

水分对发状念珠藻生理活性的影响

毕永红^{1,2}, 胡征宇^{1X}

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要: 研究了水分对发状念珠藻(*Nostoc flagelliforme* Born. et Flah.) 生理活性的影响作用。结果表明: 干燥体在湿润的过程中, 呼吸、光合和固氮活性依次恢复; 且随水分含量的增加, 光合活性和固氮活性逐渐增强, 呼吸作用缓慢减弱并在一定水平上保持相对稳定, 自由水是束缚水 8 倍左右时发菜生理活性全面恢复。吸水饱和的藻体在干燥过程中, 光合、呼吸、固氮作用依次停止; 呼吸作用随水分的丧失逐渐下降; 固氮活性、光合活性在水分丧失 20%~40% 时有一定程度的增强, 出现活性高峰; 此后, 生理活性下降, 水分完全丧失时, 光合作用终止, 呼吸和固氮作用极其微弱。试验证明, 水分是发状念珠藻生理活性的重要限制因子, 适宜的水分有助于发菜维持正常的生理代谢和生长。

关键词: 发状念珠藻; 蓝藻; 水分; 生理活性

中图分类号: Q949.22⁺ 5; Q945.17 文献标识码: A 文章编号: 1000-470X(2003)06-0503-05

Effect of Water on Physiological Activity of *Nostoc flagelliforme*

BI Yong-Hong^{1,2}, HU Zheng-Yu^{1X}

(1. Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China;
2. Graduate School of The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: This paper was conducted to study the effect of water on physiological activity of *Nostoc flagelliforme* Born. et Flah. Results indicated that: Respiration, photosynthesis and nitrogen fixation were recovery in turn. Following water content increasing, photosynthesis and nitrogen fixation increased and respiration decreased. Physiological activity was recovery thoroughly when content of free water was 8 times of bound water. During rewetting samples kept in dessicator to lose water, respiration decreased following water loss, but photosynthesis and nitrogenase activity increased at the time that water lose rate was under 40%, then decreased with water loss. The results proved water is a limiting factor to *N. flagelliforme* and optimal water will help to normal physiological activity and growth.

Key words: *Nostoc flagelliforme*; Cyanobacterium; Water; Physiological activity

发状念珠藻(*Nostoc flagelliforme* Born. et Flah.) 俗名头发菜、地毛、发菜等(以下简称发菜), 是一种固氮蓝藻, 分类学上属于蓝藻门(Cyanophyta)、蓝藻纲(Cyanophyceae)、段殖藻目(Hormogonales)、念珠藻科(Nostocaceae)、念珠藻属(*Nostoc vauch*)^[1], 在我国主要分布在西部和西北部的荒漠和半荒漠地区, 是荒漠中一种重要的具有固氮和光合作用的藻类^[2]。作为分布在干旱半干旱地区的藻

类, 发菜对荒漠地区的生态环境具有重要的作用与意义, 是国家一级保护植物。发菜藻体丝状或带状, 湿润时为深绿色, 干燥时呈黑褐色, 丝状体细长, 直径 0.2~0.5 mm, 长度在几厘米到 100 多厘米之间; 带状体宽 2~12 mm, 平均在 5 mm 左右, 厚约 0.1~0.2 mm, 长度仅仅数厘米到十几厘米。它的许多独特生理生态学现象已引起了人们的关注; 其中研究耐旱机制以及水分利用特性, 有助于了解荒漠

收稿日期: 2003-03-13, 修回日期: 2003-09-30。
基金项目: 中国科学院项目(201504)和内蒙古科技厅项目(20010206)资助。
作者简介: 毕永红(1974-), 男, 湖北赤壁人, 博士研究生, 从事藻类生理生态学研究。
X 通讯作者(E-mail: huzhy@ihb.ac.cn)。

