

离子液体 1-丁基-3-甲基咪唑氯盐对斜生栅藻的毒性效应

段炼, 杜耀, 陆秋琳, 蔡卫丹, 方治国, 刘惠君* (浙江工商大学环境科学与工程学院, 浙江 杭州 310012)

摘要: 按照毒性试验标准方法研究了不同浓度离子液体 1-丁基-3-甲基咪唑氯盐([BMIM]Cl)对斜生栅藻的影响,测定了半数抑制浓度(IC₅₀)、叶绿素含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性以及藻细胞通透性的变化,观察了 80mg/L [BMIM]Cl 处理 96h 对藻细胞的影响.结果表明:[BMIM]Cl 对斜生栅藻生长具有抑制作用,随着浓度的增大抑制率增加,叶绿素含量下降,48h IC₅₀、72h IC₅₀ 和 96h IC₅₀ 分别为 103.77、76.44 和 68.49mg/L.藻细胞对[BMIM]Cl 有一定的氧化应激反应,CAT 和 SOD 活性随[BMIM]Cl 浓度升高而降低.[BMIM]Cl 对藻细胞的细胞膜有一定程度的破坏作用,藻细胞通透性随浓度升高而增大,同时藻细胞的超微结构受到了[BMIM]Cl 的影响,造成质壁分离,叶绿体片层断裂,线粒体嵴数量减少.

关键词: 1-丁基-3-甲基咪唑氯盐; 斜生栅藻; 半数抑制浓度; 酶活性; 叶绿素含量; 细胞通透性; 超微结构

中图分类号: X171.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2012)05-0886-06

Toxicity of 1-butyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid to *Scenedesmus obliquus*. DUAN Lian, DU Yao, LU Qiu-lin, CAI Wei-dan, FANG Zhi-guo, LIU Hui-jun* (School of Environmental Science and Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310012, China). *China Environmental Science*, 2012,32(5): 886~891

Abstract: The toxicity of ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium chloride ([BMIM]Cl) to *Scenedesmus obliquus* was studied in different concentration by using the standard toxicity test. Five different test endpoints were determined such as the growth inhibition rate (IC₅₀), the content of chlorophyll a (Chla), chlorophyll b (Chlb), the superoxide dismutase activity (SOD) and the catalase activity (CAT), the permeability of algae cell, and the ultrastructural morphology of cell. The results indicated that the inhibition rate of algae growth increased and the content of Chla and Chlb in algae cell decreased with the [BMIM] Cl concentration. The 48h IC₅₀, 72h IC₅₀ and 96h IC₅₀ were 103.77、76.44 and 68.49mg/L, respectively. The results also indicated that the activities of CAT and SOD decreased due to the oxidative stress and the permeability of algal cell decreased due to the cell membrane being destroyed with the increase of [BMIM] Cl concentration. Also, the ultrastructure of algal cell was affected by 80mg/L [BMIM] Cl, resulting in plasmolysis, chloroplast lamellae fractured and the number of crest in mitochondria reduced.

Key words: 1-butyl-3-methylimidazolium chloride; *Scenedesmus obliquus*; IC₅₀; enzyme activity; chlorophyll content; cell permeability; subcellular structure

一种新型的“绿色溶剂”—离子液体因具有极低的蒸汽压、不挥发、导电性强、对许多无机盐和有机物有良好溶解性等诸多优点使之在分离过程、电化学和化学反应等领域显示出广阔的应用前景^[1].然而离子液体的结构与其毒性和生态效应存在相关性^[2],离子液体的化学和热力学稳定性导致其在环境降解、残留和生态效应等方面具有潜在环境风险,近年来其环境行为及生态毒性引起了研究者的关注^[3],在离子液体对大型蚤、斑马鱼、蚯蚓、卤虫的急慢性毒性影响及酶活性等方面做了相关研究^[4-7].

