对照组相比,仅有1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组其Chl-a含量差异显著,其余各组光合色素含量均无显著性差异。

由图3可见,染毒96 h后,不同浓度氨氮处理组蛋白质含量均呈升高趋势,但与空白对照相比无显著差异,其最大值在浓度1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处获得。蛋白质含量的变化趋势与叶绿素变化趋势基本吻合。

2.3 高浓度氨氮对抗氧化酶活性的影响

暴露96 h后,各浓度组纤细裸藻SOD和POD活性随氨氮浓度变化趋势基本一致(见图4)。其中各组SOD活性与空白对照均有显著性差异($P < 0.01$),500、1000和2000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时比对照分

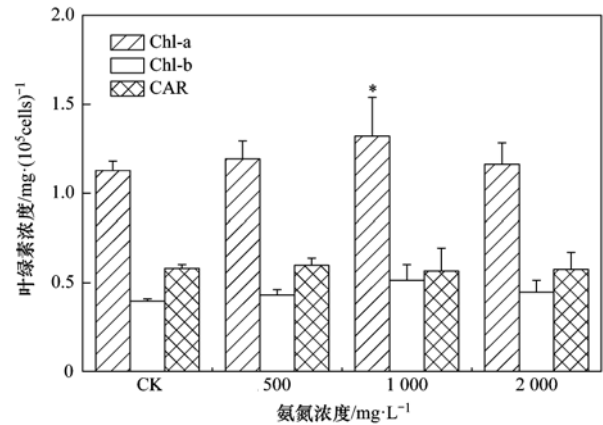


图2 不同浓度氨氮对光合色素含量的影响

Fig. 2 Effects of ammonia on photosynthetic pigments content of *E. gracilis*

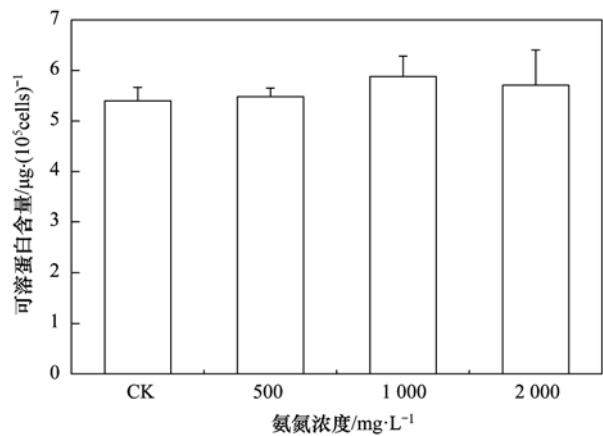


图3 不同浓度氨氮对蛋白质含量的影响

Fig. 3 Protein content of *E. gracilis* treated with different concentrations of ammonia

别增加了12.1%、25.4%和30.7%。当氨氮浓度为500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,POD活性变化不大,仅比对照高出6.11%;当氨氮浓度 $\geq 1\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,POD活性迅速上升,与对照组相比差异显著($P < 0.01$),1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和2000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下分别升高了46.3%和49.4%。

2.4 高浓度氨氮对纤细裸藻DNA的损伤

CASP统计后,得到纤细裸藻在不同浓度氨氮处理下的DNA损伤程度如图5所示。随氨氮浓度的升高,OTM和TM均增加,提示DNA损伤加重。与对照组相比,500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组无明显差异,而1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和2000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组差异显著,其中OTM分别比对照组增加了40.6% ($P < 0.05$)和148% ($P < 0.01$);TM分别增加了175%和300% ($P < 0.01$),呈现明显的剂量-效应关系,提示高浓度氨氮具有一定的潜在致突变性。