植物的生理生态特性。

水分对发菜生理活性的重要意义是显然的,这方面的研究散见于一些文献中^[3-5],但各研究者的侧重点却不同。本研究以生长季节的发菜为材料,研究了干燥体吸水过程和吸水饱和的藻体干燥过程中的生理活性变化,为认识发菜的生命活动规律,并最终实现人工培养和资源保护利用提供理论依据和技术参数。

1 材料与方法

发菜采自内蒙古四子王旗,为干燥的丝状体,试验前用蒸馏水快速清洗 3~4 次后备用。若干组清洗干净的样品使用 BG-11₀ 培养液浸润在温度 25℃、光照 40 Lmol⁻¹·m⁻²·s⁻¹ 的环境中,干燥体在吸水过程中定时测定重量变化,计算发菜水分摄入比率;同时测定每一重量时的藻体水势、自由水含量、呼吸作用、光合作用和固氮作用。将不再发生重量变化的湿润藻体放置在干燥器中,测定重量变化以及每一重量时的呼吸作用、光合作用和固氮作用,计算发菜水分丧失比率。藻体重量使用分析天平称量,水势测定采用小液流法,自由水含量使用阿贝折射仪测定^[6]。

呼吸作用与光合作用测定采用远红外气体分析仪(CGT-7000, Shimadzu),在 25℃、40 Lmol⁻¹·m⁻²·s⁻¹ 下的封闭系统中进行,具体参照高坤山等报道的方法^[7]。固氮酶的测定采用乙炔还原法^[6],发菜样品放入 25 mL 的血清瓶中,加盖反耳橡皮塞,在含 10% (V/V) 乙炔的 Ar 气相下, 25℃、40 Lmol⁻¹·m⁻²·s⁻¹ 下反应 3 h;反应后的气体产物测定是在连接氢火焰检测器(FID)的气相色谱仪 HP-6890 上完成,色谱柱 200 cm×0.20 cm,固定相为 GDX502。以单位重量样品的乙烯生成速率作为固氮酶活性的衡量指标。

水分的摄入比率 K1(%) = (W_t - W₀) / W₀ × 100%, W_t: t 时刻的藻体重量, W₀: 试验前藻体干重;

水分丧失比率 K2(%) = (W_t - W₀) / (W₀ - W_e) × 100%, W_t: t 时刻的藻体重量, W₀: 试验前的湿润藻体重量; W_e: 不再发生重量改变时的样品重。

2 结果

2.1 藻体含水量的变化

图 1 是藻体湿润过程水势的基本情况,从水势的变化曲线可知,随着藻体吸收水分不断湿润,干燥体的水势逐渐升高,大约需要 16 h 吸水基本达到水分饱和状态(水势升高到最大,接近 0 MPa),完成藻体的湿润,使藻体膨胀,颜色由黑色转变为蓝绿色。

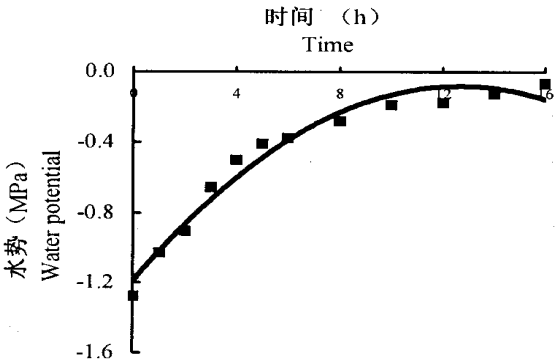
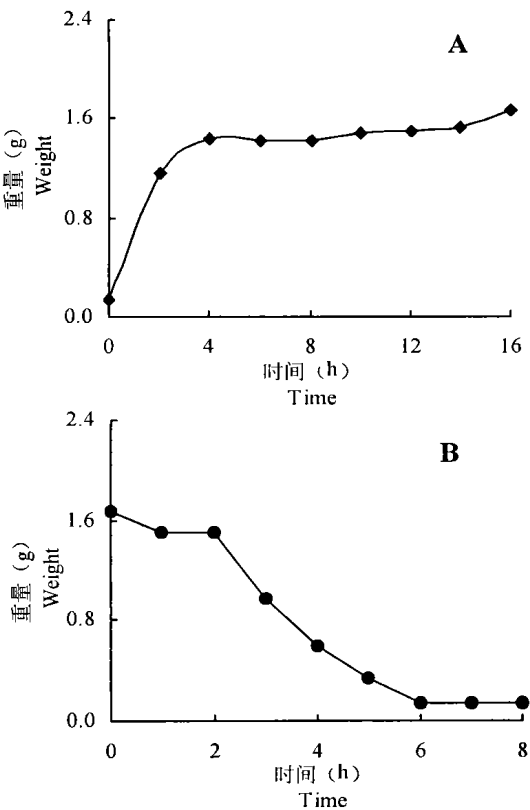