由于离子液体较好的水溶性,其对水环境的影响不容忽视^[3].近年来离子液体对绿藻、大型蚤和斑马鱼生物生长抑制率的影响已有研究报告^[8-10].然而目前对于咪唑氯盐离子液体对藻类影响的研究较少.本文研究 1-丁基-3-甲基咪唑氯盐([BMIM]Cl)对斜生栅藻的影响,从 IC₅₀、叶绿素含量、酶活性、细胞通透性以及藻细胞超微

收稿日期: 2011-09-01

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(Y5100376,Y5100365);浙江省大学生科技创新项目和创业孵化项目(3070JQ4111060P)

* 责任作者, 教授, lhj@mail.zjgsu.edu.cn

结构的观察等 5 个方面,获得供试离子液体对藻类影响的参数,为认识和评价离子液体环境安全性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 藻种及培养条件

斜生栅藻(*S.obliquus*)购自中国科学院武汉水生生物研究所国家淡水藻种库(FACHB).将藻种接种至灭过菌的水生 4 号(HB-4)人工培养液^[11]中,于 SPX 智能型可编程光照培养箱恒温光照培养.培养条件:用 4 层纱布封口以防污染,培养温度为 25℃,光照 63μmol/(m²·s),光暗比为 16h:8h.每天定时摇动 3 次。

1.2 主要试剂

1-丁基-3-甲基咪唑氯盐([BMIM]Cl)购自中国科学院兰州化学物理研究所绿色化学与催化中心,纯度为 99%;考马斯亮蓝和牛血清白蛋白购自上海生工生物工程有限公司;TEM 样品包埋剂为 SPI-CHEM Spurr resin,产自美国;其他试剂均为分析纯;水为二次亚沸蒸馏水。

1.3 实验方法

取 100mL 浓度为 3.5×10^5 个/mL 的藻液,[BMIM]Cl 处理浓度为 0,20,40,80,120,180,250mg/L,调节 pH8.0,每一处理设置 3 组平行.实验分 2 批处理,第 1 批每天定时测定生物量,96h 后测叶绿素含量,另 1 批培养 96h 后测定过氧化氢酶活性、超氧化物歧化酶活性、细胞通透性,取对照及中浓度 80mg/L[BMIM]Cl 处理的藻液进行细胞超微结构观察。

1.4 分析测定方法

1.4.1 生长抑制 采用显微镜下血球计数板进行计数,并在波长 680nm 下测定斜生栅藻光密度,建立不同藻细胞浓度和光密度之间的关系.[BMIM]Cl 对藻的抑制率=100%×(对照组生物量-处理组生物量)/对照组生物量^[12].采用 Logistic 模型对浓度-抑制率之间的关系进行拟合,计算相应的 IC₅₀ 值^[13]。

1.4.2 叶绿素含量 取 60mL 藻液 3000g 离心 10min 后加 90%丙酮,摇匀,在低温暗处抽提 24h,在 3000g 离心 10min 后取上清液,在 750nm 处调

零以扣除溶液中悬浮液的吸光值,采用 Humphrey 和 Jeffrey 公式计算叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量^[14]。

1.4.3 氧化应激 取 60mL 藻液在 4℃,6000r/min 下离心 10min;弃去上清液,加入 10mL 的 50mmol/L 磷酸缓冲液,用超声波细胞破碎仪破碎藻细胞(破碎条件:功率 800W,破碎 3s,间隔 10s,破碎 20 次);在 4℃,15000r/min 下离心 10min,取悬浮液在-80℃冰箱中保存.过氧化氢酶 (CAT)参照 Aebi 等^[15]的方法测定,超氧化物歧化酶 (SOD)用氮蓝四唑法(NBT 法)^[16]测定。

