

稀土 La^{3+} 对 Ba^{2+} 胁迫下鄂尔多斯高原碱湖钝顶螺旋藻生长的影响

巩东辉^{1,2}, 张少英¹, 乔辰¹

(1. 内蒙古农业大学农学院, 内蒙古呼和浩特 010019; 2. 内蒙古科技大学生物技术研究所, 内蒙古包头 014010)

摘要 [目的] 探讨稀土 La^{3+} 对 Ba^{2+} 毒害螺旋藻的生态生理效应的影响。[方法] 以鄂尔多斯高原碱湖的钝顶螺旋藻 (S_1) 为试材, 采用生理与生物化学的方法研究了外源稀土元素 La^{3+} (10 mg/ml) 对重金属离子 Ba^{2+} 胁迫 (10 mg/ml) 下螺旋藻生长的影响, 比较了施加 La^{3+} 条件下螺旋藻对 Ba^{2+} 的抗性效应以及二者拮抗作用随时间的变化。[结果] Ba^{2+} 对 S_1 的生长量、叶绿素 a 和可溶性蛋白含量具有明显的抑制作用; Ba^{2+} 污染的培养液中添加一定浓度的 La^{3+} 后, 与单一重金属毒害相比, La^{3+} 可以缓解 Ba^{2+} 导致的毒害作用, 叶绿素 a 含量和可溶性蛋白、胞内多糖等生理指标有不同程度的上升; La^{3+} 对 Ba^{2+} 具有较显著的拮抗效应。[结论] 一定浓度的稀土 La^{3+} 可有效地缓解 Ba^{2+} 对螺旋藻生长的抑制, 促进藻细胞叶绿素 a 含量、胞内多糖、可溶性蛋白等生理指标的上升。

关键词 螺旋藻; 稀土; 胁迫

中图分类号 Q945.11 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)34-17254-02

Effects of Rare Earth La^{3+} on Growth of *Spirulina* in Alkaline Lake of Erdos Plateau under Ba^{2+} Stress

GONG Dong-hui et al (Agricultural College, Inner Mongolia Agricultural University, Huhot, Inner Mongolia 010019)

Abstract [Objective] The study aimed to discuss the effects of La^{3+} on the ecological physiology of *Spirulina* poisoned by Ba^{2+} . [Method] With *Spirulina platensis* (S_1) in the alkaline lake of Erdos plateau as the tested material, the physiological and biochemical method were used to study the effects of the exogenous rare earth element La^{3+} at 10 mg/ml on the growth of S_1 in the alkaline lake of Erdos plateau under the heavy metal ion Ba^{2+} stress (10 mg/ml) and compare the resistant effect of S_1 on Ba^{2+} and the change of both antagonistic effect with the time under adding La^{3+} . [Result] The growth, the contents of the chlorophyll a and soluble protein were inhibited obviously under Ba^{2+} stress. After adding La^{3+} in the culture solution contaminated by Ba^{2+} , compared with the poison by single heavy metal, La^{3+} could relieve the damage caused by Ba^{2+} stress, the growth of S_1 was improved and the physiological indexes such as contents of chlorophylla, intracellular polysaccharide and soluble protein were increased to different degree. The La^{3+} had a remarkable antagonism effect on Ba^{2+} . [Conclusion] The rare earth La^{3+} at some concn. could effectively relieve the inhibition of Ba^{2+} on the growth of S_1 , promote the rising of the physiological indexes such as contents of chlorophyll a in alga cells, intracellular polysaccharide and soluble protein.

