

# 四列藻继盐胁迫后的超补偿生长

郭羽丰<sup>1,2</sup>, 段舜山<sup>2</sup>, 李爱芬<sup>2</sup>, 刘振乾<sup>2</sup>

(1. 广东科学中心, 广东 广州 510033; 2. 暨南大学 水生生物研究所, 广东 广州 510632)

**摘要:**以海洋微藻四列藻 (*Tetraselmis tetrathele*) 为试验材料, 在试验前阶段, 置于设定的多种低盐度和高盐度胁迫条件下培养 10 d; 在试验后阶段, 将各处理组盐度恢复至正常 (35), 并将该藻置于此条件下培养 10 d。在藻恢复生长阶段, 发现盐度为 15 的低盐处理组和盐度为 100 的高盐处理组与持续在正常盐度 (35) 条件下培养的对照组比较, 处理组有更强的生长能力 ( $P < 0.05$ ), 主要表现为在恢复生长的中后期 (6~8 d), 藻细胞平均相对生长率提高, 细胞数增多, 叶绿素 a 含量和生物量增高。同时, 对于盐度条件的变化, 藻细胞能通过细胞内蛋白质、糖含量的相应改变, 来启动渗透调节机制以维持正常的生理机能。试验表明, 四列藻继盐胁迫后的培养过程中, 具有超补偿生长的特性。

**关键词:**四列藻 (*Tetraselmis tetrathele*); 盐胁迫; 超补偿生长

**中图分类号:**Q949.210.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-3096(2005)05-0037-06

超补偿生长现象是生物体在遭受到营养限制、环境因子胁迫、机械损伤或应激作用后, 生物体的生长和生理机能受到制约和影响。但当恢复到适宜的生长条件后, 生物体的生长却表现出高于正常条件下生长的个体的生长速度, 而使其生长状况和生理指标得到不同程度的恢复<sup>[1]</sup>。目前, 其研究领域已涉及反刍动物<sup>[1]</sup>、水产动物<sup>[2-5]</sup>、高等植物<sup>[6-9]</sup>等, 但对于水生微藻类, 由于其个体微小, 研究方法和测定手段较难以控制, 因而其专门研究目前开展得尚少。段舜山<sup>[10]</sup>研究了四列藻在营养限制胁迫下的超补偿生长过程, 刘宁宁<sup>[11]</sup>研究了蛋白核小球藻在光胁迫下的超补偿生长现象, 研究结果都证实了微藻超补偿生长的存在性。

作者以四列藻为材料, 进一步探讨了微藻超补偿生长的一些规律, 以期揭示微藻超补偿生长现象存在的普遍性提供科学依据, 同时为微藻补偿性生长的理论性研究提供科学资料, 以及为人们在实践中利用微藻的超补偿生长的某些规律, 对有益微藻的养殖和有害微藻的爆发(如赤潮)进行控制提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 藻种来源和培养

试验所用的四列藻 (*Tetraselmis tetrathele*) 来自暨南大学水生生物研究所藻种室。将试验藻置于室内光照培养箱中用 250 mL 的锥形瓶培养, 培养温度为

24℃ ± 1℃, 光照强度为 5 000 lx, 光暗周期为 12: 12, 盐度为 35, pH 为 6.5~7.0, 采用 f/2 培养基。

### 1.2 处理方法

设置盐度 0、5、15、25 四个低盐度胁迫处理组和 80、90、100、110 四个高盐度胁迫处理组, 以盐度 35 的条件作对照组, 在相同接种密度和相同其他培养条件的情况下, 将各试验组藻于上述盐度中培养 10 d。然后, 解除盐胁迫并重新接种, 在相同接种密度和相同其它培养条件的情况下, 将处理组和对照组都置于正常盐度 35 的条件下培养 10 d。每一试验组均设 3 个平行。在培养过程中, 进行有关指标的测定和相关参数的计算。

### 1.3 细胞计数和相关生长参数的计算<sup>[12,13]</sup>

细胞计数采用血球计数板计数法。自接种的次日起为第 1 天, 在每天的同一时间计数, 取得每日 ( $t$ ) 细胞数 ( $N$ )。

细胞相对生长率 =  $(\ln N_1 - \ln N_0) / (t_1 - t_0)$ ,  $N_0$  是

收稿日期: 2004-07-30; 修回日期: 2005-01-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30270231, 30370231); 国家“973”计划项目 (2001CB409710)

作者简介: 郭羽丰 (1972-), 男, 湖南桂东人, 硕士, 讲师, 主要从事水污染生态学研究, E-mail: gyfgdyz@tom.com

开始时的细胞数,  $N_1$  是经过  $t_1 - t_0$  时间后的细胞数。

细胞数净增率 =  $(N_t - N_{ck}) / N_{ck} \times 100\%$ ,  $N_t$  为第  $t$  天的处理组细胞数,  $N_{ck}$  为第  $t$  天的对照组细胞数。

### 1.4 叶绿素 a 的测定

抽滤收集藻细胞, 用丙酮法测定<sup>[14]</sup>。

### 1.5 生物量的测定和相关参数的计算

离心收集藻细胞, 经电热鼓风恒温干燥箱  $100^\circ\text{C}$  恒温烘干至恒质量, 用电子天平称出藻的干质量作为藻的生物量<sup>[13]</sup>。

