

富钒酵母对多刺裸腹蚤的生物学效应

张琛¹ 李春如² 樊美珍^{2*}

(1. 安徽农业大学生命科学学院 安徽 合肥 230036)

(2. 安徽农业大学微生物防治省重点实验室 安徽 合肥 230036)

摘要: 本文研究了富钒酵母对多刺裸腹蚤的寿命、存活率和生殖量的影响。结果表明: 不同钒浓度下富钒酵母组多刺裸腹蚤的平均寿命均长于相对应的无机钒组多刺裸腹蚤, 在相同钒浓度下, 富钒酵母和无机钒对多刺裸腹蚤的存活率和生殖量的影响差异更大, 富钒酵母比无机钒对多刺裸腹蚤的毒性要低。

关键词: 富钒酵母, 多刺裸腹蚤, 寿命, 存活率, 生殖量

Biological Effect of Vanadium-enriched Yeast on *Moina macrocpa*

ZHANG Chen¹ LI Chun-Ru² FAN Mei-Zhen^{2*}

(1. School of Life Sciences, Anhui Agriculture University, Hefei, Anhui 230036, China)

(2. Anhui Provincial Key Laboratory for Microbial Control, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036, China)

Abstract: This paper reports a experiment which vanadium-enriched yeast affected on life-span, survival rate and reproduction quantity of *moina macrocpa*. The results indicated that the average life span of *moina macrocpa* of vanadium-enriched yeast group were all prolonged compared with inorganic vanadium group under different concentration of vanadium. As to same concentrations of vanadium, it is significant difference on survival rate and reproduction quantity of *moina macrocpa* between the group of vanadium-enriched yeast and inorganic vanadium. So it is concluded that the toxicity to *moina macrocpa* of vanadium-enriched yeast was lower than inorganic vanadium.

Keywords: Vanadium-enriched yeast, *Moina macrocpa*, Life-span, Survival rate, Reproduction quantity

钒作为人体及其他动物必需的微量元素, 具有多种生物学功能, 尤其是无机钒酸盐具有类胰岛素作用^[1,2], 使钒化合物可作为一个潜在的治疗试剂而倍受关注。但是由于天然食物中的钒元素含量一般都不高, 同时无机钒化合物(钒盐)对人和动物都具有中至高等毒性^[3], 而且生物体对其吸收利用率也偏低, 影响了其在药物领域的广泛应用。因此, 设计和寻找有效低毒性药用钒化合物, 成为国外研究

的一个活跃领域^[4]。利用酵母细胞将无机态的微量元素转化为有机态形式, 在医药保健领域有广泛应用前景, 并且国内外有很多研究报道, 但利用啤酒酵母富集微量元素钒, 使无机钒转化为一种类似天然产物的有机钒产品, 目前尚未见其他相关报道。

水蚤对化合物的毒性效应比鱼类更加敏感, 更能综合反映被测样品的毒性, 特别在慢性毒性研究的评价方面有着许多优越性, 且生物效应外推准确

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 30570004)

* 通讯作者: Tel: 86-551-5786887; ✉: mzf@ahau.edu.cn

收稿日期: 2009-05-04; 接受日期: 2009-07-20

性也较高,是理想的监测指示生物,因此在国内外被广泛地作为毒性实验的测试生物,并形成标准。目前大型蚤、蚤状蚤、隆线蚤和多刺裸腹蚤主要应用在化学产品、混合废水、工业废渣和农药的毒性评价上^[5,6]。其中多刺裸腹蚤(*Moina macrocpa*)广泛分布于各种类型的淡水水体里,易培养,生活周期短,繁殖率高,能通过孤雌生殖获得遗传性一致的个体,用于毒性测试具有快速、敏感、易观察、费用低等特点。国内外通过多刺裸腹蚤做了不少工作,如在药物^[7]和环境污染监测、毒理^[8-10]等方面研究,并取得了一定的研究结果。目前,富含微量元素的酵母产品有很多,但对富集后的酵母的毒理研究工作较少,利用多刺裸腹蚤作为动物模型,有关无机钒、富钒酵母对多刺裸腹蚤生物学效应的影响未见报道。本文采用多刺裸腹蚤作为试验动物,探讨富钒酵母对多刺裸腹蚤生长发育、繁殖和寿命的影响,为富钒酵母的开发利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