图 1 吸水过程发菜水势的变化
Fig. 1 Changes of water potential in process of rewetting

图 2 为藻体湿润吸水和干燥失水过程重量随时间变化的基本结果,从图2: A 中可知,吸收的水分大约为藻体干重的11~12倍;而图2: B则显示吸水饱和的藻体可在6~8 h 内将体内水分完全丧失,水分丧失速率大于吸收速率。值得注意的是16 h 时藻体重量仍然增加,对比图1分析可知此时的发菜已经开始了生长过程,其重量的增加是生理吸水等作用引起。



A. 干燥体浸润在 BG-11₀ 中; B. 吸水饱和的藻体放置在干燥器中
A. Tested in process of rewetting; B. Tested when rewetting samples were kept in dessicator

图 2 发菜藻体含水量的变化
Fig. 2 Curves of water content changing following time

2.2 水分改变引起的发菜生理活性的变化次序

干燥体在湿润过程中活性的恢复和湿润藻体在干燥过程中活性的丧失具有明显的时间次序性(表 1), 在生理活性恢复时, 最先出现呼吸作用, 最后才是固氮作用, 而水分丧失时光合作用最先终止, 呼吸作用和固氮作用在水分完全丧失时仍然没有停止, 而是

表 1 发菜生理活性的变化时间

Table 1 The timetable of physiological changing of *Nostoc flagelliforme*

项目 Item	呼吸作用 Respiration	光合作用 Photosynthesis	固氮作用 Nitrogen fixation
恢复时间(h) Recovery time	0.5	2.0	3.0
中止时间(h) Terminating time	7.0	6.0	7.0