Key words *Spirulina*; Rare earth; Stress

随着污水灌溉面积的不断扩大, 重金属污染问题成为人们关注的生态环境问题焦点之一。大量研究表明, 使用稀土可增强作物对诸如酸雨、干旱、高温、低温、盐渍、病虫害等不良环境条件的抵抗能力^[1], 而将稀土作为调节因子应用于污染植物生态学领域方面的研究尚不多见, 稀土作为一种微肥在受污染水体中施用来研究与重金属之间的相互作用关系, 至今尚鲜有报道。因此, 笔者以鄂尔多斯高原碱湖钝顶螺旋藻为试验材料, 以稀土元素 La^{3+} 为调节因子, 水体中常见重金属 Ba 为胁迫因子, 从单一污染出发, 从生理生化角度, 探讨 La^{3+} 对 Ba^{2+} 毒害水生植物的生态生理效应, 比较施加 La^{3+} 条件下螺旋藻对 Ba^{2+} 的抗性效应以及二者拮抗作用随时间的变化, 以期对重金属污染伤害螺旋藻的生态防御研究提供参考与基础试验依据。

1 材料与方

1.1 材料 鄂尔多斯高原碱湖钝顶螺旋藻 (*Spirulina platensis*) (S_1), 由内蒙古农业大学提供。

1.2 方法

1.2.1 螺旋藻的培养。 采用 Zarrouk 培养液^[2], 在自然光照条件下通空气培养至对数生长期, 光暗周期 12 h:12 h。

1.2.2 藻液处理。 接种后进行一次性污染处理, 以等毒性混合试验方案设置 3 个试验组。单一 Ba^{2+} 系列为 10 mg/ml (以纯 Ba^{2+} 计), 复合处理系在上述基础上各加入 10 mg/ml La^{3+} , 不加镉离子作为对照。单一 La^{3+} 系列为 10 mg/ml (以

纯 La^{3+} 计), 复合处理系为在此基础上各加入 10 mg/ml Ba^{2+} , 以不加重金属为对照。

1.2.3 螺旋藻藻液浓度的测定。 取一定量的藻液, 在 $OD_{560\text{nm}}$ 下测定, 观察其在特定的影响因素下的生长情况。

1.2.4 螺旋藻叶绿素 a 含量的测定。 取 4 ml 的藻液离心 (14 000 r/min, 6 min), 弃上清, 离心沉淀加入浓度为 95% 乙醇 4 ml, 置于 4 °C 冰箱中 24 h 然后离心 (5 000 r/min, 10 min), 722 分光光度计测上清液吸光度 $OD_{663\text{nm}}$ 和 $OD_{645\text{nm}}$, 再根据公式求叶绿素 a 的浓度^[3]:

$$C_{\text{chl}a} = 12.7A_{663\text{nm}} - 2.69A_{645\text{nm}}$$

1.2.5 螺旋藻胞内多糖含量的测定。 取 4 ml 的藻液离心 (8 000 r/min, 10 min), 弃上清, 离心沉淀加入 PBS 缓冲液 4 ml, 置于 -20 °C 冰箱中冰冻 30 min, 取出让其完全融化, 重复 3 次, 然后离心 (8 000 r/min, 10 min), 取 1 ml 上清液加 4 ml 蒽酮试剂, 放在沸水中煮 10 min, 冷却至室温测 $OD_{620\text{nm}}$, 根据葡萄糖标准曲线计算多糖含量。

1.2.6 螺旋藻可溶性蛋白含量的测定。 取 4 ml 藻液离心 (8 000 r/min, 10 min), 弃上清, 离心沉淀加入 PBS 缓冲液 4 ml, 置于 -20 °C 冰箱中冰冻 30 min, 取出让其完全融化, 重复 3 次, 然后离心 (8 000 r/min, 10 min), 取 1 ml 上清液加 4 ml 考马斯亮蓝试剂溶液, 放在沸水中煮 10 min, 冷却至室温测 $OD_{595\text{nm}}$, 根据牛血清蛋白标准曲线计算可溶性蛋白含量^[3]。