菌株:酵母菌株(啤酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae*)安徽农业大学微生物防治省重点实验室提供,菌株编号为 RCEF1023。

液体培养基(W/V): 1%葡萄糖, 0.5%蛋白胨, 0.3%酵母粉, 25% 11 BX 麦芽汁, 经 1×10^5 Pa、20 min 高压蒸汽灭菌。

多刺裸腹蚤(*Moina macrocpa*)由安徽大学生命科学学院提供,实验采用同一亲蚤孤雌生殖产生的第3代仔蚤进行。

试剂:偏钒酸铵为国产分析纯,浓硝酸、高氯酸等为国产优级纯。

仪器:等离子体电感耦合发射光谱仪 ICP-AES 购于美国 Leeman 公司。

1.2 方法

1.2.1 富钒酵母的制备^[11]:为获得钒含量较高的富钒酵母,选择钒浓度 80 $\mu\text{g/mL}$ 的液体培养基,将酵母菌株接入该培养基中,置于恒温摇床振荡培养,28 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 48 h, 5000 r/min 离心 10 min 收集菌体,并用蒸馏水充分洗涤菌体 3 次,去除没有被富集转化的无机钒离子,菌体冷冻干燥后备用。普通酵母培养方法相同,只是不添加无机钒溶液。

1.2.2 富钒酵母中钒含量的测定^[10]:取一定量富钒酵母干粉样品于消化瓶中,加入 $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$ (1:3) 混合液,将消化瓶置于电炉上消化,当溶液变为无

色时停止。将消化液转移到 25 mL 的容量瓶中,用 5.0% HNO_3 溶液定容,ICP-AES 进行测定,测得富钒酵母中钒含量为 1.0236 $\mu\text{g/g}$ 。

1.2.3 无机钒和富钒酵母对多刺裸腹蚤平均寿命的影响:实验分为无机钒和富钒酵母两组,钒浓度梯度分为 0、0.125 $\mu\text{g/mL}$ 、0.250 $\mu\text{g/mL}$ 、0.500 $\mu\text{g/mL}$ 和 1.000 $\mu\text{g/mL}$,每个浓度设有 3 个平行实验。富钒酵母组根据方法 1.2.2 的测定结果来确定钒含量,配制成相应的浓度梯度,无机钒组直接加入偏钒酸铵,配制成同样浓度梯度钒溶液,同时添加普通酵母粉作为饲料。

在每只烧杯里放入同一孤雌生殖多刺裸腹蚤的第3代仔蚤 20 只,培养温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 。每天观察并记录水蚤死亡情况。在更换新鲜培养液时除去死蚤及繁殖的幼体。

1.2.4 无机钒和富钒酵母对多刺裸腹蚤存活率的影响:无机钒和富钒酵母两组钒浓度均为 0.500 $\mu\text{g/mL}$,每组均设 3 个平行实验,分别在烧杯里放入同一孤雌生殖多刺裸腹蚤的第3代仔蚤 20 只,培养温度为 25 $^{\circ}\text{C}$,每天定时观察并记录水蚤死亡情况,计算每天的水蚤存活率。

1.2.5 无机钒和富钒酵母对多刺裸腹蚤个体生殖量的影响:无机钒和富钒酵母两组钒浓度均为 0.250 $\mu\text{g/mL}$,均设 5 组平行实验,每组放入仔蚤 1 只,同时设空白对照组,培养温度为 25 $^{\circ}\text{C}$,每组记录前 6 次产仔数。