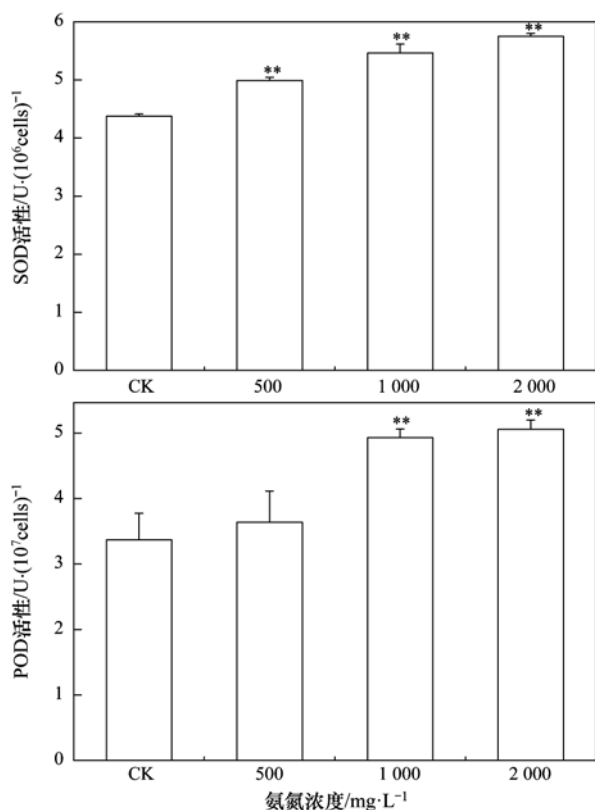


图4 不同浓度氨氮对 SOD 和 POD 活性的影响

Fig. 4 SOD and POD activities of *E. gracilis* treated with different concentrations of ammonia

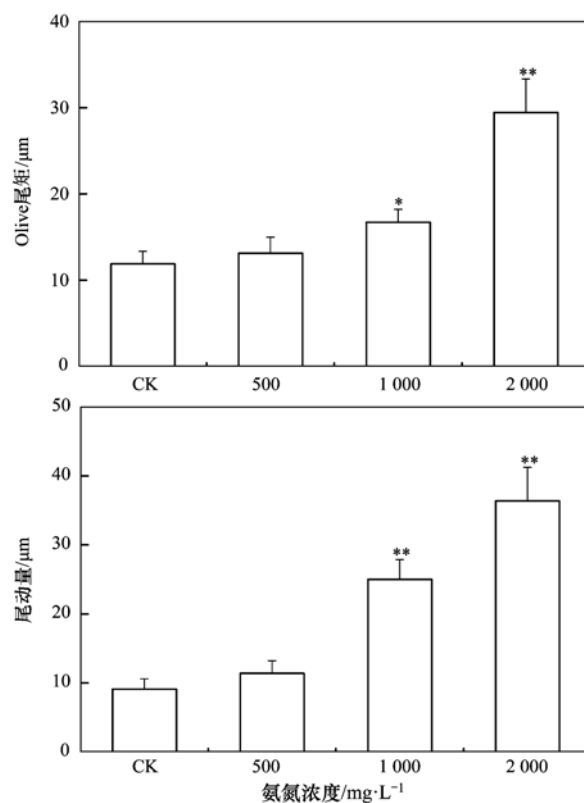


图5 不同浓度氨氮对纤细裸藻 DNA 损伤的影响

Fig. 5 Induction of DNA damage in *E. gracilis* following exposure to different concentration of ammonia

3 讨论

氨氮被浮游植物作为氮源加以利用. 许多藻类可以栖息于氨氮浓度非常高的水生环境中,像味精废水、处理市政废水的生物转化池等^[6],藻类通过对污染物的吸收及光合放氧供微生物进行好氧代谢以达到净化目的. 本研究中氨氮采用了较高的暴露浓度,以探讨高浓度氨氮胁迫下纤细裸藻的毒性反应. 研究表明,不同浓度氨氮暴露下,藻细胞的生长均受到不同程度的抑制,且抑制程度与氨氮浓度呈正相关. N 是植物生长的必需元素,其中铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)和硝态氮($\text{NO}_3\text{-N}$)是植物利用的主要形式. 研究证实,植物优先利用 $\text{NH}_4^+\text{-N}$,但当植物吸收了过多的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 时就会产生氨害作用,抑制其生长^[19]. 朱小燕等^[20]的研究表明硝基苯浓度与纤细裸藻细胞密度呈现极显著的负相关; Azizullah 等^[21]也发现随着磷酸二氢铵和尿素浓度的升高,纤细裸藻细胞生长受到抑制,本实验结果与之基本一致. 这可能是因为高浓度氨氮暴露抑制了纤细裸藻谷氨酰胺合成酶的活性,从而抑制藻类的生长^[22].