2 结果与分析

2.1 稀土 La^{3+} 随时间变化对重金属离子 Ba^{2+} 胁迫下螺旋藻生理指标的影响

2.1.1 La^{3+} 对 Ba^{2+} 胁迫下螺旋藻生长量的影响。 由图 1 可见, 各处理组螺旋藻细胞浓度随处理时间的延长而升高, 但

基金项目 国家自然科学基金项目 (30460104)。

作者简介 巩东辉 (1976 -), 男, 内蒙古乌兰察布人, 在读博士, 讲师, 从事藻类生理、生化及分子生物学研究。

收稿日期 2009-10-26

增长幅度有所不同。单一 Ba²⁺ 处理藻液细胞浓度增长速率显著低于其他处理组 ($P < 0.05$), 第 5 天其藻液细胞浓度为对照的 90.76%; 复合处理组的藻液细胞浓度增长速率较单一 Ba²⁺ 处理组的高, 第 5 天其藻液浓度为对照的 118.48%, 单一 La³⁺ 处理组藻液细胞浓度在各处理组中最高。

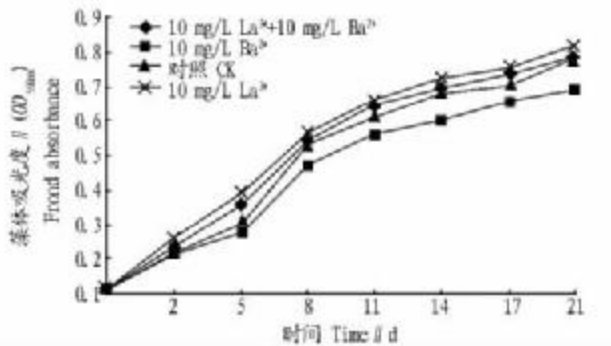


图 1 La³⁺ 对 Ba²⁺ 胁迫下藻液浓度的影响

Fig. 1 Effect of La on the growth of *Spirulina* under Ba stress

2.1.2 La³⁺ 对 Ba²⁺ 胁迫下螺旋藻叶绿素 a 含量的影响。由图 2 可知, 随处理时间的延长, 各处理组螺旋藻细胞叶绿素 a 均呈现出增长趋势; 但各处理组螺旋藻细胞叶绿素 a 含量增长速率存在明显差异 ($P < 0.05$), 具体排序为单一 La³⁺ 处理组 > 复合处理组 > 对照组 > 单一 Ba²⁺ 处理组; 且处理时间越长, 差异越大, 单一 Ba²⁺ 处理组叶绿素 a 含量在处理第 2 天时为对照组的 83.23%, 第 21 天则为对照组的 80.32%; 复合处理组的叶绿素 a 平均含量较单一 Ba²⁺ 处理组高 19.20%。

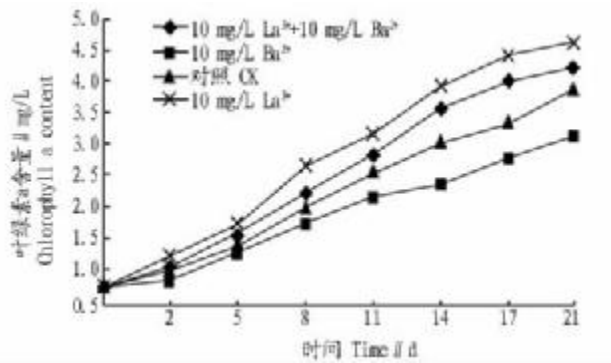


图 2 La³⁺ 对 Ba²⁺ 胁迫下叶绿素 a 含量的影响

Fig. 2 Effect of La on the chlorophyll a of *Spirulina* under Ba stress

2.1.3 La³⁺ 对 Ba²⁺ 胁迫下螺旋藻胞内多糖含量的影响。由图 3 可见, 与对照相比, Ba²⁺ 对螺旋藻胞内多糖含量的影响不显著 ($P > 0.05$), 单一 Ba²⁺ 处理组与对照组胞内多糖平均含量分别为 0.027 4 和 0.028 5 mg/L; 复合处理组较单一 La³⁺ 处理组胞内多糖含量略低, 含量均低于 0.001 mg/L; La³⁺ 处理组胞内多糖均含量比对照高 13.18%, La³⁺ 表现出对螺旋藻胞内多糖的合成具有一定的促进作用。

