

硒胁迫对小球藻的生物学影响

肖俊超¹, 郑丽丹¹, 李德立², 陈静², 黄志勇^{1*}

(1. 集美大学生物工程学院, 福建 厦门 361021;

2. 厦门鹰君保健食品有限公司, 福建 厦门 361021)

摘要:以0、5、10、20、30 mg/L 硒(亚硒酸钠)分别对小球藻进行胁迫培养,研究不同浓度硒胁迫对小球藻生物量、细胞内硒含量、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性和超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响。结果表明:高浓度(30 mg/L)硒胁迫将促使小球藻提早进入衰亡期;藻细胞内硒含量、GSH-Px 酶活性随硒胁迫浓度的增加而增大,硒添加浓度为5、10、20和30 mg/L时,GSH-Px 酶的活性分别是对照组的5.59、6.98、11.32和11.52倍;而只有当硒胁迫浓度达到20 mg/L以上时,才会导致SOD酶活性显著增大。此外,采用尺寸排阻色谱与电感耦合等离子体质谱联用(SE-HPLC-ICP-MS)技术对藻细胞内硒结合形态进行分析,发现了硒有3种主要的结合形态。

关键词:小球藻; 硒; 谷胱甘肽过氧化物酶; 超氧化物歧化酶

中图分类号: S 945.14; S 945.78

文献标识码: A

自 Schwarz 和 Ffolts 发现硒是人体必需的微量元素以来,科学家对硒的研究日益广泛和深入^[1-3]。我国于1965年首次展开了亚硒酸钠预防克山病的研究,并取得了令人瞩目的成果^[4]。此后,研究人员陆续发现硒的其它生物活性功能,如缺硒易导致心脏病、甲状腺机能不全和免疫系统损伤^[5];硒可以阻止 HIV 病毒的复制,并减缓艾滋病感染者向获得性免疫缺陷症(AIDS)的进一步发展^[6]。虽然硒具有如此多的生物活性功能,但无机硒却具有毒性,其使用剂量和范围都受到严格的限制。因此,只有转化为有机硒,才具有食用和保健的价值。目前有机硒大多采用动植物或微生物的转化方式来获取^[7-8]。大量的研究表明,硒可参与藻细胞的生理过程,并可通过藻类的富集作用及沿食物链传递,对海洋动物乃至人类产生重要的影响^[9-10]。

小球藻(*Chlorella vulgaris*),属绿藻门(Chlorophyta),绿球藻目(Chlorococcales),小球藻属(*Chlorella*)。藻体含有丰富的蛋白质、氨基酸、不饱和脂肪酸、维生素和矿物质等,又因其易培养

且生长周期短,有希望成为生物制取有机硒的理想途径^[11]。然而,目前对富硒小球藻的研究还比较少^[12-13],对硒胁迫下小球藻的生长影响的报道更少^[14-15]。

实验以小球藻为材料,考察不同浓度硒对小球藻生长的影响,并进一步研究硒胁迫对小球藻生理学参数(生物量、细胞内硒含量及形态、GSH-Px 和 SOD 酶活性等)的影响,这不仅有助于阐明小球藻对硒胁迫的适应机制,也为富硒小球藻的开发提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 小球藻的硒胁迫培养

小球藻藻种:由集美大学水产学院周立红教授提供,本实验室保种并扩大培养。将沙滤海水(取自集美水产养殖场)用电炉加热至微沸灭菌10 min,冷却至室温。培养液由灭菌海水以及营养液[KNO₃:0.5 g/L、KH₂PO₄:0.02 g/L和VB₁:0.3 mg/L、VB₁₂:1.0 mg/L及改良f/2(不含

收稿日期:2010-10-24 修回日期:2011-01-06

资助项目:国家自然科学基金项目(40771185);福建省科技计划重点项目(2007Y0028);福建省基金项目(2009J01034);集美大学创新团队基金资助项目(2010A007)

