

# 微量元素锗对四种微藻光合色素的影响

王大志<sup>1</sup>, 王海黎<sup>2</sup>, 李少菁<sup>3</sup>, 程兆第<sup>4</sup>, 金德祥<sup>4</sup>

(1. 厦门大学教育部海洋环境科学重点实验室, 厦门 361005; 2. 北京大学城市与环境科学系, 北京 100871; 3. 厦门大学海洋系; 4. 厦门大学生物系, 厦门 361005)

**摘要:** 采用溶液培养方法, 以锗作为胁迫因子, 研究了锗对 4 种微藻: 钝顶螺旋藻 (*Spirulina platensis*)、盐生杜氏藻 (*Dunaliella salina*)、湛江叉鞭金藻 (*Dicrateria zhanjiangensis*) 和微绿藻 (*Nannochloropsis* sp.) 光合色素的影响。实验结果表明, 经 10 mg/dm<sup>3</sup> 锗处理后, 四种藻类细胞中的光合色素都发生了较大变化, 有些色素发生明显的增加或形成, 有些色素则减少或消失, 但不同种间差别较大。此外还对锗的作用机理进行了探讨。

**关键词:** 锗; 微藻; 光合色素

## Effects of germanium on photosynthetic pigments of four species in microalgae

WANG Da-Zhi<sup>1</sup>, WANG Hai-Li<sup>2</sup>, LI Shao-Jing<sup>3</sup>, CHENG Zhao-Di<sup>4</sup>, JIN De-Xiang<sup>4</sup> (1. The Key Laboratory of Marine Environmental Science of the Ministry of Education, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. Department of Urban and Environmental Science, Beijing University, Beijing 100871, China; 3. Department of Oceanography, Xiamen University, Xiamen 361005; 4. Department of Biology, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract** Four microalgae, *Spirulina platensis*, *Dunaliella salina*, *Dicrateria zhanjiangensis* and *Nannochloropsis* sp. were cultured in a solution with concentration of 10 mg/dm<sup>3</sup> germanium for 10 d (for *S. platensis*) and 16d (for the other algae) to study photosynthetic pigments in these algae. The results showed that photosynthetic pigments and their contents in these four algae were changed greatly, some increased or formed and the others decreased or disappeared, the changes of the pigments varied greatly among these algae. In addition, the effect and its mechanism of germanium on photosynthetic pigments of algae were also discussed.

**Key words:** germanium; microalgae; photosynthetic pigments

文章编号: 1000-0933(2000)03-0482-03 中图分类号: Q 178, X 171 文献标识码: A

锗是一种微量元素, 位于元素周期表的过渡金属中, 具有金属和非金属的双重特性。尽管目前尚没有足够证据证明锗是生物体的一种必需营养元素, 但大量研究表明, 锗及其化合物由于它们自身的结构和性质, 而具有一定的生物学效应和特殊的药理作用<sup>[1]</sup>。在高等植物中, 锗可作为植物生长的调节剂, 不仅能促进谷物、蔬菜和水果的生长, 并可改进它们的品质<sup>[2,3]</sup>。因而锗的研究引起了人们的重视。在藻类中也开展了大量的工作<sup>[4-8]</sup>, 结果表明, 低浓度锗常具有促进藻类生长的作用, 而高浓度锗则有抑制作用, 严重时会产生毒害作用。马家海等人<sup>[9]</sup>观察到, 经锗处理的蛋白核小球藻色素变淡或只留下空壁; 高亚辉等也观察到高浓度使得钝顶螺旋藻的丝状体变黄<sup>[10]</sup>。这些观察说明藻类的光合色素受到了影响, 但目前尚未有这方面的专门报道。

本文利用高效液相色谱 (HPLC) 对暴露于锗溶液中的 4 种微藻 *S. platensis*, *D. salina*, *D. zhanjiangensis* 和 *Nannochloropsis* sp. 的光合色素进行了研究, 并对锗的作用机理进行了探讨。

基金项目: 国家教委博士点基金资助项目 (编号: 9538408)

收稿日期: 1998-02-25; 修订日期: 1999-01-12

作者简介: 王大志 (1969~ ), 男, 博士, 副教授。

## 1 材料和方法

**1.1 藻种和培养** 所用钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)、盐生杜氏藻(*Dunaliella salina*)、湛江叉鞭金藻(*Dicrateria zhanjiangensis*)和微绿藻(*Nannochloropsis* sp.)为本室保存种。培养液为经高温消毒的过滤海水和自来水。培养基,淡水种*S. platensis*采用Zarrouk液体培养基<sup>\*</sup>,其它海水种采用f/2培养基。在其中加入GeO<sub>2</sub>来提供锗,锗浓度均为10mg/dm<sup>3</sup>。培养条件采用日光灯作为培养光源,光强150μmol/m<sup>2</sup>·s,光暗周期12h/12h,培养温度28±1。培养10d(*S. platensis*)和16d后(其它藻类),取3×10cm<sup>3</sup>测定光合色素,另取3×100cm<sup>3</sup>,在预先干燥称量过的0.45μm微孔滤膜上过滤,过滤后的滤膜用0.5mol/dm<sup>3</sup>的甲酸胺(30cm<sup>3</sup>)冲洗,然后置于100℃恒温箱中干燥4h,取出称重,确定100cm<sup>3</sup>培养液中的藻细胞干重。实验中各设空白对照,除锗外其它条件同处理组。

