

重金属及微量元素诱导蓝藻形成液泡*

吴红艳¹ 赵以军^{1**} 郭厚良² 张婷¹ 郭文娟¹

(华中师范大学生命科学学院 武汉 430079)¹ (武汉大学生命科学院 武汉 430072)²

摘要: 鱼腥藻 595 (*Anabaena* sp.595)、织线藻 246 (*Plectonema boryanum* 246) 和伪枝藻 248 (*Scytonema hofmanni* 248) 在两种重金属汞、镉和两种微量元素铜、锌诱导下, 藻丝细胞均能发生膨大、液泡化现象。不同重金属及微量元素对3种蓝藻液泡化诱导作用强弱程度不同。汞的诱导作用明显强于镉、铜和锌, 0.1 μ mol/L 汞可诱导3种蓝藻发生液泡化。采用压片法均观察到诱导形成的液泡, 液泡在相差显微镜下显示为圆球形, 基本透明。

关键词: 蓝藻, 重金属, 微量元素, 液泡

中图分类号: Q939.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2003) 03-0060-05

VACUOLE FORMATION INDUCED BY HEAVY METAL AND TRACE ELEMENT IN CYANOBACTERIA (BLUE-GREEN ALGAE)

WU Hong-Yan¹ ZHAO Yi-Jun¹ GUO Hou-Liang² ZHANG Ting¹ GUO Wen-Juan¹

(College of Life Science, Central China Normal University, Wuhan 430079)¹

(College of Life Science, Wu Han University, Wuhan 430072)²

Abstract: Grown in the presence of 2 heavy metals mercury and cadmium and 2 trace elements: copper and zinc, the filamental cells of *Anabaena* sp. 595, *Plectonema boryanum* 246 and *Scytonema hofmanni* 248 inflated and vacuolized. There were various inducing effects on the three cyanobacteria by different heavy metals and trace elements. Mercury gave rise to obvious more intensive effect then cadmium copper and zinc: 0.1 μ mol/L mercury could induce vacuoles in the cyanobacteria. The vacuole could be observed by pressing the sample and it was spherical and transparent in the scope of the phase microscope.

Key words: Cyanobacterium, Heavy metal, Trace element, Vacuole

重金属是一种重要的环境污染物, 它通过对水生生物产生不利影响而间接威胁人类健康。因此重金属对水环境的危害成为人们日益关注的问题。蓝藻对重金属尤其敏感而作为环境污染的指示生物。从环境角度看, 研究重金属对藻类的致毒效应至关重要。从60年代以来, 人们在这方面进行了大量的工作, 包括对蓝藻的生长、光合作用、固氮作用、蛋白质和核酸合成等方面的研究^[1,2]。而微量元素作为藻类生长代谢必需的物质, 其对蓝藻的影响也已研究的较为详细^[3,4]。但重金属和微量元素对蓝藻细胞学方面效应的报道则比较少, 多数文献仅提到重金属过量的微量元素诱使藻细胞形态发生变化^[5], 但未进行较为深入细致的研究。

近年来, 郭厚良等在蓝藻原生球的研究中发现^[6], 一些无机盐能引起蓝藻细胞发生泡状化结构, 电镜检查发现, 此种泡状结构由单位膜包围, 故确定为液泡, 并且成功地分离出了无机盐诱导形成的液泡^[6]及非诱导液泡^[7]。而在对无机盐诱导蓝藻液泡化

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 39870083)

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund (No. 39870083)

教育部科学技术研究重点项目资助 (No. 00087)

** 联系人

收稿日期: 2002-07-22, 修回日期: 2002-09-09

的研究过程中,我们发现重金属和微量元素也能诱导蓝藻形成液泡。这是一个颇有意思的新现象。

1 材料与方 法

1.1 藻种及培养

试验使用鱼腥藻 595 (*Anabaena* sp.595)、织线藻 246 (*P. boryanum* 246) 和伪枝藻 248 (*S. hofmanni* 248)。藻种全部引自中科院水生生物研究所。先活化藻种,采用 BG11 液体培养基静置培养^[8],间或振动。培养于恒温光照生化培养箱中进行,温度 26℃ (± 0.5),光照强度 2,000lux。

