

稀土元素 Ce 对爪哇伪枝藻盐胁迫耐受性的影响

饶本强^{1,2}, 黄 斌², 张列宇³, 李敦海¹, 吴沛沛¹, 刘永定¹

(1.中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2.信阳师范学院生命科学学院, 河南 信阳 464000; 3.中国环境科学研究院, 北京 100012)

摘 要:荒漠藻类广泛分布于干旱区环境,盐胁迫是影响荒漠藻类生存的重要环境因子,稀土农用及其引起的生态环境问题亦受到广泛关注,为此以一种从荒漠结皮中分离的典型蓝藻——爪哇伪枝藻为材料,在实验室条件下研究盐胁迫和外源稀土元素铈对伪枝藻生理生化特性和细胞结构的影响。试验处理时,先进行铈效应浓度的筛选,然后设置 NaCl 浓度分别为 0(对照)、0.05、0.3 mol·L⁻¹ 进行盐胁迫和 Ce、Ce+0.05 mol·L⁻¹ NaCl、Ce+0.3 mol·L⁻¹ NaCl 处理,分别测定各种处理下的藻生物量(以叶绿素 a 表示)、光合活性(F/F_m)、藻蓝蛋白含量、胞外多糖含量、膜脂过氧化产物丙二醛含量和伪枝藻素含量以及超微结构的变化。研究结果表明,与对照处理相比,盐胁迫导致伪枝藻生物量和光合活性的显著降低,胞外多糖出现大量积累,藻蓝蛋白和伪枝藻素含量呈现明显下降,同时导致伪枝藻膜脂丙二醛含量的大量增加和藻细胞超微结构的破坏。添加外源铈的盐胁迫处理发现,铈能够促进伪枝藻细胞的生长活性,并对藻细胞的内部结构具有一定的保护作用,而对藻细胞的藻蓝蛋白、伪枝藻素和胞外多糖的影响并不明显。这表明稀土元素铈对于伪枝藻的生长可能具有一定的调节作用,但对于提高伪枝藻的盐胁迫耐受性作用并不显著。研究结果为更好地理解稀土元素对荒漠藻类的生物学效应提供了有意义的参考,可为稀土在荒漠结皮培植中的应用提供指导。

关键词:荒漠藻类;爪哇伪枝藻;盐胁迫;稀土;铈;生理效应

中图分类号:X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)09-1693-09

Effects of Cerium on the Endurance of Salt Stress of *Scytonema javanicum*

RAO Ben-qiang^{1,2}, HUANG Bin², ZHANG Lie-yu³, LI Dun-hai¹, WU Pei-pei¹, LIU Yong-ding¹

(1.Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2.Life Science College, Xinyang Normal University, Xinyang 464000, China; 3.Chinese Academy of Environment Science, Beijing 100012, China)

Abstract: Desertification is one of rigorous environmental problems faced by international society today and biological soil crusts (BSCs) have been considered a significant desert colonizer. The importance of BSCs in stabilization of sand dunes and in promotion of desert soils has been extensively recognized. BSCs are predominantly composed of desert algae (including cyanobacteria, green and brown algae, etc), mosses, lichens, and fungi as well as bacteria. Especially, cyanobacteria make up a large component of BSCs in semiarid and arid regions. Desert algae have been proved to be able to well adapt to extreme environments and salt stress is one of important ecological factors influencing survival of desert algae. Recently, rare earths are becoming a hotspot due to its broad applications in many domains, and the biological effects and ecological toxicity of rare earths on organisms have received critical attentions. In our field study area, desert algae are found to have an abroad distribution and sand soils of the area are detected to contain rich rare earths. However, very little information can be obtained regarding the effects of rare earths on desert algae for the moment. In order to further acquire a better insight into the roles of rare earths in physiological activities of desert algae under salt stress, experiments were therefore performed in laboratory. In this study, *Scytonema javanicum* (filamentous cyanobacteria) was selected for experiment material because of its typical presence in BSCs, and the influences of Ce on *S. javanicum* under salt stress were investigated by measurements of physiological, biochemical properties and ultra-structures of the algae. During the process of experiments, the effect concentration of 5.0 μg·mL⁻¹ Ce was first selected to act on *S. javanicum* and then 0 (as control), 0.05 mol·L⁻¹ and 0.3 mol·L⁻¹ NaCl were selected as salt stress. Synchronously, another treatment was conducted by adding exterior Ce into the algal cul-

收稿日期:2010-03-25

基金项目:淡水生态与生物技术国家重点实验室资助项目(2008FBZ21);武汉市科技局与内蒙古自治区发改委重大科技产业化专项(200720112031);河南省教育厅自然科学研究计划项目(2010B180026);信阳师范学院高层次人才科研启动基金项目

作者简介:饶本强(1974—),男,河南信阳人,博士,副教授,主要从事藻类环境生物学研究。E-mail:rbqxy@163.com

通讯作者:刘永定 E-mail:liuyd@ihb.ac.cn

tures with $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl, and final concentrations of Ce in the culture media with salt were arrived at $5.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (i.e., the selected effective concentration of Ce). Biomass (expressed as chlorophyll a), PS II activity (F_v/F_m), productions of water-soluble proteins, phycocyanin (PC), scytonemin, exopolysaccharides (EPS) and MDA contents as well as ultra-structure of the algal cells were determined in respective treatment. The results showed that salt stress resulted in an obvious decrease in biomass and PS II activity of the treated cells compared to the control cells. It was indicated in the study that EPS of the algae had plentiful accumulation under salt stress, while the productions of phycocyanin and scytonemin present obvious decline in salt treated cells. Furthermore, salt stress had a significantly deleterious effect on membrane lipid superoxide as assessed by measurement of MDA content, and MDA took on obvious increases as compared to the control algae. Moreover, ultra-structures of *S. javanicum* were found to be highly destroyed due to salt stress subjected by the algae. We discovered that *S. javanicum* obtained a certain recover in growth activity and cellular structures when Ce was added into algal cultures under salt treatments. Nevertheless, Ce was detected to destroy cellular structures of the algal cells without salt addition, and also was found not to significantly affect metabolic processes of some important substances such as phycocyanin, scytonemin and EPS in the algal cells. Therefore, the biological effects of Ce on desert algae and its toxicity to desert ecological system should arouse our regards in future researches and applications. The researches maybe provided us a significant finding for better understanding physiological effects of Ce on desert algae, and simultaneously supplied a direction for applications of rare earths in desert algal crust cultivations.

