

文章编号: 1004-7271(2007)04-0334-07

Fe²⁺, 醋酸盐和双氧水对雨生红球藻 积累虾青素的影响

高政权, 孟春晓, 王 栋

(山东理工大学生命科学院, 山东 淄博 255049)

摘 要:研究了亚铁离子、醋酸盐和双氧水三种化学因子对雨生红球藻积累虾青素的交叉影响和虾青素积累过程中藻体总可溶性蛋白的变化。结果表明,在营养盐缺乏的前提下,添加 45 mM 醋酸盐和 450 μM 亚铁离子,25 °C,24 h 连续光照,6 000 lx 光强下进行逆境胁迫诱导,能够大大缩短雨生红球藻虾青素积累周期,比空白对照提前一个月使藻细胞完全变红(显微观察)。但诱导过程中会造成部分藻细胞白化,自溶或破壁死亡,虾青素产量比空白对照下降了 7.4%;在雨生红球藻虾青素积累过程中,藻体总可溶性蛋白含量逐渐降低,说明雨生红球藻中虾青素的积累可能以蛋白质的消耗为基础。

关键词:雨生红球藻;虾青素;总可溶性蛋白;化学因子

中图分类号:Q 949.21⁺2 **文献标识码:**A

Effect of ferrous ions, acetate and hydrogen peroxide on astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis*

GAO Zheng-quan, MENG Chun-xiao, WANG Dong

(School of Life Sciences, Shandong University of Technology 255049, Zibo, China)

Abstract: The intersectional effect of NaAC, FeSO₄ and H₂O₂ on the accumulation of astaxanthin in *Haematococcus pluvialis* wall as well as change of total soluble protein were studied during the process of astaxanthin accumulation of *Haematococcus pluvialis*. Results showed that in the case of nutrition starvation, 25 °C, 6000 lx illumination and addition of NaAC (45 mM) and FeSO₄ (450 μM) could advance 30 days for completing astaxanthin accumulation in *H. pluvialis* cells, but the production of astaxanthin was lower 7.4% than that of blanks. All the treatments with H₂O₂ had lethal functions to alga cells such as albescent, alga cells thaw and death. SDS-PAGE results displayed the total the protein soluble protein decreased gradually along the process of astaxanthin accumulation in the *Haematococcus pluvialis*. It is suggested astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* might be based on protein degradation and depletion.

Key words: *Haematococcus pluvialis*; astaxanthin; total soluble protein; chemical factors

虾青素(astaxanthin), 3,3'-二羟基-4,4'-二酮基-β,β'-胡萝卜素,是一种酮式次生类胡萝卜素。

收稿日期:2006-10-11

基金项目:国家自然科学基金(30671126);山东理工大学科技基金项目资助(4041-306017);山东理工大学博士启动基金项目(4041-405017;4041-405016)

作者简介:高政权(1972-):男,湖南安乡人,博士,副教授,从事蛋白质工程与藻类发育调控,E-mail:zq7723@126.com

通讯作者:孟春晓,E-mail:mengchunxiao@126.com

它在食品、饲料、化妆品、医药等领域有着广阔的前景^[1,2]。雨生红球藻是一种淡水单细胞绿藻,在多种逆境胁迫条件下能够大量合成并迅速积累虾青素,是目前最理想的天然虾青素合成工具^[3]。近来,雨生红球藻研究取得的进展主要集中于培养、诱导其合成和积累虾青素的外界条件^[4-21]。关于一些化学因子如无机盐离子、有机酸及氧化剂等如何诱导雨生红球藻积累虾青素,前人已有不少研究^[12,13,18,21-24],他们的研究多集中于单一化学因子,因此还有分歧^[8,9,18,21,22]。还没有见到将这些因子综合起来影响雨生红球藻积累虾青素的相关报道。另外,有关雨生红球藻虾青素积累过程中蛋白质含量变化也很少有人涉猎^[18]。本文针对 Fe²⁺、醋酸盐和双氧水进行了交叉实验,并研究了雨生红球藻虾青素积累过程中总可溶性蛋白质含量的动态变化,为进一步科学利用雨生红球藻大规模生产虾青素提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 雨生红球藻的培养