1.4.4 细胞通透性影响 参照 Vigneault 等^[17]的方法研究[BMIM]Cl 对藻细胞通透性的影响.向藻液(藻细胞密度为 7.0×10^5 个/mL)中移取适量荧光素二乙酸甲酯(FDA)溶液使其浓度为 3.0×10^{-6} mol/L.用荧光分光光度计测定 FDA 加入后 10min 内的水解速率,在没有藻液的空白溶液中 1h 内 FDA 没有水解.溶液荧光强度随时间变化的线性方程的斜率为水解速率,以此反应藻细胞的通透性。

1.4.5 透射电镜观察 分别取 96h 的对照、80mg/L[BMIM]Cl 处理的藻液,3000r/min 离心后收集的藻体用于细胞超微结构观察.用 2.5%的戊二醛固定 12h 后,用磷酸缓冲液漂洗 3 次;再用锇酸固定,酒精梯度脱水后,用丙酮梯度脱水;包埋剂浸透后包埋 12h,36℃到 60℃聚合后修块,切片后染色,水洗,干燥,最后在日立 Model H-7650 透射电镜下观察斜生栅藻的超微结构^[13].以上工作在浙江大学生物电镜室完成。

1.5 数据处理与分析

所有数据统计分析用 Origin8.0 软件处理。

2 结果与讨论

2.1 [BMIM]Cl 对斜生栅藻生物量的影响

在处理 24h 时,[BMIM]Cl 对斜生栅藻的生长抑制作用不明显,低浓度处理组对斜生栅藻的生长反而有一定的促进作用,20 和 40mg/L 的处理抑制率分别为-3%、-4%,高浓度(250mg/L)对斜生栅藻的生长抑制率也仅为 25%.由图 1 可以看出,低浓度处理组的斜生栅藻的生长随着时间

的延长抑制率降低,40mg/L 处理 48,72,96h 的抑制率分别为 23.8%、15.8%和 7.6%,表现出低浓度处理下生长的恢复.而高浓度处理组,抑制率随着培养时间的延长逐渐增大,250mg/L 处理组 48,72,96h 的抑制率分别为 67%、78%和 84%.通过斜生栅藻的生长抑制率计算得 IC₅₀(表 1),随着培养时间的延长 IC₅₀ 值减小, 48h IC₅₀、72h IC₅₀ 和 96h IC₅₀ 分别为 103.77,76.44,68.49mg/L.

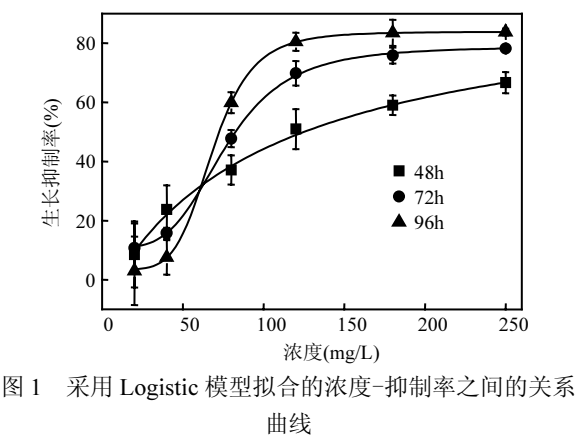


图 1 采用 Logistic 模型拟合的浓度-抑制率之间的关系曲线

Fig.1 Concentration-response fitting curve using the Logistic model

表 1 Logistic 模型参数和预测的 IC ₅₀ 值					
Table 1 Parameters of the Logistic model and the IC ₅₀					
时间(h)	A ₁	A ₂	p	IC ₅₀	R ²
48	-9.11	99.4	0.96	103.77	0.9905
72	10.9	78.8	3.95	76.44	0.9997
96	3.53	83.8	5.53	68.49	0.9999

注:用Logistic模型进行IC₅₀拟合: $y=A_2/[A_1+1/(x/x_0)^p]$,y代表藻的抑制率,x代表[BMIM]Cl的浓度,x₀代表IC₅₀值,A₁,A₂和p是常量

不同的离子液体对藻类的毒性不同,李俊峰等^[18]研究了 6 种咪唑类离子液体对斜生栅藻的毒性效应,发现烷基取代链长度的增加将增大其对斜生栅藻的毒性.本实验在固定藻的培养条件下,[BMIM]Cl 的毒性随着时间的延长而增强,表现为抑制率增加,IC₅₀ 值减小.

