

盐胁迫对孔石莼的生理生化影响

BIOCHEMICAL AND PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF SALINITY STRESS ON *Ulva pertusa*赵素达¹ 董树刚² 吴以平² 单俊伟²¹ 青岛教育学院 266071)² 青岛海洋大学 266003)

摘要 研究了盐胁迫对孔石莼(*Ulva pertusa*)的生理生化效应。结果表明,随盐度增加,孔石莼细胞膜呈透性,组织中可溶性糖及脯氨酸含量增加;盐胁迫对藻体膜脂脂肪酸的影响表现为,经不同盐度胁迫后,多聚不饱和脂肪酸百分比(Σ PUFA/ Σ FA),平均链长(M.L.C),平均双链数(M.D.B.)均有不同程度的减少。

关键词 盐胁迫,孔石莼,细胞膜透性,可溶性糖,脯氨酸,膜脂脂肪酸

藻类能够耐受广泛的盐度,特别是生活在潮间带的海藻,随着涨潮和落潮的变化,每天经受着露出和淹没的陆水两种环境的变化,露出时暴露在大气中经受干旱失水或雨水浸洗,使盐度迅速增加或减少,淹没时又回到正常的海水中正常生活。这些海藻一天中能够耐受如此大的盐度变化,其耐受机理引起了不少学者的研究兴趣。Hellebust 1976年指出,藻类细胞由泵出和泵入离子或改变胞内单聚和多聚代谢物调节渗透势。Kirst 1977年,Bisson和Kirst 1979年认为当环境中渗透压变小时藻类改变离子浓度进行渗透调节,当渗透压变大时由改变离子和甘露醇浓度进行渗透调节。Kremer 1979年证明红藻不用低分子光合产物作为渗透调节物,Reed等1980年对此提出异议。本文从膜透性,可溶性糖,脯氨酸和膜脂脂肪酸含量的变化研究了盐胁迫对孔石莼的生理生化影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 孔石莼(*Ulva pertusa*) 采自青岛太平角潮间带岩石上,采回后放天然海水中培养1d备用。

1.1.2 海水 取自青岛鲁迅公园海区,取回后

经玻璃纤维滤膜过滤,煮沸10 min,冷却后使用(此时海水盐度为 33.5 ± 0.5)。

1.2 不同盐度培养液的配制

正常海水盐度定为1倍,1.5,2,3,4倍的海水是向消毒天然海水中分别加NaCl配成的,0.5及0.75倍海水是消毒天然海水加蒸馏水配成的。

1.3 盐胁迫实验

取预培养后的孔石莼各5g,分别培养在1L不同盐度的培养液中(培养所用容器为2L容积的玻璃缸),实验期间每3d更换培养液一次,用白色日光灯(光强3500~4000 lx)照光,光照周期L:D=14h:10h,室温培养。

1.4 测定方法

1.4.1 细胞质膜透性参照电导度测量法^[1]测定 (1)取预培养后的孔石莼各0.5g,用吸水纸将其表面海水吸干,然后分别放入不同盐度海水中胁迫150 min,用DIS11A型电导率仪测定处理前后海水电导率的变化。(2)将经过(1)处理的藻体取出,分别用与原胁迫海水等渗的蔗糖溶液洗数次,然后在等渗蔗糖中浸泡30 min,测定处理前后蔗糖溶液电导率的变

收稿日期:2000-02-23;修回日期:2000-03-08

化,以确定孔石莼细胞内电解质的外渗量。(3) 取在不同盐度海水中胁迫 2.5, 4 h 的孔石莼置于正常海水中分别恢复 1 h 和 6 h, 再如上法测定与 1 倍海水等渗的蔗糖溶液电导率的变化, 以确定细胞内电解质外渗量。

1.4.2 可溶性糖的测定 分别取不同盐度胁迫 1, 3, 5 d 的孔石莼各 0.5 g, 放入研钵中加入 5% 的冰醋酸研磨, 于 70 ℃ 的水浴中 0.5 h 提取可溶性糖, 用蒽酮比色法测定^[1]。

