

# 硒在海洋浮游植物生化组分中的分布\*

杨逸萍 李河典 胡明辉

(厦门大学海洋学系)

**关键词** 硒 海洋浮游植物 生化组分

## 前言

硒为中等生物制约元素,海洋浮游植物对硒的富集系数高达 $10^3 \sim 10^4$ <sup>[1]</sup>。硒沿海洋食物链的传递<sup>[1~4]</sup>表明硒在生物体内可能被结合在细胞原生组分中<sup>[5~7]</sup>。为了进一步探讨硒对海洋浮游植物营养作用的新陈代谢基础,深入研究硒沿海洋食物链的传递现象,本文通过实验室培养试验,结合现场观测,比较全面地研究了硒在海洋浮游植物体主要生化组分中的分布,同时探讨了介质中硒浓度变化对上述分布的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 藻类培养方法

实验藻种有骨条藻 [*Skeletonema costatum* (GTeV.)]、钙质角毛藻 (*Chaetoceros calcitrans*)、牟氏角毛藻 (*Chaetoceros mullerilen*) 和扁藻 (*Platymonas helgolandica* Kylin)。1991年7月中旬于厦门湾鸡屿、嵩屿和胡里山炮台附近海域采集海洋浮游植物天然种群。

#### 1.1.1 纯种培养

按f/2配方配制藻类培养营养液。各种藻经接种后,在 $22 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 、光照度2000~2200 lx和L:D=14:10的条件下培养。当藻类培养到指数生长期时,外加适量Se(IV),补充适量营养液,继续培养到指定时间。

#### 1.1.2 混种培养

将骨条藻、钙质角毛藻、牟氏角毛藻和扁藻按一定比例混合(初始密度分别为 $10^5$ 个/cm<sup>3</sup>,  $10^3$ 个/cm<sup>3</sup>,  $10^3$ 个/cm<sup>3</sup>和 $10^5$ 个/cm<sup>3</sup>),培养条件见纯种培养。

### 1.2 藻体生化组分的萃取分离

按Shibko等推荐的步骤<sup>[8]</sup>,对藻体样品进行分离处理。将藻体样品匀浆成次细胞级浆

本文于1992-08-21收到,修改稿于1992-12-14收到。

• 国家自然科学基金资助项目。

液,加入高氯酸冷处理,从溶解部分分离出多糖组分和可溶性化合物(包括可溶性碳水化合物、氨基酸和有机酸等)。不溶部分以碱提取RNA,用酸水解法提取DNA,溶剂萃取可得类脂,同时回收蛋白质。该法既可避免提取类脂时蛋白质中核苷酸损失到类脂溶剂中,也可提高类脂的提取率。为进一步检验其分离效果,笔者采用改进的Lowry法<sup>[9]</sup>、蒽酮比色定糖法和邻苯二醛法<sup>[9]</sup>分别测定各分离组分中残留的自由氨基酸、糖和蛋白质含量(表1)。由表1可见,此法基本可分离各生化组分。

表1 已分离生化组分杂质的检验

检 验 项 目	可溶性化合物	RNA	DNA	类 脂
自由氨基酸	检出	未检出	未检出	未检出
糖含量占总糖百分比(%)	5	1~2	0.1~0.2	未检出
蛋白质含量占总蛋白质百分比(%)	未检出	1~4	0.1~0.5	未检出

## 1.3 测定方法

### 1.3.1 海水和藻液中Se(IV)含量的测定

测定方法见文献[10]。在 $0.3\text{mol}/\text{dm}^3\text{HCl}$ 介质中,先用巯基棉将Se(IV)吸附,再用 $\text{HNO}_3\text{-Mg}(\text{NO}_3)_2$ 消解吸,在 $4\text{mol}/\text{dm}^3\text{HCl-}3\text{mg}/\text{dm}^3\text{CuCl}_2$ 介质中用悬汞电极差示脉冲阴极溶出伏安法测定Se(IV)。将解吸液在 $4\text{mol}/\text{dm}^3\text{HCl}$ 中加热,使Se(VI)还原为Se(IV),然后按Se(IV)测定法测定 $\Sigma\text{Se}[\text{Se}(\text{IV})+\text{Se}(\text{VI})]$ 。采用美国EG&G公司出品的PAR 384B极谱分析仪。试剂均为优级纯。玻璃器皿使用前均在 $4\text{mol}/\text{dm}^3\text{HCl}$ 中浸泡过夜,再用石英亚沸蒸馏水淋洗。