光合色素是在光合作用中参与吸收、传递光能

或原初光化学反应的色素,是植物进行光合作用的物质基础. 已有的研究表明,当藻类等生物在遭受环境胁迫时,反应其光合强度的叶绿素、胡萝卜素等光合色素的组成和含量会发生变化^[23]. 蛋白质则是细胞代谢的物质基础. 本研究结果表明,3 种光合色素含量均随氨氮浓度升高呈现先增加后下降趋势,氨氮浓度在 $500 \sim 1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内促进了叶绿素的合成,这说明氨氮在一定浓度范围内提高了藻类的光合效率. 一般来说,不同污染物对生物体的毒性变化很大. Azizillah 等^[24]报道纤细裸藻暴露于一种常见洗涤剂 72 h 后,Chl-a 和 CAR 含量随洗涤剂浓度升高而显著下降,这与本研究结果差异较大,出现这样的结果一方面可能是因为毒物不同,另一方面也可能与暴露时间、暴露条件(pH 等)有关. 氮是叶绿素的主要成分之一,对植物光合速率、暗反应的主要酶以及光呼吸等都有直接或间接影响^[25]. 研究显示叶绿体是重要的氮源储库之一,在 N 源丰富的条件下,微藻可过度吸收氮源,并将其合成蛋白质和叶绿素而储存在叶绿体中^[26]. 这与本研究中观察到的现象基本一致. 高浓度下,污染物对生物的毒性作用都与自由基的产生和效应有关,

对植物细胞来说,自由基的产生和累积会导致膜脂质过氧化,叶绿体结构遭到破坏,叶绿素含量随之下降^[27]。蛋白质含量变化与叶绿素变化基本一致,在 $1\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处获得最大值。文献[28, 29]的研究表明微藻的蛋白含量依赖于培养基中可利用氮的含量,随着氮浓度的增加,细胞内蛋白含量也会随之增加,与此同时,蛋白质含量的高低还与细胞密度密切相关。

到目前为止仅有少数文献对较高氨氮浓度下植物的抗氧化反应进行了研究,且主要是大型沉水植物^[30~32]。研究纤细裸藻对氨氮胁迫的氧化应激将有助于人们更好地了解其承受能力和微藻对氨氮胁迫的适应性。植物体内抗氧化防御机制包括酶促机制和非酶促机制,其中酶促机制中,SOD 和 POD 起着至关重要的作用。SOD 主要催化细胞内的 O_2^- 转变为细胞毒性相对较低的 H_2O_2 ,在细胞的抗氧化保护机制中可能起中心作用^[33];POD 则是细胞内清除 H_2O_2 的主要酶类,使藻细胞体内活性氧自由基的形成和清除之间保持动态平衡。这些抗氧化酶和机体内的其他抗氧化物协同作用,清除机体内过多的活性氧自由基,防止机体受到氧化损伤^[34]。当细胞暴露在胁迫的条件下,抗氧化酶中的一种或几种会出现活性增强的现象^[35]。从本实验结果可以看出,纤细裸藻在受到氨氮暴露时,SOD 和 POD 活性迅速上升。已有研究表明,高浓度的铵处理使植物的耗氧量增加,并据此推测把 NH_4^+ 从细胞内运出时需要耗费巨大的能量;更有传统的研究认为植物避免氨害可能是通过在植物体内合成谷氨酰胺途径进行解毒,而这两种途径都会大量增加活性氧^[19],SOD 与 POD 受到显著诱导,以清除活性氧从而提高微藻的抗逆性。

单细胞凝胶电泳技术(SCGE),又名彗星实验,是一种在单细胞水平上用来检测 DNA 损伤和修复的方法,因其操作简单、方便且快速而在毒理学中具有独特的优势,得以广泛应用。但关于微藻的彗星实验少有报道。本课题组应用纤细裸藻 DNA 损伤评价了暴露于太湖水体中有机污染物、二溴联苯醚的生态毒性^[14, 36]。Olive 尾矩(OTM)能同时反映彗尾中 DNA 含量和彗尾的形状特征,能够较好地定量 DNA 的损伤程度^[37]。另外提供尾动量(TM)参数作为参考指标,从而更全面地反映 DNA 的损伤情况。在本实验中,纤细裸藻的彗星实验发现氨氮浓度与纤细裸藻 DNA 分子损伤程度表现出明显的相关性,提示高浓度氨氮具有一定的潜在致突变性,可

以作为检测氨氮遗传毒性的指标和依据。

4 结论

(1) 氨氮在所设浓度范围内抑制藻类的生长,浓度越高,抑制越明显,表现出明显的浓度-效应关系。

(2) SOD 和 POD 活性变化表明氨氮胁迫可诱导抗氧化酶活性的升高,彗星实验结果显示纤细裸藻 DNA 损伤程度随氨氮浓度增大而加重,提示高浓度的氨氮具有潜在致突变性。