1.4.3 脯氨酸含量的测定 取不同盐度胁迫 1, 3, 5 及 2, 4, 6 d 的两批孔石莼各 0.5 g, 加 5% 的冰醋酸于研钵中研磨, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液用茚三酮比色法定^[1]。

1.4.4 膜脂脂肪酸的测定 取在不同盐度中培养 5 d 的藻体, 用蒸馏水冲洗表面, 后用液 N - 70 ℃ 保存, 参照王俊德^[2]等人的方法用高效液相色谱法测定。

2 实验结果

2.1 盐胁迫对孔石莼细胞质膜透性的影响

孔石莼经不同盐度海水胁迫后, 在高盐度海水中海水电导率下降, 在低盐度海水中海水电导率升

高。电导率的改变说明孔石莼细胞与外界海水之间发生电解质交换, 海水电导率变低, 是因藻体从溶液中吸收了离子; 电导率增加, 表明藻体向溶液中释放了离子, 吸收或释放离子的多少随盐度的不同而不同, 当海水相对盐度为 0, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3 时, 其电导率相对增加值分别为 15.3, 12.1, 10.89, 10.9.3, 3.77, 2.60(以正常海水电导率为 10 计)。表明经不同盐度海水胁迫 2.5 h, 孔石莼对离子的吸收是正常的, 细胞透性并无受到大的影响。

为进一步了解盐度对膜透性的影响又把胁迫后的孔石莼放入等渗的蔗糖溶液中 0.5 h 测电解质外渗量, 发现胁迫 2.5 h, 随海水盐度增加, 藻体细胞中电解质外渗量增加, 这是扩散作用的结果。受盐度胁迫 2.5 h, 再在正常海水中恢复 6 h, 经 0.75 倍到 2 倍盐度胁迫的孔石莼, 在蔗糖溶液中电导率增加值与对照相差无几, 恢复情况良好。但在同样盐度下胁迫 4 h 再恢复 6 h, 恢复情况较差(见表 1), 这说明孔石莼受盐度胁迫所具有的耐受性有一定限度, 在一定盐度范围内, 短时间胁迫是可以恢复正常的, 长时间胁迫细胞膜会受到损害。

2.2 不同盐度胁迫后孔石莼组织中脯氨酸及可溶性糖含量的变化

表 1 盐胁迫不同时间相对电导率的变化

Tab.1 The variation of relative conductivity in canesugar solutions when *Ulva pertusa* by various canesugar solutions soaking for 30 min

处理	相对电导率						
	海水的相对盐度						
	0	0.5	0.75	1.0	1.5	2.0	3.0
胁迫 2.0 h(不恢复)	7.44	9.44	9.13	10.00	10.10	10.46	10.72
胁迫 2.5 h, 恢复 6 h	9.72	9.87	10.00	10.00	10.00	10.00	10.05
胁迫 4.0 h(不恢复)	7.10	8.80	8.96	10.00	10.34	11.10	11.50
胁迫 4 h, 恢复 6 h	9.30	9.5	9.90	10.00	10.10	10.73	10.85

注: 正常海水相对电导率作 10。

孔石莼培养在不同盐度中的前 4 d, 组织内脯氨酸均随培养天数的增加而增加, 第 5 到第 6 天藻体脯氨酸含量均出现下降趋势。从每天的情况来看, 生活于低盐度中的孔石莼组织中脯氨酸含量低于对照组, 而生活于高盐度中的孔石莼脯氨酸含量高于对照组。盐度从 0.5 倍到 3 倍, 脯氨酸含量与盐度成正相关, 高于 3 倍后, 其含量急剧下降。

