

硒碲胁迫对两种螺旋藻生长的影响^{*}

郑文杰^{1,2} 贺鸿志¹ 黄 峙^{1,2} 杨 芳¹ 郭宝江²

(¹ 暨南大学 广州 510632)

(² 华南师范大学 广州 510631)

提要 研究了硒(Na_2SeO_3)和碲(Na_2TeO_3)胁迫对钝顶螺旋藻(*Spinalina platensis*)和极大螺旋藻(*Spinalina maximum*)生长的影响。结果表明,两种藻对硒、碲表现出不同的耐性。对于*S. platensis*, $C_{\text{Se}} \leq 200 \text{ mg/L}$ 促进生长, $C_{\text{Te}} < 100 \text{ mg/L}$ 影响不大, $C_{\text{Te}} \geq 100 \text{ mg/L}$ 抑制生长, $C_{\text{Se}} \geq 800 \text{ mg/L}$ 或 $C_{\text{Te}} = 400 \text{ mg/L}$ 藻死亡;而对于*S. maximum*, $C_{\text{Se}} = 25 \text{ mg/L}$ 时促进生长, $C_{\text{Te}} \leq 25 \text{ mg/L}$ 无影响, $C_{\text{Te}} \geq 50 \text{ mg/L}$ 明显抑制生长, $C_{\text{Se}} \geq 800 \text{ mg/L}$ 或 $C_{\text{Te}} \geq 600 \text{ mg/L}$ 则死亡。而在培养周期内分次添加硒、碲,当累计达到 $C_{\text{Se}}(C_{\text{Te}}) = 800 \text{ mg/L}$,两种藻仍能正常生长。表明硒、碲添加方式不同,产生明显不同的效应。

关键词 硒,碲,螺旋藻(*Spinalina*),生物富集,生长

中图分类号 Q945 **文献标识码** A **文章编号** 1000-3096(2003)10-0073-06

分子生物学研究表明,硒(Se)是唯一受基因调控的人体必需微量元素,硒代半胱氨酸被认为是人体必需的第21种氨基酸。硒具有重要的生理功能,硒的缺乏或过剩都将导致多种疾病^[1,2]。研究表明有机态硒毒性低,生物活性高且易为人和动物吸收利用,是安全高效的补硒制剂。利用生物富集和转化途径将无机硒转化为有机硒是开发有机硒的重要途径^[3],许多微生物、植物甚至动物都被作为硒的生物有机化载体进行研究,且已开发出高附加值的富硒产品。螺旋藻(*Spinalina*)是一种高营养价值的多细胞丝状藻,蛋白质含量高达55%~70%,富含多种生物活性物质,且营养均衡,具有很强的医疗保健功能,被誉为“未来最理想的食物”。光合自养的螺旋藻具有生长速度快、培养简便、对无机硒有较强耐性及工业化生产技术成熟等优点,是对硒进行生物有机化的理想载体。然而,过量的硒对生物具有毒性,生物载体对硒胁迫的耐受能力究竟有多大?这方面已有关于硒抑制螺旋藻生长的研究报道,但大多数是关于富硒培养过程中的一般性观察研究报道,且不同作者报道的抑制生长的浓度差异较大,特别是对高硒胁迫下螺旋藻的生长情况缺乏系统研究。另一方面碲与硒同主族,性质相似,1993年欧阳政等曾报道酵母对无机碲的生物有机化作用,并从富碲酵母中检测到含碲氨基酸的存在。对于碲在其他生物体中的富集和转化未见研究报道,因此研究硒、碲胁迫对钝顶和极大螺旋藻生长的影响具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 藻种

钝顶螺旋藻(*S. platensis*)和极大螺旋藻(*S. maximum*)藻种,由暨南大学水生生物研究所藻种室提供。

1.2 培养条件和方法

250 mL三角烧瓶中加入100 mL Zarrouk 培养液,接种螺旋藻并调节 $\text{OD}_{660\text{nm}} = 0.10$,温度 $27 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$,初始 pH 值 8.5,光照强度 4 000 lx,光照时间 24 h/d,定时添加蒸馏水补充水分蒸发,每天摇匀 3 到 5 次。