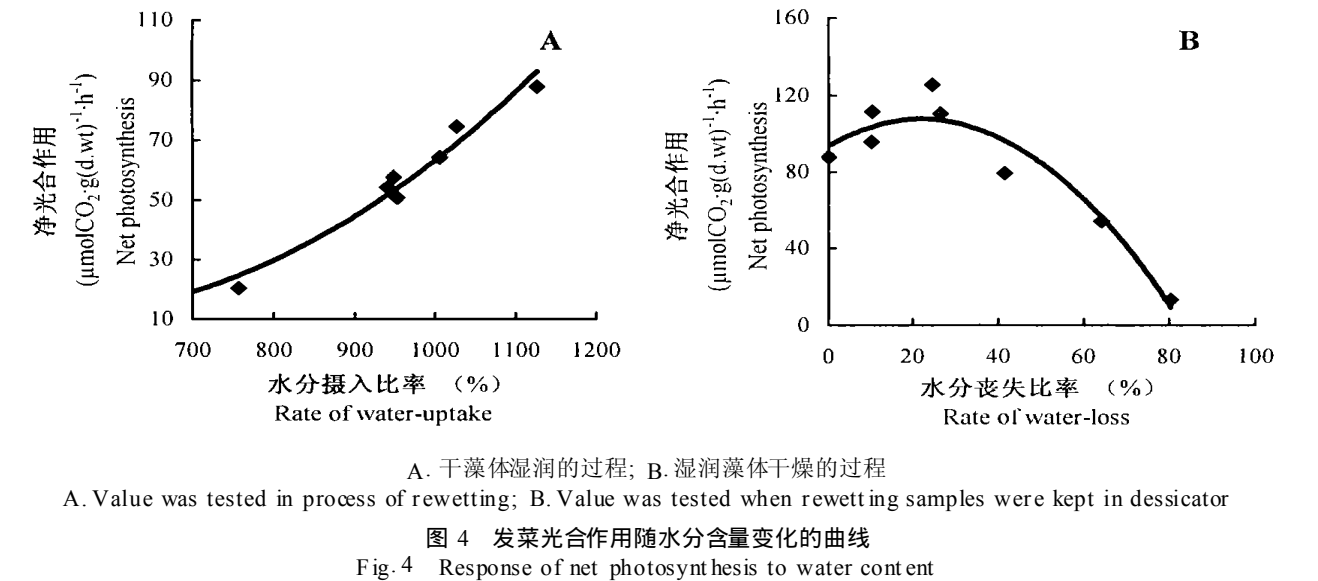
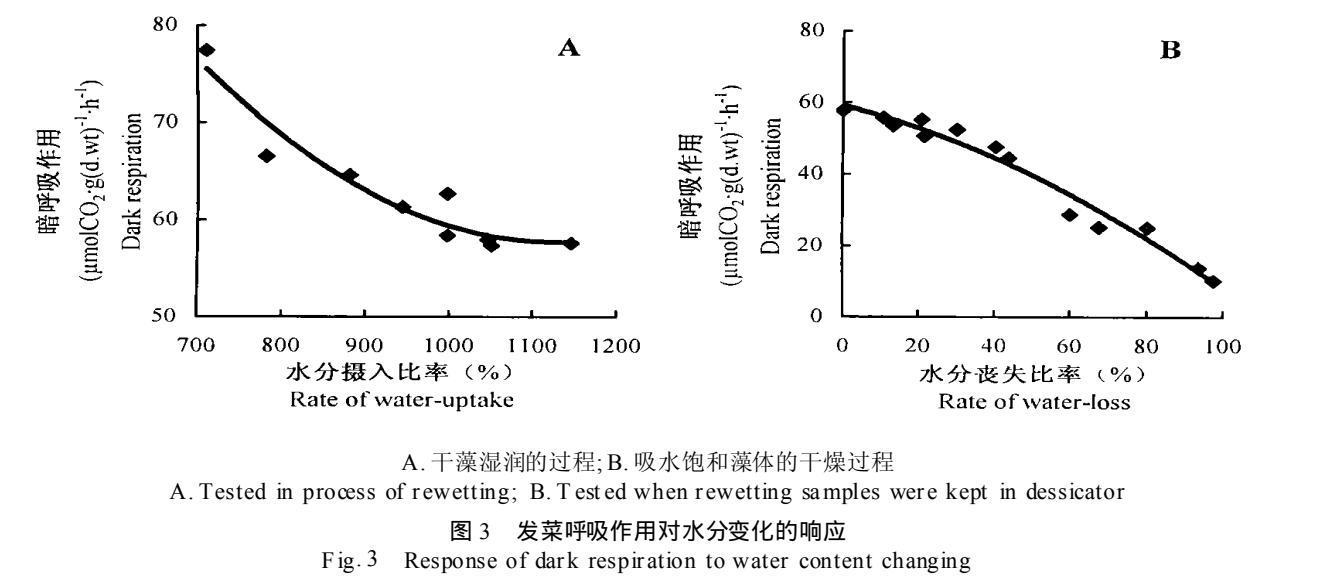
下降到十分微弱的程度, 并保持下降趋势。

2.3 水分对呼吸作用的影响

从图 3 中不难看出, 吸收一定的水分后生理活性逐渐恢复, 大约在干燥体浸润 30 min 后能够检测到呼吸作用, 此后随藻体含水量的增加, 呼吸作用逐渐下降, 到水分基本饱和时, 呼吸作用在一定的水平上保持稳定; 在水分丧失的过程中, 呼吸作用缓慢下降, 水分基本丧失时, 藻体仍然有微弱的呼吸作用存在, 水分完全失去 1.0 h 后呼吸作用基本停止。