Keywords: desert algae; *Scytonema javanicum*; salt stress; rare earths; Ce; physiological effects

荒漠化是当今国际社会极为关注的全球性环境问题,我国是受荒漠化危害最为严重的国家之一。伴随着荒漠化威胁的日益加重,荒漠生物结皮在防风固沙、防止土壤侵蚀、改善土壤养分和表层水分分布状况以及在荒漠化生态修复中的先锋拓殖作用引起了广泛重视,并成为荒漠地区生态研究的热点^[1-2]。生物结皮遍布于荒漠和半荒漠地区,主要是由荒漠藻类、细菌、放线菌、真菌、苔藓和地衣等组成的土壤生物聚合体。其中,荒漠藻类是结皮的主要组成部分。作为先锋拓殖生物,荒漠藻类能够在条件恶劣的环境下(如盐碱、干旱、紫外辐射、营养贫瘠等)生长、繁殖,并通过自身的活动影响并改变着环境^[3]。由于荒漠区受强蒸发和低降水量的影响,使得荒漠地表土壤的盐度增加。因此,高盐度是影响荒漠藻类生存的主要生态因子之一。爪哇伪枝藻是一种重要而广泛分布的荒漠结皮蓝藻,也是我们课题组在内蒙古库布齐沙地用于培植人工藻类结皮治理沙漠化的主要藻种。库布齐沙地位于鄂尔多斯高原,已探明该地区土壤具有丰富的稀土元素分布。稀土元素的广泛应用特别是农用使外源稀土元素逐渐进入了地表生态系统,稀土元素的生物学效应以及稀土带来的生态安全问题受到人们的广泛关注。稀土微肥中稀土元素主要为镧(La)、铈(Ce)等轻稀土元素,稀土农用主要是指通过施加稀土微肥来克服土壤中可给态稀土元素含量的不足。研究发现,稀土元素具有促进植物生长、增产、提高作物对环境胁迫的抗逆性等作用^[4]。近年来,有关稀土元素对水体藻类的影响研究较多^[5-9],但对陆生土壤藻类特别是荒漠结皮藻类的研究并不多见。就稀土元素对于荒漠

生物结皮的作用而言,目前也未见报道。稀土元素对荒漠藻类的生长有何影响,是否也可改善荒漠藻类对逆境胁迫的耐受性?稀土元素对生物结皮的生长和发育具有什么作用?基于这些问题,本研究主要探讨轻稀土元素铈对爪哇伪枝藻在盐胁迫下的生理效应及其机制,为探索向荒漠土壤施加外源可给态稀土微肥促进生物结皮形成和发育的可行性提供理论指导和可靠资料。此外,本研究对于探明稀土对荒漠藻类的生理、生态甚至毒理效应,以及稀土积累可能对荒漠生态系统造成的环境问题等也具有一定的科学意义。

1 材料与方法

1.1 藻种培养

爪哇伪枝藻(*Scytonema javanicum* (Kütz.) Born et Flah)从荒漠生物结皮中分离、纯化所得。采用 BG-110 液体培养基、光照强度 $40 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 24 h 连续光照, $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 三角瓶中通气培养至对数生长期(15 d 左右)。将扩大培养的藻种离心弃上清,收集藻体,用无菌蒸馏水洗涤两次后接入下列不同处理的培养基中,培养温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 光强 $30 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 24 h 连续光照。

1.2 试验处理

1.2.1 Ce 效应浓度的筛选

将上述培养至对数生长期的爪哇伪枝藻于 150 mL 的三角瓶中,分别加入 CeCl_3 , 培养基中 CeCl_3 终浓度分别为 0(对照)、5、15、25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 培养 5 d 后测定藻细胞生物量和光合活性,筛选最适 Ce 效应浓度。每个处理 3 次重复。

1.2.2 Ce 作用下的盐胁迫处理

将培养至对数生长期的爪哇伪枝藻于 250 mL 的三角瓶中,分别加入 NaCl 进行胁迫处理,使 150 mL BG-110 培养基中 NaCl 终浓度分别为 0(对照)、0.05 mol·L⁻¹ 和 0.3 mol·L⁻¹。同时选择最适 Ce 效应浓度作用于盐胁迫下的藻细胞,即向 150 mL BG-110 培养基和 150 mL 盐处理培养基中分别加入 CeCl₃ 0.75 mg,配制成培养基为 Ce、Ce+0.05 mol·L⁻¹ NaCl 和 Ce+0.3 mol·L⁻¹ NaCl,培养基中 Ce 的终浓度均为 5.0 μg·mL⁻¹。然后将离心收集的藻体用无菌蒸馏水洗涤两次后接入上述各种处理的培养基中。以上每种处理均为 3 次重复,分别于第 0、3、5、7、9 d 和第 15 d 时测定有关生理生化指标。

1.3 生物量测定

藻细胞生物量以叶绿素 a 含量表示,按照 Winternans 和 De Mots^[10] 的方法测定。于分光光度计(Ultrospec3000, Pharmacia Biotech, Britain.) 665 nm 和 649 nm 测定吸光度值,以公式 $C=13.7 \times A_{665} - 5.76 \times A_{649}$ 计算每毫升藻液的叶绿素 a 含量,表示为 μg Chla·mL⁻¹。

1.4 光合活性测定

光合活性用叶绿素 a 荧光(F_v/F_m)表示,采用浮游植物效率分析仪(PHYTO-PAM, Walz GmbH, Germany)测定。测定在室温下进行,激发光强为最大光强的 50%(约 1 500 μE·m⁻²·s⁻¹),暗适应时间不少于 20 min,记录时间为 5 s。

1.5 藻蓝蛋白测定

取各种处理下藻液 5 mL,离心收集藻细胞,将藻细胞悬浮于等体积的 pH7.8 的磷酸缓冲液中,冰水浴下超声波破碎,8 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 后取上清液,于分光光度计 615 nm 和 652 nm 测定光吸收值。按公式 $PC=(OD_{615}-0.474 \times OD_{652})/5.34^{[11]}$ 计算每毫升藻液的藻蓝蛋白含量,表示为 mg·mL⁻¹。