2.1.4 La³⁺ 对 Ba²⁺ 胁迫下螺旋藻的可溶性蛋白含量的影响。由图 4 可知, 在 Ba²⁺ 胁迫条件下, 螺旋藻可溶性蛋白的合成受到较显著的抑制 ($P < 0.05$), 可溶性蛋白平均含量为对照的 91.76%; 而复合处理组则为对照的 111.07%, La³⁺ 不仅缓解了 Ba²⁺ 对螺旋藻可溶性蛋白生成的抑制作用, 而且表现出与前测结果相似的促进作用。

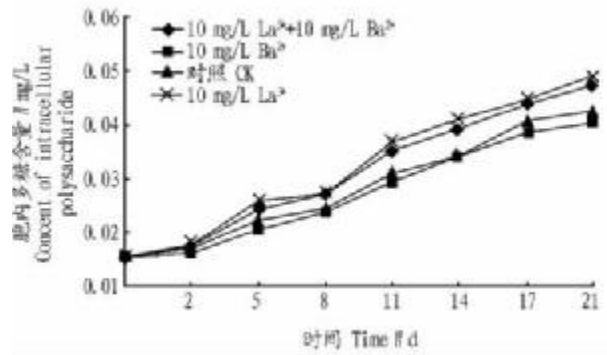


图 3 La³⁺ 对 Ba²⁺ 胁迫下胞内多糖的影响

Fig. 3 Effect of La on the content of intracellular polysaccharide of *Spirulina* under Ba stress

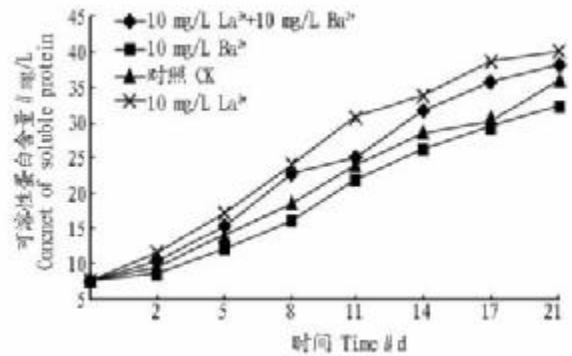


图 4 La³⁺ 对 Ba²⁺ 胁迫下可溶性蛋白的影响

Fig. 4 Effect of La on the content of soluble protein of *Spirulina* under Ba stress

3 结论与讨论

(1) 试验表明, 一定浓度的稀土 La³⁺ 可有效地缓解 Ba²⁺ 对螺旋藻生长的抑制, 促进藻细胞叶绿素 a 含量、胞内多糖、可溶性蛋白等生理指标的上升, La³⁺ 对 Ba²⁺ 具有较显著的拮抗效应。

(2) 试验中, 10 mg/L Ba²⁺ 可影响螺旋藻的各项生理指标, 显著抑制螺旋藻的生长。藻细胞叶绿素 a 的含量、可溶性蛋白等生理指标偏离了正常水平, 10 mg/L La³⁺ 对 Ba²⁺ 毒害螺旋藻细胞具有一定的缓解作用, 提高藻细胞生理机能, 增强抗 Ba²⁺ 胁迫能力。从已有的资料及该研究结果来看, 其机理可能为通过元素间直接拮抗作用, 抑制植物对 Ba²⁺ 的吸收与富集, 减少其在植物体内的蓄积量^[4], 或促进细胞内生物大分子(蛋白质、氨基酸、单糖、生物碱、重金属结合蛋白等)的合成^[5], 稀土元素镧在一定浓度下能提高螺旋藻叶绿素 a 的含量, 叶绿素 a 是光合反应的中心色素, 它的增加必然有利于吸收更多的可见光, 提高了光能转换和化学反应效率。

(3) 稀土可与膜受体蛋白相互作用, 参与细胞信息传递。杨燕生等认为 La³⁺ 通过某种机制将信号传递到胞内促进 CaM 基因表达^[6], 激活了依赖于 CaM 的各种酶的活性, 导致了蛋白质含量上升, 保护酶活性提高, 从而减小了自由基对膜伤害的可能性, 提高生物抗性能力。低浓度下 La³⁺ 等稀土元素可以促进 CaM 的活性。螺旋藻在 Ba²⁺ 胁迫下, 蛋白质合成受阻, 水解加强, 必然导致其含量降低。较单一重金属