2.4 光合作用对水分变化的响应

干燥体放置在 BG-11₀ 中一段时间后, 藻体的光合作用活性开始复苏, 强度慢慢增加, 直到藻体吸水饱和的时候光合作用依然呈现增强趋势(图 4: A), 表明藻体开始摄入物质和积累能量, 具有了生长能力。藻体光合作用的最大值出现在失水过程中, 藻体失水

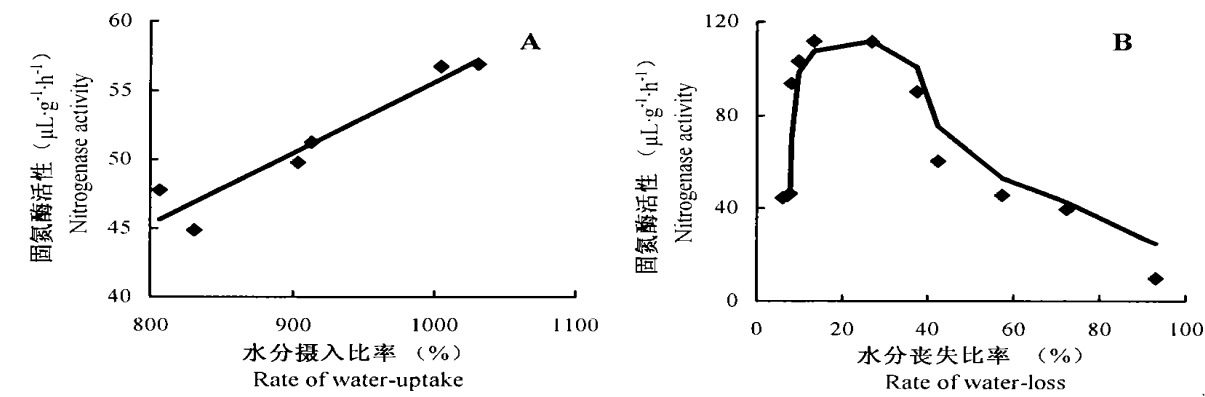


20%~40% 时光合作用最强, 此后随水分的丧失, 光合作用开始下降, 在水分完全丧失时, 光合作用终止 (图 4: B)。

2. 5 固氮酶活性与含水量间的关系

发菜固氮酶活性受到藻体含水量的影响, 随水分含量发生变化 (图 5), 干藻体吸收一定的水分后藻体

表现出固氮活性, 此后固氮能力逐渐增强。和光合作用一样, 固氮作用的最大测定值也出现在水分丧失的过程中, 在水分丧失 20%~40% 时, 固氮酶的活性有增加的表现, 此后随水分的减少固氮酶活性开始下降, 但水分完全丧失时依然可以检测到固氮酶的微弱活性, 完全失水 1.0 h 后固氮作用中止。



A. 干藻体湿润的过程; B. 湿润藻体的干燥过程
A. Value was tested in process of rewetting; B. Value was tested when rewetting samples were kept in dessicator

图 5 固氮酶活性和水分含量之间的关系曲线
Fig. 5 Relation between nitrogenase activity and water content

3 讨论

在干藻体湿润的时候发菜生理活性的恢复表现一定的时间次序 (表 1), 这与 Scherer 的报道^[8]一致, 但本研究中活性恢复的时间要大大短于 Scherer 的测定, 其原因在于本研究使用的是生长季节的新鲜发菜, 在接触水分后能够迅速吸收水分, 而 Scherer 的研究使用的发菜是干燥了相当长时间以后的。比较发现, 干燥时间越长, 其活性恢复所需要的时间也越长, 可能是因为长期处于干燥状态的发菜其内含物水分吸收速率变慢; 活性恢复的难度增加, 而新鲜样品仅仅 4h 左右就完成了快速吸水阶段 (图 1, 图 2: A), 此后生理活性全面恢复, 吸水进入相对稳定阶段, 并很快开始转入生理吸水过程, 因此在进行人工培养研究时应该以新鲜材料为宜。

