

# 硒对极大螺旋藻生长及含硒量的影响\*

周志刚<sup>1</sup> 钟 罡<sup>2</sup> 刘志礼<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

(<sup>2</sup> 南京大学生物科学与技术系 210093)

**提要** 用 0.4 mg/L 硒培养极大螺旋藻时, 35 °C 与 160  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  的光温条件有利于螺旋藻生长和对硒的累积。在此种光温条件下, 40 mg/L 硒以下均促进藻的生长, 其中 12 mg/L 硒的效果最大; 超过 60 mg/L 硒就有抑制作用; 400 mg/L 硒以下藻即死亡。藻粉含硒量随培养基中硒浓度的增加而增大, 但相对培养基含硒量倍数的变化, 藻粉并不以同样的倍数增加含硒量。极大螺旋藻对硒的累积与藻细胞的生命活动密切相关。

**关键词** 极大螺旋藻, 硒, 生长, 累积

\* 硒作为无机营养元素在人和动物体内的营养研究很多<sup>[1,2]</sup>, 但对植物体尤其对藻类的作用研究较少<sup>[4]</sup>, 且只是现象的描述, 而在硒的生理作用机制方面的报道则更少。为此, 作者就硒对极大螺旋藻生长及藻细胞含硒量的影响作了探讨, 以求能为螺旋藻的应用提供参考。

## 1 材料与方法

实验材料极大螺旋藻 (*Spirulina maxima*), 以 Zarrouk 培养基<sup>[5]</sup>培养 12 d 后用于实验 (每天光照 16 h, 通过滤空气, 硒以亚硒酸钠形式供给)。实验中设置的温度有 15 °C、25 °C 和 35 °C, 光强有 200  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ , 160  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  和 120  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ , 培养基含硒量为 0.4 mg/L, 以 35 °C 或 160  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  未加硒为对照, 每天定时测定藻液在 560 nm 处的光密度值得生长曲线, 选择最佳温度和光强的生长条件。在此条件下研究不同浓度硒 (4~400 mg/L) 对藻生长的影响。收集藻细胞时, 将培养 12 d 的藻液用 300 目筛绢过滤, 再用无硒培养基洗两次, 得藻泥, 在 Lab-conco 冷冻干燥机里冻干成藻粉, 称重。分析藻粉含硒量时, 取冻干藻粉用混合酸 (硫酸/高氯酸 = 3/4, V/V) 消化, 加 2 ml 0.2 mol/L EDTA 溶液后调 pH 至 1.72, 再加 2 ml 4% 盐酸羟胺溶液, 5 min 后在暗室中加 4 ml 1 g/L DAN (2,3-二氨基萘, Sigma) 溶液, 用 850 型荧光分光光度计 (Hitachi) 检测环己烷萃取

液的荧光强度<sup>[7]</sup>:  $E_x = 378 \text{ nm}$ ,  $E_m = 518 \text{ nm}$ ; 狭缝  $E_x = 5 \text{ nm}$ ,  $E_m = 5 \text{ nm}$ ; PM-NORMAL。根据标准曲线计算出含硒量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 同一光照度及不同温度下硒对极大螺旋藻生长的影响

螺旋藻的最适生长温度在 35 °C 左右<sup>[9]</sup>, 为此用 35 °C 不加硒为对照, 测量不同温度下极大螺旋藻的生长曲线 (图 1)。与未加硒相比, 35 °C 条件下 0.4 mg/L 硒大大促进了极大螺旋藻的生长; 同在 0.4 mg/L 硒下, 35 °C 的生长速度显然快于 25 °C 和 15 °C 的。

### 2.2 同一温度及不同光照度条件下硒对螺旋藻生长的影响

根据不同温度对螺旋藻生长的影响, 选择了 35 °C 作为培养温度, 以探讨光强对螺旋藻生长的影响。

螺旋藻原产非洲乍得湖, 最适光强可达 600  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ <sup>[9]</sup>。实验室中一般得不到这样高的光强, 在此选择 200  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ , 160  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  和 120  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  三个光强, 以未加硒 160  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  的光强为对照, 结果 (见图 2) 出现高光强促使细胞生

\* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 3144 号。  
收稿日期: 1996 年 8 月 7 日

长, 硒的加入在同一光强下也促进细胞生长。

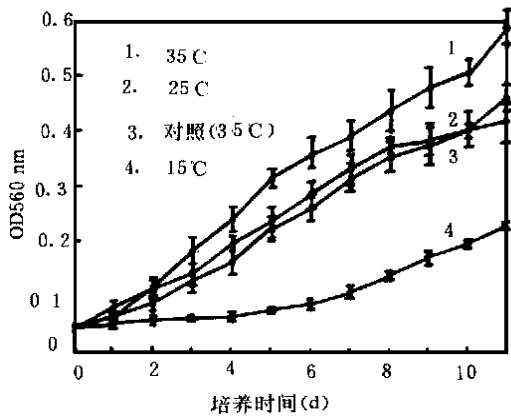


图1 不同温度下极大螺旋藻的生长曲线  
除对照外, 培养基含 0.4 mg/L Se, 光强  $120 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$

Fig. 1 The growth curve of *Spirulina maxima* grown at various temperatures

The medium contained 0.4 mg/L selenium except for the control, and light intensity was  $120 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$

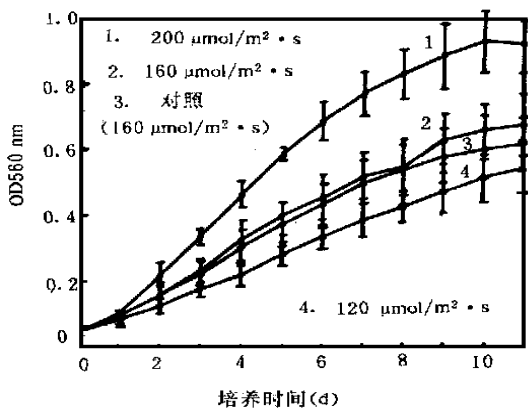


图2 不同光强下极大螺旋藻的生长曲线  
除对照外, 培养基含 0.4 mg/L Se, 温度  $35^\circ\text{C}$

Fig. 2 The growth curve of *Spirulina maxima* grown under various light intensities

The medium contained 0.4 mg/L selenium except for the control, and temperature was  $35^\circ\text{C}$

### 2.3 同光照度和温度条件下不同硒浓度对极大螺旋藻生长的影响

根据实验结果, 选择  $35^\circ\text{C}$  和  $160 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  为

培养条件, 增加硒的浓度来探讨不同硒浓度对极大螺旋藻生长的影响(见图3)。图3表明, 与对照相比,  $40 \text{ mg/L}$  硒以下的浓度都可以促进极大螺旋藻的生长, 其中  $12 \text{ mg/L}$  硒的促进作用最大;  $60 \text{ mg/L}$  硒对藻的生长就有抑制作用, 且随浓度增加抑制作用增大;  $400 \text{ mg/L}$  硒是该藻忍受的最大极限, 即是致死阈值。这种双重作用在前人的工作中也已得到证实<sup>[8,10]</sup>, 不过使用的藻种、硒的化合物不同, 硒作用的浓度不同。在加硒培养螺旋藻的过程中, 还发现自培养液中散发出一种蒜味的气体, 可能是二甲基硒醚或硒化氢, 这是由于藻细胞通过生理生化过程将亚硒酸根离子转变成易挥发性的硒化合物, 这也是螺旋藻能忍受高浓度硒的一个重要原因。

表1 不同条件下极大螺旋藻含硒量的比较

Tab. 1 Comparison of the selenium contents of *Spirulina maxima* under different conditions

培养条件			藻细胞含硒量
硒浓度 (mg/L)	温度 ( $^\circ\text{C}$ )	光强 ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ )	( $\times 10^{-6}$ )
0	35	120	0.051
0.4	15	120	0.64
0.4	25	120	1.03
0.4	35	120	0.435
0	35	160	0.0462
0.4	35	200	0.42
0.4	35	160	1.20
0.4	35	120	0.435
0	35	160	0.0462
0.4	35	160	1.20
4	35	160	3.063
8	35	160	9.810
12	35	160	13.081
16	35	160	20.235
20	35	160	32.893
40	35	160	53.424
60	35	160	83.230
80	35	160	170.652
100	35	160	140.571
200	35	160	270.483
300	35	160	326.145

