

# 重金属离子对酵母影响的研究

张建民 王转斌

(曲阜师范大学生物系 曲阜 273165)

**摘要** 本文探讨了培养基中不同浓度的重金属离子( $\text{Cr}^{+3}$ 、 $\text{Pb}^{+2}$ )对酵母的影响。实验结果表明,重金属离子的浓度越高,酵母菌的一系列生理生化指标:如每个培养皿的菌落数、细胞直径、蛋白质、核酸及可溶性糖的含量都有不同程度的降低。

**关键词** 酵母, 重金属离子, 生物学效应

**分类号** Q93-335 **文献标识码** A **文章编号** ISSN-0253-2654(1999)-01-18-20

## THE STUDY OF EFFECTS OF HEAVY METAL IRONS ON *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Zhang Jianmin, Wang Zhuanbin

(Department of Biology Qufu University, Qufu 273165)

**Abstract** This thesis has studied that different concentration of two heavy metal irons have some effects on the *S. cerevisiae* growth. The results show that when concentration of irons are risen the clony numbers, the diameter of cell, the content of protein, nucleic acids and soluble sugar in the yeast all descended.

**Key words** *S. cerevisiae*, heavy metal iron, biologic effects.

随着现代工业的迅猛发展,环境保护越来越受到人们的重视。而现在不少的工厂或矿山排放的废渣和废液里边含有大量的有毒物质,例如铅、铬、汞、镉等,它们对人体均有不同程度的损伤<sup>[2]</sup>,而当这些离子进入血液后,可长期存在于体内,产生各种不易溶解的物质,使身体的某些代谢机制受阻<sup>[9]</sup>,从而影响到正常的生理过程,甚至影响到生殖和发育<sup>[1]</sup>。

铅及其化合物存在于很多地方,而铅中毒在工业方面是最容易遭受的一种职业病,在铅字铸造、检字、铅合金、蓄电池、陶磁业、玻璃制造等行业都很容易造成铅中毒;而现在的汽车发展越来越迅速,汽油在燃烧不完全时产生的四乙基铅以及在完全燃烧时铅的氯化物、溴化物或硫酸盐、碳酸盐等均会造成铅中毒。某个人一旦出现铅中毒后,若是急性的,会出现恶

心、呕吐、胃痉挛等症状;若是慢性中毒,严重时会造成便秘、腹泄、头痛、精神不安、贫血等,而遭受铅中毒的孕妇常会发生流产、死产或出生婴儿一年内死亡等。至于铬及重铬酸盐大量用于水泥制造、染料、皮革、电解等工业,而且由于它对空气及湿气极稳定,常用于日用品及化妆品等,若发生铬中毒(主要是六价的铬及重铬酸盐中毒),轻者引起腹泄、呕吐,重者会导致个体死亡<sup>[8]</sup>。

因此,保护环境,处理工业的废渣和废液刻不容缓。我们用酵母菌作试验材料来探讨环境中或培养基中含有重金属离子(如  $\text{Cr}^{+2}$ 、 $\text{Pb}^{+2}$ )时,对酵母菌产生的生物学效应。从而对工业三废的治理提供一定的理论和试验依据。

# 1 材料和方法

## 1.1 材料

酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae*, 自曲阜师范大学生物系微生物实验室。

## 1.2 培养基成分

在酵母完全培养基上分别添加  $\text{PbSO}_4$  和  $\text{CrCl}_2$ , 其浓度分别是 0.2、0.4、0.6、0.8 和 1mg/mL, 配制好的培养基平板上的标记号分别为  $\text{Pb}_{0.2}$ 、 $\text{Pb}_{0.4}$ 、 $\text{Cr}_{0.2}$ 、 $\text{Cr}_{0.4}$  等等。以不添加重金属离子 ( $\text{Cr}^{+2}$ 、 $\text{Pb}^{+2}$ ) 的培养基作为对照 (以 CK 表示)。每种处理和对照均有 7 个平板, 以利于进行统计分析。培养基均提前配好并作好标记备用。