生物量净增率 =  $(M_t - M_{ck}) / M_{ck} \times 100\%$ ,  $M_t$  为第  $t$  天的处理组生物量,  $M_{ck}$  为第  $t$  天的对照组生物量。

### 1.6 细胞内蛋白质含量的测定

离心收集藻细胞, 反复冻溶处理, 用紫外吸收法测定<sup>[15]</sup>。

### 1.7 细胞内糖含量的测定

离心收集藻细胞, 反复冻溶处理, 用蒽酮比色法测定<sup>[15]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 藻细胞生长情况的变化

在胁迫处理的生长阶段, 分别将盐度 0、5、15、25 的低盐度胁迫处理组和 80、90、100、110 的高盐度胁迫处理组与对照组的生长情况做比较, 发现在盐度

0、5 的低盐度和 110 的高盐度下, 藻细胞生长受到强烈抑制, 甚至伤害死亡, 其它盐度下, 藻生长受到不同程度的抑制作用(图 1)。

在各处理组恢复正常盐度(35)后的生长阶段, 发现盐度 25 处理组和盐度 80、90 的处理组与对照组间的生长情况差异不显著( $P > 0.05$ ), 而盐度 15 的处理组和盐度 100 的处理组与对照组间的生长情况却表现出显著差异( $P < 0.05$ )(图 1)。到了培养的末期, 因受环境容量的限制, 各处理组和对照组的细胞密度都趋于接近。

### 2.2 生长参数的变化

为了研究四列藻的超补偿生长, 后续探讨的重点放在解除胁迫后的恢复生长阶段, 且仅考虑生长情况与对照组比较表现出显著差异的处理组: 低盐度(15)处理组和高盐度(100)处理组的变化规律。在恢复生长阶段, 将上述 2 个处理组的平均细胞相对生长率与对照组比较, 发现在恢复正常盐度后培养的初期(第 1~2 天), 2 个处理组的平均细胞相对生长率都低于对照组, 表现出较弱的生长能力(图 2)。随着培养时间的推移, 其间的差异逐渐减小。而到了培养中后期(第 6~8 天), 2 个处理组的平均细胞相对生长率都高于对照组。但在培养的末期, 2 个处理组和对照组的平均细胞相对生长率趋于接近。