2.2 [BMIM]Cl 对斜生栅藻叶绿素含量的影响

叶绿素作为植物进行光合作用的主要色素,其含量高低能够反映出光合作用水平的强弱^[19].

[BMIM]Cl 处理后 96h 斜生栅藻的 Chla 和 Chlb 含量的变化趋势与其生物量的变化趋势一致(表 2),低浓度处理组 Chla 和 Chlb 的含量低于对照组但没有达到显著水平($P>0.05$),经 20 和 40mg/L 处理的藻细胞 Chla 的含量分别是对照的 95.2% 和 88.0%;随着[BMIM]Cl 浓度的增加,Chla 和 Chlb 含量总体呈下降趋势,180、250mg/L 处理组 Chla 的含量分别是对照的 31.3%和 26.5%,与对照相比差异达到显著水平($P<0.05$).Chlb 含量的下降趋势与 Chla 含量下降趋势一致.[BMIM]Cl 浓度的升高导致藻细胞生长受抑制,Chla 和 Chlb 的浓度下降.这可能是因为[BMIM]Cl 进入藻细胞内部产生活性氧,细胞内活性氧的积累导致叶绿素和叶绿体结构破坏,通过对藻细胞超微结构的观察,发现[BMIM]Cl 对叶绿体片层结构产生一定影响,从而降低叶绿素合成相关酶的活性,叶绿素合成受阻致使藻细胞内叶绿素含量减少,在实验后期也可以观察到高浓度处理的藻体溶液变白.

表 2 [BMIM]Cl 处理 96h 后斜生栅藻 Chla 和 Chlb 含量

Table 2 The chlorophyll a and chlorophyll b content of *S. obliquus* after 96 h [BMIM]Cl exposure

浓度(mg/L)	Chla(mg/L)	Chlb(mg/L)	Chla/Chlb
0	0.83±0.09c	0.76±0.07d	1.09
20	0.79±0.04c	0.75±0.10d	1.07
40	0.73±0.05c	0.64±0.06d	1.15
80	0.70±0.06bc	0.45±0.09c	1.56
120	0.59±0.11b	0.35±0.11bc	1.72
180	0.26±0.08a	0.17±0.07a	1.65
250	0.22±0.03a	0.24±0.06ab	0.92

注:数据后的小写字母表示 $P<0.05$ 水平上的差异显著性

2.3 [BMIM]Cl 对斜生栅藻 CAT 和 SOD 活性的影响

由图 2a 可知经[BMIM]Cl 不同浓度处理,斜生栅藻 CAT 活性整体呈现减小的趋势.在低浓度处理组(20mg/L),CAT 酶活性是对照的 99.7%,与对照相比没有达到显著水平.80mg/L 处理组 CAT 酶活性是 0.048U/mg 蛋白,经 180、250mg/L [BMIM]Cl 处理的藻细胞 CAT 活性降低到 0.024 和 0.017U/mg 蛋白,分别是对照组(0.070U/mg 蛋

白)的 34.3%和 24.3%。与对照相比,[BMIM]Cl 处理对斜生栅藻细胞的 SOD 活性表现为低浓度激活高浓度抑制(图 2b)。在 20mg/L 实验组,SOD 活性是对照组 102.8%,与对照相比没有达到显著水平。随着处理浓度的增加 SOD 活性减小,当处理浓度达到 180,250mg/L 时,SOD 活性分别是对照的 62.5%和 57.0%。