1.6 胞外多糖测定

胞外多糖(Exopolysaccharide, EPS)含量的测定采用蒽酮-硫酸比色法^[12]。

1.7 伪枝藻素测定

取 5 mL 各种处理下的藻液,离心后弃去上清液。加入丙酮用研钵捣碎藻细胞,4 ℃抽提过夜,用 Whatman GF/C 滤纸过滤,在 6 ℃黑暗下,通过硅胶板的薄层层析(流动相为甲醇:氯仿=1:9 的混合溶液)纯化。用分光光度计测定 384、490、663 nm 处的光吸收值,按公式 $A_{384}(Scyt.)=1.04A_{384}-0.79A_{663}-0.27A_{490}^{[13]}$ 计

算每克鲜重藻细胞的伪枝藻素吸收单位,表示为 A unit·mg⁻¹ FW。

1.8 丙二醛测定

参照李合生等^[14]的方法测定。以公式 $C=6.45(OD_{532}-OD_{600})-0.56OD_{450}$ 计算每克鲜重藻细胞所含 MDA 的量,表示为 μmol·g⁻¹ FW。

1.9 超微结构观察

取不同处理下(15 d)的爪哇伪枝藻液适量,以 8 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,收集藻细胞,用 2.5%的戊二醛固定。以 0.1 mol·L⁻¹ 的磷酸缓冲液洗涤 3 次,加 1%的锇酸于 4 ℃保存 3 h,用乙醇以 10%的递增率逐级脱水,Epon-812 环氧树脂浸透、包埋,37 ℃保温 24 h,60 ℃保温 48 h,LKB-NOVA 型超薄切片机切片。在厌氧条件下,饱和醋酸铅双氧铀和柠檬酸铅双染色,以日立 H-8100 型透射电镜观察并拍照。

1.10 数据分析

采用统计分析软件 SPSS 13.0 对实验数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA)。多重比较采用 Duncan 法进行,采用小写字母表示不同处理之间的差异显著性水平($P<0.05$)。文中所有数据均重复 3 次以上,表示为平均值±标准差(用误差线显示)。

2 结果与分析

2.1 Ce 效应浓度选择

从图 1 和图 2 可以看出,Ce 浓度为 5 μg·mL⁻¹ 时伪枝藻叶绿素 a 和光合活性显著比对照和其他处理值高($P<0.05$),而在 15 μg·mL⁻¹ 和 25 μg·mL⁻¹ 时伪枝藻叶绿素 a 含量和光合活性明显降低。因此,以下研究中选择 5 μg·mL⁻¹ Ce 为试验处理浓度。

2.2 盐胁迫和 Ce 作用下藻生物量、光合活性与藻蓝蛋白含量

图 2 表明,第 9 d 时单独采用 Ce 处理的伪枝藻叶绿素 a 含量比对照(不加盐和铈处理)提高了 9.9%。在 0.05 mol·L⁻¹ NaCl 和 0.3 mol·L⁻¹ NaCl 盐胁迫下伪枝藻生物量分别降低了 78.0%和 88.6%,而在对应的盐处理中加入 Ce 后则分别降低了 73.3%和 82.9%。这说明盐胁迫下加入 Ce 时,伪枝藻生物量能够得到一定程度的提高。图 3 显示,高盐胁迫下(0.3 mol·mL⁻¹ NaCl)伪枝藻光合活性骤然下降,在第 9 d 时仅呈现微弱的光合活性($F_v/F_m=0.01$),显著低于对照值 0.51 和 Ce 单独处理时的 0.53。在 0.05 mol·L⁻¹ NaCl 处理时,藻的光合活性呈现出下降与升高的波动性,但总体活性要比对照降低了 21.6%。Ce+0.3

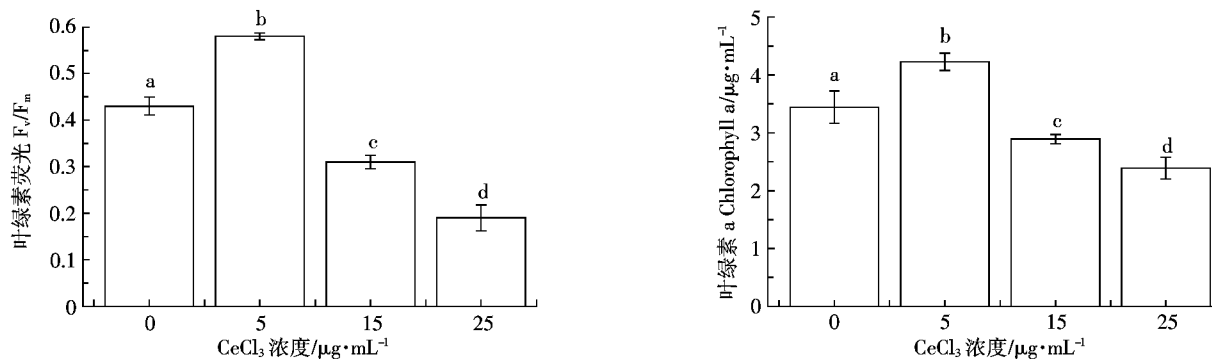


图 1 Ce 对伪枝藻叶绿素 a 含量和叶绿素 a 荧光的影响 (5 d 培养)

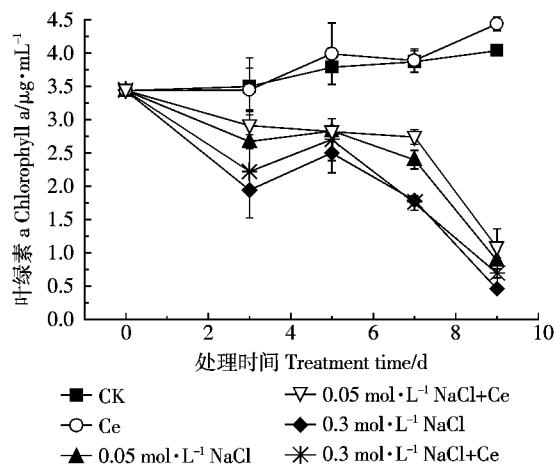
Figure 1 Effects of Ce on chlorophyll a contents and F_v/F_m values of *Scytonema javanicum* (culture for 5 days)