1.2 重金属的诱导效应

试验用 $HgCl_2$ 和 $CdCl_2$ 两种重金属盐,将其溶入 BG11 液体培养基,配制一个浓度梯度,然后接种 3 种蓝藻。3 种蓝藻和两种重金属的试验浓度不同:鱼腥藻 595,接 $HgCl_2$ 浓度梯度为 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4 $\mu mol/L$,接 $CdCl_2$ 浓度梯度为 3.0、5.0、7.0、9.0、10.0 $\mu mol/L$ 。织线藻 246:接 $HgCl_2$ 浓度梯度为 0.05、0.1、0.2、0.3、0.5 $\mu mol/L$,接 $CdCl_2$ 浓度梯度为 0.25、0.5、1.0、5.0、10.0 $\mu mol/L$;伪枝藻 248,接 $HgCl_2$ 浓度梯度为 0.05、0.1、0.2、0.3、0.5 $\mu mol/L$,接 $CdCl_2$ 浓度梯度为 0.25、0.5、1.0、3.0、5.0 $\mu mol/L$ 。

培养过程中观察生长并作镜检。

1.3 微量元素的诱导效应

试验使用 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 和 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 两种盐。方法同重金属,不同藻种及试验浓度分别如下:鱼腥藻 595,接 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 浓度梯度为 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 $\mu mol/L$,接 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 浓度梯度为 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 $\mu mol/L$;织线藻 246,接 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 浓度梯度为 0.5、1.0、2.0、10.0、15.0 $\mu mol/L$,接 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 浓度梯度为 0.25、0.5、1.0、10.0、15.0 $\mu mol/L$;伪枝藻 248,接 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 浓度梯度为 0.25、0.5、1.0、3.0、4.0 $\mu mol/L$,接 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 浓度梯度为 0.25、0.5、1.0、3.0、6.0 $\mu mol/L$ 。

1.4 液泡的压片检查

取培养物一滴,置于载玻片上,加盖玻片后,用滤纸吸去多余水分,然后用手掌或大拇指轻轻下压盖玻片,置于 NIKON E-600 相差显微镜下观察。

1.5 显微摄影及照片制作

用 Nikon Type 120 数码相机成像系统获取相片,采用 Epson Stylus Photo 750 打印机打印输出图片。

2 结果与分析

2.1 重金属诱导液泡化

不同的蓝藻和不同的重金属实验结果不同:观察发现,汞对鱼腥藻 595 细胞液泡化的诱导作用明显强于镉。0.1 $\mu mol/L$ 的汞就能诱导鱼腥藻 595 细胞液泡化(图 1a)。当浓度提高为 0.2 或 0.3 $\mu mol/L$ 时,液泡化现象更普遍,而更高的浓度 0.4 $\mu mol/L$ 时藻丝生长受到抑制,不能诱导液泡化。相比较而言,鱼腥藻 595 对镉的耐受性较强,敏感性较弱。当镉浓度达到 5.0 $\mu mol/L$ 时才能诱导藻丝细胞液泡化。我们还发现,以镉浓度

9.0 $\mu\text{mol/L}$ 为界,浓度小于9.0 $\mu\text{mol/L}$ 时,生长率及异形胞分化率提高,同时,诱导液泡化产生。而当浓度大于9.0 $\mu\text{mol/L}$ 时,如10.0 $\mu\text{mol/L}$,藻丝生长率及异形胞分化率降低,不能诱导液泡化现象的产生。

与鱼腥藻595反应相似,织线藻246对汞的敏感性也明显强于镉。而且,0.1 $\mu\text{mol/L}$ 的汞也诱导藻丝细胞液泡化(图1c),稍高浓度0.2、0.3 $\mu\text{mol/L}$ 时液泡化现象较普遍,而浓度达0.5 $\mu\text{mol/L}$ 时藻丝生长受抑制,不诱导液泡形成。不同的是,镉诱导织线藻246液泡化的浓度区段较宽,也较鱼腥藻595对镉更为敏感。0.5 $\mu\text{mol/L}$ 镉便能诱导其液泡化,直至浓度达10.0 $\mu\text{mol/L}$ 时藻丝生长受抑制而无诱导作用。