**1.2 色素分析** 色素分析采用逆相高效液相色谱(RP-HPLC)进行分析。取2×10cm<sup>3</sup>藻液经离心收集,沉淀中加入5cm<sup>3</sup>分析纯丙酮,超声萃取3~5min,然后于暗处低温(-20℃)再萃取24h,滤液用玻璃纤维滤膜(Watman GF/C, φ24mm)抽滤后(P<200mmHg),吹氮气浓缩至一定体积(<2cm<sup>3</sup>),在Waters208型高效液相色谱上进行分析,所有的叶绿素类和类胡萝卜素类色素均在440nm下检测。

## 2 结果

表1为锗对4种微藻光合色素的影响。钝顶螺旋藻(*S. platensis*)经锗处理10d后,细胞中叶绿素a、β-胡萝卜素和玉米黄素含量明显减少,分别减少了75.06%、61.38%和82.12%,但细胞中出现了3种新的光合色素,即岩藻黄素、19-乙酰氧化岩藻黄素和紫黄素。

盐生杜氏藻(*D. salina*)细胞中,大多数光合色素的含量有减少,尤其是新叶黄素、岩藻黄素和多甲藻素,锗处理后含量变为零;同时出现了叶黄素,紫黄素也有少量增加。

湛江叉边金藻(*D. zhanjiangensis*)经锗处理后,细胞中大多数光合色素含量有增加,尤其是叶绿素a和叶绿素c分别增加了660.32%和490.24%,β-胡萝卜素和19-乙酰氧化岩藻黄素也各增加了150.00%和137.74%;但多甲藻素含量减少为零,岩藻黄素也减少了47.40%。

微绿藻(*Nannochloropsis* sp.)中,叶绿素a和β-胡萝卜素含量增加,分别增加了138.28%和107.69%,紫黄素也从0增加至干重的0.105%;但多甲藻素和岩藻黄素的含量则减至零。

## 3 讨论和结论

本研究表明,经锗处理后,4种微藻的光合色素都发生了变化,一些光合色素发生明显的增减,一些光合色素则消失或形成,但不同种间差别较大。

锗引起藻类光合色素变化的机理尚不清楚。已有研究表明<sup>[11]</sup>,当环境条件(如光照强度、营养盐等)改变时,会影响到藻类光合色素和色素前体的周转和转化(比如类胡萝卜素循环),从而引起藻类光合色素的变化。本研究中,在锗处理的4种藻类中都出现了某些光合色素的增减、消失或形成,因而锗的介入极可能影响了细胞内光合色素的周转和转化,从而引起了某些色素的降解或合成等,导致色素的增减、消失和形成。此外,研究还表明<sup>[12-14]</sup>,藻类细胞中的类胡萝卜素不仅是细胞主要的捕光色素,对细胞还具有保护作用,使细胞免受外界不良因子的伤害(如高光强等)。在本研究中也观察到某些类胡萝卜素的含量明显增加,这可能是由于锗的存在影响了藻类细胞的正常生理功能,降低了细胞对外界不良因子(如高光强)的抵抗能力,为了维持细胞一些生理活动的正常进行,细胞内的某些保护机制在起作用,如一些保护色素类胡萝卜素的合成,使得细胞免受更大伤害。此外锗的介入也可能影响了细胞内的抗氧化防御体系,从而引起藻类光合色素的变化。已有研究表明,在高等植物小麦中,锗的存在会促进初生叶中过氧化酶的活性<sup>[15]</sup>,提高叶的氧敏感性;在一种太阳花的叶中则发现<sup>[16]</sup>,锗能抑制细胞内酚氧化成高毒性苯醌和氧自由基的产生,对叶质膜的整合性起到保护作用。在藻类中,锗的介入可能影响了藻类细胞中的抗氧化防御体系,从而引起了藻类光合色素的变化,这有待进一步深入研究。

\* Zarrouk C, 1966 Influence de diverse facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de (*Spirulina maxima* Setch et Gardner) Geitler Ph D Thesis, University of Paris(Paris)

总之, 经锗处理后, 四种微藻的光合色素都发生上了较大的变化, 这些变化又存在着明显的种间差异。锗影响藻类光合色素变化的作用机理尚不清楚, 锗的存在可能影响了藻类光合色素和色素前体的周转和转化, 或是影响了细胞内的抗氧化防御体系, 从而引起藻类光合色素的变化。

表1 锗对微藻光合色素的影响(% dw)