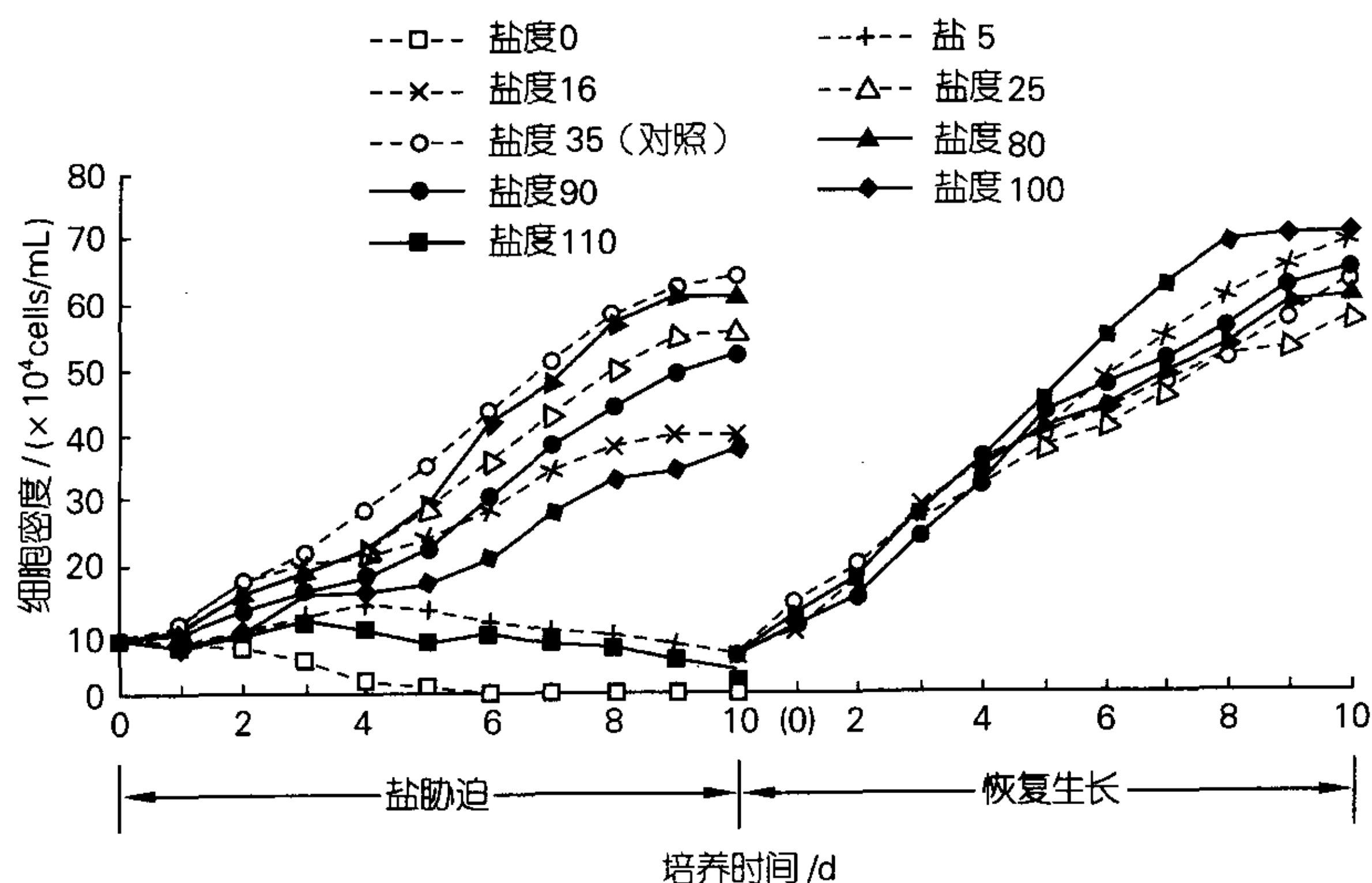


图 1 四列藻在盐胁迫下和恢复正常盐度后的生长曲线

Fig. 1 Growth curves of *T. tetrahele* under salt stress and after normal salinity recovery

与此同时, 2 个处理组相对对照组的细胞数净增率也表现出同样的变化趋势, 即在恢复正常盐度后进行培养的初期 (第 1~2 天) 表现为负值, 随着培养时间的推移, 逐渐增大, 到了培养中后期的第 8 天达到最大, 低盐度胁迫组为 18.0%, 高盐度胁迫组为 35.0% (图 3)。而在培养的末期, 2 个处理组的细胞数净增率都逐渐减小。