不同盐度胁迫的孔石莼组织中可溶性糖含量的

变化趋势为, 第 5 天大于第 3 天, 第 3 天大于第 1 天, 表现出胁迫时间越长, 可溶性糖含量越多, 每一天的变化趋势与组织中脯氨酸变化趋势相同, 即孔石莼体内可溶性糖含量随盐度的增加而增加。

2.3 盐度对膜脂脂肪酸种类和含量的影响

从表中看出, 除 3 倍盐度外, 不同盐度胁迫后孔石莼的 $\Sigma\text{SAFA}/\Sigma\text{FA}$ (饱和脂肪酸占总脂肪酸的百分比) 均比正常海水中的有所升高。而 $\Sigma\text{PUFA}/\Sigma\text{FA}$ (不

表 2 盐胁迫不同时间不同盐度中孔石莼的脯氨酸及可溶性糖含量

Tab.2 Proline contents and soluble sugar contents in *Ulva pretusa* after different time and different salinities stress

盐度倍数	脯氨酸含量(%)						可溶性糖含量(‰)		
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	1 d	2 d	3 d
0.5	0.125	0.20	0.20	1.0	0.25	0.45	9.5	10.5	11.5
1.0	0.6	1.15	1.58	2.60	0.85	1.65	13.8	15.1	16.2
1.5	1.13	1.40	2.15	3.40	1.44	2.10	15.0	15.6	17.3
2.0	1.23	2.20	3.16	4.10	2.23	3.35	15.4	16.2	19.1
3.0	1.55	3.75	4.42	5.15	3.09	4.10	16.0	17.2	20.1
4.0	0.85	2.75	2.16	4.60	2.50	2.32	18.8	19.6	20.75

表 3 不同盐度中孔石莼脂肪酸的变化

Tab.3 The changes of fatty acid in *Ulva pretusa* after different salinities stress

海水相对盐度	脂肪酸种类数	Σ SAFA/ Σ FA	Σ PUFA/ Σ FA	M.D.B.	M.C.L.
0.75	38	31.39	46.62	1.045	13.073
1.0	35	21.80	70.03	1.879	16.281
1.5	38	26.13	38.82	1.366	13.416
2.0	38	30.10	59.46	1.399	15.385
3.0	18	1.24	1.61	0.031	0.471

饱和脂肪酸占总脂肪酸的百分比)任何盐度胁迫后的孔石莼均比正常盐度下生长的低。

从表中还看出生活于非正常海水中孔石莼脂肪酸平均碳链长(M.C.L.)及平均双链数(M.D.B.)都比生长在正常海水中的少。也就是说盐度增大或减少都会使不饱和脂肪酸减少,使短链饱和脂肪酸增加,双链数减少。

另外本实验表明孔石莼膜脂脂肪酸中含量较高的有软脂酸(160),亚麻酸(18:3),十八碳四烯酸(18:4n3),及油酸(18:1n9),分别占 Σ FA的19.02%,18.56%,11.33%和15.6%。就脂肪酸种类而言,生活于0.75,1.5及2倍海水中膜脂脂肪酸比对照组多出3种脂肪酸(16:3n3,17:1n10及20:0)。生活于3倍盐度中的孔石莼20碳以上的膜脂脂肪酸几乎消失。

3 讨论

3.1 细胞质膜是外界环境与细胞之间的隔膜,离子可以通过自由扩散、主动运输和被动运输等方式进入细胞内。同时不良因子对细胞的影响也是首先作用于膜上,膜受损后最突出的表现即膜透性变大。本实验表明藻体在高盐度海水中由于吸收离子而导致海水电导率下降,在低盐度海水中则由于释放离子而使电导率上升,这主要是由扩散作用引起的。当

