

硒浓度对紫球藻的有机硒转化能力及生长的影响

叶力玮^{1,2}, 李锐龙¹, 赖俊翔^{2,3}, 裴俊^{1,2}, 姜发军^{2,3*}

(1. 广西大学资源环境与材料学院, 南宁 530004; 2. 广西北部湾海洋研究中心广西近海海洋环境科学重点实验室, 南宁 530007; 3. 北部湾海洋产业研究院, 防城港 538000)

摘要: **目的** 探究不同外加硒质量浓度对紫球藻有机硒转化能力、生长及抗氧化酶活性的影响。**方法** 通过一次添加亚硒酸钠使硒终质量浓度分别达到 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mg/L, 以不添加硒的紫球藻为对照组, 对紫球藻生长指标和抗氧化酶活性进行分析, 并采用氢化物原子荧光光谱法(hydride generation atomic fluorescence spectrometry, HG-AFS)检测紫球藻藻体中总硒以及无机硒含量。**结果** 0.2、0.5 mg/L 质量浓度的硒对紫球藻生长具有促进作用, 1.0、2.0、5.0 mg/L 质量浓度的硒则抑制了紫球藻生长; 0~5.0 mg/L 硒质量浓度浓度范围内, 紫球藻硒含量与所加硒质量浓度成正比, 其中 5.0 mg/L 硒质量浓度下, 紫球藻有机硒含量达 484.47 $\mu\text{g/g}$, 占总硒含量的 93.71%; 硒能诱导紫球藻细胞谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性增加, 且在高硒质量浓度下, 两种酶活性会再次增强。**结论** 低质量浓度硒有利于紫球藻生长, 高质量浓度硒则抑制其生长, 紫球藻 GSH-Px 与 SOD 酶活性表现相似, 且紫球藻对硒的富集和转化能力较强。

关键词: 紫球藻; 硒; 生长; 有机转化; 抗氧化酶

Effects of selenium concentration on organic selenium transformation capacity and growth of *Porphyridium cruentum*

YE Li-Wei^{1,2}, LI Rui-Long¹, LAI Jun-Xiang^{2,3}, PEI Jun^{1,2}, JIANG Fa-Jun^{2,3*}

(1. College of Resources, Environment and Materials, Guangxi University, Nanning 530004, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Marine Environmental Science, Guangxi Beibu Gulf Marine Research Center, Nanning 530007, China; 3. Beibu Gulf Marine Industry Research Institute, Fangchenggang 538000, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of different added selenium concentrations on the organic selenium conversion capacity, the growth and antioxidant enzyme activity of *Porphyridium cruentum*. **Methods** The growth index and antioxidant enzyme activity of *Porphyridium cruentum* were analyzed by adding sodium selenite once to reach the final selenium mass concentration of 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 and 5.0 mg/L, respectively, using *Porphyridium cruentum* without selenium as the control group, and the content of total and inorganic selenium in *Porphyridium cruentum* algae was determined by hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS). **Results** The growth of *Porphyridium cruentum* was promoted by 0.2, 0.5 mg/L selenium, while 1.0, 2.0, 5.0 mg/L selenium inhibited the growth of *Porphyridium cruentum*. The selenium content of *Porphyridium cruentum* was proportional to the added selenium concentration in the range of 0–5.0 mg/L selenium concentrations, and when the

基金项目: 广西创新驱动发展专项(桂科 AA18242047)

Fund: Supported by the Innovation-driven Development Project of Guangxi (Guike AA18242047)

*通信作者: 姜发军, 博士, 研究员, 主要研究方向为海洋生物资源开发与利用。E-mail: hunanjf@126.com

*Corresponding author: JIANG Fa-Jun, Ph.D, Professor, Guangxi Key Laboratory of Marine Environmental Science, Guangxi Beibu Gulf Marine Research Center, No.98, Daling Road, Xixiangtang District, Nanning 530007, China. E-mail: hunanjf@126.com

concentration of selenium was 5.0 mg/L, the content of organic selenium reached 484.47 $\mu\text{g/g}$, accounting for 93.71% of the total selenium content. Glutathione peroxidase (GSH-Px) and super oxide dismutase (SOD) activities of *Porphyridium cruentum* could be increased by selenium induction, and both enzyme activities were enhanced again at high selenium concentration. **Conclusion** Low concentration of selenium led to promote the growth of *Porphyridium cruentum*, while high concentration of selenium inhibits its growth, GSH-Px and SOD enzymes of *Porphyridium cruentum* show similar activities, and *Porphyridium cruentum* has a high capacity for enrichment and transformation of selenium.