图 2 Ce 对盐胁迫下伪枝藻叶绿素 a 含量的影响

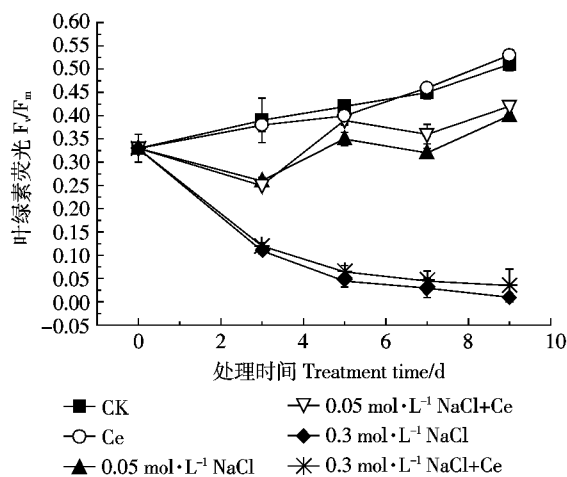
Figure 2 Effects of Ce on chlorophyll a contents of *Scytonema javanicum* under different treatments of salt stress

图 3 Ce 对盐胁迫下伪枝藻光合活性的影响

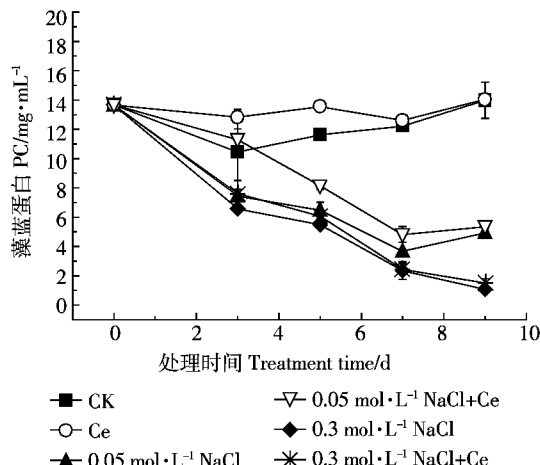
Figure 3 Effects of Ce on F_v/F_m of *Scytonema javanicum* under different treatments of salt stress

图 4 Ce 对盐胁迫下伪枝藻藻蓝蛋白含量的影响

Figure 4 Effects of Ce on PC contents of *Scytonema javanicum* under different treatments of salt stress

见,仅采用 Ce 处理时,伪枝藻的藻蓝蛋白含量最高,且呈现出水平波动性变化。对照的藻蓝蛋白含量表现为先降低后升高。盐胁迫下和盐+Ce 处理时的藻蓝蛋白含量总体都呈下降趋势,但加有 Ce 的盐处理中藻蓝蛋白比盐胁迫下的略高。

2.3 盐胁迫和 Ce 作用下伪枝藻胞外多糖、伪枝藻素和丙二醛含量

从图 5 可以看出,在盐胁迫下伪枝藻的胞外多糖含量出现大量增加,且不同浓度盐处理之间存在显著性差异($P<0.05$)。0.05 mol·L⁻¹ NaCl 处理时比对照增加了 27.7%,高盐处理下(0.3 mol·L⁻¹ NaCl)则是对照值的 2.7 倍。单用 Ce 处理时胞外多糖含量比对照降低了 8.4%,但二者之间无显著性差异($P>0.05$)。加入外源 Ce 的盐处理,胞外多糖含量均比盐胁迫下的相应值有所下降,但对应处理组间无显著性差异($P>0.05$)。图 6 表明,不同浓度盐胁迫下处理值间存在显著性差异($P<0.05$),单独采用 Ce 处理时伪枝藻素含量比对

mol·mL⁻¹ NaCl 处理时藻光合活性恢复到 0.035,Ce+0.05 mol·mL⁻¹ NaCl 处理时则恢复至 0.42。从图 4 可

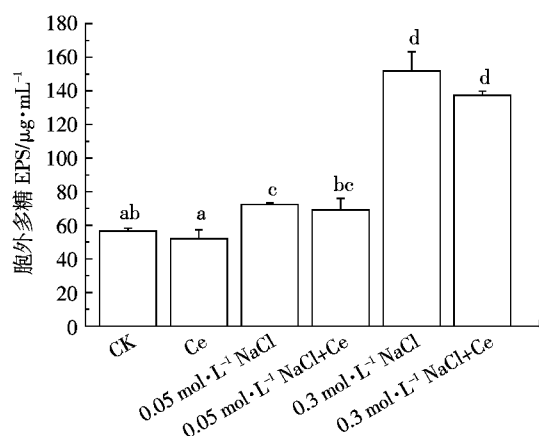


图5 Ce对盐胁迫下伪枝藻胞外多糖含量的影响(15 d处理)

Figure 5 Effects of Ce on EPS contents of *Scytonema javanicum* under different treatments of salt stress (treatments for 15 days)

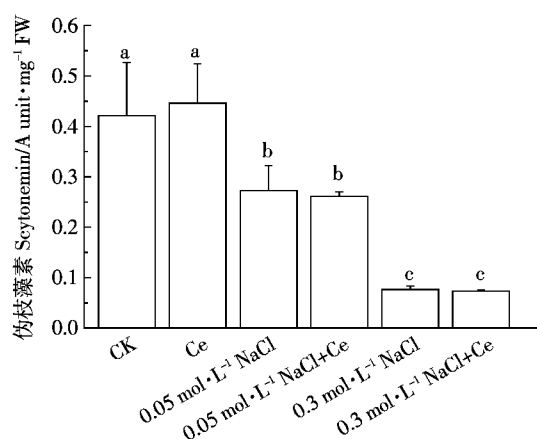


图6 Ce对盐胁迫下伪枝藻合成伪枝藻素的影响(15 d处理)

Figure 6 Effects of Ce on scytonemin Synthesized by *Scytonema javanicum* under different treatments of salt stress (treatments for 15 days)

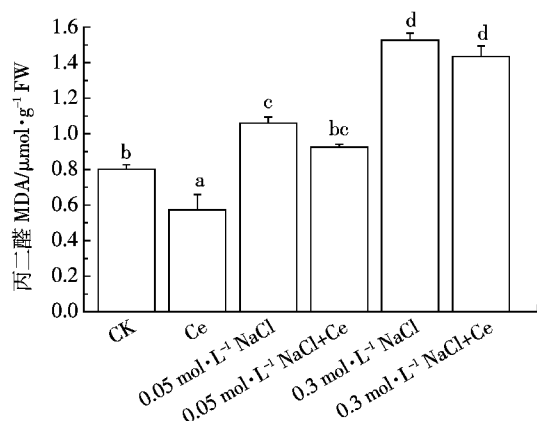


图7 Ce对盐胁迫下伪枝藻丙二醛含量的影响(15 d处理)