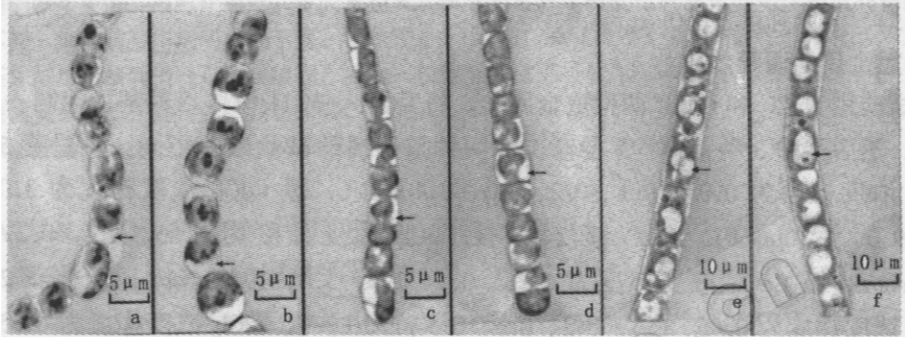


图1 重金属及微量元素诱导的鱼腥藻595、织线藻246、伪枝藻248液泡化

a 0.1 $\mu\text{mol/L}$ HgCl₂ 诱导的鱼腥藻595藻丝($\times 1,600$), b 1.0 $\mu\text{mol/L}$ CuSO₄·5H₂O 诱导的鱼腥藻595藻丝($\times 1,600$), c 0.1 $\mu\text{mol/L}$ HgCl₂ 诱导的织线藻246藻丝($\times 1,600$), d 1.0 $\mu\text{mol/L}$ CuSO₄·5H₂O 诱导的织线藻246藻丝($\times 1,600$), e 0.1 $\mu\text{mol/L}$ HgCl₂ 诱导的伪枝藻248藻丝($\times 800$), f 1.0 $\mu\text{mol/L}$ CuSO₄·5H₂O 诱导的伪枝藻248藻丝($\times 1,600$)(图中箭头所指为液泡所在位置)

与上述两种藻相同,伪枝藻248对汞的敏感性强于镉,同样,0.1 $\mu\text{mol/L}$ 汞和0.5 $\mu\text{mol/L}$ 镉就能诱导藻丝液泡化(图1e),但镉诱导伪枝藻248液泡化的浓度区段较之织线藻246要小,5.0 $\mu\text{mol/L}$ 镉便抑制伪枝藻248生长。

2.2 微量元素诱导液泡化

不同的蓝藻和不同的微量元素实验结果也不相同:鱼腥藻595:观察发现,鱼腥藻595对两种微量元素铜和锌的敏感性相似。1.0 $\mu\text{mol/L}$ 铜和锌均能诱导鱼腥藻595细胞液泡化(图1b),稍高浓度时液泡化现象更为普遍,当铜和锌浓度大于4.0 $\mu\text{mol/L}$ 时,抑制藻丝生长而不诱导液泡化。铜和锌对鱼腥藻595的诱导作用弱于汞而强于镉。

与鱼腥藻595反应相似,1.0 $\mu\text{mol/L}$ 铜开始诱导织线藻246藻丝液泡化(图1d)。不同的是,锌的诱导作用稍强,0.5 $\mu\text{mol/L}$ 锌就能诱导形成液泡。而且两种微量元素诱导织线藻246液泡化的浓度区段较宽,其浓度达15.0 $\mu\text{mol/L}$ 时才能对藻丝生长产生抑制作用而无诱导效应。同时,其诱导液泡化浓度区段也明显宽于重金属诱导下的反应,但其诱导作用仍然弱于汞。

0.5 $\mu\text{mol/L}$ 铜、锌均能诱导伪枝藻248藻丝液泡化(图1e)。与鱼腥藻595相比,伪枝藻248细胞对两种微量元素敏感性较强。不过,相似的一点是,铜、锌浓度大于4.0 $\mu\text{mol/L}$ 时也抑制伪枝藻248生长而不诱导液泡化。两种微量元素的诱导作用与镉相似,却明显弱于汞。

2.3 重金属及微量元素诱导蓝藻液泡化的最低浓度

在接种重金属及微量元素浓度梯度后,培养基 pH 值并不发生变化。因此,对于不同重金属及微量元素对蓝藻液泡化的诱导作用大小有了可比性。在本实验条件下确定能诱导蓝藻液泡化的最低浓度见表 1。

由表 1 可以看出,尽管所试验藻种及藻细胞的化学结构和生理生化过程不同,但其对重金属及微量元素都具有很强的敏感性。尤其以汞最为典型,0.1 $\mu\text{mol/L}$ 的汞就能诱导 3 种藻发生液泡化,其诱导作用明显强于镉、铜和锌。

表 1 重金属和微量元素诱导蓝藻液泡化的最低浓度

	重金属浓度		微量元素浓度	
	Hg ²⁺	Cd ²⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺ ($\mu\text{mol/L}$)
鱼腥藻 595	0.1	5.0	1.0	1.0
<i>A. sp.</i> 595				
织线藻 B.246	0.1	5.0	1.0	0.5
<i>P. boryanum</i> 246				
伪枝藻 H.248	0.1	0.5	0.5	0.5
<i>S. hofmanni</i> 248				

2.4 液泡的压片检查

在以上试验中,3 种蓝藻的液泡化藻丝都通过压片法观察到液泡的存在,如图 2。细胞破裂,释放液泡,液泡在相差显微镜下显示为圆球形,基本透明。

2.5 讨论

重金属作为微量元素虽然是藻类生长代谢所必需的,但过量时也会对藻类产生毒害作用^[9],本实验结果也说明了这一问题。同时我们还发现,重金属及微量元素均能诱导生长的蓝藻形成液泡,此现象从未见诸报道。这是一个新发现。