KEY WORDS: *Porphyridium cruentum*; selenium; growth; organic transformation; antioxidant enzyme

0 引 言

硒是人体必需的每日膳食营养元素^[1], 具有抗癌、抗氧化、抗肿瘤等保健功能。肝脏病、心血管病、大骨节病等的发生均与人体缺硒有关^[2-3]。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)建议成人每日膳食硒摄入量阈值在 55~400 $\mu\text{g/d}$ ^[4-5]。有机硒因其毒性弱且生物利用度高而成为高效安全的补硒制剂, 但有机硒在自然界中的存在形式较少^[6]。因此, 硒的有机化成为目前富硒研究热点之一, 其中通过在微藻培养基中添加亚硒酸钠来实现微藻对硒的吸收转化是获得有机硒化合物简易高效的途径之一^[7]。微藻能够高效富集硒元素, 并将无机硒转化为有机硒, 再通过食物链将硒传送到高等生物体内^[8-9]。微藻对硒的生物转化主要是利用其同化功能, 转化硒并合成硒多糖, 硒蛋白等生物大分子^[10]。目前, 研究报道具有富集转化硒能力的微藻包括: 螺旋藻(*Spirulina platensis*)^[11], 盐藻(*Dunaliella salina*)^[12], 小球藻(*Chlorella*)^[13], 莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)^[14]和紫球藻(*Porphyridium cruentum*)^[10]等。

紫球藻(*Porphyridium cruentum*)是较为原始单细胞红藻, 能够合成多糖、藻红蛋白、高不饱和脂肪酸等生物活性物质, 其生长营养要求低, 生存能力强, 繁殖速度快, 在微藻生物产业中具有巨大的经济应用价值^[15-16]。已有研究者证实, 合理添加硒对紫球藻细胞的生长及抗氧化活性有明显的促进作用。如刘太胜等^[17]研究显示硒质量浓度为 0.05 和 0.50 mg/L 对紫球藻生长有较明显的促进作用, 而在高硒条件下紫球藻生长受到了抑制作用。刘艳^[18]研究发现与未添加硒的紫球藻相比, 添加 0.50 mg/L 硒质量浓度同样有利于紫球藻生长, 并能促进紫球藻谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性, 但对超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性无响应。尽管已有前人对富硒紫球藻生长及抗氧化酶活性进行研究, 但目前对于紫球藻有机硒转化能力鲜有研究。因此, 本研究主要研究不同硒质量浓度条件下对紫球藻生长及有机硒转化能力的影响, 旨在为富硒紫球藻规模化生产提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

紫球藻藻种(上海光语生物科技有限公司)。

亚硒酸钠[纯度 $\geq 99\%$, 阿法埃莎(中国)化学有限公司]; 硝酸(分析纯, 廉江爱廉试剂有限公司); 过氧化氢(分析纯, 天津欧博凯化工有限公司); 盐酸(优级纯, 广州西陇科学股份有限公司); 无水乙醇(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); GSH-Px 活性测定试剂盒(No.A005-1-2)、SOD 活性测定试剂盒(No.A001-1-2)(南京建成生物工程研究所); f/2 培养基: 硝酸钠、磷酸二氢钠(分析纯, 天津市大茂化学试剂厂); 三氯化铁、乙二胺四乙酸二钠、硫酸铜、氯化钴(分析纯, 天津市北辰方正试剂厂); 硫酸锌、钼酸钠、氯化锰、碳酸氢钠(分析纯, 成都金山化学试剂有限公司); 维生素(纯度 $\geq 98\%$, 上海麦克林生化科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

AFS-9230 原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司); XS105DU 电子天平[精度: 0.1 mg, 梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司]; 722S 紫外可见分光光度计(上海仪电分析仪器有限公司); MDS-15 型高通量微波消解仪(上海新仪微波化学科技有限公司); SCIENTZ-IIID 超声波细胞粉碎仪(宁波新芝生物科技股份有限公司); FD5-5 真空冷冻干燥机[金西盟(北京)仪器有限公司]; 3-18KS 高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司); ZHWY-211C 摇床(上海智城分析仪器制造有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 培养条件

采用 f/2 培养基, 将藻液与培养基按 1:3 (V:V)的接种比例接种至 500 mL 锥形瓶, 接对数生长期藻种, 接种密度以 $\text{OD}_{680}=(0.158\pm 0.007)$ 进行, 实验设置 3 个平行, 实验组一次添加亚硒酸钠使硒终质量浓度分别达到 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mg/L, 以不添加硒的紫球藻为对照组, 培养条件为: 温度 25 $^{\circ}\text{C}$, 12 L: 12 D 光暗循环, 光照强度 90 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 摇床 24 h 摇动, 转速为 120 r/min, 培养周期为 22 d。

1.3.2 富硒紫球藻密度的测定

参照刘艳^[18]方法, 每日定时取藻液测其在 680 nm 处的吸光度, 代表其生长密度。

1.3.3 富硒紫球藻生物量的测定

取一定体积藻液, 7650 $\times\text{g}$ 离心 15 min 收集藻体, 并用超纯水进行冲洗, 7650 $\times\text{g}$ 离心 10 min 洗涤两次后, 将所得

藻体经真空冷冻干燥机干燥,称其重量。

1.3.4 富硒紫球藻叶绿素含量的测定

参照刘艳^[18]方法,为了实验安全性及提高叶绿素提取量,将方法中甲醇修改为乙醇。每 48 h 取 10 mL 藻液于离心管中,经玻璃纤维滤膜(glassfibre filters, GF/F)真空抽滤,抽滤结束,加入 10 mL 的无水乙醇,充分振摇混匀并置于 4°C 冰箱浸提过夜,次日于 3060×g 离心 10 min,根据刘艳^[18]方法进行叶绿素含量的测定与计算。