(下转第 17259 页)

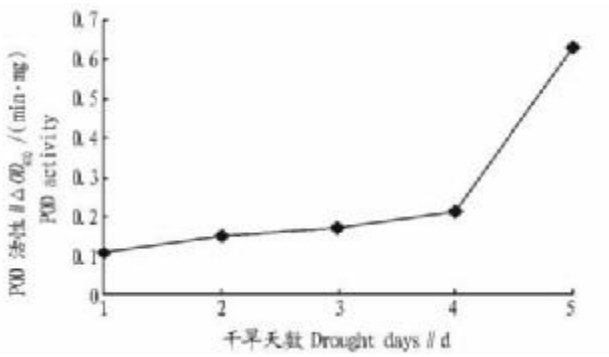


图2 干旱胁迫下早熟禾幼苗过氧化物酶活性的变化

Fig.2 Changes of the activity of POD in the Seedlings of *Poa pratensis* under drought stress

2.3 脯氨酸含量的变化 从图3可知,对早熟禾幼苗进行干旱处理后第1~2天,脯氨酸的含量没有明显的变化;第2~5天,脯氨酸的含量随着干旱时间的增加显著上升。当植物遭受渗透胁迫^[6],造成生理性缺水时,植物体内脯氨酸大量积累,因此植物体内脯氨酸含量在一定程度上反映了植株体内的水分状况,可作为植株缺水的参考指标^[7]。从图3可知,对早熟禾幼苗进行干旱处理后,脯氨酸的含量从初始干旱到干旱胁迫第2天变化不显著($P > 0.05$),但第2~5天,脯氨酸含量显著上升,与干旱初期相比呈极显著差异($P < 0.01$),有利于增强早熟禾幼苗的抗旱能力。

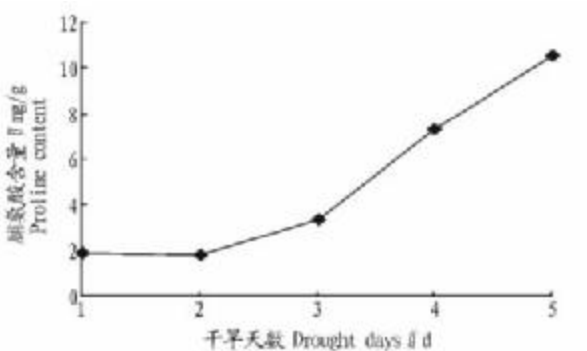


图3 干旱胁迫下早熟禾幼苗脯氨酸含量的变化

Fig.3 Changes of the proline content in the Seedlings of *Poa pratensis* under drought stress

2.4 丙二醛(MDA)含量的变化 从图4可知,对早熟禾幼苗进行干旱处理后第1~4天,丙二醛的含量呈缓慢上升趋势;第4~5天,丙二醛的含量增加,呈上升趋势,丙二醛的积累大幅增加。植物器官在逆境条件下,往往发生膜脂过氧化作用,丙二醛是其产物之一,通常将其作为脂质过氧化指标,用于表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反映的强弱^[7]。干旱处理后,早熟禾幼苗丙二醛的含量从第1~4天

呈上升趋势,但变化不明显($P > 0.05$),膜伤害较小;从第4天开始,丙二醛的含量急剧上升,与前4d相比差异极显著,表明细胞膜破坏严重,抗逆性极大降低。

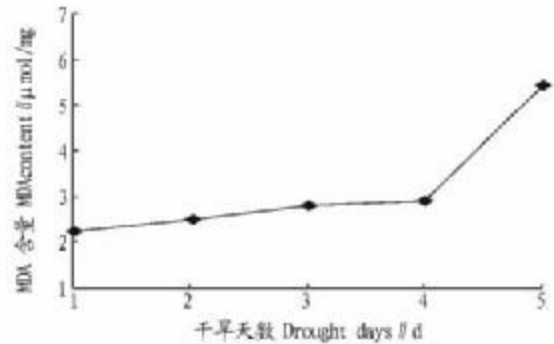


图4 干旱胁迫下早熟禾幼苗MDA含量变化

Fig.4 Changes of the MDA content in the seedlings of *Poa pratensis* under drought stress