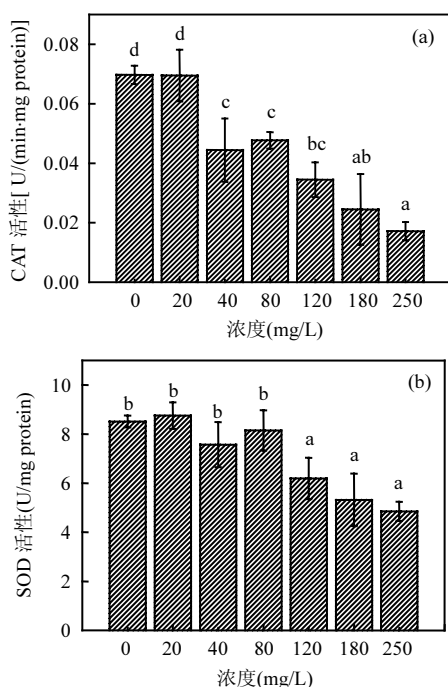


图2 [BMIM]Cl 处理 96h 后斜生栅藻 CAT 和 SOD 活性

Fig.2 Catalase and Superoxide Dismutase activity of *S. obliquus* after 96h [BMIM] Cl exposure

小写字母表示 $P < 0.05$ 水平上的差异显著性

不同的环境胁迫下如重金属、农药等都会影响生物的生长,这些影响因素可能会产生一些活性氧自由基(ROS),ROS 如不能够及时清除,聚集在生物体内会破坏生物体内的蛋白质、核酸和脂类等,对生物产生损害作用^[20]。ROS 能够诱导抗氧化酶系的活性,超氧自由基在 SOD 的催化下与氢离子结合,生成过氧化氢,过氧化氢在过氧化氢酶作用下生成水和氧气^[21]。已有报道证明污染物对藻细胞抗氧化酶系的影响^[22]。本研究中低浓度处理对 SOD 与 CAT 活性影响

不大并表现出一定程度的增大,表现出对 [BMIM]Cl 处理的氧化应激反应,这可能是斜生栅藻表现出的应对 [BMIM]Cl 影响的一种保护机制;在高浓度处理组,斜生栅藻生长受到抑制,酶活性受到影响而降低。

2.4 [BMIM]Cl 对斜生栅藻细胞通透性的影响

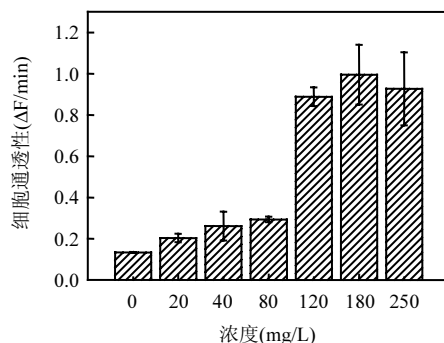


图3 [BMIM]Cl 处理 96h 后斜生栅藻的细胞通透性

Fig.3 Cell permeability of *S. obliquus* after 96h [BMIM] Cl exposure

没有荧光活性的荧光素二乙酸甲酯(FDA)可被体内的脂酶代谢生成具有荧光活性的荧光素^[23],FDA 难以通过完整的细胞膜,因此荧光素的荧光强度可用以表征细胞膜的完整性和通透性^[24-25]。单位时间内测定的荧光强度越大,表明藻类细胞的代谢活性越高,细胞膜的通透性越强^[26]。[BMIM]Cl 对藻细胞通透性的影响如图 3 所示。[BMIM]Cl 增加了斜生栅藻的细胞通透性。20mg/L [BMIM]Cl 处理的藻细胞通透性为对照的 1.5 倍,随着浓度的升高,这种刺激效应更加明显。高浓度处理显著增加了细胞通透性,当处理浓度增加为 120,180mg/L 时,藻细胞的通透性分别为对照的 5.7 和 7.4 倍。