1.3.5 富硒紫球藻有机硒含量的测定

(1) 样品前处理

采用氢化物原子荧光光谱法测定紫球藻总硒、无机硒含量,并间接测定有机硒含量。总硒含量的测定参照 GB 5009.93—2017《食品安全国家标准 食品中硒的测定》,为了提高消化效率,将硝酸与过氧化氢比例稍作修改,在原基础上提高了过氧化氢占比,修改后如下:准确称取 0.1 g 冷冻干燥藻粉置于消化管中,加入 6 mL 硝酸,2 mL 过氧化氢,振摇混匀,于微波消解仪中消化,消解结束将消解罐置于电热板上加热至近干,再加入 5 mL 6 mol/L 盐酸继续加热至溶液变无色并伴有白烟出现,冷却后移至 10 mL 比色管并用定容,混匀待测。无机硒的提取参照张美琴等^[19]的方法,再进行与上述总硒测定方法相同的消解处理,混匀待测。

(2) 原子荧光光度计测硒含量

在与测定标准系列溶液相同的实验条件下,将空白溶液和试样溶液(总硒,无机硒)分别导入仪器,其荧光强度与硒含量成正比,故测其荧光值强度,与标准系列比较定量,计算公式如式(1)和式(2)。

$$\text{有机硒含量}/(\text{mg/L}) = \text{总硒含量} - \text{无机硒含量} \quad (1)$$

$$\text{有机硒转化率}/\% = \frac{\text{有机硒含量}}{\text{总硒含量}} \times 100\% \quad (2)$$

1.3.6 富硒紫球藻抗氧化酶活性的测定

紫球藻 GSH-Px 和 SOD 活性测定分别采用 GSH-Px 和 SOD 活性测定试剂盒检测,操作严格参照说明书进行。

1.4 数据处理

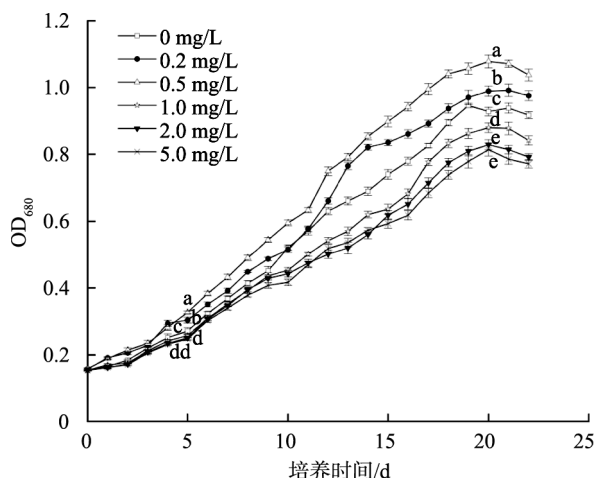
采用 SPSS 26.0 软件中的单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA)对实验结果进行数据差异性分析,以 $P < 0.05$ 为显著水平差异,并用 Origin 2021 进行制图。

2 结果与分析

2.1 不同外加硒浓度对紫球藻生长的影响

从图 1 可知,在生长前期实验组和对照组紫球藻 OD₆₈₀ 值相近,曲线大致呈 S 形,从第 5 d 开始,对照组和实验组出现了较为显著的变化($P < 0.05$),第 20 d 后,实验组和对照组 OD₆₈₀ 值开始趋于平缓并呈下降趋势。与对照组相比,加质量浓度为 0.2 mg/L 硒和加质量浓度为 0.5 mg/L 硒实验组的 OD₆₈₀ 值从第 5 d 后一直高于对照组,说明适宜质量浓

度的硒可对紫球藻细胞的生长起促进作用,其余组均出现不同程度的抑制。



注:标注不同字母表示相同时间下各组间存在显著性差异($P < 0.05$),标注同一字母表示组间无显著性差异($P > 0.05$),下同。

图 1 不同外加硒浓度对紫球藻生长密度的影响($n=3$)

Fig.1 Effects of different added selenium concentrations on the growth density of *Porphyridium cruentum* ($n=3$)

2.2 不同外加硒浓度对紫球藻生物量的影响

图 2 为不同外加硒浓度下紫球藻的生物量,从图 2 可以看出,各组间均存在显著性差异($P < 0.05$),质量浓度为 0.2、0.5 mg/L 硒实验组紫球藻生物量分别为 3.53 和 3.88 g/L,均显著高于对照组(生物量为 3.32 g/L)($P < 0.05$),而外加硒质量浓度为 1.0、2.0、5.0 mg/L 实验组生物量分别为 3.03、2.87 和 2.73 g/L,均显著低于其对照组($P < 0.05$)。表明质量浓度为 0.2、0.5 mg/L 硒质量浓度有益于紫球藻的生长,而质量浓度为 1.0、2.0、5.0 mg/L 硒质量浓度降低了紫球藻生长速率。