3 结论与讨论

综上所述,在干旱胁迫期间,早熟禾幼苗植株体内过氧化物酶活性、脯氨酸含量均保持较高水平,有利于其抵抗干旱胁迫^[9]。在土壤含水量未达到5.4%前,MDA的含量无显著差异($P > 0.05$),膜伤害较小,但当土壤含水量降到5.4%时,MDA的含量显著上升,表明膜结构遭到破坏,抗逆性下降,是导致早熟禾幼苗干旱死亡的主要原因^[10]。当土壤含水量降到5.4%时,如何延缓膜结构破坏,提高早熟禾的抗旱性有待于进一步研究。

参考文献

[1] BEARD J B. Turfgrass: Science and culture [M]. New Jersey: Prentice-Hall Inc Englewood Cliffs, 1973.

[2] HUAHG B R, FRY J D. Root anatomical, morphological, and physiological responses of two tall fescue cultivars to drought stress [J]. Crop Science, 1998, 38: 1017 - 1022.

[3] CARROW R N. Drought avoidance characteristics of diverse tall fescue cultivars [J]. Crop Science, 1996, 36: 371 - 377.

[4] BEARD J B. Turfgrass water stress: Drought resistance components physiological mechanisms and speciesgenoty pediversity [C]. Tokyo, Japan: proceedings of the 6th International Turfgrass Research Conference, 1989: 23 - 28.

[5] 徐炳成, 山仑, 黄占斌. 草坪草对干旱胁迫的反应及适应性研究进展 [J]. 中国草地, 2001, 23 (2): 55 - 61.

[6] 利容千, 建波. 植物逆境细胞及生理学 [M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2002.

[7] 张志良, 翟伟菁. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 123 - 124.

[8] 陈旭微, 杨玲, 章芬, 等. 10 °C 低温对绿豆和豌豆下胚轴细胞一些抗氧化酶活性和超微结构的影响 [J]. 植物生理与生物化学学报, 2005, 31 (5): 539 - 544

[9] 潘瑞炽. 植物生理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 290 - 291.

[10] 李冬杰, 杨培岭, 王勇, 等. 土壤水分对草坪草蒸散及生长特性的影响 [J]. 草地学报, 2005, 12, 13 (4): 308 - 312

(上接第 17255 页)

离子处理而言,外源 La^{3+} 的加入可以有效地增加蛋白质含量,表明植物蛋白质合成受阻减小,抗逆能力增强。

参考文献

[1] 胡勤海, 叶兆杰. 稀土元素的植物生理效应 [J]. 植物生理学通讯, 1996, 32 (4): 269 - 300.

[2] ZARROUK C. Contribution a l'étude d'une cyanophycee. Influence de diverses facteurs physiques et chimiques sur la croissance et photosynthesis de *Spirulina maxima* (Setch et Gardner) Geitler [M]. France: Ph. D. Thesis, University of Paris, 1966: 74.

[3] 杨敏文. 快速测定植物叶片叶绿素含量方法的探讨 [J]. 光谱实验室, 2002, 19 (4): 478 - 481.

[4] 张志良. 植物生理学实验指导 [M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2000: 118 - 122.

[5] 沈博礼, 陈世民, 李志强, 等. 稀土对小麦抗旱性影响机理初探 [J]. 干旱区研究, 1997 (2): 68 - 69.

[6] JIANG H J, WANG X F, ZHOU Q, et al. Effect of lanthanum ionic peroxides in plant [J]. Journal of Rare Earths, 2002, 20 (5): 445 - 450.