通讯作者:黄志勇,E-mail:zhyhuang@jmu.edu.cn

硅及氮磷配方):0.2 mL/L]组成^[16]。藻种悬浮液与培养液以1:50(V/V)的比例接种,在PGX多段光照培养箱(宁波莱福科技有限公司)中扩大培养温度为(25±1)℃,泵入净化空气,光照度为2 500 lx(24 h光照)。待培养至对数生长期($A_{678\text{nm}}=0.3$)(UV-2100紫外分光光度计,北京莱伯泰科仪器有限公司),将藻液分装到已杀菌的250 mL三角瓶中,每瓶装200 mL藻液,加入 Na_2SeO_3 使Se(IV)的终浓度分别为0.5、10、20和30 mg/L,每个浓度平行3份。吸光度($A_{680\text{nm}}$)与细胞密度(ρ)的关系为 $\rho=38.218A-0.205$ ($R^2=0.998$),由此计算单位体积培养液的藻细胞数。

1.2 细胞内硒含量的测定

取5 mL藻液,离心(4 000 r/min, 10 min)(2-16型高速离心机,德国SIGMA公司),超纯水清洗3次、离心收集藻泥,分别加入3 mL硝酸和1 mL H_2O_2 微波消解,电热板赶酸,参照李连平等^[17]的方法,用氢化物发生原子荧光光谱法(AF-640原子荧光光谱仪,北京瑞利分析仪器公司)测定小球藻细胞内硒的含量。

1.3 GSH-Px酶活性的测定

取湿藻泥,按1:10(W/V)与10 mmol/L Tris-HCl混匀并在冰浴下超声波细胞破碎9 min(Scientz-II D型超声波细胞粉碎机,宁波新芝生物科技股份有限公司),冷冻(4℃),离心(12 000 r/min, 20 min)(Eppendorf高速离心机:德国SIGMA公司)后取上清液,参照文献^[18]的方

法,采用DTNB显色测定小球藻中GSH-Px活性。

酶活力单位定义:1 mL小球藻液于37℃、pH 6.5条件下反应1 min,扣除非酶反应后,使GSH浓度下降1 μmol为1个酶活力单位。

小球藻GSH-Px(U) =

$$\frac{[\text{GSH}]_{\text{非酶管}} - [\text{GSH}]_{\text{样品管}} + [\text{GSH}]_{\text{试剂空白}}}{5(\text{min}) \times 0.4(\text{mL}) \times \text{蛋白浓度}(\text{g/mL})}$$

1.4 SOD酶活性的测定

按1.3的方法获得破碎藻液,采样邻苯三酚自氧化法^[19]测定SOD酶活性。

酶活力单位定义:在25℃恒温条件下,每毫升反应液每分钟抑制邻苯三酚自氧化率达50%的酶量定义为1个酶活力单位。

小球藻SOD(U) = $\frac{\text{自氧化速率} - \text{样液速率}}{\text{自氧化速率}} \times$

$$\frac{100\%}{50\%} \times \text{反应液总体积} \times \frac{\text{样液稀释倍数}}{\text{样液体积}}$$

1.5 硒形态的凝胶色谱(SE-HPLC)与ICP-MS联用分析

破碎藻液过0.45 μm/min水相滤膜,用凝胶色谱柱(SEC)(TSK-gel,日本)分离(HP1200高效液相色谱仪,美国Agilent公司),经DAD检测其紫外吸收信号后,用聚四氟乙烯管连接至电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)(7500a,美国Agilent公司),检测样品的硒信号^[20]。仪器工作参数见表1。

表1 HPLC和ICP-MS的工作参数
Tab.1 Working parameters of HPLC and ICP-MS

ICP-MS		HPLC	
发射功率(W) RF power	1 450	色谱柱 analytical column	G3000PWx1,7.8 mm i. d. ×300 mm,6 μm
雾化器 nebulizer	Barbington	流动相 mobile phase	10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0
载气流速(L/min) flow rate of carrier gas	1.21	流速(mL/min) flow rate	1.00
采样深度(mm) sampling depth	6.6	进样体积(μL) injection volume	20
驻留时间(s) dwell time	0.1	检测波长(nm) detection wavelength	254
测定同位素 monitored isotope	⁷⁸ Se		