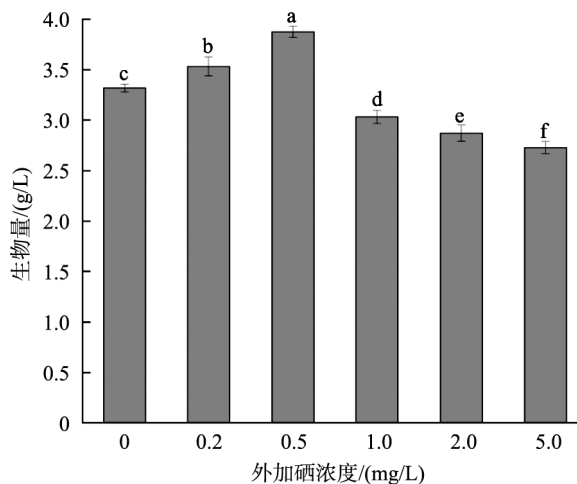


图 2 不同外加硒浓度对紫球藻生物量的影响($n=3$)

Fig.2 Effects of different added selenium concentrations on the biomass of *Porphyridium cruentum* ($n=3$)

2.3 不同外加硒浓度对紫球藻叶绿素含量的影响

由图 3 可得出, 叶绿素含量随着生长逐渐增加, 但在生长中后期开始有所下降。从第 4 d 开始, 加质量浓度为 0.2 和 0.5 mg/L 硒实验组开始显著高于对照组($P < 0.05$), 在第 16 d 叶绿素含量达到最高, 分别是 3.301 和 3.757 mg/L, 均显著高于对照组(叶绿素含量为 2.843 mg/L)($P < 0.05$), 其余实验组在第 14 d 达到最高, 但始终低于对照组。可见, 在培养液中添加质量浓度为 0.2、0.5 mg/L 硒能促进紫球藻叶绿素的合成, 其余组则在不同程度上抑制了紫球藻叶绿素的合成。

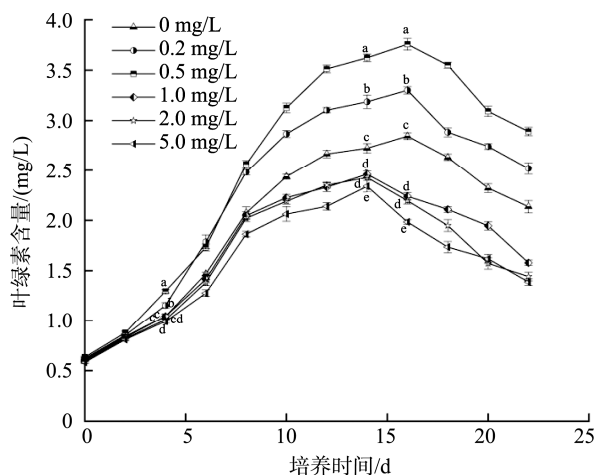


图 3 不同外加硒浓度对紫球藻叶绿素含量的影响($n=3$)
Fig.3 Effects of different added selenium concentrations on chlorophyll content of *Porphyridium cruentum* ($n=3$)

2.4 不同外加硒浓度对紫球藻硒含量的影响

由图 4 的研究结果可得出: 当培养液中硒质量浓度添加量为 0~5.0 mg/L 范围内时, 紫球藻的硒含量与所加硒质量浓度呈线性上升关系, 总硒与有机硒含量各组间均有显著性差异($P < 0.05$), 质量浓度为 0.2、0.5 mg/L 硒实验组无机硒含量与对照组无显著性差异($P > 0.05$), 本研究中, 不同外加硒质量浓度下紫球藻的有机硒转化率在 85%~95% 之间, 其中在质量浓度为 5.0 mg/L 硒质量浓度下达到最高, 有机硒转化率达到 93.71%, 其余质量浓度为 0.2、0.5、1.0、2.0 mg/L 硒实验组的有机硒转化率分别为 90.28%、92.19%、88.67%、91.52%。由此可见, 本研究紫球藻有机硒的转化能力较好, 能够对硒的富集和转化取得一个较好的效果。

2.5 不同外加硒浓度对紫球藻抗氧化酶活性的影响

图 5 为不同外加硒浓度对紫球藻 GSH-Px 和 SOD 酶活性的影响。从图 5 结果显示来看, 加硒质量浓度阈值为 0~5.0 mg/L 时, 紫球藻 SOD 和 GSH-Px 酶活性变化趋势相似, 均随着添加硒质量浓度的升高而增加, 且各组间差异性均显

著($P < 0.05$), 均在质量浓度为 5.0 mg/L 硒实验组下酶活性最高, 质量浓度为 2.0、5.0 mg/L 硒实验组两组间的紫球藻 SOD 酶活性的显著性相比 GSH-Px 酶活性差异较小。由此可说明硒能通过影响紫球藻的 GSH-Px 和 SOD 活性从而提升其抗氧化作用。