## 1.3 方法

将已活化的菌种接种于不含重金属离子的完全培养基平板上, 27℃ ~ 28℃ 培养 2d, 形成菌落。然后选取生长良好的单个菌落, 用接种环刮到 10mL 无菌水中, 摇匀制成菌悬液。每次吸取 50 $\mu$ L 上述菌悬液注入备处理的和对照的各种培养基平板上, 用涂棒涂布均匀, 倒置放入培养箱中培养 2d。待菌落生长良好, 然后分别从各种处理和对照的平板上随机地挑取一个均匀的菌落再制成菌悬液, 重复上述步骤, 所得的酵母菌即为第二处理世代。采用同样的方法连续处理了 4 个世代 (用  $F_1$ 、 $F_2$ ... 表示)。而每世代所得到的菌落除了选一个接种下一世代外, 其余的均用于进行各项生理和生化指标的分析测定。

## 1.4 生理和生化分析

**1.4.1 计数菌落数:** 把每世代、每个平板上生长的菌落都分别计数, 按每种处理和对照分别求出平均值。随后将处理与对照相比较, t 测验<sup>[7]</sup>, 确定各种处理与对照的差异显著程度。

**1.4.2 测量细胞的直径:** 在一片干净的载玻片上滴一滴无菌水, 然后从各种处理和对照的平板上随机地挑取少量的酵母细胞, 涂于载玻片的水中。盖上盖玻片, 吸去多余的水分, 在显微镜下测定每个酵母细胞的直径。每一种处理和对照各测定 30 个细胞, 然后分别求平均

值, 各种处理均与对照进行比较, t 测验, 计算差异显著程度。

**1.4.3 多种细胞内含物的测定:** 用干净玻片从待测平板上分别刮取 0.1g 鲜酵母, 磨碎, 提取出蛋白质、DNA、RNA 和可溶性糖。以考马斯亮兰比色法测定细胞内蛋白质的含量<sup>[5]</sup>; 以紫外分光光度计吸收法测定细胞中 DNA 和 RNA 的含量; 以蒽酮比色法测定可溶性糖的含量<sup>[6]</sup>。

# 2 结果与讨论

## 2.1 重金属离子对酵母菌落数的影响

从所得结果看来, 随着培养基中重金属离子浓度的升高以及世代的延续, 每个培养皿上的菌落数渐趋减少, 其中比较显著的是  $\text{Cr } F_2$  代和  $F_3$  代以及  $\text{Pb } F_2$  代, 菌落数甚至不足对照的 2/3 (对照组的平均菌落数为  $7024 \pm 73.3$ , 而  $\text{Cr}_1 F_3$  的菌落数仅有  $4562 \pm 58.7$ , 其它几组均类似), 浓度为 1mg/mL 组的两种处理所得结果与对照组相比均呈现显著性差异。虽然  $F_4$  代菌落数稍微上升, 但上升不明显, 如  $\text{Cr}_{0.8}$  仅有  $5216 \pm 71.8$  个菌落, 离对照尚有一定的距离。

## 2.2 重金属离子对酵母细胞直径的影响

不同浓度的重金属离子处理酵母菌后, 使细胞直径变化非常大。对照组的细胞直径平均为 0.541 $\mu$ m, 而其它各处理组的细胞直径均低于对照, 当重金属离子的浓度为 0.6mg/mL 以上时, 各处理组与对照相比均呈现显著性差异, 如  $\text{Pb } 1\text{mg/mL}$  处理组的 4 个世代细胞的平均直径仅为 0.347 $\mu$ m (0.296 ~ 0.396 $\mu$ m)。从所得结果来看, 经  $\text{Pb}$  和  $\text{Cr}$  离子处理后的各个世代的大致趋势是随着重金属离子浓度的升高, 细胞直径逐渐减小。

## 2.3 重金属离子对酵母细胞内含物含量的影响

**2.3.1 蛋白质含量的变化:** 由表 1 可以看出, 在含有  $\text{Cr}$  离子的培养基上生长的酵母菌与对照相比, 其蛋白质的含量是随着重金属离子浓度的升高而降低。在含有  $\text{Pb}$  离子的培养基上生长的酵母菌内的蛋白质含量则大多低于对

照,仅有少数处理略多于对照,这可能是试验误差,但大致趋势仍是随着重金属离子的浓度升高,酵母细胞内的蛋白质含量下降。

表1 重金属离子对细胞内蛋白质含量的影响

离子浓度 (mg/mL)	蛋白质含量(mg/g鲜重)			
	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>
0.2	3.035	3.196	3.177	3.012
0.4	2.853	3.067	3.075	2.996
Cr 0.6	2.738	2.292	2.909	2.917
0.8	2.590	2.218	2.229	3.072
1.0	2.601	2.058	2.179	2.584
0.2	2.561	2.871	2.824	2.669
0.4	2.832	2.382	2.369	2.197
Pb 0.6	3.001	2.221	3.448	3.011
0.8	2.776	3.076	2.922	2.887
1.0	3.010	2.807	2.654	2.375
CK	3.087			