雨生红球藻 712 株购自中国科学院海洋研究所,每个 250 mL 三角瓶中加入 MCM 培养基(0.5 g/L KNO₃, 0.5 g/L K₂HPO₄, 80 g/L CaCl₂及少量微量元素,pH 7.0)150 mL^[15],接种藻液为 50 mL。1 000 lx 光强,20 ℃,12 h/12 h 光/暗周期进行静止培养,每天手摇 3~5 次,直至培养到对数生长期。

1.2 诱导条件的筛选

将上述培养的藻液分别设定成四个处理组和一个空白对照组,每组三个重复。处理 1 添加 NaAC 和 FeSO₄,处理 2 添加 NaAC 和双氧水,处理 3 添加 FeSO₄ 和双氧水,处理 4 同时添加 NaAC、FeSO₄ 和双氧水,最后使各处理中的 NaAC 终浓度为 45 mM,FeSO₄ 终浓度为 450 μM,双氧水终浓度为 1.5%^[18,21,22]。将上述处理后的藻液置于 6 000 lx 光照强度下连续光照,25 ℃下培养。

1.3 取样和细胞破壁

在诱导过程中定期收集各处理组不同诱导时期的样品,提取总可溶性蛋白和测定虾青素含量。关于藻细胞的破壁方法,笔者尝试了三种破壁方法:

(1)反复冻融法:将离心得到藻泥放入液氮中冰冻 5~10 min,再在室温下解冻 5~10 min,如此反复 3~5 次,后在冰浴中加 4 倍于藻泥的提取液及少量石英砂研磨。

(2)液氮研磨法:将离心得到藻泥置入陶瓷研钵中,倒入适量液氮并研磨,反复 3~5 次;

(3)超声波破碎法:将离心得到藻泥加 4 倍于藻泥体积的提取液用超声波破碎 3 次(3 次 15 s/5 s,输出功率 40 W)。

1.4 虾青素含量测定

在收集的藻细胞沉淀中先加入 5% KOH 和 30% 甲醇破坏叶绿素 5 min,5 000 r/min 离心收集沉淀后加入 3 mL 二甲亚砜,破壁后,于 70 ℃水浴中处理 10 min,抽提多次直至藻体发白,然后在高速离心机 10 000 r/min 中离心 10 min,取上清于 490 nm 下测定 OD 值^[25]。按公式 $C(\text{mg/L}) = (4.5 \times A_{490} \times V_a) / V_b$ 计算虾青素含量,其中 A 表示 OD 值,V_a 表示二甲亚砜的体积,V_b 表示藻液体积。