参考文献:

- [1] Kir M, Kumlu M, Eroldoğan O T. Effects of temperature on acute toxicity of ammonia to *Penaeus semisulcatus* juveniles[J]. Aquaculture, 2004, **241**(1-4): 479-489.
- [2] 董玉波,王珂,王林同. 氨氮对水生生物毒性的研究进展[J]. 天津水产, 2011, (2-3): 6-11.
- [3] Armstrong D A, Chippendale D, Knight A W, et al. Interaction of ionized and un-ionized ammonia on short-term survival and growth of prawn larvae, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Biological Bulletin, 1978, **154**(1): 15-31.
- [4] Thurston R V, Russo R C, Luedtke R J, et al. Chronic toxicity of ammonia to rainbow trout[J]. Transactions of the American Fisheries Society, 1984, **113**(1): 56-73.
- [5] 刘国光,王莉霞,徐海娟,等. 水生生物毒性试验研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2004, **21**(6): 419-421.
- [6] Källqvist T, Svenson A. Assessment of ammonia toxicity in tests with the microalga, *Nephroselmis pyriformis*, Chlorophyta [J]. Water Research, 2003, **37**(3): 477-484.
- [7] Abeliovich A, Azov Y. Toxicity of ammonia to algae in sewage oxidation ponds[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1976, **31**(6): 801-806.
- [8] Azov Y, Goldman J C. Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1982, **43**(4): 735-739.
- [9] Admiraal W. Tolerance of estuarine benthic diatoms to high concentrations of ammonia, nitrite ion, nitrate ion and orthophosphate[J]. Marine Biology, 1977, **43**(4): 307-315.
- [10] US EPA. Update of ambient water quality criteria for ammonia [M]. Washington, USA: US Environmental Protection Agency, 1998.
- [11] Tahedl H, Häder D P. Automated biomonitoring using real time movement analysis of *Euglena gracilis* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2001, **48**(2): 161-169.
- [12] Checcucci A, Colombetti G, Ferrara R, et al. Action spectra for photoaccumulation of green and colorless *Euglena*: evidence for identification of receptor pigments [J]. Photochemistry and Photobiology, 1976, **23**(1): 51-54.
- [13] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006. 333-338.
- [14] 高香玉,崔益斌,胡长伟,等. 太湖梅梁湾有机污染物对纤