Figure 7 Effects of Ce on MDA contents of *Scytonema javanicum* under different treatments of salt stress (treatments for 15 days)

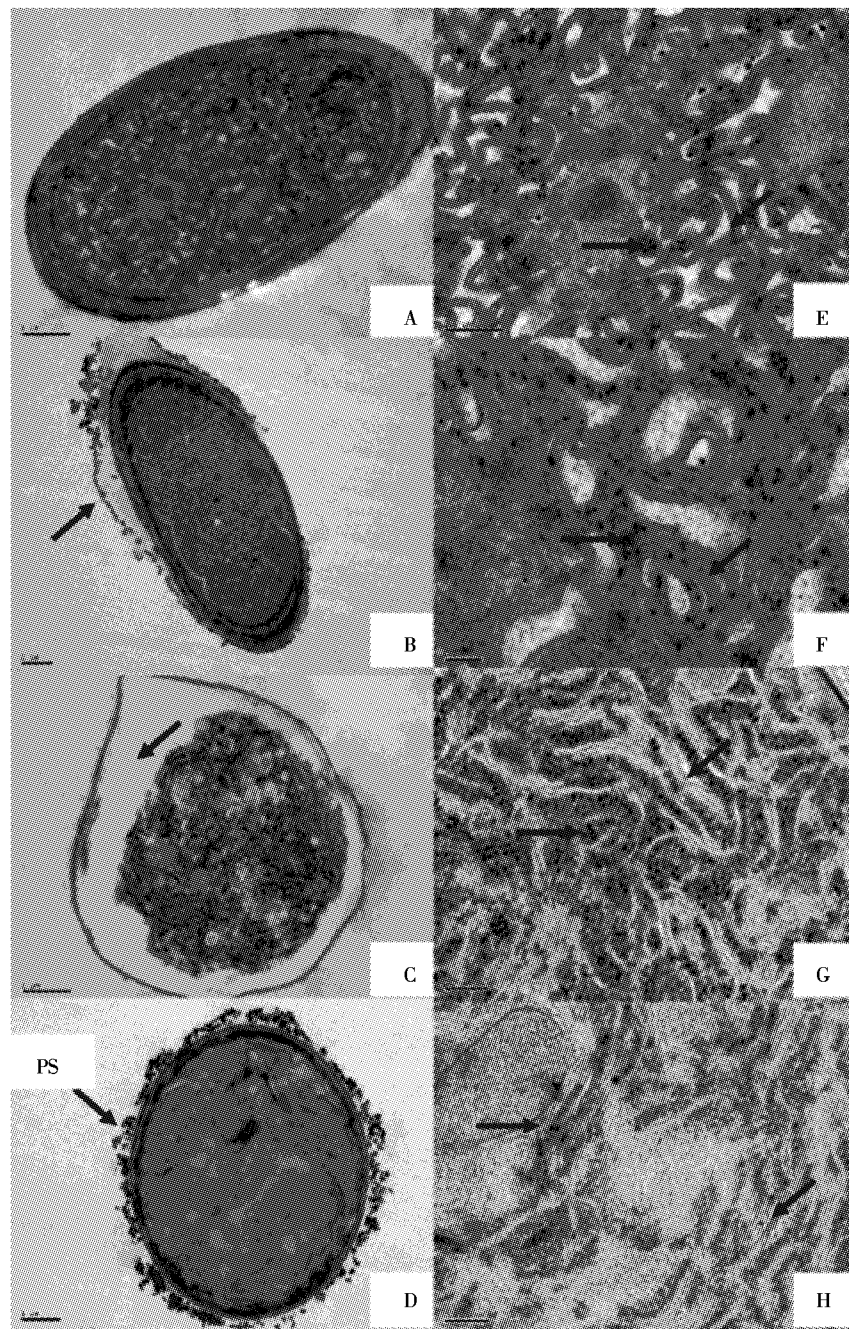
照略微增加 6.4%,二者之间无显著性差异($P>0.05$)。盐胁迫下加入外源 Ce 则对伪枝藻素的含量影响不大,对应处理组间无显著性差异($P>0.05$)。由图 7 可见盐胁迫导致伪枝藻丙二醛含量显著升高,不同浓度盐处理间有显著性差异($P<0.05$),单独采用 Ce 处理丙二醛含量与对照值之间存在显著性差异($P<0.05$)。加入外源 Ce 的盐胁迫与不加 Ce 的盐胁迫对应处理组间无显著性差异($P>0.05$),但 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 和 $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 处理的丙二醛含量比对照处理分别增加了 31.9%和 89.4%,加入外源 Ce 的盐处理丙二醛含量则比对照值分别增加了 17.0%和 80.9%。

2.4 超微结构特征

从细胞超微结构(图 8)可以看出,盐胁迫下($0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)伪枝藻亚显微结构发生了显著变化。与对照相比,明显可见细胞内部微丝结构已遭破坏,呈条索状排列,黑色颗粒物增多;细胞变形,细胞壁变薄,并出现质壁分离现象。当用 Ce 处理盐胁迫下的藻细胞时,与对照相比,细胞中条索状排列减少或减弱,胞内黑色颗粒减少或不明显,胞外黑色颗粒显著增多(可能是 Ce 被细胞吸附)。只采用 Ce 处理伪枝藻时,细胞内部微丝结构出现部分条索状,虽不明显,但已呈现一定程度的破坏。

3 讨论

本研究表明, $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 胁迫时即造成 *S. javanicum* 的叶绿素 a、光合活性(F_v/F_m)、藻蓝蛋白和伪枝藻素明显降低。在 $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 胁迫时 *S. javanicum* 的叶绿素 a、光合活性(F_v/F_m)、藻蓝蛋白和伪枝藻素剧烈下降,说明 *S. javanicum* 对盐胁迫非常敏感。研究还发现,盐胁迫诱导了 *S. javanicum* 的 EPS 的大量分泌,特别是在高盐胁迫($0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$)时极度增加。很多研究也证实藻类在遭受诸如盐胁迫和 pH 变化时,都会出现 EPS 合成的增加^[15]。Liu 等^[16]指出,在高盐环境中蓝藻胞外的 EPS 粘液层能够提高蓝藻细胞对高盐胁迫的耐受性,而且这种富含 EPS 的胶被对于蓝藻对环境中微量元素和营养元素的吸附具有一定作用^[17]。在土壤环境中,藻类分泌的 EPS 等糖类物质能够与其丝状体和土壤颗粒胶结在一起,形成一个致密的保护层,这对于减少水分丢失和提高藻类的抗逆性具有重要意义^[18]。值得注意的是,加入外源 Ce 的盐处理时,伪枝藻的 EPS 含量均比盐胁迫下的相应值有所下降,表明 Ce 对伪枝藻胞外多糖的产量促进作用不大(图 5),原因可能是稀土元素的存