2.5 斜生栅藻的细胞超微结构观察

图 4 是对照(图 4A1 和 4A2)和 80mg/L [BMIM] Cl 处理(图 4B1、4B2、4B3 和 4B4)的藻细胞超微结构图。在对照全景图(图 4A1)中有许多完整的单个细胞,呈椭圆形和纺锤形,排列比较密集。在图 4A2 中的藻细胞有完整的细胞壁,致密厚实的细胞膜。叶绿体环绕细胞并占了大半的细胞容积,叶绿体中可以看到清晰的片层结构。线粒

体数量较多且内部结构完整,脊较明显,基质电子密度高,圆形蛋白核完整,核仁和核质清晰。

在 80mg/L[BMIM]Cl 处理的藻中,全景图(图 4B1)观察到一些藻细胞形态发生了改变,数量明显减少。在单个细胞中可以明显观察到质壁分离现象(图 4B2、4B3 中叶绿体的片层结构断裂且层次不清晰,还有一些脂质球体分布在叶绿体内(图 4B3、4B4)。可以观察到有些线粒体大小正常但嵴的数量增多(图 4B2),还有一些线粒体变形肿胀,嵴却减少(图 4B3、4B4),线粒体内还可以看到清晰的膜间隙,在液泡中存在一些沉淀物质(图 4B2、4B4)。

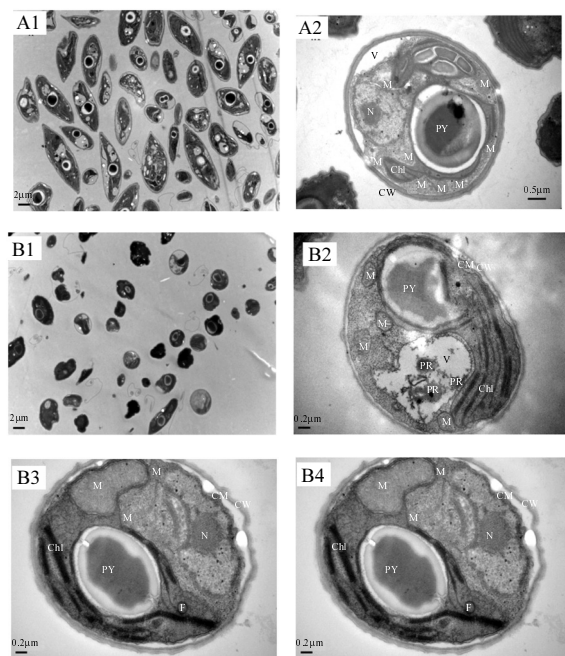


图 4 80mg/L[BMIM]Cl 处理 96h 后斜生栅藻细胞透射电子显微镜观察

Fig.4 Transmission electron micrographs of *S. obliquus* cells after 96 h in 80 mg/L[BMIM]Cl treatment

A1 和 A2 为对照细胞, B1、B2、B3 和 B4 为 80mg/L [BMIM]Cl 处理组藻细胞。A1 和 B1 代表藻细胞全景图(2μm), A2、B2、B3 和 B4 是具有代表性的单个藻细胞结构(0.5 和 0.2μm), Chl=叶绿体;