1.6 数据统计

用SPSS 13.0软件对数据进行方差分析,以判别其差异性。

2 结果

2.1 硒胁迫对小球藻生长的影响

表2是培养至76 h,不同浓度硒胁迫下小球藻吸光度值与对照组的单因素方差分析结果,由

于 $P(0.254) > 0.05$,表明各组间无显著性差异。进一步采用任意两组间的多重方差比较(multiple comparisons),结果也表明各浓度硒胁迫下藻液的吸光度值与对照组均无显著性差异,说明在培养初期不同硒浓度对小球藻的生长无显著的促进或抑制作用。但如图1所示,随着培养时间的延长,30 mg/L硒胁迫下的小球藻在125 h时生物量达到最大,而后藻细胞却很快进入衰亡期;20 mg/L

硒胁迫下小球藻需到 210 h 后才会进入衰亡期;而小于 20 mg/L 硒胁迫下的小球藻在实验结束时仍未进入衰亡期。

含量增加到 $(1.189 \pm 0.030) \mu\text{g}/10^7 \text{ cell}$,但由于高浓度硒对藻体生长的抑制,藻细胞密度下降,最终造成有机硒转化率仅为 $(8.41 \pm 0.21) \%$ 。

表 2 单因素方差分析
Tab. 2 Analysis of One-Way ANOVA

	sum of squares	df	mean square	F	显著性 Sig.
组间比较 between groups	0.014	4	0.004	1.578	0.254
组内比较 within groups	0.023	10	0.002		
总计 total	0.037	14			

2.2 小球藻富硒水平及有机硒转化率

表 3 的结果表明,藻细胞内硒含量随硒胁迫浓度的增加而增大,而藻细胞对无机硒的转化率却随硒胁迫浓度的增大而降低。当硒胁迫浓度为 5 mg/L 时,胞内硒含量为 $(0.309 \pm 0.017) \mu\text{g}/10^7 \text{ cell}$,藻细胞对无机硒的转化率可达到 $(16.14 \pm 0.93) \%$;而当硒胁迫浓度为 30 mg/L 时,虽胞内硒

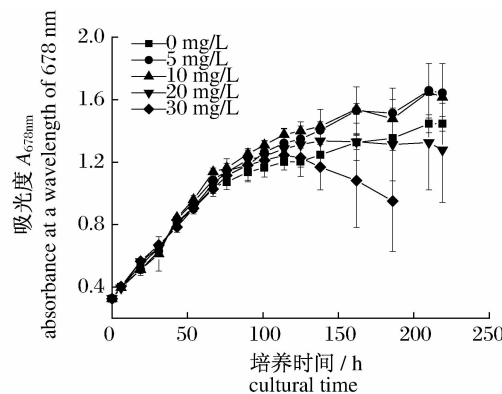


图 1 不同浓度硒对小球藻生长的影响

Fig. 1 Growth of *C. vulgaris* exposed to selenium at different concentrations

2.3 硒胁迫对小球藻 GSH-Px、SOD 活性的影响

如图 2-A 所示,与对照组相比,所有硒胁迫组

表 3 小球藻的硒含量及有机硒转化率

Tab. 3 Se contents in *C. vulgaris* and conversion rates of organic selenium

硒胁迫浓度 (mg/L) stressed Se concentrations	细胞密度 ($\rho, 10^7/\text{mL}$) cell densities	硒含量 ($\alpha, \mu\text{g}/10^7 \text{ cell}$) cellular Se contents	硒含量 ($\beta, \text{mg/L}$) Se contents	转化率 ($\eta, \%$) conversion rates
0	2.63	0.027 ± 0.003^a	0.014 ± 0.002^a	—
5	2.61	1.546 ± 0.011^b	0.807 ± 0.006^b	16.14 ± 0.11^a
10	2.38	2.498 ± 0.010^c	1.182 ± 0.005^c	11.82 ± 0.04^b
20	2.30	4.357 ± 0.017^d	2.001 ± 0.008^d	10.00 ± 0.04^c
30	2.12	5.949 ± 0.037^e	2.524 ± 0.016^e	8.41 ± 0.05^d

注:表中同一列数据不同字母表示存在显著性差异 ($P < 0.05$)。 $\eta(\%) = \frac{\beta}{\text{硒胁迫浓度}} \times 100$ 。

Notes: Data in the same column with different superscript letters mean significant differences at $P < 0.05$. $\eta(\%) = \frac{\text{Se content}}{\text{Se concentration}} \times 100$.