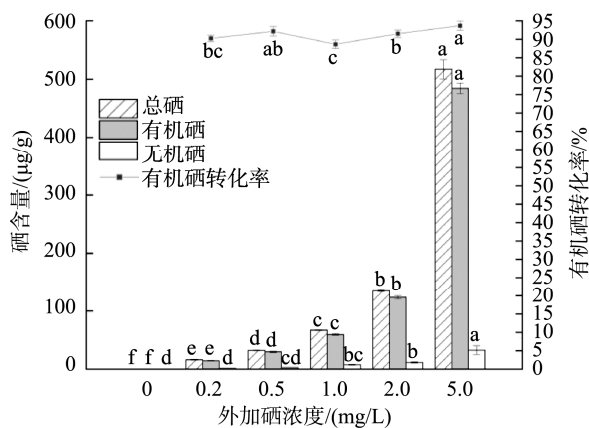


图 4 不同外加硒浓度对紫球藻硒含量的影响($n=3$)
Fig.4 Effects of different added selenium concentrations on the selenium content of *Porphyridium cruentum* ($n=3$)

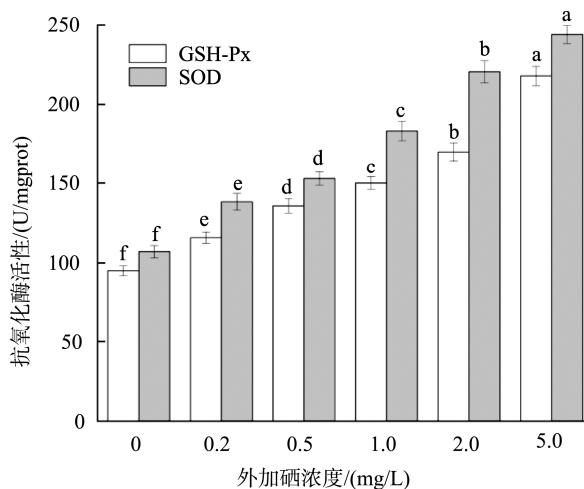


图 5 不同外加硒浓度对紫球藻抗氧化酶活性的影响($n=3$)
Fig.5 Effects of different added selenium concentrations on the antioxidant enzyme activity of *Porphyridium cruentum* ($n=3$)

3 讨论

3.1 硒对紫球藻生长的影响

低浓度的硒有益于微藻的生长, 能提升其生长速率、增强抗氧化能力, 但硒浓度在较高的水平下, 对藻类会产生一定的毒害作用, 随着剂量的增大, 其毒性逐渐加剧, 甚至引发藻体死亡^[20]。但不同藻类对硒的耐受能力和富集能力具有一定差异, 如 MORLON 等^[21]研究显示莱茵衣藻仅在纳摩尔浓度下对藻体生长产生促进作用, 而杨莹莹^[22]

研究发现螺旋藻对硒的耐受程度可达到 400.0 mg/L。本研究中,紫球藻各生长指标测定结果均表明:低质量浓度硒 0.2 和 0.5 mg/L 的添加对紫球藻生长具有促进作用,而中、高质量浓度硒 1.0、2.0、5.0 mg/L 则降低了紫球藻生长速率,究其原因可能是高硒摄入导致紫球藻慢性硒中毒^[23]。本研究中,紫球藻最适宜生长的富硒质量浓度为 0.5 mg/L,这与刘太胜等^[17]探究硒对紫球藻生长影响所报道结果一致。在质量浓度为 0.5 mg/L 硒条件下获得的紫球藻 OD 值,生物量以及叶绿素含量都优于其他实验组,研究结果与刘艳^[18]报道的相似,但从叶绿素含量的结果看,二者存在较大差异,可能与所采用的培养条件及藻种初始密度不同有关。本研究中对照组和加硒组叶绿素含量均呈现先升后降趋势,与紫球藻生长趋势并不一致,其原因主要是藻类的生长速率与叶绿素合成速率间存在博弈关系^[24],即藻生长速率小于叶绿素合成速率,叶绿素含量升高,反之,叶绿素含量降低。研究结果表明紫球藻在加硒质量浓度大于 0.5 mg/L 时已出现抑制作用,与其他藻类耐受硒浓度大相径庭,推测原因是由于紫球藻细胞膜外部缺少支承性纤维成分,胞外由多糖包围着,进而造成紫球藻对硒的耐受浓度较低。