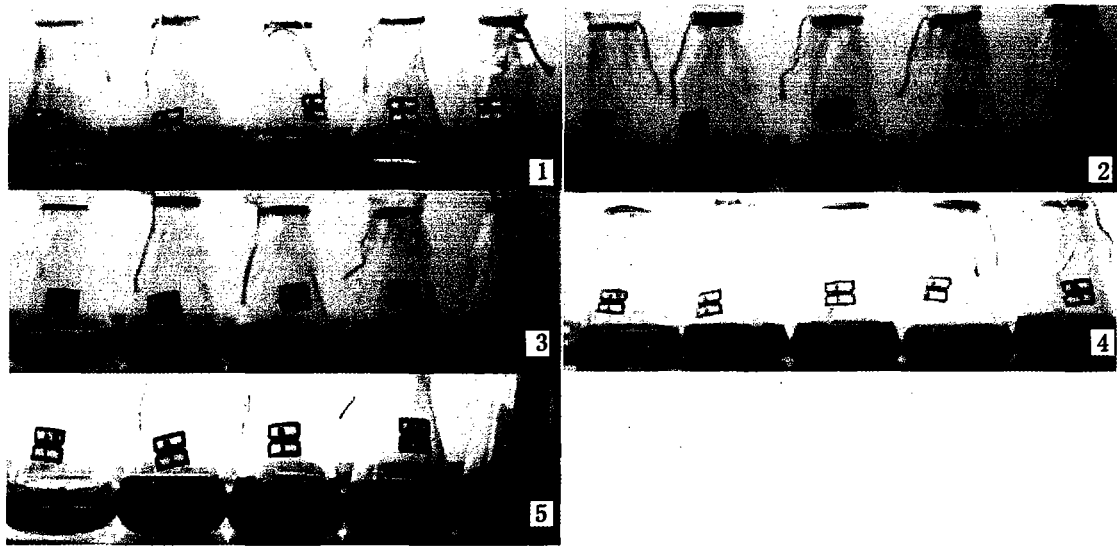
1.5 总可溶性蛋白提取和 SDS-PAGE 分析

5 000 r/min 离心 5 min 收集藻细胞样品,弃上清后加 3 倍于沉淀体积的蛋白提取液,超声破壁(3 次 15 s/5 s,输出功率 40 W)后,12 000 r/min 离心 10 min,去除细胞残片后取上清,再加入约 9 倍体积的 -20 ℃预冷丙酮,于 -20 ℃下放置过夜,12 000 r/min 离心 20 min 得沉淀,沉淀室温放置 30 min,使丙酮完全挥发,最后加入适量的溶液溶解沉淀,12 000 r/min 离心 20 min,上清液即为所需的雨生红球藻细胞总可溶性蛋白^[26]。利用上述提取的蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,采用硝酸银染色。

2 结果

2.1 诱导条件的筛选

图版 I 反映不同诱导时期各组藻液颜色变化。从图中可以看出,培养 1 d 后,处理 1 藻液颜色已明显变红,而其它组各无差异(图版 I-1);培养 3 d 后,四个处理组藻细胞与空白组相比,都出现了细胞凝集、悬浮现象(图版 I-2);培养第 5 d 时,四个处理组的藻液已经明显比空白组褐红,但处理 1 颜色最深(图版 I-3);培养 7 d 后,空白组的少数细胞出现细胞凝集、悬浮现象,处理 4 细胞开始大量死亡(图版 I-4);培养 9 d 后,处理 1 组已明显比其它组更红(图版 I-5);处理 2、处理 3 和处理 4 在培养过程都出现了灰红色的悬浮物,最严重的是处理 4,其次是处理 3,处理 2 最轻。经过 10 d 的诱导培养,肉眼观察处理 1 与空白组相比变化最为明显,最后颜色变得最红,最深,最均匀,应该是最佳的诱导条件。



图版 I 不同诱导时期各处理组藻液的颜色变化

Plate I Digital pictures of different treatments

从左至右的三角瓶分别代表空白、处理 1、处理 2、处理 3、处理 4。其中 1 是诱导 1 天,2 是诱导 3 天,3 是诱导 5 天,4 是诱导 7 天,5 是诱导 8 天的图片。

在筛选诱导条件时,通过镜检我们发现,在雨生红球藻产生虾青素的过程中,虾青素的产生是由细胞质中间向四周逐渐扩散的,而不是随意的产生;绿色的叶绿体逐渐被红色的虾青素所覆盖。图版 II-1 到图版 II-5 分别是诱导培养 9 d 后,空白组、处理 1、处理 2、处理 3、处理 4 的显微图谱;同时还发现除空白组外,各处理组都不同程度的出现细胞破壁死亡现象,它们与周围的活细胞形成鲜明对比(图版 II-5)。在四个不同的处理组中,含双氧水的三个处理组明显比不含双氧水的处理组和空白对照样品中白化死亡的藻细胞要多;加了双氧水 3 个处理组中,又以处理 4 中白化死亡的藻细胞最多,处理 3 其次,处理 2 中最少。