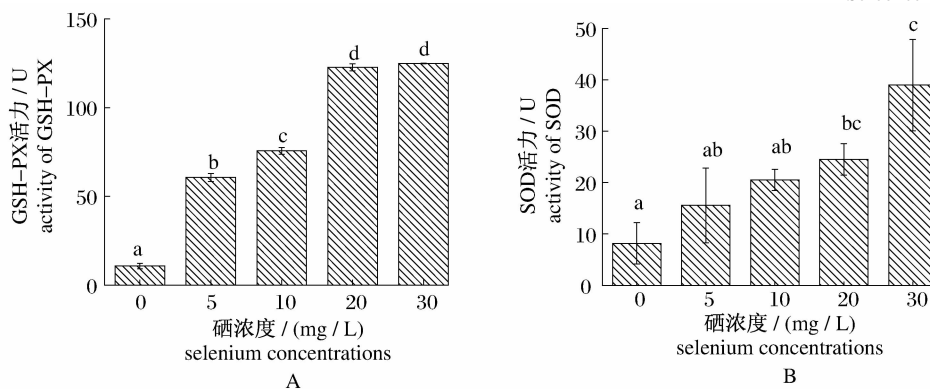


图 2 不同浓度硒胁迫下小球藻 GSH-Px 和 SOD 酶的活性

图中不同字母表示存在差异性显著 ($P < 0.05$)。

Fig. 2 Activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase of *C. vulgaris* exposed to selenium at different concentrations

Different superscript letters mean significant differences at $P < 0.05$.

小球藻 GSH-Px 活性都比对照组有显著地增大 ($P < 0.05$), 且在 $0 \sim 20$ mg/L 范围内随着硒胁迫浓度的增大而增大。例如, 当添加浓度为 5 mg/L 时, 小球藻的 GSH-Px 酶活性是对照组的 5.59 倍; 当硒胁迫浓度达到 20 mg/L 时, GSH-Px 酶活性为对照组的 11.36 倍; 当进一步加大硒胁迫浓度时, GSH-Px 酶活性变化不明显。与 GSH-Px 酶活性的变化相似, 当硒胁迫浓度达到 20 mg/L 时也导致 SOD 酶活性显著地增大 ($P < 0.05$), 但硒

胁迫浓度较小 (< 20 mg/L) 时, SOD 酶活性变化不显著 (图 2-B)。

2.4 硒形态的 SE-HPLC-ICP-MS 分析

从图 3-A 中可以发现小球藻细胞内主要存在 3 种有机硒结合形态, 且这 3 种硒结合形态在图 3-B 中都可以找到与之对应的紫外吸收信号峰。由此可见小球藻可以将无机硒转化为有机硒形态。此外, 随着硒胁迫浓度的增大, 小球藻细胞内 3 号峰位置的硒形态含量也明显地随之增加。