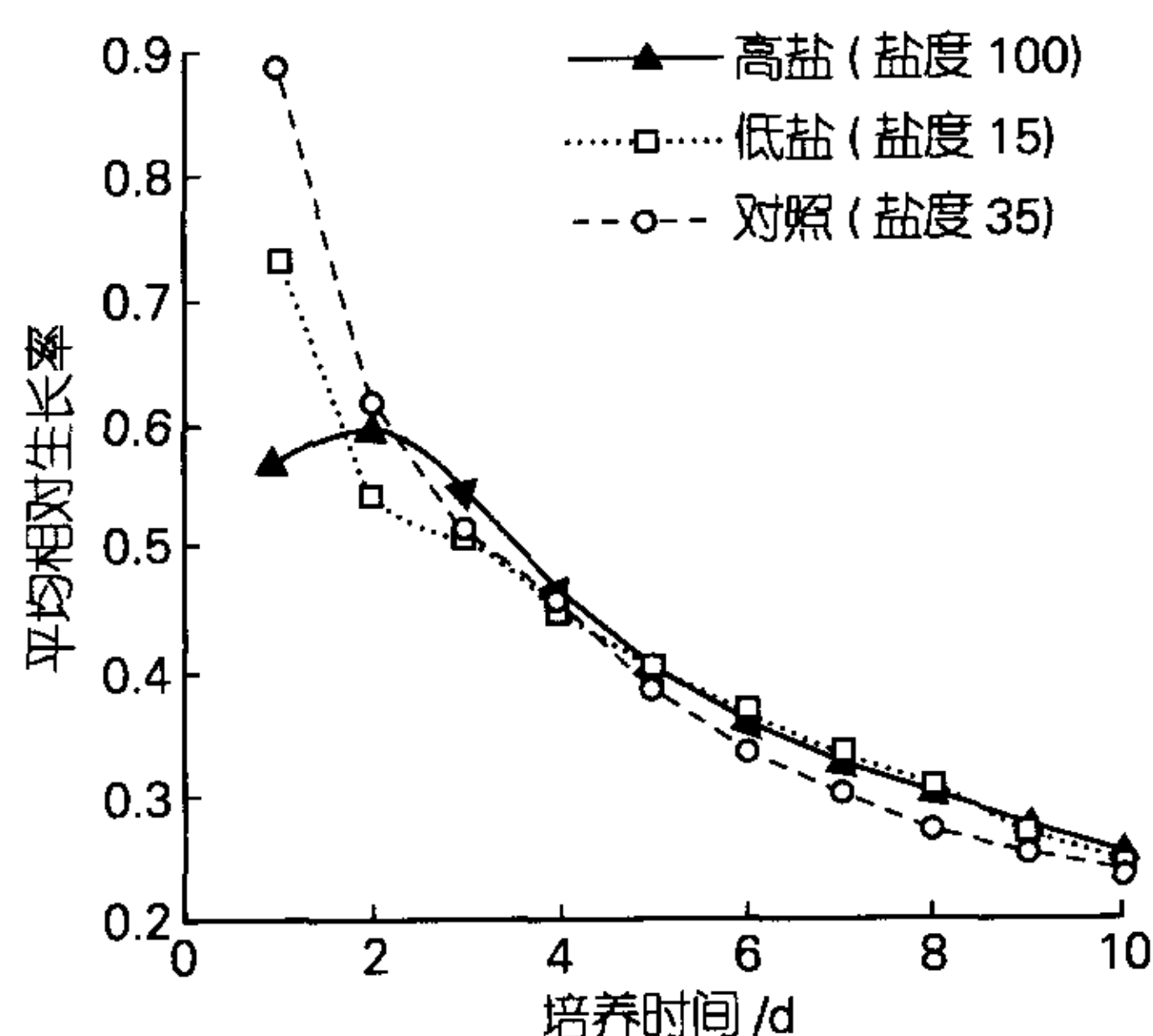


图 2 四列藻在恢复正常盐度后的平均相对生长率  
Fig. 2 Average relative growth rates of *T. tetrathele* after normal salinity recovery

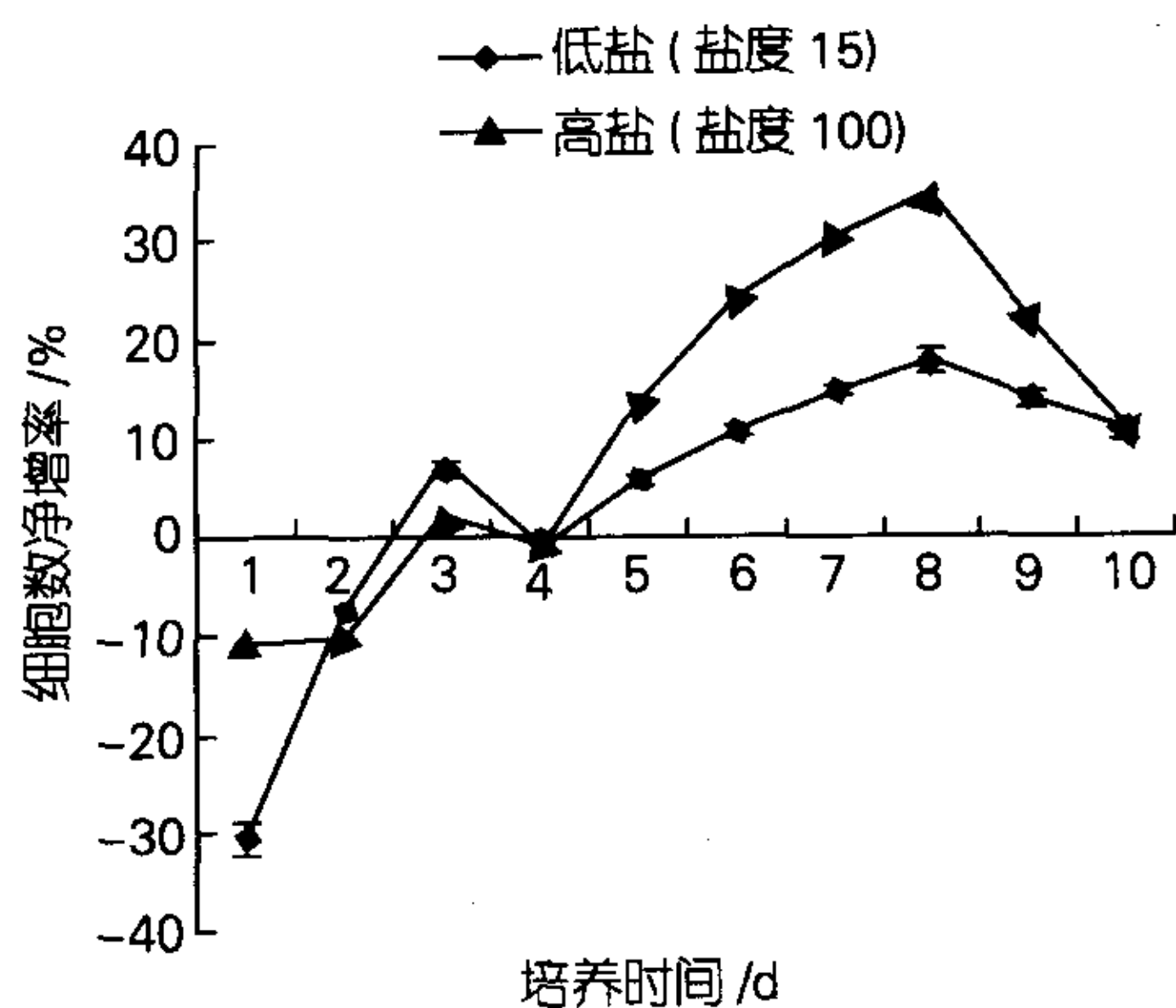


图 3 四列藻在恢复正常盐度后的细胞数净增率  
Fig. 3 Rates of net cells increase of *T. tetrathele* after normal salinity recovery

### 2.3 叶绿素 a 含量的变化

在恢复生长阶段, 每 2 d 测定并比较低盐度处理组和高盐度处理组与对照组的叶绿素 a 含量。结果表明, 在培养的初期和中期 (第 0~4 天), 2 个处理组的叶绿素 a 含量与对照组差异均不显著 ( $P > 0.05$ )。而在培养的中后期 (第 6~8 天), 2 个处理组的叶绿素 a 含量均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ) (图 4)。在生长末

