

汞胁迫下蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*) 的生理生化响应*

邓祥元 樊玲波 高坤** 罗翔 丁婉婉

(江苏科技大学生物与化学工程学院, 镇江, 212018)

由于工农业生产废水的大量排放,重金属污染已成为21世纪人们关注的焦点.重金属进入水体后,可通过多种途径影响生物的生长发育、形态行为及生理生化过程.其中,汞(Hg)是一种最常见的环境重金属污染物,在自然水体中的含量为16.6—65.9 ng·L⁻¹[1],具有持久性、易迁移性和高度的生物富集性等特点.而蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)是水生态系统的初级生产者,对环境变化敏感,是常用的毒性指示物种[2].

本文通过研究不同浓度的HgCl₂对其生长、叶绿素a含量、可溶性糖含量、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活力及丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量等的影响,探讨HgCl₂对蛋白核小球藻可能的毒性作用机制,为评价汞对藻类的毒性效应及其环境风险积累提供数据资料和科学依据.

1 材料与方法

1.1 实验材料

蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)购自中国科学院水生生物研究所藻种库.在无菌条件下,将藻种转接到BG-11培养基中,培养条件为:温度25℃,照度3000 lux,光周期为12 h(L):12 h(D).

1.2 实验仪器和试剂

紫外-可见分光光度计(UV-1800PC型,上海美谱达仪器有限公司);高速冷冻离心机(3K15型,德国Sigma公司);超声波细胞破碎仪(JY98-III N型,宁波新芝生物科技股份有限公司);SOD试剂盒和MDA试剂盒(南京建成生物工程研究所);其余试剂均为上海国药集团化学试剂有限公司生产的分析纯试剂.

1.3 实验方法

1.3.1 细胞密度及EC₅₀值的测定

根据预试验结果,通过如下公式计算细胞密度; $D = 0.4554 \times 10^8 \times OD_{680}$, ($R^2 = 0.994$);并根据文献[3]方法计算生长速率(r_t).有效中浓度(EC₅₀值)表示生长速率降低50%时的浓度,可应用下列公式进行计算:

$$y = \frac{c}{1 + \exp[b(x - a)]}$$

式中, y 表示 r_t ; x 代表药液质量浓度的对数值; a 为EC₅₀的对数值; b 为斜率参数; c 为对照组的生长速率 r .

1.3.2 叶绿素a浓度及可溶性糖含量的测定

叶绿素a(Chl a)浓度及可溶性糖含量的测定参考文献[4].

1.3.3 SOD、MDA的测定

SOD活力和MDA含量的测定参照南京建成生物工程研究所的SOD试剂盒和MDA试剂盒说明书进行.

1.3.4 数据统计方法

以上实验均设试验组和空白对照组,每组均设3个平行.文中所有数据均用Excel 2003和SPSS 18.0进行处理,结果用平均值±标准偏差来表示.

2 结果与讨论

2.1 Hg胁迫对小球藻生长及叶绿素a含量的影响

由图1A可知,随着HgCl₂浓度的增加,藻细胞密度逐渐降低,呈现明显的剂量-效应关系,且随处理时间的延长,这种效应越明显,表明HgCl₂对小球藻生长具有明显的抑制作用.此外,HgCl₂也抑制小球藻中叶绿素a的含量(图1B),且这种抑制作用亦呈现明显的剂量-效应关系.而且通过计算获得HgCl₂对小球藻的72 h和96 h的EC₅₀值分别为2.18 mg·L⁻¹和2.12 mg·L⁻¹.

2.2 Hg胁迫下小球藻中可溶性糖、MDA含量及SOD活力的变化

由图2A可知,HgCl₂显著抑制小球藻中糖类物质的合成,并随着HgCl₂浓度和处理时间的增加,抑制率也增加,这可

2012年4月23日收稿.

* 国家自然科学基金(31200381);江苏省自然科学基金(BK2011493)资助.

** 通讯联系人, E-mail: gkunjn2002@126.com

能是由于 Hg 与含巯基的酶结合,导致酶活力的丧失,从而影响了细胞中糖类物质的合成.由图 2B 可见,随着 HgCl_2 浓度的增加,细胞中 MDA 含量逐渐上升,表明小球藻细胞受到了损伤,细胞中活性氧自由基(Reactive oxygen species, ROS)的产生和消除不平衡,过多的 ROS 破坏了细胞结构,使藻细胞损伤严重.由图 2C 可知,随着 HgCl_2 浓度的增加,SOD 酶活力也逐步上升,在处理 96 h 后,由于藻细胞生长受到抑制,单位细胞中 SOD 活力显著增强,表明细胞中 ROS 的产生和消除间的平衡被破坏,藻体被诱导产生了更多的 SOD 以清除过多的 ROS 来保护机体,但 ROS 的过量积累导致细胞膜被破坏,藻体细胞生长受到抑制,该结果与 MDA 的变化情况一致.