1.3 硒、碲储备液

1号:100 g/L 硒(碲);2号:10 g/L 硒(或碲)

1.4 硒、碲添加方法

方法1:在9个培养瓶中以接种之日为第1天,第1天分别一次性加硒(或碲)0(对照,CK)、25、50、100、200、400、600、800、1 000 mg/L,组成系列不同硒、碲浓度胁迫实验。

^{*} 教育部重点课题 01141 号和广州市科委基金项目 2001-J01001 号。

第一作者:郑文杰,出生于1957年,博士,教授,主要研究方向:(1)微量元素硒的生物有机化;(2)含硒小分子有序分子膜。E-mail: tzhwj@jnu.edu.cn

收稿日期:2002-07-12;修回日期:2003-02-23

方法 2: 在第 1~8 天每天分别添加硒 (或碲) 25、50、75、100、125、150、175、100 mg/L, 总计 800 mg/L。

方法 3: 每天加硒 (或碲) 100 mg/L, 总计达 800 mg/L。

方法 4: 从第 1 天开始, 每 2 天加硒 (或碲) 200 mg/L, 总计达 800 mg/L。

方法 5: 从第 1 天开始, 每 2 天加硒 (或碲) 100 mg/L, 总计达 800 mg/L。

硒、碲添加浓度少于或等于 100 mg/L 用 2 号液添加, 超过 100 mg/L 用 1 号液添加, 忽略添加液对培养液总体积的影响。

1.5 生长速率曲线的测定

按文献 [4] 的方法每天同一时间在 752 分光光度计上, 1 cm 比色皿, 波长 560 nm 处测定螺旋藻吸光度值 (OD_{560}), 该值即代表螺旋藻的生物量。以时间 T (d) 为横坐标, OD 值为纵坐标, 绘制生长曲线。

2 实验结果与讨论

2.1 硒胁迫对螺旋藻生长的影响

2.1.1 不同浓度硒胁迫对螺旋藻生长的影响 情况 不同浓度硒胁迫 (一次性添加, 即按方法 1 添加) 下 *S. platensis* 和 *S. maximum* 的生长曲线见图 1, 在螺旋藻培养周期 (13 d) 内, 对于 *S. platensis* (图

1-A), $C_{Se} \leq 200$ mg/L 促进生长, 硒浓度 (C_{Se}) 达到 400 mg/L 时在初期抑制后期却促进生长。这与以往的研究认为硒只在低浓度促进 *S. platensis* 生长存在较大差别^[5], 而与最近李志勇等^[6]的研究结果接近。即使 $C_{Se} = 600$ mg/L, 藻在后期生长仍得以恢复, 可能是由于前期部分藻体死亡后消耗了培养液中的硒的缘故, 当 $C_{Se} \geq 800$ mg/L 时, 藻死亡。对于 *S. maximum* (图 1-B), $C_{Se} = 25$ mg/L 促进生长, 大于 50 mg/L 抑制, 达到 600 mg/L 时在培养初期严重抑制而后期藻生长又得以恢复; 超过 800 mg/L *S. maximum* 死亡。关于螺旋藻对硒毒的最大耐受浓度, 与周志刚^[7]报道的 400 mg/L 有很大差别。硒对两种螺旋藻的 96EC₅₀ 分析结果见表 1, *S. platensis* 和 *S. maximum* 的 96EC₅₀ 值分别为 245.8 和 469.9 mg/L, 说明硒对 *S. platensis* 的生长抑制作用比 *S. maximum* 强。