蓝藻细胞是否具有液泡或是否能形成液泡是一个尚不清楚的

问题。曾有报道说,衰老的蓝藻细胞形成液泡。并认为,形成液泡是一个标志,表明细胞濒临死亡^[10]。亚显微结构研究也曾发现,蓝藻的老化细胞存在液泡式结构^[11]。还有人甚至提出,蓝藻正常细胞内就有液泡状结构^[12]。另有一类报道则指出,蓝藻的类囊体在一定条件下会泡状化或成为液泡式结构^[13]。但由于未能从蓝藻细胞内分离液泡以进行深入研究,使得蓝藻液泡的存在得不到普遍承认。以至于有人还认为,蓝藻液泡可能只是一种人工假象^[14]。而近年来,郭厚良等人在蓝藻原生质球的工作中发现了液泡,包括诱导液泡和细胞液泡,并成功地实现了液泡的分离^[7,15]。重金属及微量元素诱导蓝藻形成液泡为蓝藻液泡的存在提供了新的证据,并说明液泡化是蓝藻对不利的

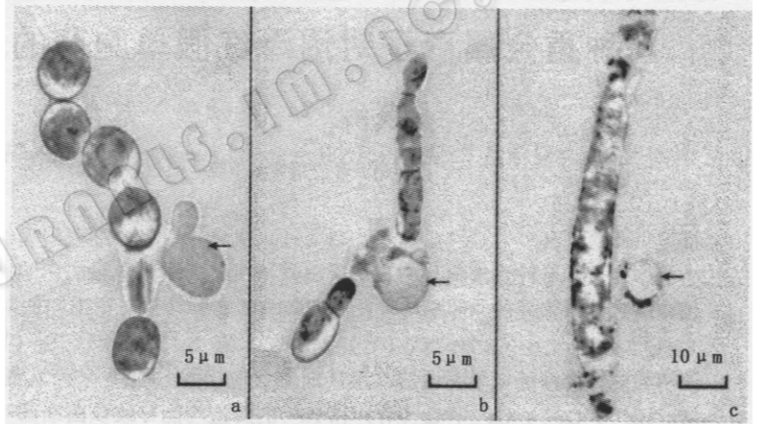


图 2 3 种蓝藻诱导液泡的压片检查

- a 鱼腥藻 595 细胞破裂释放液泡(1.0 $\mu\text{mol/L}$ Zn²⁺ 诱导)($\times 1,600$),
 b 织线藻 246 细胞破裂释放液泡(0.1 $\mu\text{mol/L}$ Hg²⁺ 诱导)($\times 1,600$),
 c 伪枝藻 248 胶鞘破损细胞破裂,释放液泡(0.5 $\mu\text{mol/L}$ Cd²⁺ 诱导)($\times 800$)

生态条件产生的一种生理反应。这一点为蓝藻液泡的形成机理提供了线索。

参考文献

- [1] Lu C M, Chau C W, Zhang J H. *Chemosphere*, 2000, **41** (1~2): 19.
- [2] Dubey S K, Rai L C. *Biomed Environ Sci*, 1990, (2): 240~249.
- [3] Debus R J, Campbell K A. *Biochemistry*, 2000, **39** (2): 470~478.
- [4] Michel K P, Exss-Sonne P. *Planta*, 1998, **205** (1): 73~81.
- [5] Maksimov V N, Gupta A. *Vestn MGU (boil.)*, 1992, **2**: 51~57.
- [6] 郭厚良. *水生生物学报*, 1997, **21**: 190~193.
- [7] 郭厚良. *水生生物学报*, 1999, **23**: 363~366.
- [8] Lester P, Alexander N. *Glazer Methods in Enzymology Vol 167*, Academic Press, Inc, Harcourt Brace Jovanovich, Publishers, 1988, 8~9.
- [9] 况琪军. *水生生物学报*, 1996, **20** (3): 277~283.
- [10] Desikachary T V, *Cyanophyta*. New Delhi. Indian Council of Agricultural Research, 1959, 1~687.
- [11] Lang N J, Rae D M M. *Protoplasma*, 1967, **64**: 67~74.
- [12] Jensen J E, Bowen C C. *Cytologia*, 1970, **35**: 132~152.
- [13] Findley D L, Waime L, Holton R W. *J Phycol*, 1970, **6** (2): 182~188.
- [14] Carr N G, Whitton B A. *Black Well Scientific Publications*, 1973, 142.
- [15] 吴红艳, 赵以军, 郭厚良, 等. *自然科学进展*, 2001, **11** (7): 761~765.