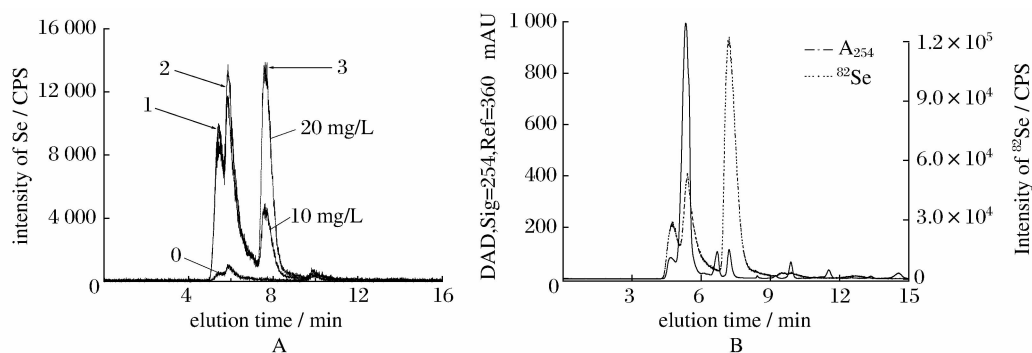


图3 SE-HPLC-ICP-MS 色谱图

A. 不同浓度硒胁迫下的 SE-HPLC-ICP-MS 色谱图; B. 20 mg/L 硒胁迫下小球藻的 SE-HPLC-ICP-MS 色谱图。

Fig. 3 SE-HPLC-ICP-MS chromatograms

A. *C. vulgaris* exposed to different concentrations of Se; B. *C. vulgaris* exposed to 20 mg/L Se.

3 讨论

表 2 的结果说明, 在硒胁迫初期 (76 h), 硒对藻细胞的生长并不会产生明显的促进或抑制作用, 高浓度硒的生物学毒性需在胁迫至一定时期才会显现 (图 1)。目前关于硒胁迫对小球藻生长的影响研究报道有较大差异。例如, 吕蓉等^[14]使用 Na_2SeO_4 对小球藻进行胁迫培养, 发现当硒浓度大于 12 mg/L 时, 藻体就停止生长; 刘少华等^[11]报道 25 mg/L 硒将对异养小球藻的生长产生明显的抑制作用; 而 CHEN 等^[15]发现 50 mg/L 的硒也能促进小球藻的生长, 只有当硒浓度达到 500 mg/L 时才对藻细胞的生长产生抑制作用。造成这种差异可能是由于硒源、培养介质、光照周期以及选取藻种的不同等因素造成的^[21]。事实上硒对小球藻的生物学毒性不仅与硒添加的浓度有关, 还与硒在小球藻细胞内的积累程度有关。本实验的研究也发现, 在同一浓度硒胁迫下, 小球藻胞内硒含量将随着培养时间的延长而增加。这说明在培养初期, 当细胞内硒浓度较低还不足以干扰藻细胞正常的生命活动时, 藻细胞生长不受

外源硒胁迫的干扰; 而随着培养时间的延长, 当胞内的硒浓度逐渐增大并达到其毒性阈值时, 将导致藻细胞死亡。

关于硒对小球藻生长的胁迫机制目前还不十分明确, 可能与藻细胞中的硫 (S) 有关。因为藻类同化 Se (IV) 的途径与同化 S 基本相似。在植物体内硒可部分取代巯基 (-SH) 中的硫, 产生硒代氨基酸参与蛋白质的合成, 从而引起蛋白质空间结构和功能的改变, 扰乱了细胞的正常生命过程而产生硒毒害^[22]。WU 等^[23]的研究结果也表明, 植物蛋白质中硒的含量与硒抑制植物生长成正比, 硒对植物的毒性是硒同化后在蛋白质水平上起作用的。而本试验中 SE-HPLC-ICP-MS 的分析结果也表明, 小球藻细胞在硒胁迫下确实形成了几种有机硒化合物, 说明硒参与了藻细胞的生命过程。因此, 在富硒小球藻的开发中为了获得富硒藻体, 需严格控制硒胁迫浓度和藻体培养时间, 以防藻体死亡。

由于硒半胱氨酸是谷胱甘肽过氧化物酶的活性中心^[24-25], 实验测定了不同浓度硒胁迫下小球藻中谷胱甘肽过氧化物 (GSH-Px) 酶活性的变化。

图 2-A 的结果表明,所有硒胁迫小球藻的 GSH-Px 酶活性都比对照组有显著的增大($P < 0.01$),且随着硒胁迫浓度的增大而显著增加。这一结果与之前的报道相一致,如陈思嘉等^[13]使用硒胁迫钝顶螺旋藻时,也发现 GSH-Px 酶活性与硒胁迫强度密切相关,且藻体 GSH-Px 酶活性随着硒胁迫浓度增大而增大。而只有当硒胁迫浓度达到一定量时,才导致小球藻 SOD 酶显著性地增大(图 2-B)。由于 SOD 酶本身并不含硒,目前普遍认为硒(IV)能催化产生自由基,因而需要更多的 SOD 酶清除产生的自由基。硒对 SOD 酶活性的影响也可能是通过其与 GSH-Px 等抗氧化酶协同作用的结果。PELAH 等^[26]将在 Na_2SeO_3 中处理 6 d 的淡水绿藻转入无硒介质中培养,经 Western-blotting 试验结果发现 GSH-Px 酶和 SOD 酶的电泳条带明显减弱,证明硒胁迫会刺激藻体产生更多的 GSH-Px 与 SOD 酶。