2.2 虾青素含量的测定

本研究在预实验中尝试了液氮研磨,反复冻融和超声破碎三种方法来破碎雨生红球藻的厚壁细胞,结果发现超声破碎的破壁效率高,操作简便,图版 II-6 是经过超声破碎后(3 次 15 s/5 s,输出功率 40 W)的样品显微图谱。因此,在测定虾青素含量和提取藻细胞样品中的总可溶性蛋白时,我们均采用超声破碎法对样品进行细胞破壁处理。

虾青素含量的测定结果与显微观察的结果基本一致(见图 1)。空白对照组样品中的虾青素含量在诱导的 10 d 内都是逐渐上升的,它完成虾青素积累(显微观察所有藻细胞完全变红)需要 39 d,这时样

品的虾青素含量为 8.43 mg/L 藻液;处理 1、2、3、4 中的藻细胞完成虾青素积累分别花了 9、7、8 和 5 d 时间,分别比空白对照组缩短了 30、32、31 和 34 d,这时各处理组中的虾青素含量分别为 7.81 mg/L 藻液、4.57 mg/L 藻液和 3.99 mg/L 藻液,分别比空白对照组下降了 7.4%、59.2%、53.5% 和 59.4%。这说明处理 1 无疑是诱导雨生红球藻快速大量积累虾青素的最佳组合。

2.3 SDS-PAGE 电泳分析

图 2 为诱导培养过程中处理 1 样品细胞中总可溶性蛋白含量的变化趋势的 SDS-PAGE 电泳图谱。从图中可以看出,游动细胞变为不动细胞时,蛋白质含量变化并不突出,但出现了一种表达量极为丰富的低分子量蛋白 A,分子量约为 14.5 kD,而且另一分子量为 13.8 kD 低分子量蛋白 B 比绿色游动细胞中的表达量高一个数量级以上。诱导 3 d 的藻细胞与绿色游动细胞相比,总可溶性蛋白的种类和含量都急剧减少,在绿色游动细胞中表达较高的蛋白,在诱导 3 天的藻细胞样品中都表达很少或根本不表达,但出现了一种前面两种状态都没有出现的新蛋白 C,分子量约为 33 kD。与诱导 3 d 的藻细胞相似,诱导 6 d 的藻细胞中也很少表达在绿色细胞中大量表达的蛋白,但大量表达了两种高分子量蛋白 D 和 E,它们的分子量分别为 66 kD 和 98 kD;诱导 9 天的藻细胞和完全变红的细胞样品中表达的可溶性蛋白无论数量还是种类都非常少。总的来说雨生红球藻在积累虾青素的过程中,总可溶性蛋白含量呈现逐渐减少的趋势,完成虾青素积累的藻细胞中可溶性蛋白含量已非常少。

3 讨论

3.1 细胞破壁方法筛选

雨生红球藻的不动细胞具有坚韧的细胞壁,其阻碍了细胞内虾青素的提取,因此必须先对不动细胞进行破壁处理,使胞内的色素颗粒充分释放出来,才能高效提取虾青素。关于破壁方法,在我们尝试的三种不同的破壁方法中:反复冻融(液氮 -37 °C) 3-5 次后,细胞的破壁效率约在 30% - 50% 左右;如果使用常规的液氮研磨法,要求操作快速且重点避免材料在研磨过程中的反复融化,其破壁效率短期能够达到 70% 左右,但缺点在于操作繁琐,尤其表现在待处理的样品较多时;而超声破碎法(15 s/5 s, 3 次)可以达到 100% 以上的破壁率,而且对各时期的细胞都非常有效。通过比较,我们最终选择了破壁效率相对较高、操作相对简便的超声破碎法,大大方便了后续的离心和比色操作。欧阳琴等报道认为高压均质法最适合用于雨生红球藻厚壁孢子的破碎和虾青素的提取^[27],但对大规模提取来说,这种方法显然不太实用。