3.2 紫球藻对硒的富集及有机转化

微藻对于无机硒的吸收是较为稳定的,但不同藻体对硒的富集和转化水平不尽相同^[25]。在本研究所添加的硒浓度范围内,紫球藻富集硒能力随硒浓度升高而增大。本研究中不同硒浓度下紫球藻的有机硒转化率在 85%~95% 之间,倪婕等^[26]研究显示蛋白核小球藻添加硒质量浓度在 0~50.0 mg/L 范围内,有机硒转化率在 75%~85% 之间,杨莹莹^[22]研究发现极大螺旋藻当加硒质量浓度为 800.0 mg/L 时,有机硒转化率高达 97.44%。目前关于紫球藻有机硒转化能力的研究报道较少,与其他富硒藻类相比而言,本研究紫球藻有机硒的转化能力较好,研究结果表明,在硒质量浓度为 0~5.0 mg/L 范围内,紫球藻硒含量呈指数级增长,在加硒质量浓度为 5.0 mg/L 条件下,紫球藻有机硒含量达 484.47 μg/g,有机硒转化率为 93.71%,而 0.5 mg/L 硒质量浓度下紫球藻有机硒含量仅有 29.74 μg/g,有机硒转化率为 92.19%,并通过生物量可计算得出,在同等体积藻液中(以 1 L 藻液为例),0.5 mg/L 硒质量浓度下紫球藻富集转化得到的有机硒含量为 115.39 μg,相比下 5.0 mg/L 硒质量浓度下紫球藻最终可富集转化获得的有机硒含量高达 1322.60 μg,是 0.5 mg/L 硒质量浓度条件下富集转化所获有机硒含量的 11.5 倍。本研究中,5.0 mg/L 硒质量浓度对紫球藻生长产生了一定的抑制作用,但在研究过程中未出现藻体发黄死亡现象,而在前期预实验中发现更高浓度的硒添加会引起藻体快速死亡(实验数据未列出),故若从培育富硒产品的角度出发,以获得高硒含量藻粉为主要目的,在实际应用生产中,选取加硒质量浓度为 5.0 mg/L 较为适宜。且有学者

指出,以单位藻细胞上所承受的硒剂量来探讨硒对藻类生长的影响更为准确^[27],即单一以硒质量浓度来定论对藻类生长抑制与否可能有失妥当。覃宝利等^[27]研究发现在添加同等质量浓度的亚硒酸钠情况下,将小球藻初始密度提高 10 倍的藻培养液对其生长便无显著影响。同时,有研究表明,通过基因工程技术对某些基因的表达进行调控可增强植物对硒的耐受性^[28]。因此,后续可以通过基因工程技术对紫球藻的某些基因表达进行调控增强其对硒的耐受性,以获得既生长快速又能富集大量硒的紫球藻株系。

3.3 硒对紫球藻抗氧化酶活性的影响

植物本体中存在的天然活性氧(reactive oxygen species, ROS)含量在正常条件下较低,其自身的抗氧化防御体系能维持机体中的 ROS 处于一个动态平衡的状态。但当外界环境发生变化,植物受到胁迫时,会致使体内 ROS 堆积异常,从而损伤细胞膜及脂质, DNA, 蛋白质等大分子物质^[28]。硒会影响藻细胞的抗氧化系统,可通过调节抗氧化酶的方式使植物在胁迫情况下的 ROS 水平得以限制^[29]。许多有关硒对藻类抗氧化酶作用的研究均表明,硒能诱导 GSH-Px 的产生,其酶学特性与动物体内的 GSH-Px 类似,并且硒对 GSH-Px 的影响基本呈剂量依赖性^[14,24]。而 SOD 酶的活性在不同研究中存在不同的响应结果,在李亚男等^[30]对盐藻的研究中, SOD 酶活性在低硒浓度下并无响应,直至超过 10.0 mg/L 硒质量浓度条件下活性才明显提高。而覃宝利等^[27]研究结果显示,亚硒酸钠质量浓度在 2.0~4.0 mg/L 范围内时就能使蛋白核小球藻 SOD 酶活性获得显著提升,但在高硒浓度下降低。GSH-Px 能通过还原作用清除有毒过氧化物质,从而维持细胞膜结构完整与功能正常^[29]。SOD 作为机体内清除超氧化物阴离子的唯一酶类^[27],可与 GSH-Px 协同发挥作用,共同保护机体免受自由基攻击。本研究中 GSH-Px 与 SOD 活性表现相似,低、中浓度硒条件下,紫球藻中 GSH-Px 和 SOD 酶活性随硒浓度增加而增强。当硒质量浓度提高到 5.0 mg/L,即高硒环境下,两种酶活性再次增强,可能是因在高硒浓度下,紫球藻体内 ROS 增多,高硒浓度实验组中硒参与合成的硒蛋白协助藻细胞对抗氧化逆境,使 GSH-Px, SOD 酶的表达量提高,活性也得到再次提升。这与蔡煜^[25]的研究结果一致。肖俊超等^[31]研究也发现当硒质量浓度达到 20.0 mg/L 时,才能诱导普通小球藻 SOD 酶活性显著增大。

4 结 论

1)从紫球藻在硒浓度环境中的生长状况可得出:低于质量浓度为 1.0 mg/L 的硒对紫球藻生长起促进作用,质量浓度为 1.0~5.0 mg/L 的硒对紫球藻生长起抑制作用,而更高浓度的硒会致使紫球藻细胞快速死亡。

2)通过测定硒质量浓度在 0~5.0 mg/L 范围内紫球藻

的富硒量可知, 随着硒质量浓度的升高, 紫球藻体内的富硒量呈指数级增加, 且紫球藻对硒的富集和转化效果较好, 其中在 5.0 mg/L 硒质量浓度条件下, 每升培养物中, 紫球藻富集转化所获的有机硒含量高达 1322.60 μg , 因此, 对于紫球藻富硒培养, 选取硒质量浓度为 5.0 mg/L 较为适宜。