- 细裸藻 (*Euglena gracilis*) 的遗传毒性效应[J]. 环境科学, 2009, **30**(11): 3388-3392.
- [15] Mccord J M, Fridovic I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein) [J]. Journal of Biological Chemistry, 1969, **244**(22): 6049-6055.
- [16] 陈贻竹, 帕特森 B. 低温对植物叶片中超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化氢水平的影响[J]. 植物生理学报, 1988, **14**(4): 323-328.
- [17] 汪家政, 范明. 蛋白质技术手册[M]. 北京: 科学出版社, 2002. 42-47.
- [18] Aoyama K, Iwahori K, Miyata N. Application of *Euglena gracilis* cells to comet assay: evaluation of DNA damage and repair[J]. Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2003, **538**(1-2): 155-162.
- [19] 颜昌宙, 曾阿妍, 金相灿, 等. 不同浓度氨氮对轮叶黑藻的生理影响[J]. 生态学报, 2003, **27**(3): 1050-1055.
- [20] 朱小燕, 邓凤霞. 硝基苯在纤细裸藻中的毒性和降解吸附[J]. 华中师范大学研究生学报, 2006, **13**(1): 156-158.
- [21] Azizullah A, Richter P, Haeder D P. Responses of morphological, physiological, and biochemical parameters in *Euglena gracilis* to 7-days exposure to two commonly used fertilizers DAP and urea[J]. Journal of Applied Phycology, 2012, **24**(1): 21-33.
- [22] 唐全民, 陈峰, 向文洲, 等. 铵氮对铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) FACHB905 的生长、生化组成和毒素生产的影响[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2008, **29**(3): 290-294.
- [23] 刘碧云, 周培疆, 李佳洁, 等. 丙体六六六对斜生栅藻生长及光合色素和膜脂过氧化影响的研究[J]. 农业环境科学学报, 2006, **25**(1): 204-207.
- [24] Azizullah A, Richter P, Häder D P. Toxicity assessment of a common laundry detergent using the freshwater flagellate *Euglena gracilis* [J]. Chemosphere, 2011, **84**(10): 1392-1400.
- [25] 赵平, 孙谷畴, 彭少麟. 植物氮素营养的生理生态学研究[J]. 生态科学, 1998, **17**(2): 37-42.
- [26] 刘学铭. 小球藻异养生长特性及味精废水生产微藻蛋白研究[D]. 广州: 华南理工大学, 1999. 93-101.
- [27] 方允中, 李文杰. 自由基与酶[M]. 北京: 科学出版社, 1989. 94.
- [28] Przytocka-Jusiak M, Mlynarczyk A, Kulesza M, et al. Properties of *Chlorella vulgaris* strain adapted to high concentration of ammonium nitrogen[J]. Acta Microbiologica Polonica, 1977, **26**(2): 185-197.
- [29] Fabregas J, Abalde J, Herrero C. Biochemical composition and growth of the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) with different ammonium nitrogen concentrations as chloride, sulphate, nitrate and carbonate[J]. Aquaculture, 1989, **83**(3-4): 289-304.
- [30] Cao T, Ni L Y, Xie P. Acute biochemical responses of a submersed macrophyte, *Potamogeton crispus* L., to high ammonium in an aquarium experiment[J]. Journal of Freshwater Ecology, 2004, **19**(2): 279-284.
- [31] Nimptsch J, Pflugmacher S. Ammonia triggers the promotion of oxidative stress in the aquatic macrophyte *Myriophyllum matogrossense*[J]. Chemosphere, 2007, **66**(4): 708-714.
- [32] Wang C, Zhang S H, Wang P F, et al. Metabolic adaptations to ammonia-induced oxidative stress in leaves of the submerged macrophyte *Vallisneria spiralis* (Lour.) Hara [J]. Aquatic Toxicology, 2008, **87**(2): 88-98.
- [33] Morelli E, Scarano G. Copper-induced changes of non-protein thiols and antioxidant enzymes in the marine microalga *Phaeodactylum tricornutum*[J]. Plant Science, 2004, **167**(2): 289-296.
- [34] 李子杰, 姜文君, 于明, 等. LaCl_3 对轮藻光合色素含量及抗氧化酶活性的影响[J]. 中国稀土学报, 2006, **24**(S2): 192-195.
- [35] Knauer K, Behra R, Sigg L. Effects of free Cu^{2+} and Zn^{2+} ions on growth and metal accumulation in freshwater algae [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1997, **16**(2): 220-229.
- [36] 张琼, 伍琴, 高香玉, 等. 二溴联苯醚对纤细裸藻的生态遗传毒性效应[J]. 中国环境科学, 2010, **30**(6): 833-838.
- [37] Pandey A K, Bajpayee M, Parmar D, et al. DNA damage in lymphocytes of rural Indian women exposed to biomass fuel smoke as assessed by the comet assay[J]. Environmental and Molecular Mutagenesis, 2005, **45**(5): 435-441.