2.1.2 不同加硒方法对螺旋藻生长的影响 4 种不同方法添加硒时 *S. platensis* 和 *S. maximum* 的生长曲线见图 2。对 *S. platensis* (图 2-A), 按方法 2、3 加硒对藻生长影响不大, 按方法 4 则抑制生长。但对 *S. maximum* (图 2-B), 按方法 2、3、4 初期抑制后期却促进藻的生长, 促进作用表现为: 方法 3 > 方法 4 > 方法 2。其中方法 2 的作用较弱, 这可能与方法 2 后期连续加入高浓度硒有关。与方法 1 的情况比较, 其他 3 种

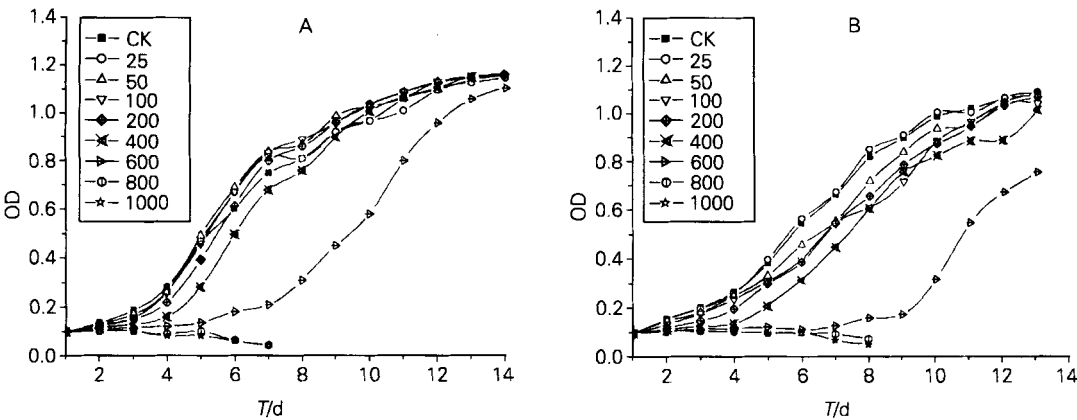


图 1 不同硒浓度 (mg/L) 胁迫下 *S. platensis* (A) 和 *S. maximum* (B) 的生长曲线
Fig.1 The growth curve of *S. platensis* (A) and *S. maximum* (B) under stress of different concentration (mg/L) selenium

表 1 硒对两种螺旋藻的 96EC₅₀ 分析

Tab.1 96EC₅₀ analysis of Se to two kind of *S. platensis* and *S. maximum*

螺旋藻	回归方程	相关系数 (R)	96EC ₅₀ (mg/L)
<i>S. platensis</i>	$m = 23.044\ 35 - 7.548\ 17\ \lg C$	-0.925 42	245.8
<i>S. maximum</i>	$m = 4.055\ 08 - 0.353\ 64\ \lg C$	-0.897 76	469.9

方法加硒累计达到 800 mg/L 时藻均生长良好,说明分次加硒有利于提高两种螺旋藻对硒毒的耐性。尤其是方法 2 更符合螺旋藻生长和生物量增加的规律,即在前期生长缓慢,生物量小,中期生长快,生物量增加迅速。因此在生长前期硒添加量不宜过高,而中期和