作者推测硒对螺旋藻细胞生长的作用与硒的特殊生物化学功能有关。在较低的浓度下, 硒在细胞内参与谷胱甘肽过氧化物酶的合成, 它在超氧化物歧化酶的协助下, 有效地清除细胞内的活性氧自由基, 延缓衰老, 促进藻细胞的生长<sup>[11]</sup>, 造成了在同一温度

(35 ℃) 或同一光强(160  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ) 下加硒组比对照组生长快(见图1和图2)。但在高浓度硒的条件下, 由于它与硫的物理性质不一样, 导致在多肽链的合成中一些含硫氨基酸被化学性质相近的硒代氨基酸取代, 使正常的生命活动紊乱<sup>[3,6]</sup>, 导致胞内活性氧自由基的累积, 加速机体的衰老, 从而抑制藻细胞的生长<sup>[11]</sup>。

#### 2.4 不同条件下螺旋藻含硒量的比较

运用荧光分光光度法测定了不同条件下螺旋藻藻粉的含硒量, 结果见表1。该表表明稍低温度有利

藻细胞对硒的累积, 25 ℃时藻细胞生长比35 ℃的慢, 结果使累积硒的量显著增加; 15 ℃条件下, 藻细胞的生理生化活动较弱, 致使含硒量比25 ℃的低, 同时细胞生长较慢, 又使含硒量比35 ℃的稍高。200  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  的光强引起细胞代谢活动旺盛, 生长速度加快, 但不利于硒的累积; 而160  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  的光强, 一方面可以促进藻细胞的生长, 另一方面又有利于硒在藻细胞中的累积。所有这些都说明藻细胞对硒的累积与其生命活动密切相关, 从而使细胞中硒的代谢得到动态平衡。

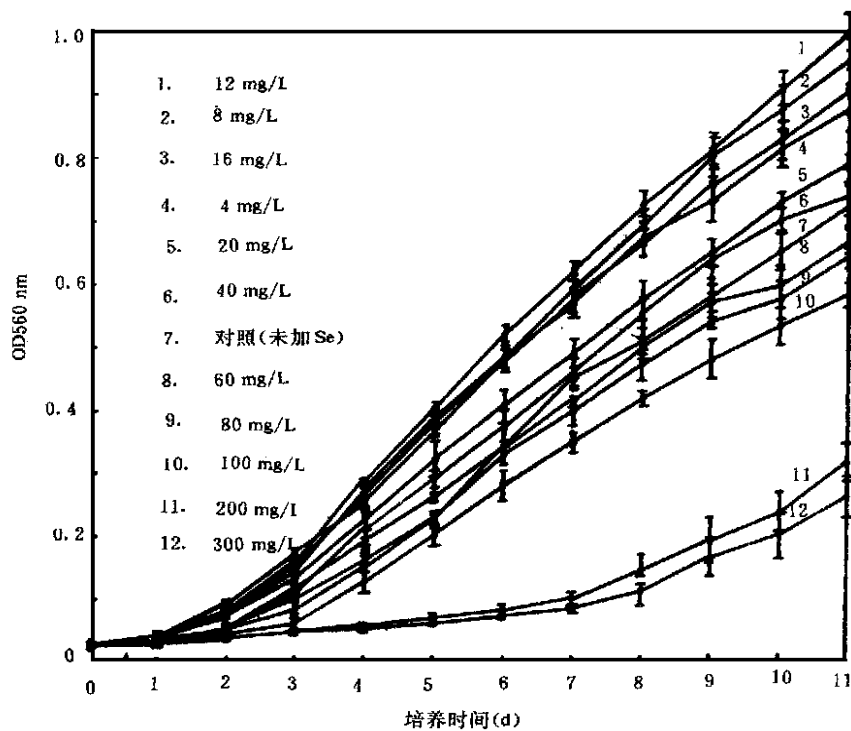


图3 不同浓度硒下极大螺旋藻的生长曲线  
温度 35 ℃, 光强 160  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$