3) 紫球藻 SOD 与 GSH-Px 酶活性表现相似, 酶活性均随着外加硒浓度的增加而增大, 说明硒能通过影响紫球藻的 GSH-Px 和 SOD 活性从而提升其抗氧化作用。

4) 本研究中尽管低浓度的硒对紫球藻生长有利但藻体内有机硒含量较低, 而高浓度的硒能够促进硒的积累, 但对紫球藻的生长有一定的抑制作用, 后续可以通过基因工程技术对某些基因的表达进行调控增强紫球藻对硒的耐受性, 获得生长快速又能富集大量有机硒的紫球藻株系。

参考文献

- [1] ZEINALI S, YOON KS, ESSELMAN E, *et al.* Selenium bioconcentration in Canadian oat (*Avena sativa*) from soils treated with nanoscale elemental selenium [J]. *Crop Pasture Sci*, 2022, 73(7–8): 760–768.
- [2] 李傲瑞, 乔新星, 赵飞飞, 等. 硒与人体健康关系研究进展[J]. *绿色科技*, 2020(12): 121–122.
LI AOR, QIAO XX, ZHAO FF, *et al.* Research progress on the relationship between selenium and human health [J]. *J Green Sci Technol*, 2020(12): 121–122.
- [3] HOFSTEE P, PERKINS AV, CUFFE JSM. Selenium deficiency during pregnancy in mice impairs exercise performance and metabolic function in adult offspring [J]. *Nutrients*, 2022, 14(5): 1125.
- [4] QIN HB, ZHU JM, TAN D, *et al.* Microscale investigation into selenium distribution and speciation in se-rich soils from Enshi, China [J]. *B Environ Contam Tox*, 2021, 106(1): 40–43.
- [5] 马传贵, 张志秀, 闫梅霞, 等. 微量元素硒及其吸收转化与富硒食品的研究[J]. *微量元素与健康研究*, 2022, 39(4): 45–48.
MA CG, ZHANG ZX, YAN MX, *et al.* Analysis on absorption and transformation of trace element selenium in se-enriched food [J]. *Stud Trace Elements Health*, 2022, 39(4): 45–48.
- [6] XIA TQ, PENG SH, MA YQ, *et al.* Effect of exogenous selenium on the growth and selenium accumulation of *Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn [J]. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci*, 2021, 687(1): 12001.
- [7] 邹小智, 康德灿, 罗佳, 等. 微生物富硒食品的研发近况浅析[J]. *现代食品*, 2022, 28(8): 26–29.
ZOU XZ, KANG DC, LUO J, *et al.* Brief analysis of the research and development of microbial selenium-enriched food [J]. *Mod Food*, 2022, 28(8): 26–29.
- [8] 曹燕, 李书艺, 王飞飞, 等. 微藻生物富硒的研究进展[J]. *食品科技*, 2021, 46(12): 15–20.
CAO Y, LI SY, WANG FF, *et al.* Research progress on the bioaccumulation of selenium in microalgae [J]. *Food Sci Technol*, 2021, 46(12): 15–20.
- [9] GUIMARAES BO, BOER K, GREMMEN P, *et al.* Selenium enrichment in the marine microalga *Nannochloropsis oceanica* [J]. *Algal Res*, 2021, 59: 102427.
- [10] 刘艳, 桑敏, 李爱芬, 等. 硒在紫球藻蛋白质、多糖和脂类物质中的累积与分布[J]. *中国海洋药物*, 2010, 29(3): 22–27.
LIU Y, SANG M, LI AIF, *et al.* Accumulation and distribution of selenium in protein, polysaccharide and lipid of *Porphyridium* sp. [J]. *Chin J Mar Drug*, 2010, 29(3): 22–27.
- [11] 黄丽. 富硒螺旋藻的生物分布及其含硒蛋白的抗炎活性研究[D]. 南宁: 广西大学, 2020.
HUANG L. Biological distribution of selenium enriched *Spirulina platensis* and anti-inflammatory activity of selenoproteins [D]. Nanning: Guangxi University, 2020.
- [12] CONSTANTINESCU-ARUXANDEI D, VLAICU A, MARINAS IC, *et al.* Effect of betaine and selenium on the growth and photosynthetic pigment production in *Dunaliella salina* biostimulants [J]. *Fems Microbiol Lett*, 2019. DOI:10.1093/femsle/fnz257
- [13] MYLENKO M, VU DL, KUTA J, *et al.* Selenium incorporation to amino acids in chlorellacultures grown in phototrophic and heterotrophic regimes [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(6): 1654–1665.
- [14] ZHANG BL, DUAN GQ, FANG YY, *et al.* Selenium(IV) alleviates chromium(VI)-induced toxicity in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Environ Pollut*, 2021, 272: 116407.
- [15] AGUSTINA S, AIDHA NN, OKTARINA E, *et al.* Antioxidant activity of *Porphyridium cruentum* water extracts for cosmetic cream [J]. *IOP Conf Ser: Mater Sci Eng*, 2020, 980(1): 12042.
- [16] 南芳茹, 高帆. 红色珍宝-漫话紫球藻[J]. *生命世界*, 2021, (4): 12–13.
NAN FR, GAO F. Red treasure-rambling about *Porphyridium* [J]. *Life World*, 2021, (4): 12–13.
- [17] 刘太胜, 李爱芬, 顾继光, 等. 硒对紫球藻生长及光谱特性的影响[J]. *生态环境*, 2006, (2): 224–228.
LIU TS, LI AIF, GU JG, *et al.* Effects of selenium on the growth and spectroscopic properties of *Porphyridium* UTEX637 [J]. *Ecol Environ*, 2006, (2): 224–228.
- [18] 刘艳. 紫球藻生物转化硒的初步研究[D]. 广州: 暨南大学, 2010.
LIU Y. Research on the biotransformation of selenium by *Porphyridium* sp. [D]. Guangzhou: Jinan University, 2010.
- [19] 张美琴, 季华曼, 杨洪生, 等. 氢化物发生原子荧光光谱法测定水产品中有机硒和无机硒[J]. *中国水产科学*, 2012, 19(5): 900–905.
ZHANG MQ, JI HM, YANG HS, *et al.* Determination of organic and inorganic selenium in aquatic products by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry [J]. *J Fish Sci China*, 2012, 19(5): 900–905.
- [20] PILON-SMITS EAH. On the ecology of selenium accumulation in plants [J]. *Plants*, 2019, 8(7): 197.
- [21] MORLON H, FORTIN C, FLORIANI M, *et al.* Toxicity of selenite in the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*: Comparison between effects at the population and sub-cellular level [J]. *Aquat Toxicol*, 2005, 73(1): 65–78.
- [22] 杨莹莹. 极大螺旋藻高浓度培养及生物富硒的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
YANG YY. Studies on high-concentration cultivation and selenium bioaccumulation of *Spirulina maxima* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011.