### 1.3.2 藻体及其各生化组分中硒含量的测定

藻体培养到指定时间,摇匀,取出一定体积,  $0.45\mu\text{m}$  滤膜过滤,  $0.06\text{mol}/\text{dm}^3\text{NaCl}$  溶液洗涤3遍。将膜上藻体刮入预先称重的小烧杯中,  $65^\circ\text{C}$  下烘干,再称重。取 $5.00\text{mg}$  藻体(干重),加入 $1\text{g Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $3\text{cm}^3\text{HNO}_3$ , 电热板上缓慢加热至干。冷却后加入 $1:1\text{HCl}2\text{cm}^3$ , 温热至溶解,冷却后定容,测定Se(IV)含量。各生化组分经分离后,称重,余步骤同上,并同时做空白试验。

## 2 结果与讨论

### 2.1 硒在天然种群海洋浮游植物主要生化组分中的分布

厦门湾3个站位天然种群海洋浮游植物体内主要生化组分中硒含量及各站位海水中Se(IV)和 $\Sigma\text{Se}$ 浓度列于表2。由表2可见,水体中Se(IV)与 $\Sigma\text{Se}$ 含量及藻体中平均硒含量和富集系数均接近于文献[1]的观测值。硒含量基本按下列顺序排列:蛋白质>RNA>类脂>多糖>可溶性化合物>DNA。尽管有的站位个别组分顺序有些不符,但硒一般主要集存于蛋白质中,这与以前的研究结果一致<sup>[7,11]</sup>。

表2 厦门近岸水体、藻体及其生化组分中的硒含量\*

类别		鸡 峙	嵩 峙	胡里山炮台	平均值
水体	$\Sigma\text{Se} (\mu\text{g}/\text{dm}^3)$	0.098	0.100	0.099	0.099
	$\text{Se}(\text{IV}) (\mu\text{g}/\text{dm}^3)$	0.025	0.016	0.018	0.019
藻体	$C_A (\times 10^{-6})$	1.6	1.3	1.8	1.6
	富集系数 $R$	$1.6 \times 10^4$	$1.3 \times 10^4$	$1.8 \times 10^4$	$1.6 \times 10^4$
蛋白质	$C_P (\times 10^{-6})$	4.8	4.2	5.0	4.7
	占总硒百分比(%)	59	62	56	59
类脂	$C_L (\times 10^{-6})$	1.8	1.7	1.7	1.7
	占总硒百分比(%)	7.0	8.5	11	8.8
多糖	$C_G (\times 10^{-6})$	0.38	0.23	0.43	0.35
	占总硒百分比(%)	8.6	7.4	7.7	7.9
可溶性化合物	占总硒百分比(%)	9.4	4.7	4.0	6.0
RNA	占总硒百分比(%)	14	13	18	15
DNA	占总硒百分比(%)	2.6	3.7	6.0	4.1

\*  $C_A$ 、 $C_P$ 、 $C_L$ 、和 $C_G$ 分别为藻体、蛋白质、类脂和多糖的含硒量; 数据为两份平行测定值的平均值, 下同。

表3 硒在各种藻类生化组分中的分布(培养7d后)

藻 类		钙质角毛藻	牟氏角毛藻	骨条藻	扁藻
藻体	$C_A (\times 10^{-6})$	2.6	1.9	2.6	2.9
蛋白质	$C_P (\times 10^{-6})$	2.2	1.8	4.6	4.1
	占总硒百分比(%)	26	26	23	34
类脂	$C_L (\times 10^{-6})$	2.9	2.1	6.3	1.2
	占总硒百分比(%)	18	9.5	19	8.3
多糖	$C_G (\times 10^{-6})$	1.1	1.1	2.7	0.40
	占总硒百分比(%)	10	5.2	12	13
可溶性化合物	占总硒百分比(%)		22	9.2	6.2
RNA	占总硒百分比(%)	43	24	33	26
DNA	占总硒百分比(%)		14	12	7.6