A.正常细胞形态($\times 10\,000$); B.稀土元素铈处理下的藻细胞,箭头示胞外胶被层($\times 5\,000$); C.盐胁迫下的藻细胞,箭头示质壁分离($\times 12\,000$); D.稀土铈作用于盐胁迫下的藻细胞,箭头示胞外吸附黑色颗粒($\times 10\,000$); E.正常藻细胞的内部形态,箭头示正常的微丝和黑色颗粒($\times 30\,000$); F.稀土元素铈处理下的藻细胞内部形态,箭头示微丝和细小的黑色颗粒($\times 50\,000$); G.盐胁迫下的藻细胞内部形态,箭头示条索状的微丝和大量的黑色颗粒($\times 50\,000$); H.稀土铈作用于盐胁迫下的藻细胞内部形态,箭头示微丝和细小的黑色颗粒($\times 60\,000$).

A.Natural morphological cell($\times 10\,000$); B.Algal cell under treatment of Ce, arrow indated exterior glue clay($\times 5\,000$); C.Algal cell under salt stress, arrow indicated separation between cellular wall and cytoplasm($\times 12\,000$); D.Algal cell under treatment both salt and Ce, arrow indicated dark particles($\times 10\,000$); E.Interior morphological characteristics of natural cell($\times 30\,000$), arrow indicated natural micro-silk and dark granule; F.Interior morphological characteristics of cell under treatment of Ce($\times 50\,000$), arrow indicated micro-silk and little dark granule; G.Interior morphological characteristics of cell under treatment of salt($\times 50\,000$), arrow indicated micro-silk and abundant dark granule; H.Interior morphological characteristics of cell both treatment of salt and Ce, arrow indicated micro-silk and little dark granule($\times 60\,000$).

图 8 Ce 对盐胁迫下伪枝藻细胞超微结构的影响

Figure 8 Effects of Ce on ultrastructure of *Scytonema javanicum* under treatments of salt stress

在干扰了蓝藻细胞内的糖代谢反应。结果表明,仅用Ce处理和盐胁迫下加入Ce时,伪枝藻生物量都得到一定程度的提高(图1),光合活性和藻蓝蛋白含量也得到某些恢复(图2、图4),特别是在低盐胁迫下恢复效果比较明显,这表明稀土元素可能对藻类的生理代谢活动具有调节作用。藻蓝蛋白(PC)是蓝藻主要的光合色素,具有收集和传递光能的作用。我们发现,仅采用Ce处理时伪枝藻的藻蓝蛋白含量最高(图4),加有Ce的盐处理中藻蓝蛋白略比盐胁迫下的高,说明外源Ce对伪枝藻的藻蓝蛋白合成具有一定的促进作用。巩东辉等^[19]研究表明,一定浓度的稀土La³⁺可有效地缓解Ba²⁺对螺旋藻生长的抑制,促进藻细胞叶绿素a含量、胞内多糖、可溶性蛋白质等生理指标的上升。在本试验中,采用Ce处理时对伪枝藻素含量影响不大(图6)。蓝藻具有一种重要的防止UV辐射诱导光损伤的机制,即通过合成UV吸收或屏蔽物质,其中伪枝藻素是一种重要的保护色素^[20]。研究发现,蓝藻鞘中伪枝藻素的存在,使进入细胞的UV辐射可以减少90%^[21]。

从本研究中可以看出,低浓度(5 μg·mL⁻¹)Ce对*S. javanicum*的叶绿素a含量和光合活性有明显促进作用,当Ce浓度为15 μg·mL⁻¹以上时,即表现出对*S. javanicum*生长和光合活性的抑制作用。类似的研究结果也出现在很多的报道中。宋凌云等^[9]研究发现,低浓度镧对满江红鱼腥藻生长表现出促进作用,高浓度则表现出抑制作用。章键等^[22]研究稀土积累对水体中藻类生长的影响时发现,稀土浓度高时对混合藻的生长多表现为抑制作用,只是稀土浓度低时才对藻产生轻微刺激作用。李哲等^[23]研究了稀土元素Ce对雨生红球藻(*Haematococcus pluvialis*)生长及虾青素积累时也发现,低质量浓度的Ce对微藻生长和虾青素积累均具有明显的促进作用,高质量浓度Ce对雨生红球藻有抑制作用。其他学者的研究也都表明了稀土元素对生物体的高浓度抑制和低浓度促进效应^[24-26]。研究表明,稀土对生物生长的剂量效应可能存在两种机制:一是刺激作用,即低浓度稀土元素可能作为生物生长的营养元素起促进作用,或是增加细胞对其他营养元素的摄取而加速生物生长^[25];二是兴奋效应,即低浓度的稀土具有刺激生物生长的作用^[27]。

生物膜中不饱和脂肪酸在活性氧(ROS)自由基的作用下发生过氧化生成膜脂过氧化产物,并最后降解为MDA。本研究发现,盐胁迫导致*S. javanicum*的MDA含量显著提高,这表明细胞膜脂过氧化程度很