- [23] ZHAO YF, SONG XS, CAO X, *et al.* Toxic effect and bioaccumulation of selenium in green alga *Chlorella pyrenoidosa* [J]. *J Appl Phycol*, 2019, 31(3): 1733–1742.
- [24] 许可. 不同氮磷浓度对普通小球藻生长及光合作用的影响研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2018.
XU K. Research on the growth and photo synthesis of *Chlorella vulgaris* under different nitrogen and phosphorus concentrations [D]. Xi'an: Xi'an University of Architecture and Technology, 2018.
- [25] 蔡煜. 长茎葡萄蕨藻富硒条件探索及锌硒交互作用的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2019.
CAI Y. Study on selenium-enriched conditions of *Caulerpa lentillifera* and influence of zinc and selenium interaction [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2019.
- [26] 倪婕, 余炼, 唐亚倩, 等. 亚硒酸钠对蛋白核小球藻生长及生物转化的影响[J]. 现代食品科技, 2019, 35(11): 176–181.
NI J, YU L, TANG YQ, *et al.* Effect of sodium selenite on the growth and biotransformation of *Chlorella pyrenoidosa* [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2019, 35(11): 176–181.
- [27] 覃宝利, 王宣朋, 单金峰, 等. 亚硒酸钠对蛋白核小球藻生长及抗氧化酶活性的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2020, 35(6): 838–846.
QIN BL, WANG XP, SHAN JF, *et al.* Effects of sodium selenite on growth and antioxidant enzyme activity of green alga *Chlorella pyrenoidosa* [J]. *J Dalian Ocean Univ*, 2020, 35(6): 838–846.
- [28] 李晓红, 句荣辉, 李振星, 等. 硒对植物的双重生化效应研究进展[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(11): 9–13.
LI XH, JU RH, LI ZX, *et al.* Research progress on dual biological effects of Se on plants [J]. *Cere Oils*, 2021, 34(11): 9–13.
- [29] 陈思蒙, 李子玮, 张璐翔, 等. 硒在植物抵御胁迫中作用的研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2020, 22(3): 6–13.
CHEN SM, LI ZW, ZHANG LX, *et al.* Research advances on the role of selenium in plants resistance to stress [J]. *J Agric Sci Technol*, 2020, 22(3): 6–13.
- [30] 李亚男, 宋德宝, 陈大清. 硒对盐藻生长及抗氧化酶活性的影响[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2006, 3(4): 198–200, 210.
LI YN, SONG DB, CHEN DQ. Effects of selenium on the growth and oxidation enzyme-resistance of *Dunaliella salina* [J]. *J Yangtze Univ (Nat Sci Ed)*, 2006, 3(4): 198–200, 210.
- [31] 肖俊超, 郑丽丹, 李德立, 等. 硒胁迫对小球藻的生物学影响[J]. 水产学报, 2011, 35(3): 417–422.
XIAO JC, ZHENG LD, LI DL, *et al.* Biological effects of *Chlorella vulgaris* under the stress of selenium [J]. *J Fish China*, 2011, 35(3): 417–422.

(责任编辑: 黄周梅 郑丽)

作者简介



叶力玮, 硕士研究生, 主要研究方向为微藻开发与利用。
E-mail: 510957681@qq.com



姜发军, 博士, 研究员, 主要研究方向为海洋生物资源开发与利用。
E-mail: hunanjfj@126.com