CONTENTS

Aerosol Optical Properties During Different Air-Pollution Episodes over Beijing	SHI Chan-zhen, YU Xing-na, ZHOU Bin, <i>et al.</i> (4139)
Characteristics and Source Analysis of Atmospheric Aerosol Ions over the Bohai Sea and the North Yellow Sea in Autumn	ZHANG Yan, ZHANG Hong-hai, YANG Gui-peng (4146)
Spatial Distribution Characteristics of Carbonaceous Aerosol During Summer in Beibu Gulf Zone, China	YANG Yi-hong, TAO Jun, GAO Jian, <i>et al.</i> (4152)
Study on the <i>in-situ</i> Measurement of Greenhouse Gas by an Improved FTIR	XIA Ling-jun, LIU Li-xin, ZHOU Ling-xi, <i>et al.</i> (4159)
Distribution of CH ₄ in the Suburb of Changsha City, China	LIU Lu-ning, WANG Ying-hong, XU Xiao-juan, <i>et al.</i> (4165)
Chemical Composition of <i>n</i> -Alkanes in Wheat Straw and Smoke	LIU Gang, LI Jiu-hai, XU Hui, <i>et al.</i> (4171)
Degradation of the Absorbed Methyl Mercaptan by Persulfate in Alkaline Solution	YANG Shi-ying, WANG Lei-lei, FENG Lin-yu, <i>et al.</i> (4178)
Emissions of Greenhouse Gas and Ammonia from the Full Process of Sewage Sludge Composting and Land Application of Compost ...	ZHONG Jia, WEI Yuan-song, ZHAO Zhen-feng, <i>et al.</i> (4186)
Distribution and Physicochemical Properties of Aquatic Colloids in the Yangtze Estuarine and Coastal Ecosystem	GU Li-jun, YANG Yi, LIU Min, <i>et al.</i> (4195)
Spatial Distribution and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in the Estuaries Surface Sediments from the Haihe River Basin	 LÜ Shu-cong, ZHANG Hong, SHAN Bao-qing, <i>et al.</i> (4204)
Distribution of Perfluorooctanesulfonate and Perfluorooctanoate in Water and the Sediment in Fenhe River, Shanxi Province	Higashiguchi Tomohiro, SHI Jiang-hong, ZHANG Hui, <i>et al.</i> (4211)
Analysis on Nitrogen and Phosphorus Loading of Non-point Sources in Shiqiao River Watershed Based on L-THIA Model	LI Kai, ZENG Fan-tang, FANG Huai-yang, <i>et al.</i> (4218)
Pollutant Source Apportionment of Combined Sewer Overflows Using Chemical Mass Balance Method	DAI Mei-hong, LI Tian, ZHANG Wei (4226)
Simulated Study of Algal Fatty Acid Degradation in Hypoxia Seawater-Sediment Interface Along China Coastal Area	SUI Wei-wei, DING Hai-bing, YANG Gui-peng, <i>et al.</i> (4231)
Influence of Two Different Species of Aquatic Plant Communities on the Concentration of Various Nitrogen Forms in Sediment of Lake Taihu	 MA Jiu-yuan, WANG Guo-xiang, LI Zhen-guo, <i>et al.</i> (4240)
Study on Removal Rule of Endosulfan in Surface Flow Constructed Wetland	QIN Jing, GAO Fu-wei, XIE Hui-jun (4251)
Accumulation and Transformation of Different Arsenic Species in Nonaxenic <i>Dunaliella salina</i>	WANG Ya, ZHANG Chun-hua, WANG Shu, <i>et al.</i> (4257)
Evaluation of <i>in situ</i> Capping with Lanthanum-Modified Zeolite to Control Phosphate and Ammonium Release from Sediments in Heavily Polluted River	 LI Jia, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui (4266)
Effects of Invertebrate Bioturbation on Vertical Hydraulic Conductivity of Streambed for a River	REN Chao-liang, SONG Jin-xi, YANG Xiao-gang, <i>et al.</i> (4275)
Formation of Disinfection By-products by <i>Microcystis aeruginosa</i> Intracellular Organic Matter; Comparison Between Chlorination and Bromination	 TIAN Chuan, GUO Ting-ting, LIU Rui-ping, <i>et al.</i> (4282)
Effect of Natural Organic Matter on Coagulation Efficiency and Characterization of the Flocs Formed	XU Lei, YU Wen-zheng, LIANG Liang, <i>et al.</i> (4290)
DOM Membrane Fouling and Effects on Rejection Behaviors of NF Membranes	FENG Gui-zhen, DONG Bing-zhi (4295)
Removal of Hg in Wastewater by Zero-Valent Iron	ZHOU Xin, ZHANG Jin-zhong, QIU Xin-kai, <i>et al.</i> (4304)
Catalytic Dechlorination of 2,4-D in Aqueous Solution by Fe ₃ O ₄ -Stabilized Nanoscale Pd/Fe	ZHOU Hong-yi, LIANG Si, ZENG Si-si, <i>et al.</i> (4311)
Comparative Study on Adsorption Behaviors of Natural Organic Matter by Powered Activated Carbons with Different Particle Sizes	LI Zheng-jian, SHI Bao-you, WANG Dong-sheng (4319)