后期可适当提高硒浓度。按方法 3 和 4, 分次等量加入,使藻生物量较小的前期受到较高硒浓度的胁迫而不利于生长,而后期出现硒浓度相对不足。

2.2 碲胁迫对螺旋藻生长的影响

2.2.1 不同浓度碲胁迫对螺旋藻生长的影响

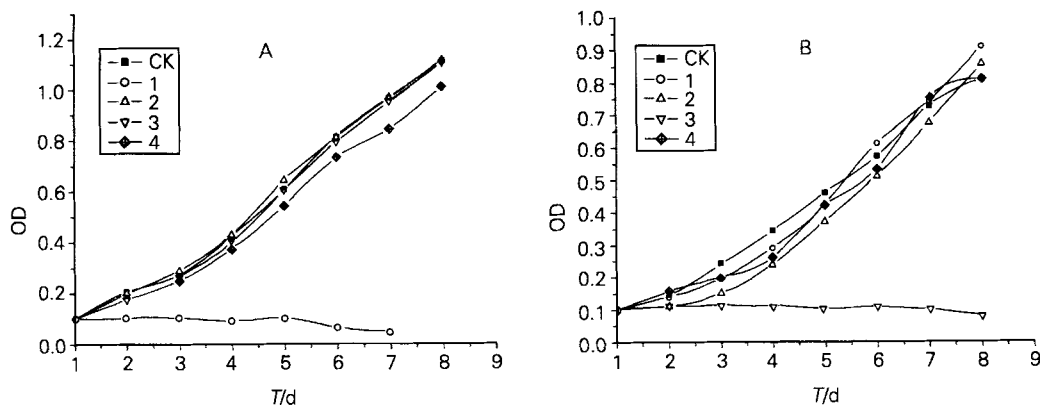


图 2 4 种不同方法添加硒时 *S. platensis* (A) 和 *S. maximum* (B) 的生长曲线

Fig. 2 The growth curve of *S. platensis* (A) and *S. maximum* (B) under stress of selenium added with 4 different measures

不同浓度碲胁迫(按方法 1 添加)下 *S. platensis* 和 *S. maximum* 的生长曲线见图 3, 从图 3 可知对于 *S. platensis*(图 3-A), 低碲对生长影响不大, 25 mg/L 和 50 mg/L 碲浓度(C_{Te})下的生长曲线与对照较接近; $C_{Te} \geq 100$ mg/L 有明显抑制; $C_{Te} \geq 400$ mg/L 藻死亡, 细胞破裂, 内容物溢出。对于 *S. maximum*(图 3-B), $C_{Te} \leq 25$ mg/L 影响不大, $C_{Te} \geq 50$ mg/L 前期抑制生长, 但在后

期又恢复生长; $C_{Te} \geq 600$ mg/L 藻死亡(图 3B)。上述结果表明碲胁迫对螺旋藻生长的影响与硒胁迫类似, 不过在实验浓度范围内没有观察到低碲促进螺旋藻生长的现象, 这可能与硒碲的生化性质差异有关。碲对两种螺旋藻的 96EC₅₀ 分析结果见表 2, *S. platensis* 和 *S. maximum* 的 96EC₅₀ 值分别为 188.4 和 616.9 mg/L, 说明碲对 *S. platensis* 的生长抑制作用比 *S.*

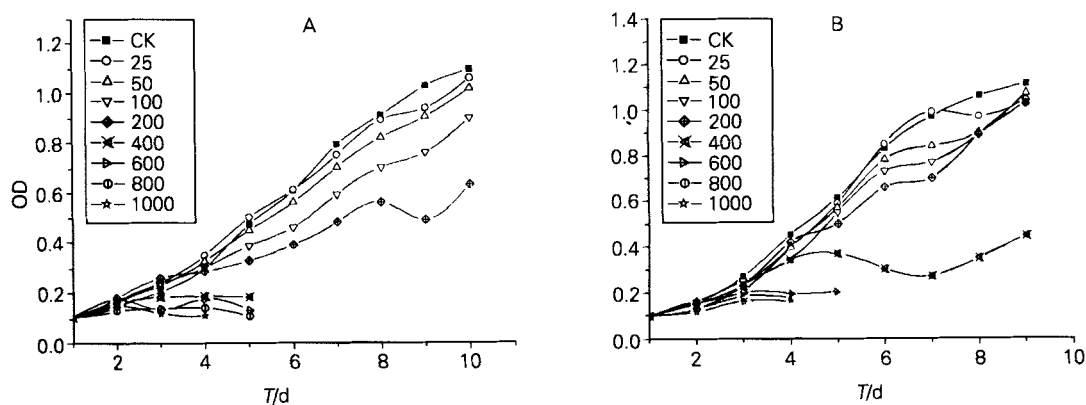


图 3 不同浓度(mg/L)碲胁迫下时 *S. platensis* (A) 和 *S. maximum* (B) 的生长曲线

Fig. 3 The growth curve of *S. platensis* (A) and *S. maximum* (B) under stress of different concentration (mg/L) tellurium