SE-HPLC-ICP-MS 的结果(图 3-A)表明,硒胁迫下的小球藻细胞内存在 3 种主要的有机硒结合形态。与对照组相比,不同硒浓度胁迫下小球藻的紫外吸收信号峰的位置并没有发生明显的变化,且硒的信号峰位置都与对照组中的相应紫外信号相一致,说明硒在小球藻中的结合形态并未改变其紫外吸收信号的位置,此含硒形态可能是硒代氨基酸参与了原有蛋白质的合成并取代了正常的含硫氨基酸,从而形成了“错配”的硒结合蛋白。

此外,图 3-A 表明随着硒胁迫浓度的增加,“3”号峰的硒信号显著增大。结合本实验室之前的研究报道^[20],由于“3”号峰的保留时间与小球藻类金属硫蛋白(Zn-MT-like)的保留时间十分相近,推测该硒形态应为硒结合金属硫蛋白。由于金属硫蛋白富含巯基,更易被硒代氨基酸所取代,因而该硒形态会随硒胁迫浓度的增大而明显地增多。

在本试验条件下小球藻有机硒的转化率可高达 16%,充分说明小球藻可作为有机硒转化的生物载体。而在硒胁迫的过程中,要注意硒胁迫浓度及培养时间的控制,才能获得富含有机硒的小球藻,试验结果为深入研究硒胁迫对小球藻生长的影响及富硒小球藻的开发奠定了实验基础。

参考文献:

[1] PYRZYNSKA K. Selenium speciation in enriched vegetables[J]. Food Chem, 2009, 114: 1183-1191.
[2] 陈彦霖,范艳丽. 硒的生物学功能及富硒食品的研究

进展[J]. 河北农业科学, 2008, 12(9): 99-100, 139.

- [3] 朱明军,梁世中,陈峰等. 富硒小球藻食品的开发[J]. 郑州粮食学院学报, 1999, 20(3): 77-80.
[4] 徐光禄. 硒预防克山病及硒和克山病关系研究进展[J]. 西安医科大学学报, 1997, 18(3): 405-408.
[5] COMBS Jr G F. Food system-based approaches to improving micronutrient nutrition: the case for selenium[J]. Bio Factors, 2000, 12: 39-43.
[6] SCHRAUZER G N, SACHER J. Selenium in the maintenance and therapy of HIV-infected patients[J]. Chem Biol Interact, 1994, 91: 199-205.
[7] 欧阳培,童斌. 富硒蚯蚓含硒蛋白研究[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 1993, 32(6): 795-798.
[8] 李志勇,郭祀远,李琳. 富硒螺旋藻培养技术研究[J]. 水生生物学报, 2001, 25(4): 386-391.
[9] 邓永强,黄小丽. 硒的生物学作用及其在水产上的研究[J]. 中国饲料, 2005, 16: 22-24.
[10] 喻达辉,刘少明. 钝顶螺旋藻对不同无机硒的吸收研究[J]. 海洋学报, 2000, 22(2): 137-141.
[11] 刘少华,蔡小宁,陈舒泛,等. 硒对异养小球藻生长及品质的影响[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(9): 1805-1806.
[12] 杨芳,余景,郑文杰,等. 高硒浓度下两种螺旋藻对 Se(IV) 的吸收和代谢[J]. 食品科学, 2006, 26(11): 51-55.
[13] 陈思嘉,杨芳,郑文杰. 硒剂量对钝顶螺旋藻的生理生化影响[J]. 海洋学报, 2007, 29(6): 88-92.
[14] 吕蓉,张波. 硒浓度对小球藻生长、生物富集的影响[J]. 盐业与化工, 2008, 37(4): 35-37.
[15] CHEN T F, ZHENG W J, LUO Y, et al. Effects of selenium stress on photosynthetic pigment contents and growth of *Chlorella vulgaris*[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(4): 369-373.
[16] 李连平,梁英,黄志勇,等. 小球藻锌结合类金属硫蛋白的提取和分离研究[J]. 食品发酵与工业, 2009, 35(6): 188-191.
[17] 李连平,范威,黄志勇,等. 蔬菜中硒总量及形态的氢化物发生-原子荧光光谱测定方法[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(12): 2975-2978.
[18] 荣征星,刘慧中,鲍景奇,等. 小鼠全血中谷胱甘肽过氧化物酶活力的微量测定法[J]. 生物化学与生物物理学进展, 1994, 21(4): 326-366.
[19] 庞战车,周玫,陈瑗. 自由基医学研究方法[M]. 北京:人民卫生出版社, 2000: 110-112.
[20] HUANG Z Y, LI L P, HUANG G L, et al. Growth-inhibitory and metal-binding proteins in *Chlorella*