期, 其间的差异逐渐减小。

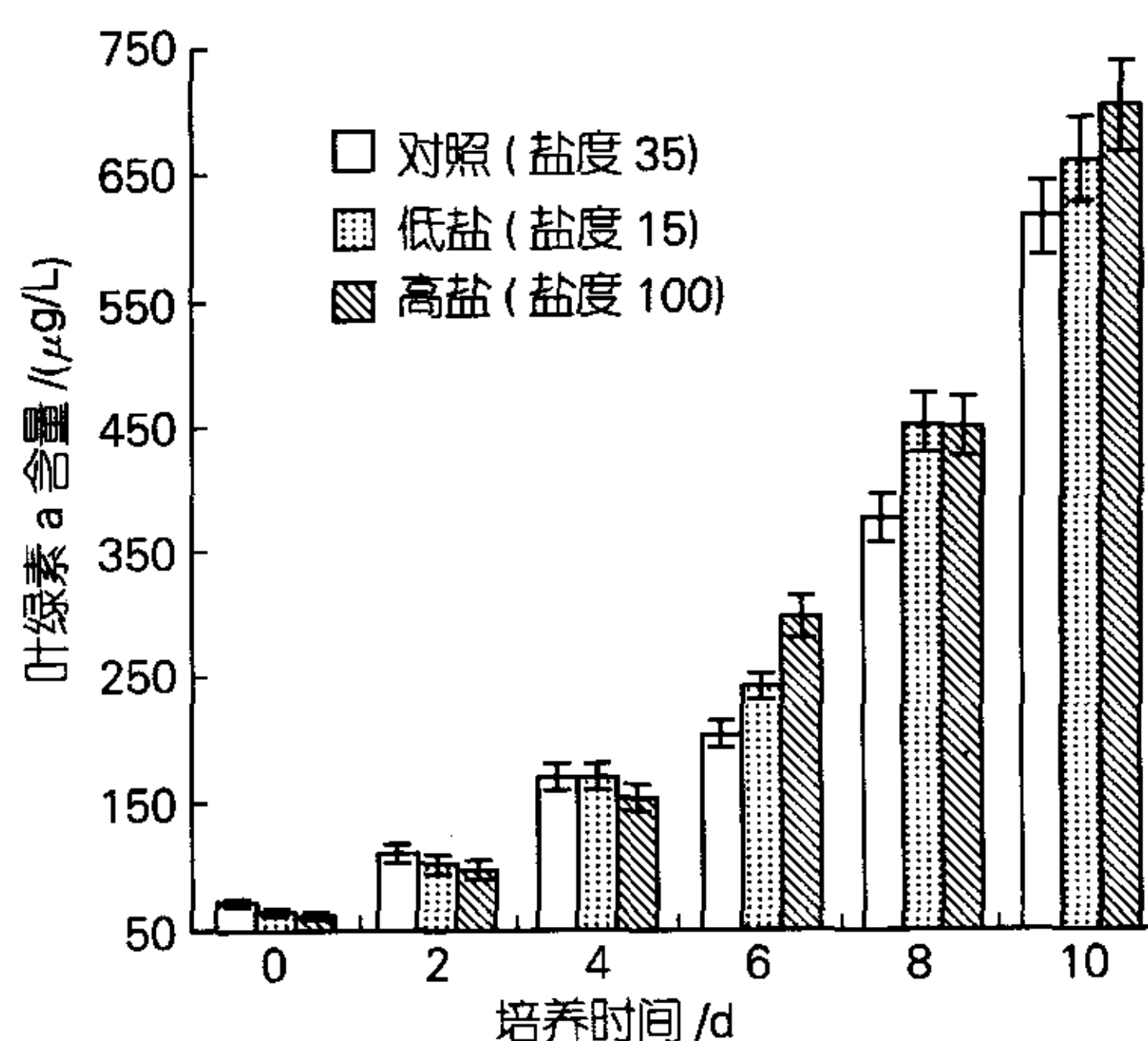


图 4 四列藻在恢复正常盐度后的叶绿素 a 含量  
Fig. 4 Chlorophyll - a content of *T. tetrathele* after normal salinity recovery

### 2.4 生物量的变化

在恢复生长阶段, 每 2 d 测定并比较低盐度处理组和高盐度处理组与对照组的生物量。发现在培养的初期和中期 (第 0~4 天), 2 个处理组藻的生物量都与对照组差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 生物量净增率也很小, 或呈负值。而在培养的中期以后 (第 6~8 天), 2 个处理组藻的生物量较之对照组都显著增高 ( $P < 0.05$ ) (图 5)。在培养的第 8 天左右, 2 个处理组生物量净增率都达到最高, 其中低盐度胁迫组生物量净增率达 17.4%, 而高盐度胁迫生物量净增率达 36.9% (图 5)。在培养的末期, 2 个处理组和对照组的生物量逐渐接近, 2 个处理组的生物量净增率都逐渐减