M=线粒体;N=细胞核;PY=蛋白核;V=液泡;CW=细胞壁;CM=细胞膜;F=脂质球体;PR=沉淀

研究表明,逆境条件对藻类细胞有毒害作用,使得藻细胞变形、破裂,胞壁和原生质体结合疏

松,对藻细胞超微结构中叶绿体、线粒体等结构毒害较大^[22,27]。咪唑类化合物的结构和阳离子表面活性剂相似,[BMIM]Cl 是一端亲水(咪唑端)一端亲油(烷基端)的两亲分子。表面活性剂对藻类的作用主要是能引起膜脂结构的破坏和组成的改变^[28]。[BMIM]Cl 对斜生栅藻的影响与表面活性剂的影响类似,通过 TEM 观察,[BMIM]Cl 引起藻细胞的质壁分离,[BMIM]Cl 透过细胞壁,渗透到含有大量脂类的细胞膜中,影响了细胞的正常生长。[BMIM]Cl 进入细胞后破坏了叶绿体的结构,导致叶绿体的片层结构断裂,叶绿素含量下降,影响了光合作用的进行。脂质球体的变化可以反映出细胞在胁迫条件下的受伤害程度^[29],TEM 观察发现 80mg/L[BMIM]Cl 处理的藻细胞叶绿体内分布有脂质球体(图 4B3 和 4B4)。线粒体作为有氧呼吸产生能量的主要场所,是对各种损伤最为敏感的细胞器之一,为了获得代谢所需的能量,线粒体承担了更重的任务从而引发了病变。本研究观察到线粒体嵴数量的减少以及嵴肿胀,[BMIM]Cl 可能对藻细胞的能量转换系统产生影响,从而阻碍物质和能量的传递,影响藻正常的生长代谢。

3 结论

3.1 在试验浓度范围(0,20,40,80,120,180,250mg/L)内,随着浓度的增大,[BMIM]Cl 对斜生栅藻的生长抑制作用增强,导致藻类叶绿素含量下降。

3.2 [BMIM]Cl 低浓度(20mg/L)处理组,斜生栅藻的 SOD 与 CAT 活性增大,表现出对[BMIM]Cl 处理的氧化应激反应;随着[BMIM] Cl 处理浓度的增加,斜生栅藻的 SOD 与 CAT 活性下降。

3.3 [BMIM]Cl 破坏了斜生栅藻细胞膜,随化合物浓度增加细胞通透性增强。

3.4 暴露于 80mg/L[BMIM]Cl 溶液中,斜生栅藻细胞的超微结构受到了影响,造成质壁分离,叶绿体片层断裂,线粒体嵴数量减少。

参考文献:

- [1] Brennecke J F, Maginn E J. Ionic liquids: Innovative fluids for chemical processing [J]. AIChE Journal, 2001,11(47):2384-2389.