图版 II Plate II

1. 空白组; 2. 处理 1; 3. 处理 2; 4. 处理 3; 5. 处理 4; 6. 经超声波破壁后的细胞内色素颗粒显微图谱,放大倍数 400 ×

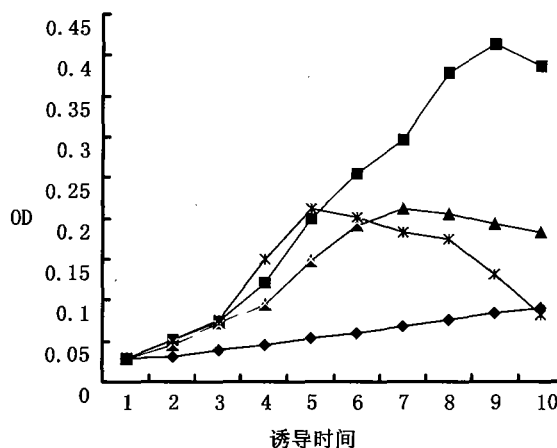


图 1 诱导培养过程中空白组和各处理组样品中虾青素含量的测定结果
Fig. 1 The results of astaxanthin content change trends of blank as well as four different treatments during the course of accumulation of astaxanthin.

3.2 化学因子对雨生红球藻快速大量积累虾青素的影响

关于化学因子如何诱导雨生红球藻积累虾青素还存在分歧。Harker 等的研究发现,添加 Fe^{2+} 和 Mn^{2+} 会使雨生红球藻细胞生长停止,并造成细胞形态上的转变。微量的 Fe^{2+} 对于虾青素合成有刺激作用,但浓度过高时则会有抑制效果;添加 Cd^{2+} 可提高类胡萝卜素含量。有研究报道称 Fe^{2+} 在生长率方面可使得类胡萝卜素每单位养殖体积提升,添加醋酸盐或 Fe^{2+} 能使雨生红球藻由营养细胞转为胞囊细胞,并促进虾青素的形成。比较而言, Fe^{2+} 的作用更明显^[8,9]。另外,Kobayashi 等直接证明了双氧水等氧化压力能促进雨生红球藻中虾青素合成,他们认为虾青素可能是适应氧胁迫而产生的^[18,21,22]。陈兴才等认为缺氮培养基对于雨生红球藻细胞累积虾青素最为有利, FeSO_4 和乙酸钠浓度对虾青素的累积无显著性影响^[19]。蒋霞敏等的实验结果表明醋酸盐对红球藻中虾青素积累有促进作用,磷、 Fe^{2+} 对雨生红球藻中虾青素的积累也有明显促进作用。缺磷、缺铁不利于红球藻生长,加速使绿色游动孢子向红色的孢子转变,从而导致虾青素的大量积累。他们认为各种化学因子的胁迫阻碍了细胞的分裂繁殖,使得游动细胞向不动孢子转化,形成胞囊,有利于促进虾青素的积累^[12]。

从单因子来说,当添加合适浓度 Fe^{2+} 或醋酸盐或双氧水这三种化学因子任何一种时,都会促进雨生红球藻积累虾青素^[12,13,18-22]。但这些研究都只停留在生理水平,且以单因子研究居多,很少有涉及多因子的研究报道,也没有从细胞水平上给出更直接的证据。我们从肉眼观察,显微观察和生理生化水平等多角度研究了上述三种化学因子对雨生红球藻中虾青素积累的交互影响。研究表明, Fe^{2+} 和醋酸盐组合能使雨生红球藻完成虾青素积累的周期比空白对照大幅缩短了 77%,产量小幅下降 7.4% 的原因,推测可能是因为这两种化学因子使藻细胞白化,自溶或死亡所致。这比以往的报道更直观,更有说服力。