\* 钙质角毛藻体内可溶性化合物及DNA中硒含量因实验原因来测。

## 2.2 硒在不同藻类生化组分中的分布

### 2.2.1 纯种培养结果

将钙质角毛藻、牟氏角毛藻、骨条藻和扁藻的纯藻种分别在接近于天然海水 $\text{Se}(\text{IV})$ 浓度的介质( $0.03 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ )中培养至稳定生长期(第7天)。硒含量测定结果见表3。显然, 硒在各主要生化组分中的分布因藻种而异。试验的4种藻类蛋白质和RNA含硒量都比较高, 两者含硒量之和占总含硒量的50%~70%。与天然种群藻体内生化组分中硒的分布顺序大致相同, 但蛋白质含硒量没有“绝对领先”。由于试验藻种并非皆为该海区、该季节下的优势种, 且实验室培养条件与天然海区的环境条件有较大差别, 故纯种培养与天然种群的测定结果之间存在差异尚可以理解。

### 2.2.2 混种培养结果

在接近天然海水Se(IV)浓度( $0.03\mu\text{g}/\text{dm}^3$ )介质中混种培养4种藻类(骨条藻, 钙质角毛藻, 牟氏角毛藻和扁藻)至稳定生长期(第7天). 培养期间隔天取样, 仅分离出蛋白质、类脂和多糖3种生化组分(表4). 在培养期间, 混种藻体总含硒量 $C_A$ 基本不变, 但明显地低

表4 混种培养时浮游植物主要生化组分硒含量变化

类别	培养时间(d)			
	1	3	5	7
藻体 $C_A (\times 10^{-6})$	1.9	1.9	1.9	1.7
蛋白质 $C_P (\times 10^{-6})$	4.3	5.2	5.4	5.6
类脂 $C_L (\times 10^{-6})$	3.9	3.8	4.2	1.7
多糖 $C_G (\times 10^{-6})$	0.38	0.37	0.32	0.24

于纯种藻体在相同培养时间内的含硒量(表3). 在相同的培养时间内, 各生化组分的含硒量均遵循以下顺序: 蛋白质>类脂>多糖, 类似于纯种培养及天然种群. 随着培养时间的增加,  $C_P$ 逐渐增大, 亦表明蛋白质结合硒的能力逐渐增强; 而 $C_L$ 和 $C_G$ 则有所下降, 亦即类脂和多糖结合硒的能力逐渐减弱. 看来由于混种培养时环境条件的变化, 可能引起各藻类结合硒的能力和对硒的贮存方式的变化. 混种培养的结果体现的是不同藻类在同一生长环境中的综合效应, 而不是纯种培养的简单相加. 所以混种培养蛋白质含硒量为 $5.6 \times 10^{-6}$ , 明显高于纯种培养时各藻类蛋白质含硒量的均值 $3.2 \times 10^{-6}$ , 说明混种培养可促进硒在蛋白质中的贮存.

### 2.3 介质Se(IV)浓度对硒在各生化组分中分布的影响

将牟氏角毛藻在不同初始Se(IV)浓度下纯种培养72h(表5). 显然, 随着介质Se(IV)浓度的增大, 蛋白质和RNA中硒的百分含量逐渐增大, 蛋白质增长幅度最大. 而类脂、多糖、可溶性化合物和DNA等组分含硒量均有所下降. 这表明介质Se(IV)浓度增大可增强蛋白质结合硒的能力.

表5 介质Se(IV)浓度对藻类生化组分硒的百分含量的影响(%)

生化组分	Se(IV)浓度			
	$0.06\mu\text{g}/\text{dm}^3$	$5.0\mu\text{g}/\text{dm}^3$	$50\mu\text{g}/\text{dm}^3$	$300\mu\text{g}/\text{dm}^3$
蛋白质	26	30	41	59
类脂	6.2	7.1	5.5	4.7
多糖	5.1	3.1	3.0	3.3
可溶性化合物	21	11	11	5.1
RNA	24	32	33	29
DNA	13	11	9.0	4.3

在不同初始Se(IV)浓度( $1000\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 和 $0.03\mu\text{g}/\text{dm}^3$ )下作混种培养, 并观测各生化组分硒含量随培养时间的变化趋势(图1). 图1a表明低Se(IV)介质培养的混种藻体的蛋白质含硒量最大, RNA其次. 随培养时间增加, 蛋白质含硒量略有增大, 而其他组分则略有下降. 在高Se(IV)浓度介质中(图1b), 蛋白质中硒的百分含量在培养的第1天便占绝

对优势(达78%左右), 而其余组分均约为10%以下. 随培养时间增加, 各组分(尤其是蛋白质)硒的百分含量基本保持不变. 可见高Se(IV)介质中, 硒可绝对定向集存于蛋白质中. 据文献[11], 硒可能在硫的生物合成过程中取代硫而被结合到多肽蛋白质中, 而类脂中硒可能通过非生物合成途径, 如以双键形式结合到不饱和烯基结构中[6]. 笔者的试验结果表明, 硒的生物合成速率明显大于非生物合成, 且前者受介质Se(IV)浓度的影响较大. 当蛋白质中硒含量增大到一定程度时, 可能引起蛋白质变性, 影响其正常的新陈代谢功能, 进而影响藻类的生长繁殖. 这可能是高浓度硒对藻类毒性的一种解释.