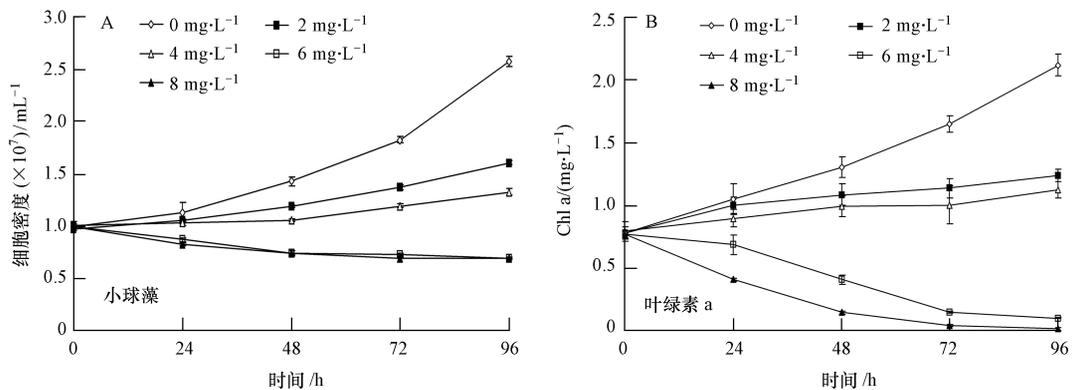


图 1 不同浓度 HgCl_2 对小球藻生长及其叶绿素 a 含量的影响

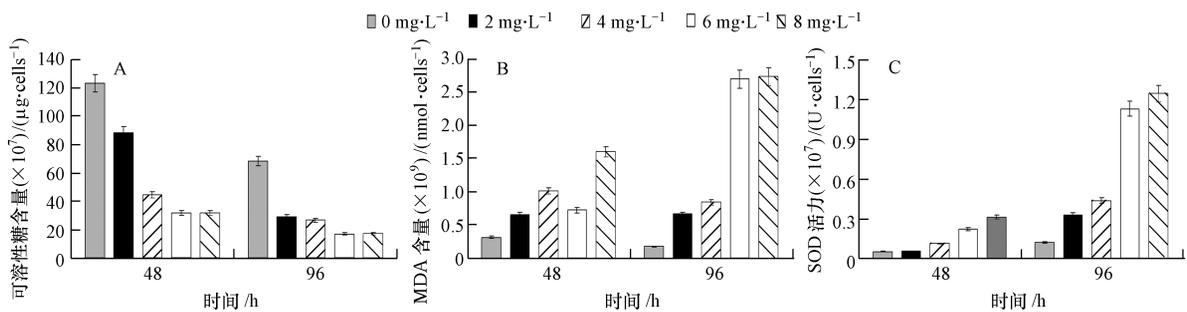


图 2 HgCl_2 胁迫下小球藻中可溶性糖含量(A)、MDA 含量(B)和 SOD 活力(C)的变化

3 结论

(1) HgCl_2 可通过改变藻细胞膜的通透性,或与含巯基的酶结合,阻断其代谢通路,从而严重抑制小球藻的生长及可溶性糖的合成,且随处理时间的延长,这种效应越明显.

(2) 随着 HgCl_2 浓度的升高,细胞中 ROS 的产生和消除间的平衡被破坏,过量 ROS 的积累破坏了叶绿体的结构,使叶绿素 a 的合成受阻;并诱导细胞中 MDA 含量和 SOD 活力显著增加,表明细胞中 ROS 的过量积累,将破坏小球藻的细胞膜结构与功能,使细胞遭受严重损伤.

关键词: 小球藻, HgCl_2 , 叶绿素 a, 超氧化物歧化酶, 丙二醛.

参 考 文 献

- [1] 蒋红梅, 冯新斌, 戴前进, 等. 乌江流域水体中不同形态汞分布特征的初步研究[J]. 环境化学, 2004, 23(5): 556-561
- [2] Anthony GD, David B, Scott F, et al. Safety evaluation of a high-lipid algal biomass from *Chlorella protothecoides* [J]. Regul Toxicol Pharm, 2009, 55(2): 166-180
- [3] Tsolakis H, Ragusa S. Effects of a mixture of vegetable and essential oils and fatty acid potassium salts on *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* [J]. Ecotox Environ Safe, 2008, 70: 276-282
- [4] 郝建军, 康宗利, 于洋. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007