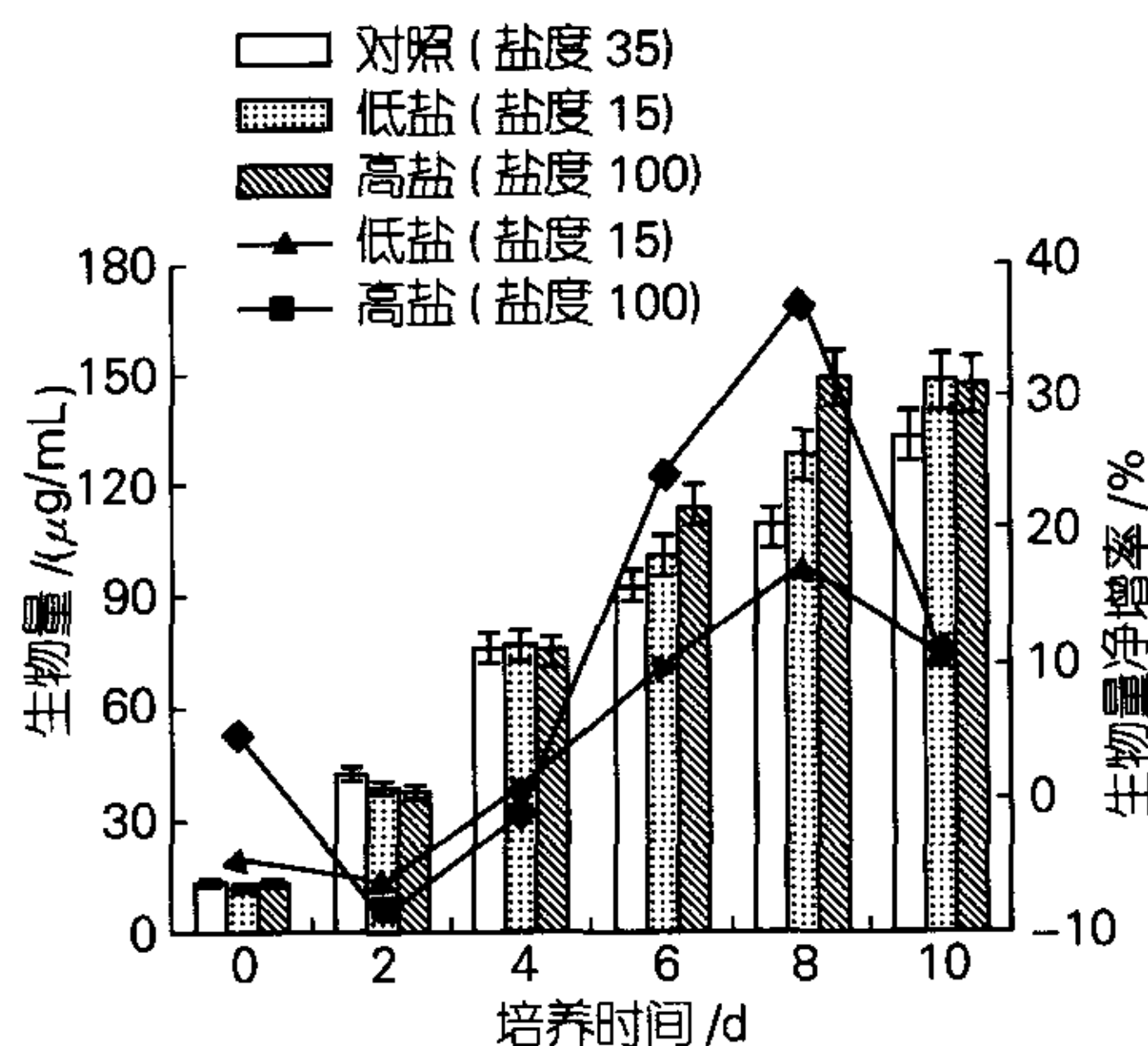


图 5 四列藻在恢复正常盐度后的生物量和生物量净增率  
Fig. 5 Biomass and rate of net biomass increase of *T. tetrathele* after normal salinity recovery

## 2.5 细胞内蛋白质、糖和蛋白质/糖的比值 (P/C) 的变化

将低盐度处理组和高盐度处理组与对照组在不同试验阶段的藻细胞内蛋白质、糖和蛋白质/糖的比值 (P/C) 予以比较 (图 6)。结果表明, 在盐胁迫培养 10 d 后, 低盐度处理组藻细胞内蛋白质含量显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 而高盐度胁迫处理组蛋白质含量明显高于