Fig. 3 The growth curve of *Spirulina maxima* grown under various concentrations of selenium  
Temperature was 35 ℃, and light intensity was 160  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$

随硒的浓度增加, 藻粉中的含硒量也逐渐加大, 但相对培养基的含硒量倍数的变化, 藻粉含硒量并不以同样的倍数增加, 而且还有减小的趋势, 尤其在 100 mg/L 硒以上, 说明此时的硒浓度已对藻细胞产生较大的毒害作用, 图3的生长曲线也证明了这点。20 mg/L 和 80 mg/L 的浓度下, 相对培养基含硒量的倍数, 藻粉含硒量的倍数较高, 但此时生长速度较慢, 即不

是生理生化活动的最佳条件; 8 mg/L 和 12 mg/L 的浓度下, 藻粉含硒量的倍数仅次于 20 mg/L 和 80 mg/L, 同时又是生长较快的浓度, 因此这样的浓度条件有利于进行生理生化及硒在藻细胞里分布的研究。关于硒的累积机理, 作者认为一者是通过藻细胞壁的肽聚糖来吸附的, 一者是硒进入胞内被吸收转变成其他含硒化合物, 例如含硒氨基酸、多肽等, 但这有待

实验进一步证实。关于含硒螺旋藻的应用应按食品的标准控制外加硒的浓度,至此也可看出本实验在实际生产中有着重要的指导意义。

## 参考文献

- [1] 郭英、冯彪、隋志仁, 1992. 营养学报 14(3): 251~253.
- [2] 薛少安、吕登仕、杨志学等, 1992. 营养学报 14(4): 363~367.
- [3] 周志刚, 1997. 海洋科学 1: 29~33.
- [4] 周志刚, 1997. 海洋科学 3: 39~42.
- [5] Borowitzka, M. A., 1988. *Micro-algal Biotechnology*. Cambridge University Press. 456-465.
- [6] Brown, T. A., and A. Shrift, 1982. *Can. J. Microbiol.* 28: 307-310.
- [7] Lu, D. H. and Y. X. Zheng, 1991. *Chin. J. Chem.* 9(5): 430-434.
- [8] Price, N. M. and P. A. Thompson *et al.*, 1987. *J. Phycol.* 23: 1-9.
- [9] Richmond, A., 1988. *Micro-algal Biotechnology*. Cambridge University Press. 85-121.
- [10] Wheeler, A. E., E. A. Zingaro *et al.*, 1982. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 57: 181-194.
- [11] Zhou, Z. G., Z. L. Liu *et al.*, 1995. *J. Phycol.* (Suppl.), 31(3): 17.

# EFFECTS OF SELENIUM ON THE GROWTH AND SELENIUM CONTENTS OF *Spirulina maxima*

Zhou Zhigang<sup>1</sup>, Zhong Gang<sup>2</sup> and Liu Zhili<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

(<sup>2</sup>Department of Biological Science and Technology, Nanjing University, 210093)

Received: Aug. 7, 1996

Key Words: *Spirulina maxima*, Selenium, Growth, Accumulation

## Abstract

The growth curves of *Spirulina maxima*, cultured under various temperatures and light intensities in Zarrouk's medium with additional 0.4 mg/L selenium, were determined by the absorbance at 560 nm. These and selenium contents of this alga grown under these different conditions suggested that the growth conditions of 35 °C and 160 μmol/m<sup>2</sup>·s were beneficial to both the growth and selenium accumulation by the alga. Under the conditions as indicated above, the results of this alga cultured under various concentrations of selenium showed that not higher than 40 mg/L selenium could increase this algal growth, and 12 mg/L selenium could do best; whereas inhibition appeared from 60 mg/L selenium. The lethal dosage of selenium to *S. maxima* was 400 mg/L. The absolute selenium contents of this alga increased with the concentrations of selenium added to the medium, but it did not increase with the multiple in which selenium was added to the medium. The accumulation of selenium by *S. maxima* was great related to this algal life activities.