3.3 虾青素积累过程中藻细胞内的总可溶蛋白变化

有关雨生红球藻在积累虾青素过程中总可溶蛋白含量的变化,仅有 Kobayshi 在上世九十年代初测得雨生红球藻在积累虾青素过程中蛋白质含量下降^[18],但没有更深入的研究。我们对此用 SDS-PAGE 电泳进行了系统研究。电泳结果说明,随着雨生红球藻中虾青素积累,细胞内可溶性蛋白含量逐渐减少。另外,诱导过程中,还有个别蛋白大量表达,如图 2 中的 a、b、c、d、e 就分别在不同诱导时期大量表达。它们中有的是在绿色游动细胞中就有少量表达的,如 b、d、e;而有的是在不同诱导的时期中大量特异表达的蛋白,如 a 和 c。

推测原因如下:首先,由于营养盐缺乏,所以氮元素和碳元素以及一些大量元素是缺乏的,在此情况下,蛋白质的合成必然受到制约。据报道 GSSG 是蛋白质合成的有效抑制剂,在严重氧化胁迫时,胞内积累的 GSSG 可阻止蛋白质合成^[29]。其次,在诱导过程中细胞内必然会产生大量的自由基,其可与蛋白质结合,使其结构性能发生改变,当蛋白质被打靶后可能产生两种结果:蛋白质断裂为分子量更小的产物;另一种是可能通过交联形成分子量更大的产物^[30,31]。

在逆境诱导条件下,虾青素积累的同时伴随着蛋白质减少,这种减少一方面是由于逆境的破坏,但从虾青素的合成和蛋白质代谢过程来看,蛋白质的代谢产物为虾青素的合成提供了起始物和原料,同时

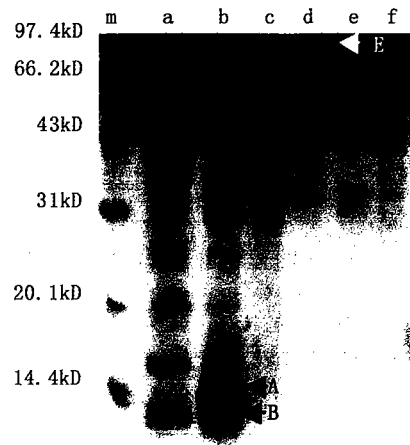


图2 诱导培养过程中处理 1 样品细胞中总可溶性蛋白含量的变化趋势电泳图谱。

Fig. 2 SDS - PAGE pictures of change trends of total soluble protein in the treatment 1 during the course of accumulation of astaxanthin.

泳道 m - f 分别代表标准蛋白;绿色游动细胞;绿色不动细胞;诱导 3 天的藻细胞;诱导 6 天的藻细胞;诱导 9 天的藻细胞和红色不动藻细胞样品。

它的代谢产物也从分子水平调控着虾青素的合成和蛋白质的降解,为支持虾青素的大量积累而需要连续合成蛋白质^[32]。因此,在生产上利用 N 饥饿诱导雨生红球藻大量积累虾青素的方法并不一定可取,因此找到一种诱导雨生红球藻大量积累虾青素的理想条件还有很多工作要做。

参考文献:

- [1] Lee Y K, Soh C W. Accumulation of astaxanthin in *Haematococcus lacustris* (Chlorophyta) [J]. J Phycol, 1991(27): 575 - 577.
- [2] Grung M, DSouza F M L, Borowitzka A. Algal carotenoids 51. Secondary carotenoids. *Haematococcus lacustris* aplanospores as a source of (3S,3S)-astaxanthinesters [J]. J Appl Phycol, 1992(4): 165 - 171.
- [3] Boussiba S. Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: cellular physiology and stress response [J]. Physiol Plant, 2000, 108(2): 111 - 117.
- [4] Domínguez-Bocanegra A R, Gurrero L I, Martínez J F, et al. Influence of environmental and nutritional factors in the production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* [J]. Bioresour Technol, 2004, 92(2): 209 - 214.
- [5] Wang B, Zarka A, Trebst A, et al. Astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) as an active photoprotective process under high irradiance [J]. J Phycol, 2003, 39(6): 1116 - 1124.
- [6] Zhang X W, Gong X D, Chen F. Kinetic models for astaxanthin production by high cell density mixotrophic culture of the microalga *Haematococcus pluvialis* [J]. J Industrial Microbiology Biotechnology, 1999, 23(1): 691 - 696.
- [7] Fan L, Vonshak A, Boussiba S. Effect of temperature and irradiance on growth of *Haematococcus pluvialis*. (chlorophyceae) [J]. J phycol, 1994, 30(5): 829 - 833.
- [8] Harker M, Young A J. Inhibition of astaxanthin synthesis in green alga, *Haematococcus pluvialis* [J]. Euro J Phycol, 1995, 30(1): 179 - 187.
- [9] Harker M, Tsavals A J, Young A J. Factor responsible for astaxanthin formation in Chlorophyte *Haematococcus pluvialis* [J]. Bioresour Technol, 1996, 55(3): 207 - 214.
- [10] Boussiba S, Fan L, Vonshak A. Enhancement and determination of astaxanthin in green alga *Haematococcus pluvialis* [J]. Meth Enzymol, 1992, 213: 386 - 391.
- [11] Lu F, Vonshak A, Boussiba S. Effect of temperature and irradiance on growth of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) [J]. J of Phyco, 1994, 30(5): 829 - 833.
- [12] 蒋霞敏, 柳敏海, 任凯来. 化学因子对雨生红球藻诱变株虾青素积累的调控 [J]. 宁波大学学报(理工版), 2005, 18(3): 306 - 312.
- [13] 应巧兰, 叶勇. 影响雨生红球藻 797 株生长和虾青素积累的某些因素 [J]. 应用与环境生物学报, 2002, 8(1): 56 - 60.
- [14] Kobayashi M, Kurimura Y, Tsuji Y. Light-independent astaxanthin production by the green microalga *Haematococcus pluvialis* under salt stress [J]. Biotechnol Lett, 1997, 19(6): 507 - 509.
- [15] Borowitzka M A, Huisman J M, Osborn A. Culture of the astaxanthin-producing green alga *Haematococcus pluvialis* [J]. J Appl Phycol, 1991, 3(11): 295 - 304.
- [16] Tjahjono A E, Hayama Y, Kakizono T, et al. Hyper-accumulation of astaxanthin in a green alga *Haematococcus pluvialis* at elevated temperatures [J]. Biotechnol Lett, 1994, 16(2): 133 - 138.
- [17] Kobayashi M, Kakizono T, Nagai S. Astaxanthin production by a green alga, *Haematococcus pluvialis*, accompanied with morphological changes in acetate media [J]. J Ferment Bioeng, 1991, 71(5): 335 - 339.
- [18] Kobayashi M, Kakizono T, Nagai S. Enhanced carotenoid biosynthesis by oxidative stress in acetate-induced cyst cells of a green unicellular alga, *Haematococcus pluvialis* [J]. Appl Environ Microbiol, 1993, 59(3): 867 - 873.
- [19] 陈兴才, 黄伟光, 欧阳琴. 雨生红球藻的培养及虾青素累积条件的探讨 [J]. 福州大学学报, 2005, 33(2): 359 - 363.
- [20] Sandmann, G. Genetic manipulation of carotenoid biosynthesis: strategies, problems and achievements, Trends Plant Sci, 2001, 6(1): 14 - 17.
- [21] Kobayashi M, Kakizono T, Nishio N, Nagai S, Tsuji Y. Antioxidant role of astaxanthin in green alga *Haematococcus pluvialis* [J]. 1997, Appl Microbiol Biotechnol, 48(3): 351 - 356.
- [22] Kobayashi M, Kurimura Y, Tsuji Y. Light-independent astaxanthin production by the green alga *Haematococcus pluvialis* under salt stress [J]. 1997, Biotechnol Lett, 19(6): 507 - 509.
- [23] Kobayashi M, Hirai N, Kurimura Y et al. Abscisic acid-dependent algal morphogenesis in the unicellular green alga *Haematococcus pluvialis* [J]. Plant Growth Regul, 1997, 22(2): 79 - 85.
- [24] Kobayashi M. In vivo antioxidant role of astaxanthin under oxidative stress in the green alga *Haematococcus pluvialis* [J]. Appl Microbiol biotechnol, 2000, 54(4): 550 - 555.