本文实验用藻种由厦门大学生物系海洋植物教研室提供, 谨此致谢.

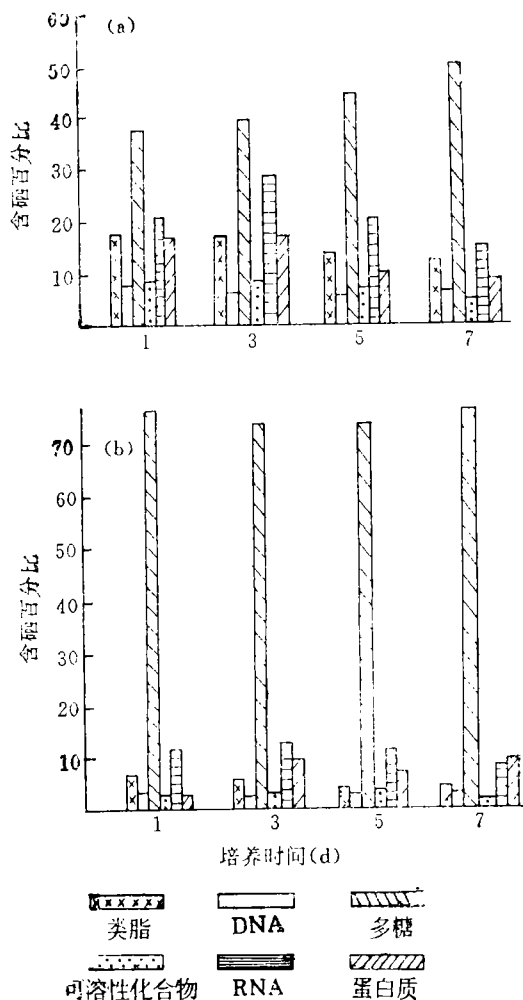


图1 混种培养时藻类生化组分含硒量随时间的变化  
a. Se(IV) 浓度 $0.03\mu\text{g}/\text{dm}^3$  b. Se(IV) 浓度 $1000\mu\text{g}/\text{dm}^3$

## 参考文献

- 1 Liu D L, Y P Yang, M H Hu and P J Harrison. Selenium content of marine food chain organisms from the coast of China. *Mar. Environ. Res.*, 1987, 22, 151~165
- 2 Zhang G H, M H Hu, Y P Huang, P J Harrison. Selenium uptake and accumulation in marine phytoplankton and transfer of Se to the clam *Puditapes philippinarum*. *Mar. Environ. Res.*, 1990, 30, 179~190
- 3 Wrench J J, C I Measures. Temporal variation in dissolved selenium in a coastal system. *Nature*, 1982, 299, 431~433
- 4 Willim N B, S B Arthur, E B Martin. Uptake and transfer Se in food chain. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1986, 15, 513~517
- 5 Bottino N R, C B Kurt *et al.* Selenium containing amino acids and proteins in marine algal. *Phytochem.*, 1984, 23, 2445~2452
- 6 Gennity J M, Bottino N R *et al.* The binding of selenium to the lipids of two unicellular ma-

- rine algal. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 1984, 118, 176~182
- 7 Maher W A. Characteristics of selenium in marine animals. *Mar. Poll. Bull.*, 1985, 16, 33~34
- 8 Shibko S, P Koivistonon *et al.* A method for sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycose from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.*, 1976, 19, 514~528
- 9 蔡成武. 生物物质常用化学分析方法. 北京:科学出版社, 1982
- 10 杨逸萍, 黄文惠, 刘道礼. 悬汞电极溶出伏安法测定海水中溶解态Se(Ⅳ)和Se(Ⅵ). *厦门大学学报*, 1987, 26, 96~102
- 11 Wrench J J. Selenium metabolism in the marine phytoplankton *Tetraselmis tetrathele* and *Dunaliella Minuta*. *Mar. Biol.*, 1978, 49, 231~236