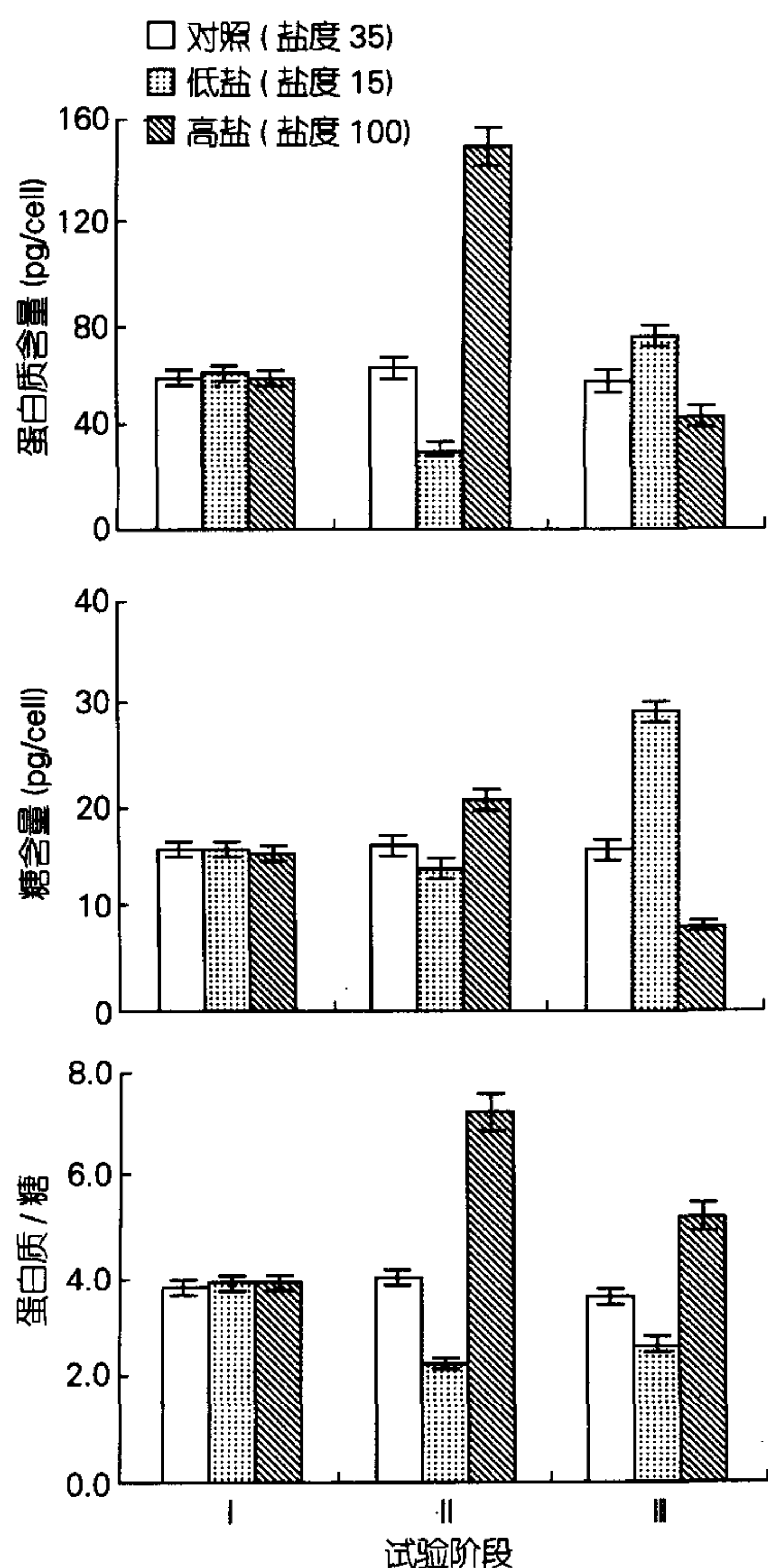


图 6 四列藻在盐胁迫不同阶段细胞内蛋白质、糖的含量和蛋白质/糖的比值

Fig. 6 Content of intracellular protein, carbohydrate and ratio of Pro. to Carbo. of *T. tetraele* during different stages of salt stress

I 阶段表示胁迫处理前; II 阶段表示盐胁迫处理 10 d 后; III 阶段表示恢复生长 10 d 后

Stage I was before stress; stage II was after 10 days growth under salt stress; stage III was after 10 days recovery growth.

对照组 ( $P < 0.05$ ); 低盐度胁迫处理组藻细胞内糖含量显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 高盐度胁迫处理组糖含量显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 低盐度胁迫处理组藻细胞的 P/C 值显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 高盐度胁迫处理组的 P/C 值显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )。

在解除胁迫并恢复正常盐度培养 10 d 后, 2 个处理组与对照组比较的情况刚好与胁迫阶段相反。低盐度胁迫处理组藻细胞内蛋白质含量显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 高盐度胁迫处理组蛋白质含量显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ); 低盐度胁迫处理组藻细胞内糖含量显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 高盐度胁迫处理组糖含量显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ); 同时, 2 个处理组与对照组藻细胞 P/C 值间的差距, 均比胁迫处理阶段的情况有所减小。

## 3 讨论

四列藻在受到盐胁迫后, 在相同接种密度的情况下, 与正常盐度条件下培养的对照组比较, 处理组藻的生长都受到不同程度的抑制甚至伤害死亡, 这种生长的抑制主要表现在其细胞密度比同期对照组的低。藻生长的抑制是由于藻细胞在不良的盐度条件下不能正常地完成细胞的生理活动从而导致细胞生长迟缓、物质合成能力下降、细胞分裂受阻所致。