把盐胁迫后的孔石莼放入等渗的蔗糖溶液中时,发现细胞内电解质外渗量与胁迫时海水的盐度密切相关,即高盐海水胁迫的藻,随盐度增加,电解质外渗量也增加,这一结果与姚南瑜1983年、1984年所得结果相同。蔗糖溶液电导度的增加是由于藻体最初被动吸收到体内的离子又释放到蔗糖溶液中引起的。当把处理过的孔石莼放到正常海水中恢复后再测其电解质外渗量,发现外渗量减少。处理2.5h又恢复6h后在0.75倍到2倍盐度中胁迫的孔石莼渗透正常,恢复情况良好;但在0,0.5,3倍盐度中胁迫的藻体电解质外渗略有不同,恢复情况稍差,这说明膜受到了一定影响;受不同盐度胁迫4h,各处理组电解质的外渗和对照组均有差异,表明在一定盐度范围内,孔石莼短时间内能够耐受一定的盐度,这是孔石莼和生活于潮间带的其他海藻适应环境的一种共同特性。

3.2 本实验表明在0.5~3倍盐度和0.5~2倍盐度胁迫的孔石莼中,可溶性糖和脯氨酸含量与盐度呈正相关。据Kauss 1973年,1978年报道细胞内渗透势的大小取决于溶质的浓度,脯氨酸和可溶性糖的变化,有利于藻体细胞渗透调节,高盐溶液中可溶性糖及脯氨酸含量增加有利于降低渗透势,低盐溶液中可溶性糖及脯氨酸含量降低又增加了渗透势,从而使藻类适应潮间带变化较大的环境,证明了生活于潮间带的海藻除了可以吸收和累积大量无机离子进行渗透

调节外,还可以通过细胞中有机物的合成及分解进行渗透调节。

3.3 盐胁迫对藻体脂肪酸的种类和数量有不同程度的影响,在低于2倍盐度下胁迫的海藻 Σ SAFA/ Σ FA 有所升高,各种盐度胁迫后孔石莼 Σ PUFA/ Σ FA 及 M.C.L., M.D.B. 的含量有所降低。因此膜脂脂肪酸的变化可作为藻类生长状态好坏的指标,即盐度不适时,饱和脂肪酸含量增加,不饱和脂肪酸含量减少,平均链长及平均双链数减少。

4 小结

孔石莼具有很强的渗透调节能力,经0.75倍到3倍盐度的海水胁迫2.5 h,再回到正常海水中能够恢复正常,这种恢复能力是靠对环境中离子的吸收和

释放以及有机物的合成和分解实现的。

藻体内可溶性糖含量在0.5~3倍海水中,随盐度的增加和培养时间的延长而增加;脯氨酸含量在0.5到2倍盐度范围内随盐度增加而增加。可溶性糖和脯氨酸的变化在渗透调节中起着重要作用。

盐胁迫对孔石莼脂肪酸含量有明显影响,藻体中 Σ SAFA/ Σ FA 低盐度胁迫后有所升高, Σ PUFA/ Σ FA 及 M.D.L., 及 M.L.C. 的含量在正常海水中最高,随盐度增加不同程度降低。

参考文献

- 1 华东师范大学生物系主编.植物生理学实验指导.北京:高等教育出版社,1980.145~147,230~233
- 2 王俊德等.高效液相色谱法.北京:中国石油出版社,1992.291~302

BIOCHEMICAL AND PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF SALINITY STRESS ON *Ulva pertusa*

ZHAO Su-da¹ DONG Shu-gang² WU Yi-ping² SHAN Jun-wei¹

(¹ Education College of Qingdao, 266071)

(² Ocean University of Qingdao, 266003)

Received: Feb., 23, 2000

Key Words: Salinity stress, *Ulva pertusa*, Plasmic permeability, Soluble sugar, Proline, Polyunsaturated fatty acid

Abstract

In this paper the biochemical and physiological effects of salinity stress on *Ulva pertusa* were studied. The result showed that: with salinity increasing, plasmic permeability, contents of soluble carbohydrate and proline were increased; After salinity stress, polyunsaturated fatty acids (PUFA) contents, mean double carbon chain length (M.C.L.) and average of mean double bond (M.D.B.), all were differently reduced.

(本文编辑:刘珊珊)