- vulgaris exposed to cadmium or zinc [J]. *Aquat Toxicol*, 2009, 9(1): 54–61.
- [21] 刘青, 张晓芳, 李太武, 等. 光照对 4 种单胞藻生长速率、叶绿素含量及细胞周期的影响[J]. *大连水产学院学报*, 2006, 21(1): 24–30.
- [22] 马友华, 丁瑞兴, 张继榛, 等. 植物体内硒和硫的相互作用[J]. *植物生理学通讯*, 2004, 37(2): 161–166.
- [23] WU L, HUANG Z Z. Selenium assimilation and nutrient element uptake in white clover and tall fescue under the influence of sulphate concentration and selenium tolerance of the plants[J]. *J Exp Bot*, 1992, 43(4): 549–555.
- [24] 周志刚. 硒在植物中的作用及代谢途径[J]. *海洋科学*, 1997, 21(3): 39–42.
- [25] 徐辉碧. 硒的化学、生物化学及其在生命科学中的应用[M]. 武汉: 华中科技大学出版社, 1994: 166–167.
- [26] PELAH D, COHEN E. Cellular response of *Chlorella zofingiensis* to exogenous selenium [J]. *J Plant Growth Regul*, 2005, 45(3): 225–232.

Biological effects of *Chlorella vulgaris* under the stress of selenium

XIAO Jun-chao¹, ZHENG Li-dan¹, LI De-li², CHEN Jing², HUANG Zhi-yong^{1*}

(1. College of Bioengineering, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Xiamen Eagle Don Health Protection Foodstuff Co. Ltd., Xiamen 361021, China)

Abstract: *Chlorella vulgaris*, an unicellular microalgae, displays high growth rate under autotrophic and heterotrophic conditions. In addition, *C. vulgaris* has been proved to possess a good tolerance to high levels of Se based on the previous study, which indicates that the alga is a good hatcher for organic selenium conversion. However, few researches on the biological effects such as the alga growth, the Se conversion, the intracellular enzymes and the species of organic selenium of *C. vulgaris* exposed to Se were reported. Hence, some biological effects of the alga after exposure to Se(IV) were investigated in this study. *C. vulgaris* was cultured and exposed to selenium (Na_2SeO_3) at different concentrations (0, 5, 10, 20, 30 mg/L). For investigating the influences of Se on the algal growth and the biochemical effects, the biomass, the intracellular selenium contents, the activities of glutathione peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase (SOD), and the Se species in cells were assayed, respectively. The results showed that high level (30 mg/L) of Se would inhibit the growth or even facilitate the death of the alga. The total intracellular selenium contents, and the activities of GSH-Px increased with the increase of the selenium concentrations. For example, the activities of intracellular enzymes under the stress of Se at 5, 10, 20, 30 mg/L were 5.59, 6.98, 11.32, 11.52 times compared with those of the control groups. But the activities of SOD increased only when the concentration of stressed Se was more than 20 mg/L. Three main species of intracellular selenium, analyzed with a hyphenated method of SE-HPLC-ICP-MS, were found in *C. vulgaris* exposed to Se. About 16% of organic selenium was found to be converted in *C. vulgaris* which is hopeful to be used as a good biohatcher for the conversion of organic selenium.

Key words: *Chlorella vulgaris*; selenium; glutathione peroxidase; superoxide dismutase; organic selenium

Corresponding author: HUANG Zhi-yong. E-mail: zhyhuang@jmu.edu.cn