2 结果与分析

2.1 无机钒和富钒酵母对多刺裸腹蚤平均寿命的影响

从图 1 可以看出,以钒浓度 0 $\mu\text{g/mL}$ 作为空白组,随着钒浓度由低到高增大,无机钒组和富钒酵母组多刺裸腹蚤的平均寿命也逐渐降低,在低浓度钒(0.125 $\mu\text{g/mL}$ ~0.250 $\mu\text{g/mL}$)的条件下,两组多刺裸腹蚤的平均寿命略有差别,富钒酵母组水蚤的平均寿命基本上与空白组相当,而无机钒组的多刺裸腹蚤的平均寿命低于空白组和富钒酵母组。在较高浓度下(0.5 $\mu\text{g/mL}$ ~1.0 $\mu\text{g/mL}$),表现出较明显差异,无机钒组多刺裸腹蚤的平均寿命低于同水平的富钒酵母组,其下降趋势较大,富钒酵母组多刺裸腹蚤的平均寿命下降趋势较为缓和,无机钒对水蚤寿命的影响大于富钒酵母,说明其具有较大毒性。

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

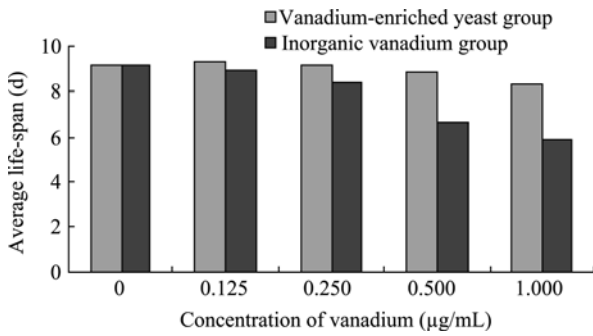


图1 无机钒和富钒酵母对多刺裸腹蚤平均寿命的影响
Fig. 1 The effects of inorganic vanadium and vanadium-enriched yeast on *moina macrocpa* average life span

2.2 无机钒和富钒酵母对多刺裸腹蚤存活率的影响

多刺裸腹蚤的存活率一般随着培养天数的延长逐步下降,从图2看出,在同样钒浓度下(0.50 µg/mL),富钒酵母组对多刺裸腹蚤的影响与无机钒组相比有明显差异,在开始2 d内,3组水蚤的存活率较接近,但随着培养时间的延长,富钒酵母组水蚤的存活率高于无机钒组的水蚤,并且每天的下降趋势低于无机钒组,与空白组基本相近,多刺裸腹蚤的最高寿命可达到14 d,而无机组的多刺裸腹蚤的最高寿命仅为11 d。

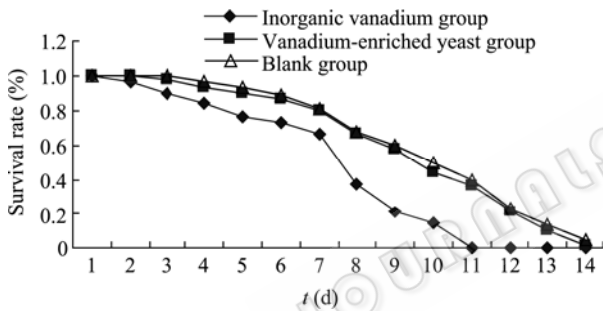


图2 无机钒和富钒酵母对多刺裸腹蚤存活率的影响
Fig. 2 The effects of inorganic vanadium and vanadium-enriched yeast on *moina macrocpa* survival rate

2.3 无机钒和富钒酵母对多刺裸腹蚤个体生殖量的影响

从图3看出,在相同钒浓度下(0.250 µg/mL),富钒酵母组对多刺裸腹蚤个体生殖量的影响与空白组相比,前6次每次平均产仔数变化基本一致。而无机钒组平均产仔数均低于空白组和富钒酵母组,表现出较明显的差异,并且产仔数下降幅度较大,如第4代产仔平均数,空白组和富钒酵母组分别为12.8个和12.6个,无机钒组则只有8.2个。