表 2 碲对两种螺旋藻的 96EC₅₀分析

Tab.2 96EC₅₀ analysis of Te to *S. platensis* and *S. maximum*

螺旋藻	回归方程	相关系数(R)	96EC ₅₀ (mg/L)
<i>S. platensis</i>	$m = 11.643\ 53 - 2.920\ 27 \lg C$	-0.981 20	188.4
<i>S. maximum</i>	$m = 8.587\ 43 - 1.285\ 71 \lg C$	-0.974 68	616.9

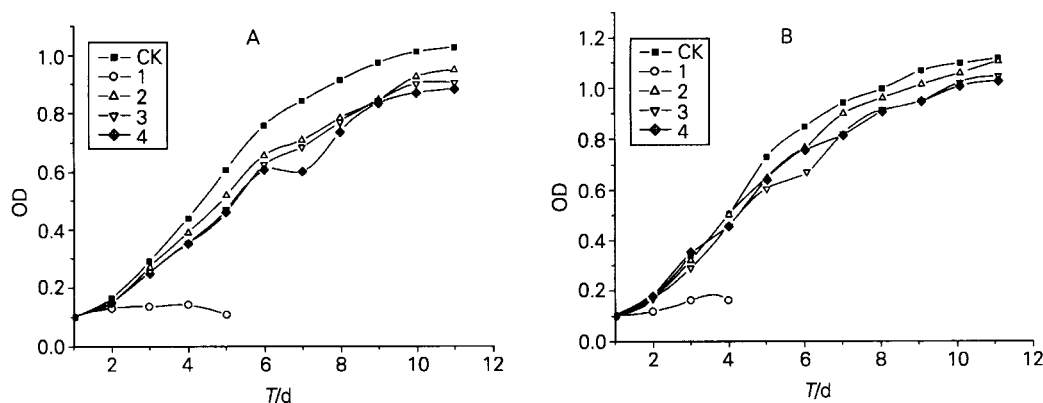


图 4 4 种不同方法添加碲时 *S. platensis* (A) 和 *S. maximum* (B) 的生长曲线

Fig.4 The growth curve of *S. platensis* (A) and *S. maximum* (B) under stress of tellurium added with 4 different measures

maximum 强。

另外,值得提及的是,在实验中发现在碲胁迫下的螺旋藻培养液散发出一种类似蒜味的强烈刺激性的气味。周志刚等^[7]在进行硒化螺旋藻培养时也报道过类似现象,并认为可能是藻细胞通过生理生化过程将亚硒酸根离子转变成易挥发的硒化合物。考虑到碲碲性质的相似性,是否螺旋藻也能将亚碲酸钠转化为挥发性的碲化物还待研究。

2.2.2 不同加碲方法对螺旋藻生长影响情况的比较 4 种不同方法添加碲时 *S. platensis* 和 *S. maximum* 的生长曲线见图 4。从图 4 可知,4 种方法的碲胁迫均抑制两种螺旋藻的生长,而高碲对 *S. platensis* 的生长抑制作用较 *S. maximum* 强,其中按方法 2 添加碲对藻生长最有利,方法 3 又较方法 4 有利。而与方法 1 情况比较,说明分次加碲有利于提高螺旋藻对碲的耐受力,实验发现采收时大部分藻能透过 300 目的丝网,表明分次添加高浓度碲虽然不会使藻死亡,但可能导致藻体发育不正常。方法 2 加碲对螺旋藻生长抑制和藻体的破坏作用比其他方法都小,这与加硒相似。按方法 3 和 4 分次等量添加,使得藻生物量较小的前期受到较高碲浓度的胁迫而不利于生长。