- [25] Boussiba S, Vonshak A. Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis* [J]. *Plant Cell Physiol*, 1991, 32(7): 1077 - 1082.
- [26] 谷瑞升, 刘群录, 陈雪梅, 等. 木本植物蛋白提取和 SDS-PAGE 分析方法的比较和优化[J]. *植物学通报*, 1999, 16(2): 171 - 177.
- [27] 欧阳琴, 陈兴才, 黄亚治. 雨生红球藻提取虾青素不同机械破壁方法[J]. *福州大学学报(自然科学版)*, 2005, 33(1): 111 - 115.
- [28] Margalith P Z. Production of ketocarotenoids by microalgae [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1999, 51(4): 431 - 438.
- [29] 张兆霞, 朱红平, 葛敏. 单线态氧引起的蛋白质损伤研究[J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2005, 23(2): 77 - 78.
- [30] 李培峰, 方允中. 活性氧对蛋白质的损伤作用[J]. *生命化学*, 1994, 14(6): 1 - 2.
- [31] 林文洁, 陈丽晖. 植物体中的自由基[J]. *海南大学学报(自然科学版)*, 1998, 16(4): 370 - 375.
- [32] Steinbrenner J, Linden H. Regulation of two carotenoid biosynthesis genes coding for phytoene synthase and carotenoid hydroxylase during stress-induced astaxanthin formation in the alga *Haematococcus pluvialis* [J]. *Plant Physiol*, 2001, 125(2): 810 - 817.

《水产学报(1964 - 2006)》光盘版征订启事

《水产学报》是由中国水产学会主办、上海水产大学承办的以水产科学技术为主的学术性刊物。《水产学报》主要反映我国水产科学研究成果及发展方向,为国内外水产学术交流服务。主要刊载水产基础研究、水产养殖和增殖、渔业水域环境保护、水产品保鲜加工与综合利用、渔业机械仪器等方面的论文、研究简报和综述。所发表的论文主要是国家自然科学基金、国家攀登计划、国家“863”和“973”计划、国家重点科技攻关、“长江学者计划”和国际合作研究等重大项目的研究成果,代表了我国水产学科的学术水平和发展动向,反映了我国水产科技研究的新成果、新思路。是广大从事水产专业的科研人员、生产管理人员和高校师生推广成果、探讨学术的一块园地,在科研和教学中具有重要的参考作用。《水产学报》已加入了清华大学(光盘版)电子刊物数据库、万方数据网络中心以及中文科技期刊数据库,读者在阅读纸质杂志的同时,还可以在网络上查询《水产学报》的电子刊物。《水产学报》作为文献源被《化学文献》(CA)、《水科学和渔业文摘》(ASFA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、《中国科学引文索引》、《中国生物学文摘》、《中国水产文摘》等众多国内外检索期刊收录。《水产学报》获得第1-4届“百种中国杰出学术期刊”称号,并于2006年获“精品期刊项目”资助。

现为了便于广大作者及读者的保存和查阅,编辑部将《水产学报》自1964年创刊至2006年底已出版的所有杂志编辑成具有分类、关键词、作者、出版时间等检索途径和打印功能的全文数据库光盘,定价为50元(含邮费),如需要购买,请与编辑部联系。另外,对已购买过旧版光盘的读者,编辑部将提供免费升级服务,请读者主动与编辑部张美琼老师联系。

联系地址:上海市军工路334号,上海水产大学48信箱

邮编:200090

电话:021-65678640

E-mail: jfc@shfu.edu.cn