- [2] Jastorff B, Störmann R, Ranke J, et al. How hazardous are ionic liquids? Structure-activity relationships and biological testing as important elements for sustainability evaluation [J]. *Green Chemistry*, 2003,5(2):136–142.
- [3] Pham T P T, Cho C W, Yun Y S. Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review [J]. *Water Research*, 2010,44(2):352–372.
- [4] Bemot R J, Brueseke M A, Evans W M A, et al. Acute and chronic toxicity of imidazolium-based ionic liquids on *Daphnia magna* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, 24(1):87–92.
- [5] Pretti C, Chiappe C, Pieracini D, et al. Acute toxicity of ionic liquids to the zebra fish (*Danio rerio*) [J]. *Green Chemistry*, 2006, 8:238–240.
- [6] Luo Y R, Wang S H, Li X Y, et al. Toxicity of ionic liquids on the growth, reproductive ability, and ATPase activity of earthworm [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2010,73(5): 1046–1050.
- [7] 卢珩俊,陆 胤,徐冬梅,等.咪唑类离子液体系列对卤虫的急性毒性研究 [J]. *中国环境科学*, 2011,31(3):454–460.
- [8] Pretti C, Chiappe C, Baldetti I, et al. Acute toxicity of ionic liquids for three freshwater organisms: *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2009,72:1170–1176.
- [9] Kulacki K J, Lamberti G A. Toxicity of imidazolium ionic liquids to freshwater algae [J]. *Green Chemistry*, 2008,10:104–110.
- [10] 牧 辉,彭新晶,戴 宁,等.离子液体[C_{8mim}]⁺PF₆⁻对水生生物的毒性作用 [J]. *中国环境科学*, 2009,29(11):1196–1201.
- [11] Ma J, Wang S, Wang P W, et al. Toxicity assessment of 40 herbicides to the green alga *Raphidocelis subcapitata* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006,63(3):456–462.
- [12] 杨 良,葛 飞,喻方琴,等.十六烷基三甲基氯化铵与荧蒽对小球藻的联合毒性及其作用机制 [J]. *中国环境科学*, 2011,31(1): 150–155.
- [13] Liu H J, Xiong M Y. Comparative toxicity of racemic metolachlor and S-metolachlor to *Chlorella pyrenoidosa* [J]. *Aquat Toxicology*, 2009,93(2/3):100–106.
- [14] Jeffrey S W, Humphrey G F. New spectrophotometric equations for determining chlorophyll a, b, c1 and c2 in higher plants and natural phytoplankton [J]. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 1975,167:191–194.
- [15] Aebi H. Catalase in vitro [J]. *Methods in Enzymology*, 1984,105: 121–126.
- [16] 陈建勋,王晓峰.植物生理学实验指导 [M]. 广州:华南理工大学出版社, 2002:124–126.
- [17] Vigneault B, Percot A, Lafleur M, et al. Permeability changes in model and phytoplankton membranes in the presence of aquatic humic substances [J]. *Environmental Science and Technology*, 2000,34:3907–3913.
- [18] 李俊峰,胡 翔,李春喜.咪唑类 ILs 对天然水体中斜生栅藻的毒性效应 [J]. *环境科学与技术*, 2010,33(3):37–40,53.
- [19] 廖柏寒,刘 俊,周 航,等.Cd 胁迫对大豆各发育阶段生长及生理指标的影响 [J]. *中国环境科学*, 2010,30(11):1516–1521.
- [20] Stajner D, Popovic M, Stanjer M. Herbicide induced oxidative stress in lettuce, beans, pea seeds and leaves [J]. *Biologia Plantarum*, 2003,47(4):575–579.
- [21] Choo K, Snoeijs P, Pedersen M. Oxidative stress tolerance in the filamentous green algae *Cladophora glomerata* and *Enteromorpha ahlnieriana* [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2004,298(1):111–123.
- [22] Qian H F, Chen W, Sheng G D, et al. Effects of glufosinate on antioxidant enzymes, subcellular structure, and gene expression in the unicellular green alga *Chlorella vulgaris* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2008,8(4):301–307.
- [23] Regel R H, Ferris J M, Ganf G G, et al. Algal esterase activity as a biomeasure of environmental degradation in a freshwater creek [J]. *Aquatic Toxicology*, 2002,59:209–223.
- [24] Brookes J D, Geary S M, Ganf G G, et al. The use of FDA and flow cytometry to assess metabolic activity as an indicator of nutrient status in phytoplankton [J]. *Marine and Freshwater Research*, 2000,51(8):817–823.
- [25] Wen Y Z, Chen H, Shen C S, et al. Enantioselectivity tuning of chiral herbicide dichlorprop by copper: roles of reactive oxygen species [J]. *Environmental Science and Technology*, 2011,45(11): 4778–4784.
- [26] Cai X Y, Liu W P, Sheng G Y. Enantioselective degradation and ecotoxicity of the chiral herbicide diclofop in three freshwater alga cultures [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008,56(6):2139–2146.
- [27] 谷 巍,施国新,韩承辉,等.汞、镉污染对轮叶狐尾藻的毒害 [J]. *中国环境科学*, 2001,21(4):371–375.
- [28] 龚良玉,李雁宾,王修林,等.生物表面活性剂对东海原甲藻生长的影响 [J]. *中国环境科学*, 2004,24(6):692–696.
- [29] 万里强,石永红,李向林,等.高温干旱胁迫下三个多年生黑麦草品种叶绿体和线粒体超微结构的变化 [J]. *草业学报*, 2009, 18(1):25–31.

作者简介: 段 炼(1991–),女,安徽安庆人,浙江工商大学环境科学与工程学院本科生,主要研究方向为污染物生态毒理。