2.3 硒、碲对螺旋藻生长影响的比较

从图 5 和图 6 可知,硒胁迫和碲胁迫对螺旋藻生长的影响情况相似,碲比硒的抑制作用稍强;按方法 3(图 5) 硒、碲均抑制 *S. platensis* 的生长,而对 *S. maximum*,硒抑制作用则比碲稍强。比较图 3 和图 5 还可以发现,按方法 5 分别添加硒、碲对 *S. platensis* 和 *S. maximum* 生长抑制作用显然比方法 3 小;碲对 *S. platensis* 的抑制作用比硒更强,而对 *S. maximum* 则相反。另外,从图 5-A 可知当硒、碲浓度均达到 800 mg/L 后, *S. platensis* 生长曲线明显下降,而 *S. maximum* 则仍能耐受,说明在分次等量硒、碲的情况下, *S. maximum* 对硒、碲的耐受能力比 *S. platensis* 强,这可能与 *S. maximum* 上浮性好,生长速度比 *S. platensis* 快有关。

上述实验结果表明螺旋藻对硒、碲胁迫的耐受力,因藻种及硒、碲添加方法和添加量(浓度)不同而异。且在生长周期的不同时刻,由于螺旋藻的生长速度不同,对硒碲的吸收转化速度呈动态变化。螺旋藻的生长发育及对硒碲的吸收转化是一个复杂的动态过程。在某一时刻加入一定量的硒或碲,而在不同的时刻,不同的藻体实际面临的硒或碲的浓度是不同的。因此,不同的作者所报道的数据有所不同,甚至有

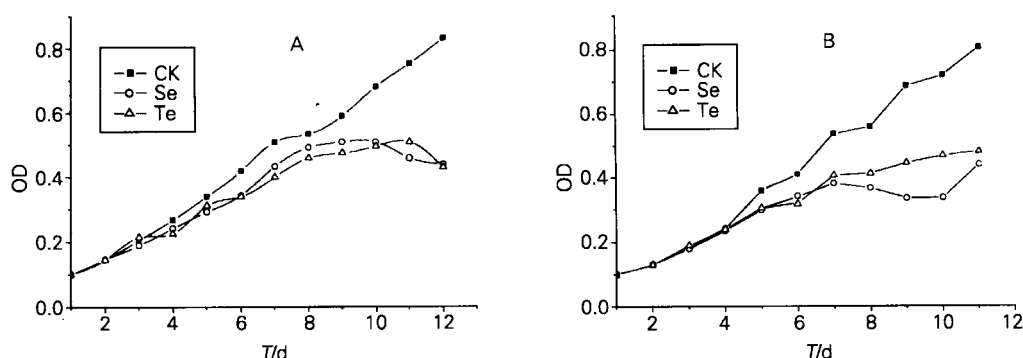


图5 采用方法3加硒、碲时 *S. platensis* (A) 和 *S. maximum* (B) 的生长曲线
Fig.5 The growth curve of *S. platensis* (A) and *S. maximum* (B) under stress of selenium and tellurium added with measure 3

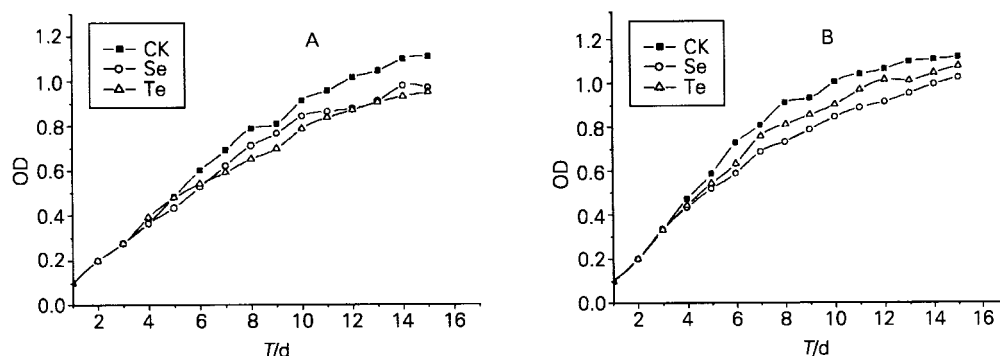


图6 采用方法5加硒、碲时 *S. platensis* (A) 和 *S. maximum* (B) 的生长曲线
Fig.6 The growth curve of *S. platensis* (A) and *S. maximum* (B) under stress of selenium and tellurium added with measure 5