3 结论

富含微量元素的功能性酵母的研究是应用微生物学的一个热点领域,本文中富钒酵母将无机钒转化为有机钒,能有效降低无机钒的毒性作用,通过对多刺裸腹蚤平均寿命、存活率及生殖能力的研究发现,多刺裸腹蚤的生命活动随着无机钒浓度的增加和暴露在无机钒中时间的延长而逐渐变弱,直至死亡,而富钒酵母在一定的浓度范围内对多刺裸腹蚤的副作用明显低于同样浓度的无机钒,甚至在较低浓度下,对多刺裸腹蚤的生命活动没有影响,说明了通过酵母的富集转化,富钒酵母比无机钒对多刺裸腹蚤的毒性要低。

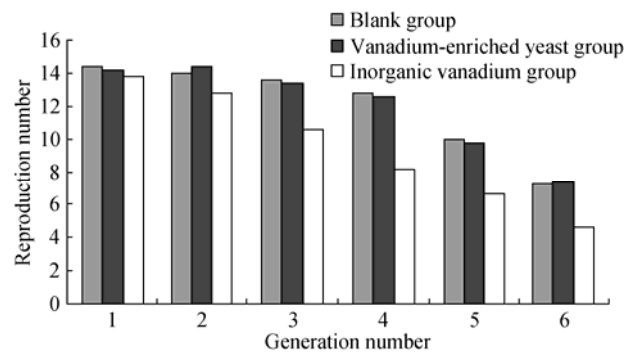


图3 无机钒和富钒酵母对多刺裸腹蚤个体生殖量的影响
Fig. 3 The effects of inorganic vanadium and vanadium-enriched yeast on *moina macrocpa* reproduction quantity

物学的一个热点领域,本文中富钒酵母将无机钒转化为有机钒,能有效降低无机钒的毒性作用,通过对多刺裸腹蚤平均寿命、存活率及生殖能力的研究发现,多刺裸腹蚤的生命活动随着无机钒浓度的增加和暴露在无机钒中时间的延长而逐渐变弱,直至死亡,而富钒酵母在一定的浓度范围内对多刺裸腹蚤的副作用明显低于同样浓度的无机钒,甚至在较低浓度下,对多刺裸腹蚤的生命活动没有影响,说明了通过酵母的富集转化,富钒酵母比无机钒对多刺裸腹蚤的毒性要低。

参考文献

- [1] 王 夔主编. 生命科学中的微量元素. 第2版. 北京: 中国计量出版社, 1996: 145.
- [2] 梅光泉, 应惠芳. 钒及其化合物的化学性质和生物学行为. 微量元素与健康研究, 2004, 4: 57-59.
- [3] B Mukherjee, B Patra, S Mahapatra, et al. Vanadium--an element of atypical biological significance. *Toxicol Lett*, 2004, **150**: 135-143.
- [4] Duckworth WC, Solomon SS, Liepnieks J, et al. Insulin-like effects of vanadium in isolated rat adipocytes. *Endocrinology*, 1998, **122**: 2285-2289.
- [5] 修瑞琴. 大型水蚤生物测试技术研究进展. 国外医学卫生学分册, 1990, 6: 335-338.
- [6] Francisco Sanchez-Bayo. Comparative acute toxicity of organic pollutants and reference values for crustaceans. I. Branchiopoda, Copepoda and Ostracoda. *Environmental Pollution*, 2006, **139**: 385-420.
- [7] 李克才, 陈钦耀, 曹明霞, 等. 芦荟对多刺裸腹蚤的生物学效应: 一种抗衰老药物的筛选试验. 安徽大学学报(自然科学版), 1999, **23**(1): 107-109.
- [8] 刘占峰, 王 茜, 王 兰, 等. 洗衣粉对水生动物的毒性研究. 安徽农业科学, 2007, **35**(11): 3324-3325.
- [9] 刘敬禹. 间-甲酚对多刺裸腹蚤的毒性研究. 中国水产, 2006, 1: 76-77.
- [10] 陈延君, 赵勇胜, 景体淞, 等. 镉和酚对多刺裸腹蚤的联合毒性试验. 重庆环境科学, 2003, **10**: 10-12.
- [11] 张 琛, 李春如, 樊美珍, 等. 富钒酵母菌株的筛选及摇瓶培养条件的初步研究. 安徽农业大学学报, 2006, **33**(2): 234-237.