高,细胞膜遭受严重损害。Tang等^[28]研究指出,盐胁迫诱导了*S. javanicum*细胞中活性氧(ROS)的大量生成,而由此引起的氧化损害则由细胞内抗氧化酶系统的活性来抵消和对抗。稀土元素Ce能够降低盐胁迫下*S. javanicum*的MDA含量(图7),表明Ce对*S. javanicum*细胞膜具有保护作用。透射电镜研究发现,盐胁迫下(0.05 mol·L⁻¹ NaCl)伪枝藻亚显微结构发生显著变化(图8)。与对照相比,明显可见细胞内部微丝结构已遭破坏,呈条索状排列,黑色颗粒物增多;细胞变形,细胞壁变薄,并出现质壁分离现象,表现出明显的细胞衰老和破坏的特征。当用Ce处理盐胁迫时,与正常相比,细胞中条索状排列减少或不明显,黑色颗粒减少或不明显,说明低浓度Ce对盐胁迫下的伪枝藻细胞结构具有一定的保护作用(图8)。但也发现,单独采用Ce处理伪枝藻细胞15 d时,细胞内部微丝结构出现部分条索状,说明细胞结构已遭到一定程度的破坏(图8)。胡勤海等^[29-30]也报道了高浓度的稀土对小球藻和金鱼藻的细胞结构造成了破坏。有研究指出,稀土元素La对藻细胞叶绿体的破坏可能是La直接与叶绿蛋白结合或取代Mg而改变叶绿体形态结构,或是La与细胞质膜上某些酶的结合位点(如Ca的结合位点)发生竞争性吸附,亦可能直接与ATP形成络合物,使膜的透性增大甚至破裂,从而造成细胞内容物流失,叶绿体结构破坏^[31]。

随着稀土在各个领域的广泛应用,稀土元素及其化合物大量进入生态系统,由此而带来的生态环境问题已引起人们的普遍关注^[27]。从目前的研究可知,稀土并不是生物体所必需的元素,高剂量的稀土会抑制动植物的生长并表现出生物毒性^[32]。本研究也表明,稀土Ce对盐胁迫下的伪枝藻虽然具有一定的促进作用,但这种刺激作用与Ce的剂量大小有关,且较长时间的作用(15 d)已表现出对伪枝藻细胞结构的破坏。因此,稀土对结皮蓝藻可能潜在的生态毒性尚需深入研究和论证。同时,稀土农用时的抗逆增产效果是否适用于荒漠生物结皮的培植也需要在实际生产中评价。更值得考虑的是,在向本已脆弱的荒漠生态系统引入稀土微肥时,稀土对荒漠生境原有种群和生态平衡的影响又将造成一个新的环境生态安全问题。

4 结论

在荒漠地区,高盐度是影响荒漠藻类生存的重要环境因子。因而荒漠藻类必然有一套耐盐胁迫的适应机制。外源稀土元素Ce在一定程度上能够促进伪

枝藻的生长,这种促进作用呈现出浓度效应。但也表明 Ce 对伪枝藻细胞的一些重要物质如藻蓝蛋白、伪枝藻素和胞外多糖的代谢影响并不明显。因此,稀土微肥对于荒漠生物结皮生长发育的生理功效作用仍需进一步研究,稀土微肥在生物结皮方面的适用性有待在实践中检验。

参考文献:

- [1] 杨晓晖, 张克斌, 赵云杰. 生物土壤结皮——荒漠化地区研究的热点问题[J]. 生态学报, 2001, 21(3): 474–478.
YANG Xiao-hui, ZHANG Ke-bin, ZHAO Yun-jie. Microbiotic soil crust: A research forefront in desertification prone areas [J]. *Acta Ecological Sinica*, 2001, 21(3): 474–478.
- [2] Belnap J. The world at your feet: Desert biological soil crusts[J]. *Frontiers in Ecology & the Environment*, 2003, 1: 181–189.
- [3] 陈兰洲, 刘永定, 李敦海, 等. 荒漠藻类及其结皮的研究[J]. 中国科学基金, 2003, 17(2): 90–93.
CHEN Lan-zhou, LIU Yong-ding, LI Dun-hai, et al. The research process of desert algae and crust[J]. *Funds of Chinese Science*, 2003, 17(2): 90–93.
- [4] 郭伯生. 稀土在生物领域中应用研究进展[J]. 稀土, 1999, 20(1): 64–68.
GUO Bo-sheng. Research and application process of rare earths in biological domain[J]. *Rare Earths*, 1999, 20(1): 64–68.
- [5] 宋凌云, 胡文月, 赵继贞, 等. 稀土元素镧对满江红鱼腥藻的生理影响[J]. 北京大学学报(自然科学版), 2000, 36(6): 783–789.
SONG Ling-yun, HU Wen-yue, ZHAO Ji-zhen, et al. Physiological effects of lanthanum on cyanobacterium *Anabaena azollae*[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, 2000, 36(6): 783–789.
- [6] 胡勤海, 郑苏平, 汤曙明, 等. 稀土元素钐和铈对小球藻生长的影响[J]. 农业环境保护, 2001, 20(6): 398–404.
HU Qin-hai, ZHENG Su-ping, TANG Shu-ming, et al. Effects of Sm and Y on growth of *Chlorella ellipsoidea*[J]. *Agro-Environmental Protection*, 2001, 20(6): 398–404.
- [7] 胡勤海, 胡晓明, 陈林茜, 等. 外源性稀土对淡水藻类种群生物多样性的影响研究[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(3): 315–317.
HU Qin-hai, HU Xiao-ming, CHEN Lin-qian, et al. Effects of external rare earth on community and diversity of a algae in fresh water [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2003, 22(3): 315–317.
- [8] 沈颂东, 徐建荣, 郁金芳. 稀土元素铕(Eu)对小球藻生长和叶绿素含量的影响[J]. 淡水渔业, 2003, 3(2): 23–26.
SHEN Song-dong, XU Jian-rong, YU Jin-fang. Effects of Eu on chlorophylla contents and growth of *Chlorella vulgaris*[J]. *Freshwater and Fishery*, 2003, 3(2): 23–26.
- [9] 林俊, 李韬, 沈宏, 等. 铈对微囊藻的生长效应及被富集的动力学研究[J]. 环境科学与技术, 2004, 27(1): 7–9.
LIN Jun, LI Tao, SHEN Hong, et al. Studies on growth effects and enriched dynamics of microcystis aeruginosa[J]. *Environment Sciences and Technology*, 2004, 27(1): 7–9.
- [10] Winterners J F G M, De Mots A. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1965, 109: 448–453.
- [11] Bennet A, Bogorad L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga[J]. *J Cell Biol*, 1973, 58: 419–435.
- [12] 张维杰. 复合多糖生化研究技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987.
ZHANG Wei-jie. Biolochemic research technology of composite amy-lase[M]. Shanghai: Publishing Company of Technology of Shanghai, 1987.
- [13] Ferran G P, Richard W, Castenholz. Characterization and biological implications of scytonemin, a cyanobacteria sheath pigment[J]. *J Phycol*, 1991, 27: 395–409.
- [14] 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
LI He-sheng, SUN Qun, ZHAO Shi-jie, et al. Experimental principles and technology of plant physiology and biolo-chemistry[M]. Beijing: Publishing Company of Higher Education, 2000.
- [15] Taraldsvik M, Myklestad S M. The effect of pH on growth rate, biochemical composition and extracellular carbohydrate production of the marine diatom *Skeletonema costatum*[J]. *J Phycol*, 2000, 36: 189–194.
- [16] Liu H, Buskey E J. Hyper salinity enhances the production of extracellular polymeric substance(EPS) in the texas brown tide alga, *Aureocoumbra Lagunensis* (Pelagophyceae)[J]. *J Phycol*, 2000, 36: 71–77.
- [17] Paker D L, Schram B R, Plude J L, et al. Effect of metal cations on the viscosity of a pectin-like capsular polysaccharide from the cyanobacterium *Microcystis flos-aquae* C3–40[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1996, 60: 2311–2315.
- [18] Caiola M G, Daniela B, Friedmann E I. Effect of desiccation on envelopes of the cyanobacterium *Chroococcidiopsis* sp. (Chroococcales)[J]. *Eur J Phycol*, 1996, 31: 97–105.
- [19] 巩东辉, 张少英, 乔晨. 稀土 La^{3+} 对 Ba^{2+} 胁迫下鄂尔多斯高原碱湖钝顶螺旋藻生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(34): 17254–17255, 17259.
GONG Dong-hui, ZHANG Shao-ying, QIAO Chen. Effects of rare earth La^{3+} on growth of *Spindina* in Alkaline Lake of Erdos Plateau under Ba^{2+} stress[J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2009, 37(34): 17254–17255, 17259.
- [20] Middleton E M, Teramura A H. The role of flavonol glycosides and carotenoids in protecting soybean from ultraviolet-B damage[J]. *Plant Physiol*, 1993, 103: 741–752.
- [21] Brenowitz S, Castenholz R W. Long-term effects of UV and visible irradiance on natural population of a scytonemin-containing cyanobacterium(*Calothrix* sp.)[J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 1997, 24: 343–352.
- [22] 章健, 刘庆都, 姜玲, 等. 稀土积累对水体中藻类生长的影响[J]. 生物学杂志, 1997, 14(4): 34–35.
ZHANG Jian, LIU Qing-du, JIANG Ling, et al. Effect of rare earth on the algal growth[J]. *Journal of Biology*, 1997, 14(4): 34–35.
- [23] 李哲, 蔡明刚, 黄水英, 等. 稀土元素 Ce 对雨生红球藻生长及虾青素积累影响的研究[J]. 海洋科学, 2008, 32(9): 37–41.
LI Zhe, CAI Ming-gang, HUANG Shui-ying, et al. Effects of cerium on cell growth and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis*[J].