较大差异。人们在使用这些数据时应特别注意其培养条件、添加硒或碲的方式及方法的异同性。另一方面,关于硒或碲对生物体的毒性,1993年欧阳政等的研究发现碲对酵母的毒性比硒的大,碲对酵母的致死浓度比硒高约一个数量级,而在本文的研究结果中发现硒、碲对于两种螺旋藻的毒性差异并不是很大,说明不同物种对硒、碲的耐受力有明显的差异,这为选择适宜的富硒、碲生物载体是一个启示。

参考文献

- 1 郑文杰, 欧阳政. 植物有机硒的化学及其医学应用. 广州: 暨南大学出版社, 2001. 12-19
- 2 Rayman P. The importance of selenium to human health. The Lancet, 2000, 356: 233-241

- 3 Fan Teresa W-M, Teh Swee J, Hinton E, et al. Selenium biotransformations into proteinaceous forms by food-web organisms of selenium-laden drainage waters in California. Aquatic Toxicology, 2002, 57: 65-84
- 4 徐晶, 朱茂祥, 陈婉华, 等. 螺旋藻富集同化无机硒研究. 植物营养与肥料学报, 1997, 3(2): 169-175
- 5 王大志, 程兆第, 高亚辉. 硒对钝顶螺旋藻生长的影响及其在细胞中的累积和分布. 台湾海峡, 1998, 17(4): 433-438
- 6 李志勇, 郭祀远, 李琳. 富硒螺旋藻培养技术研究. 水生生物学报, 2001, 25(4): 387-391
- 7 周志刚, 钟罡, 刘志礼. 硒对极大螺旋藻生长及含硒量的影响. 海洋科学, 1997, 5: 42-45

EFFECTS OF THE STRESS OF SELENIUM OR TELLURIUM ON THE GROWTH OF *Spirulina platensis* and *S. maximum*

ZHENG Weir Jie^{1,2} HE Hong Zhi¹ HUANG Zhi^{1,2} YANG Fang¹ GUO Bao Jiang²

(¹ Ji Nan University, Guangzhou, 510632)

(² South China Normal University, Guangzhou, 510631)

Key Words: Selenium, Tellurium, *Spirulina*, Bioaccumulation, Growth

Received: July, 12, 2002

Abstract

Effects of the stress of Se (Na_2SeO_3) or Te (Na_2TeO_3) on the growths of *S. platensis* and *S. maximum* were studied. It was shown that the *S. platensis* and *S. maximum* showed different resistance to Se and Te toxicity. To *S. platensis*, $C_{\text{Se}} \leq 200 \text{ mg/L}$ improved growth. It had little effect on its growth when $C_{\text{Te}} < 100 \text{ mg/L}$, and when $C_{\text{Te}} \geq 100 \text{ mg/L}$ Te inhibited its growth. While $C_{\text{Se}} \geq 800 \text{ mg/L}$ or $C_{\text{Te}} = 400 \text{ mg/L}$ *Spirulina platensis* died; To *S. maximum*, while $C_{\text{Se}} = 25 \text{ mg/L}$ Se improved its growth, and it had little effect on its growth when $C_{\text{Te}} = 25 \text{ mg/L}$, and when $C_{\text{Te}} \geq 50 \text{ mg/L}$ Te inhibited its growth. While $C_{\text{Se}} \geq 800 \text{ mg/L}$ or $C_{\text{Te}} \geq 600 \text{ mg/L}$ *Spirulina maximum* died. When the concentration of Se or Te added partly reached 800 mg/L in the plant period, the two kind of spirulinas could growth well. So it was shown that the different stress of Se or Te added in different measures might brought different effects.

(本文编辑:张培新)