Removal of Nitrate from Aqueous Solution Using Cetylpyridinium Chloride (CPC)-Modified Activated Carbon as the Adsorbent	ZHENG Wen-jing, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (4325)
Adsorption Properties of Modified Graphene for Methylene Blue Removal from Wastewater	WU Yan, LUO Han-jin, WANG Hou, <i>et al.</i> (4333)
Application of Classical Isothermal Adsorption Models in Heavy Metal Ions/Diatomite System and Related Problems	ZHU Jian, WU Qing-ding, WANG Ping, <i>et al.</i> (4341)
Effects of Nitrate on Anoxic/Anaerobic Oxidation of Methane in the Aged Refuse	LIU Yan-yan, LONG Yan, YIN Hua, <i>et al.</i> (4349)
Study on the Biotransformation of Sulfate and Ammonia in Anaerobic Conditions	ZHANG Li, HUANG Yong, YUAN Yi, <i>et al.</i> (4356)
Characteristics of Sulfate Reduction-Ammonia Oxidation Reaction	YUAN Yi, HUANG Yong, LI Xiang, <i>et al.</i> (4362)
Analysis of Hydrogen-production Performance in a UASB System at Low pH	ZHAO Jian-hui, ZHANG Bai-hui, LI Ning, <i>et al.</i> (4370)
Preparation of Red Mud Loaded Co Catalysts; Optimization Using Response Surface Methodology (RSM) and Activity Evaluation	LI Hua-nan, XU Bing-bing, QI Fei, <i>et al.</i> (4376)
Toxic Effects of High Concentrations of Ammonia on <i>Euglena gracilis</i>	LIU Yan, SHI Xiao-rong, CUI Yi-bin, <i>et al.</i> (4386)
Influence of Image Process on Fractal Morphology Characterization of NAPLs Vertical Fingering Flow	LI Hui-ying, DU Xiao-ming, YANG Bin, <i>et al.</i> (4392)
Changing Characteristics of Organic Matter and pH of Cultivated Soils in Zhejiang Province over the Last 50 Years	ZHANG Ming-kui, CHANG Yue-chang (4399)
Study on Selenium Contents of Typical Selenium-rich Soil in the Middle Area of Zhejiang and Its Influencing Factors	HUANG Chun-lei, SONG Ming-yi, WEI Ying-chun (4405)
Spatial Distribution Characteristics of Fe and Mn Contents in the New-born Coastal Marshes in the Yellow River Estuary	SUN Wen-guang, GAN Zhuo-ting, SUN Zhi-gao, <i>et al.</i> (4411)
Level, Composition and Sources of Medium-Chain Chlorinated Paraffins in Soils from Chongming Island	SUN Yang-zhao, WANG Xue-tong, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (4420)
Distribution Characteristics of Organochlorine Pesticides in Soil from Daiyun Mountain Range in Fujian, China	QU Cheng-kai, QI Shi-hua, ZHANG Li, <i>et al.</i> (4427)
Levels of PCDD/Fs and Dioxin-Like PCBs in Soils Near E-Waste Dismantling Sites	SHAO Ke, YIN Wen-hua, ZHU Guo-hua, <i>et al.</i> (4434)
Chemical Form Changes of Exogenous Water Solution Fluoride and Bioavailability in Tea Garden Soil	CAI Hui-mei, PENG Chuan-yi, CHEN Jing, <i>et al.</i> (4440)
Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on the Vegetation Restoration of Different Types of Coal Mine Spoil Banks	ZHAO Ren-xin, GUO Wei, FU Rui-ying, <i>et al.</i> (4447)
Effects of the Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Environmental Phytoremediation in Coal Mine Areas	LI Shao-peng, BI Yin-li, KONG Wei-ping, <i>et al.</i> (4455)
Preliminary Analysis of Manganese Uptake Mechanism in the Hyperaccumulator <i>Phytolacca americana</i> L.	XU Xiang-hua, LI Ren-ying, LIU Cui-ying, <i>et al.</i> (4460)
Research on the Bioaccessibility of HgS by <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	CHEN Yan, WANG Hui, SI You-bin (4466)
Study on IEUBK Model Localization Based on Behavior Parameters of Children from Southwestern China	JIANG Bao, CUI Xiao-yong (4473)
Sorption and Desorption Characteristics of Different Structures of Organic Phosphorus onto Aluminum (Oxyhydr) Oxides	LIU Fei, ZHANG Yan-yi, YAN Yu-peng, <i>et al.</i> (4482)
Study on the Occurrence of Ferrum in Coal by Ultrasound-assisted Sequential Chemical Extraction	XIONG Jin-yu, LI Han-xu, DONG Zhong-bing, <i>et al.</i> (4490)
A Review of Uptake, Translocation and Phytotoxicity of Engineered Nanoparticles in Plants	YANG Xin-ping, ZHAO Fang-Jie (4495)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2013年11月15日 34卷 第11期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 11 Nov. 15, 2013

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 90.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行人