Oceanography Science, 2008, 32(9):37-41.

- [24] 胡勤海, 叶 畅, 叶兆杰, 等. 钕对金鱼藻生长生理及细胞叶绿体结构的影响[J]. 浙江农业大学学报, 1997, 23(2):175-178.

HU Qin-hai, YE Chang, YE Zhao-jie, et al. Effects of Neodymiumun physiology and chloroplast ultrastructure of *Ceratophyllum demersum*[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural University*, 1997, 23 (2):175-178.

- [25] 葛新华, 储昭升, 金相灿, 等. 外源性稀土 La 和 Ce 对几种淡水微藻生长影响的研究[J]. 环境科学研究, 2004, 17(增刊):66-69.

GE Xin-hua, CHU Zhao-sheng, JIN Xiang-can, et al. Effects of external rare earth lanthanum and cerium on growth characteristics of algae in fresh water[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2004, 17(Suppl):66-69.

- [26] 鞠 宝, 陈永珉, 温少红, 等. 几种稀土元素对螺旋藻生长的影响[J]. 海洋通报, 2000, 19(4):92-96.

JU Bao, CHEN Yong-min, WEN Shao-hong, et al. The effect of several rare earths on *Spirulina platensis*[J]. *Marine Science Bulletin*, 2000, 19 (4):92-96.

- [27] 胡勤海, 金海亮. 稀土元素在水体中的环境化学行为及其生物效应[J]. 农业环境保护, 2000, 19(5):274-277.

HU Qin-hai, JIN Hai-liang. The chemical behavior and biological effects of rare earth elements in aquatic environment[J]. *Agro-Environmental Protection*, 2000, 19(5):274-277.

- [28] Dongshan Tang, Shunyu Shi, Dunhai Li, et al. Physiological and biochemical responses of *Scytonema javanicum*(cyanobacterium) to salt stress[J]. *Journal of Arid Environments*, 2007, 71:312-320.

- [29] 胡勤海, 管丽莉, 叶兆杰, 等. 稀土元素对小球藻叶绿素(a)含量及其亚显微结构的影响[J]. 中国环境科学, 1996, 16(3):204-207.

HU Qin-hai, GUAN Li-li, YE Zhao-jie, et al. Effects of rare earth elements on chlorophyll(a) contents and ultrastructure of *Chlorella ellipsoidea*[J]. *China Environmental Science*, 1996, 16(3):204-207.

- [30] 胡勤海, 叶 畅, 叶兆杰. 稀土元素镧对金鱼藻生长生理及细胞叶绿体结构的影响[J]. 环境科学学报, 1997, 17(1):82-86.

HU Qin-hai, YE Chang, YE Zhao-jie. Effects of lanthanum on physiology and chloroplast ultrastructure of *Ceratophyllum Demersum*[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1997, 17(1):82-86.

- [31] 常 江. 镧对稻、麦根组织细胞膜透性和营养元素吸收积累的影响[J]. 植物生理学通讯, 1991, 27(1):17-21.

CHANG Jiang. Effects of lanthanum on the permeability of root plasmalemma and the absorption and accumulation of nutrients in rice and wheat[J]. *Plant Physiology Communications*, 1991, 27(1):17-21.

- [32] 汪东风, 孙继鹏, 齐宏涛, 等. 海洋制品中稀土元素、生物活性及安全性[J]. 稀土, 2005, 26(3):68-72.

WANG Dong-feng, SUN Ji-peng, QI Hong-tao, et al. Content, bioactivity and safety of rare earth elements in marine products[J]. *Chinese Rare Earths*, 2005, 26(3):68-72.