2.3.2 核酸含量的变化:当重金属离子处理酵母菌后,使细胞内的DNA和RNA的含量也发生了变化。但是,变化的趋势不很明显。有的增长,而有的却降低(见表2)。

表2 重金属离子对细胞内核酸含量的影响

离子浓度 (mg/mL)	核酸含量(与对照的倍数)			
	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>
0.2	1.22/1.01	1.18/1.17	1.01/1.05	1.19/1.12
0.4	1.01/1.02	1.02/1.10	0.83/1.01	1.13/1.08
Cr 0.6	0.93/0.85	0.98/1.10	0.99/0.89	1.01/1.00
0.8	1.03/0.78	1.07/0.94	0.87/1.02	1.06/0.88
1.0	0.79/0.76	0.96/1.02	0.97/0.93	0.82/0.91
0.2	1.08/1.23	1.11/1.12	1.03/0.99	0.98/1.04
0.4	1.34/1.10	0.96/1.11	0.98/1.12	1.21/1.11
Pb 0.6	1.23/1.09	0.97/1.01	0.89/0.91	1.01/1.02
0.8	1.13/1.21	0.95/1.25	0.88/1.02	0.98/1.14
1.0	0.89/0.79	0.89/0.91	0.92/0.87	0.84/0.87
CK	1.00/1.00			

2.3.3 可溶性糖含量的变化:在Pb和Cr离子处理酵母菌后,使细胞内各种代谢物质都发生了变化,尤以可溶性糖含量的变化最明显。这主要是因为这些重金属离子影响了各种代谢过程,使代谢机制受阻,在代谢最旺盛的可溶

性糖上很容易表现出来。从表3中不难看出,随着Pb和Cr离子浓度的升高,可溶性糖的含量均呈下降的趋势,而以Pb<sup>2+</sup>影响最为明显。特别在Pb1mg/mL的处理组中,各世代的可溶性糖的含量仅相当于对照的一半。

表3 重金属离子对菌体内可溶性糖含量影响

离子浓度 (mg/mL)	可溶性糖含量(mg/g鲜重)			
	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>
0.2	4.62	3.97	4.28	4.11
0.4	5.01	4.06	4.17	4.56
Cr 0.6	4.06	3.84	3.09	3.55
0.8	2.97	3.82	3.21	3.33
1.0	2.29	2.02	2.09	2.41
0.2	3.86	3.96	4.20	4.13
0.4	3.82	4.23	4.06	4.20
Pb 0.6	4.03	3.70	3.98	3.97
0.8	2.64	3.52	2.76	2.66
1.0	2.60	3.01	3.01	2.89
CK	4.93			

从试验结果来看,重金属离子处理酵母后明显对细胞的分裂有抑制作用,同时也说明当环境中存在重金属离子时,它们可进入细胞,可干扰细胞内的代谢机制。

细胞内的多种内含物(如蛋白质、核酸和可溶性糖等)在绝大多数处理中都随着重金属离子浓度的升高而降低,有的降低的还很明显。

## 参考文献

- [1] 邹恩民. 中国环境科学, 1995, 15(2): 157.
- [2] 李国华, 余 森, 田俊等. 中国公共卫生学报, 1996, 15(5): 280.
- [3] 赵可夫. 曲阜师范大学学报. 植物抗盐生理专刊 1984: 5.
- [4] 曾隆强, 庞海岩, 刘长福等. 中华预防医学杂志, 1996, 30(4): 213.
- [5] 西北农业大学主编. 基础生物化学实验指导. 西安: 陕西科学出版社 1985, 66~68.
- [6] 张志良主编. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 1990, 160~187.
- [7] 杜荣蓉著. 生物统计学. 北京: 高等教育出版社, 1984, 123~127.
- [8] [日] 堀口博著, 安家驹译. 公害与毒物、危险物(无机篇). 北京: 化学工业出版社, 1981, 166; 286.
- [9] Bradford M M. Anal Biochem. 1976, 72: 248.