发菜生理活性恢复大约在吸收水分是藻体干重的 7~8 倍左右 (图 3~图 5) 才开始并逐渐完成, 水分与藻体干重 (或自由水/束缚水) 的一定比率可能是藻体生理活性恢复的临界值, 从图 6 可以看出自由水/束缚水的值在 8.0 左右时藻体生理活性开始全面恢复, 水分尤其是自由水含量是发菜生理活性的限制因子, 水分的盈亏决定了发菜生理及生命状态; 而发菜浸泡水中时间过长又会出现胶鞘解体的现象, 因此选择适宜的水分条件使其自由水/束缚水保持在一定水

平将有助于人工培养的实现。

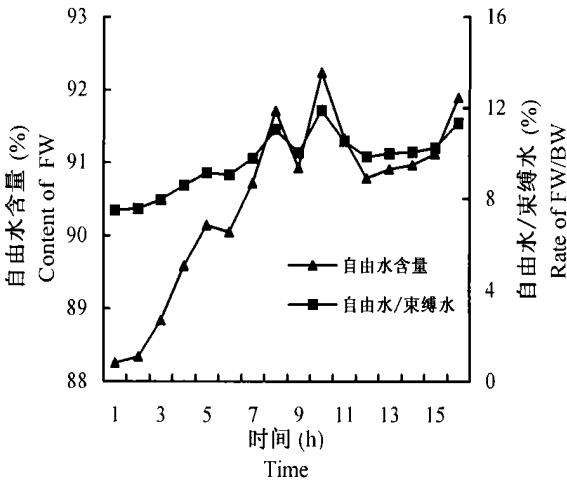


图 6 发菜吸水过程自由水及自由水/束缚水的变化
Fig. 6 Changes of free water (FW) and rate of free water (FW)/ bound water (BW)

发菜光合作用和固氮酶活性的最大测定值都出现在水分丧失 20%~40% 的时候。在一定的水分损失时, 发菜的内部结构可能发生了某种适应性改变, 这样的结构调整将有利于发菜从变化的环境中摄入物质和能量, 说明发菜具有一定的抗逆能力, 能够抵抗一定程度的环境变化, 当水分丧失的信号传递到发菜细胞后, 细胞启动了某种应激机制来加快对物质和能量的摄取。

参考文献:

[1] 姜翠萱. 浅谈发菜[J]. 宁夏大学学报, 1981, 3(2): 93 — 97.

[2] Li S H. Ecology of the terrestrial alga *Nostoc flagelliforme* Berk. et curt. in China[J]. *J Phycology*, 1991, 27 (Suppl): 45.

[3] 王发珠, 张云. 陆生蓝藻发菜的持水力和固氮作用[J]. 植物学通报, 1988, 5(2): 93 — 95.

[4] 钟泽璞, 施定基. 温度含水量光照对发菜固氮酶活性的影响[J]. 植物学报, 1992, 34(3): 219 — 225.

[5] 梅俊学. 逆温下发菜脯氨酸含量及质膜透性的变化与含水量的关系[J]. 山东师范大学学报(自然科学版), 2000, 15(2): 178 — 181.

[6] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.

[7] Gao K S, Qiu B S, Xia J R, et al. Light dependency of the photosynthetic recovery of *Nostoc flagelliforme*[J]. *J Appl Phycol*, 1998, 10: 51 — 53.

[8] Scherer S, Ernst A, Chen T W, et al. Rewetting of drought-resistant blue-green algae: time course of water uptake and reappearance of respiration, photosynthesis and nitrogen fixation[J]. *Oecologia*, 1984, 62: 418 — 423.