Table 1 Effects of germanium on the photosynthetic pigments of Microalgae

色素类	<i>S. platensis</i>		<i>D. salina</i>		<i>D. zhanjiangensis</i>		<i>N. annochloropsis</i> sp.	
	- Ge	+ Ge	- Ge	+ Ge	- Ge	+ Ge	- Ge	+ Ge
叶绿素 a (Chlorophylla)	2.045	0.510	2.620	2.270	0.315	2.395	0.128	0.305
叶绿素 b (Chlorophyllb)	—	—	0.358	0.186	—	—	—	—
叶绿素 c (Chlorophyllc)	—	—	—	—	0.041	0.242	—	—
$\beta$ 胡萝卜素 ( $\beta$ -caroten)	0.189	0.073	0.566	0.145	0.036	0.090	0.026	0.054
紫黄素 (Vio laxanthin)	0.000	0.237	0.079	0.096	0.065	0.116	0.000	0.105
叶黄素 (Lutein)	—	—	0.000	0.140	—	—	—	—
新叶黄素 (N-Lutein)	—	—	0.327	0.000	—	—	—	—
岩藻黄素 (Fucoxanthin)	0.000	0.550	1.518	0.000	0.500	0.236	0.076	0.000
多甲藻素 (Peridinin)	—	—	0.255	0.000	0.061	0.000	0.017	0.000
玉米黄素 (Zeaxanthin)	0.425	0.076	—	—	—	—	—	—
19-乙酰氧化岩藻黄素 (19-hexanoyloxyfucoxanthin)	0.000	0.082	—	—	0.053	0.126	—	—

注: 表中“- Ge”表示空白对照组, “+ Ge”表示锗处理组, 其余“—”表示不含有该色素

## 参考文献

- [1] 王夔编著. 生命科学中的微量元素. 北京: 中国计量出版社, 1992: 510
- [2] 杨宁生, 等. 有机锗对绞股蓝愈伤组织生长及皂苷含量的影响. 植物生理学通讯, 1994, 30(4): 313~ 316
- [3] Takahashi & M A J F. New aspects of silicon nutrition in rice plants. Transactions of 14th International Congress of Soil Science Vol 4th, Kyoto Japan, 1990, 158~ 168
- [4] Lewin J. Silicon metabolism in diatoms V. Germanium dioxide, a specific inhibitor of diatom growth. *Phycologia*, 1966, 6: 1~ 12
- [5] Markham J W & Hagmeier. Observations on the effects of germanium dioxide on the growth of macroalgae and diatoms. *Phycologia*, 1982, 21: 125~ 134
- [6] Provasoli L. Media and prospect for culture of marine algae. In: *Cultures and collections of marine algae*. A. Watanabe and A. Hattori Ed. 1968, 63~ 75. Jap. Soc Pl Physiol Tokyo.
- [7] Yanagimoto M, Saitoh H and Kakimoto N. A alkaline shift effect on the uptake of germanium by algae, *Chlorella ellipsoidea*, *Oscillatoria* sp. and *Spirulina platensis*. *J. Ferment Technol*, 1983, 61(3): 233~ 238
- [8] Yang W. X. Morphological study on the inhibitory effect of germanium dioxide on growth and development of brown algae. *Sci Pap. Inst Agric Res Hokkaido Univ.*, 1993, 9: 33~ 64
- [9] 马家海, 刘青. 二氧化锗对坛紫菜自由丝状体生长发育的影响. 水产学报, 1989, 13: 36~ 41
- [10] 高亚辉, 王大志, 程兆第. 锗对几种微藻生长的影响. 台湾海峡, 1997, 16: 63~ 66
- [11] Kohata K and Watanabe M. Diel changes in the composition of photosynthetic pigments and cellular carbon and nitrogen in *Pyramimonas parkeae* (Prasinophyceae). *J. Phycol*, 1989, 25: 377~ 385
- [12] Guillard R R L, Murphy L S, Foss P, et al. *Synechococcus* spp. as likely zeaxanthin-dominant ultraphytoplankton in north Atlantic. *Limnol Oceanogr*, 1985, 30: 412~ 414
- [13] Bidigare R R, Ondrusek M E, Kennicutt M C et al. Evidence for photoprotective function for secondary carotenoids of snow algae. *J. Phycol*, 1993, 29: 427~ 434
- [14] Johnson G and Sakshaug E. Bio-optical characteristics and photo-adaptive responses in the toxic and bloom-forming dinoflagellates *Gyrodinium aureolum*, *Gymnodinium galatheanum*, and two strains of *Prorocentrum minimum*. *J. Phycol*, 1993, 29: 627~ 642
- [15] Halperin S J, Barzilay A, Carson M, et al. Germanium accumulation and toxicity in barley. *J. Plant Nutrition*, 1995, 18: 1417~ 1426
- [16] Cakmak I, Kurz H, Marschner H. Short-term effects of boron, germanium and high light intensity on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower. *Physiol Planta*, 1995, 95: 11~ 18