在恢复正常盐度条件后进行培养的过程中, 试验中有 2 个处理组: 低盐度 (15) 胁迫处理组和高盐度 (100) 胁迫处理组的生长与持续正常盐度条件下培养的对照组比较, 表现出显著差异。这种差异主要表现为在恢复生长的中后期, 处理组的藻细胞比对照组平均相对增长率提高, 细胞数增多, 叶绿素 a 含量和生物量增高, 表现出了较明显的超补偿生长现象。这说明盐胁迫作用对藻细胞发挥了作用, 正是这种胁迫作用的效应导致了藻细胞在其后的恢复生长阶段的快速生长。这种胁迫作用是藻细胞恢复生长阶段产生超补偿生长现象的基础, 它与诱导高等动植物产生超补偿生长的外界作用如“饥饿”、“损伤”等有类似的效果。而在恢复生长阶段的对数生长期末, 处理组与对照组的细胞密度趋于接近, 这是环境容量的限制作用造成的。

Manodharan 等<sup>[17]</sup>将微小原甲藻 (*Prorocentrum minimum*) 完全黑暗培养后恢复光照, 藻细胞立即快速生长, 在初期细胞密度大于对照组, 与本研究的结果有共同点。刘宁宁<sup>[11]</sup>将蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*) 遮光一段时间, 当光照条件恢复后, 遮光处理组较对照组在短期内有更高的产量及生长速率, 与本研

究有类似之处。段舜山等<sup>[3]</sup>将四列藻进行营养限制胁迫处理,发现在恢复营养后进行培养的初期表现出超补偿生长现象,也与本研究有相同规律。上述结论和本研究结果都为微藻超补偿生长现象的普遍性提供了一定的依据。

本试验中四列藻在盐胁迫下产生的超补偿生长现象与曾报导的其他条件胁迫下产生的比较,存在一些不同的表现。如本试验中在盐胁迫下产生的超补偿生长在其出现的时间上有一个相对较明显的滞后现象,即是出现在恢复生长阶段的中后期。而在其他报导中,如段舜山等<sup>[3]</sup>研究四列藻在营养限制胁迫产生的超补偿现象和刘宁宁<sup>[11]</sup>研究蛋白核小球藻在光限制胁迫产生的超补偿现象,都出现在恢复生长阶段的初期。这个出现时间上的滞后是由于藻细胞在环境盐度突变的情况下,细胞的渗透调节需要一个相对较长的过程造成的。而藻细胞适应光、营养的突变是没有这个相对较缓慢的渗透调节过程。

在盐胁迫培养 10 d 后,低盐度胁迫处理组藻细胞内蛋白质含量和糖含量都低于对照组, $P/C$  值也低于对照组;而高盐度胁迫处理组藻细胞内蛋白质含量和糖含量却都高于对照组, $P/C$  值也高于对照组。据赵可夫<sup>[18]</sup>报道,细胞以合成有机渗透剂进行渗透调节,细胞内可溶性糖和氨基酸及衍生物的含量变化有利于细胞渗透调节,高盐度溶液中细胞内小分子有机物含量增加,以及低盐度溶液中小分子有机物含量降低都有利于降低细胞内外的渗透势差,保持细胞正常的生理活动。显然,四列藻在受到低盐度和高盐度胁迫后,其细胞内蛋白质和糖含量的变化是为了调节细胞内渗透势,以适应变化的渗透环境。在解除胁迫并恢复正常盐度培养 10 d 后,低盐度胁迫处理组藻细胞内蛋白质含量和糖含量都高于对照组, $P/C$  值也高于其在胁迫阶段的值,但与对照组的差异减小;高盐度胁迫处理组藻细胞内蛋白质含量和糖含量都低于对照组, $P/C$  值也低于其在胁迫阶段的值,但与对照组的差异减小。在恢复正常盐度后,环境渗透势的改变又引起藻细胞通过改变细胞内溶质浓度的来调节其细胞内渗透势以适应新的渗透环境,所以藻细胞内蛋白质含量和糖含量发生了改变,且与对照组比较的结果与其在胁迫处理后的情况相比,发生了逆转。可见这种环境渗透势的逆转,是导致细胞内溶质浓度出现逆转的诱因。通过 10 d 时间的培养,处理组的  $P/C$  值还没有恢复至对照组的正常水平,但与对照组的差异

逐渐减小,说明藻细胞在解除盐胁迫后的恢复生长中,由于渗透调节相对较慢而导致其生理状况的恢复过程较长,但变化的趋势是向正常的状态发展。其有关具体的生理机制尚待进一步研究。

对于四列藻在受到其它外界环境条件如温度胁迫、干燥、机械损伤和毒害作用后,能否产生超补偿生长现象和相应的具体表现,以及微藻与高等植物间、不同的微藻间产生超补偿生长现象的共性和差异性等问题有待今后进一步探讨。

#### 4 结论

(1) 四列藻在低盐度(15)和高盐度(100)胁迫条件下培养 10 d 后,当解除胁迫并恢复至正常盐度条件(35)下进行培养的过程中,表现出较明显的超补偿生长现象。

(2) 四列藻超补偿生长的特性主要表现是在恢复生长阶段的中后期(6~8 d),与持续在正常盐度条件下培养的对照组比较,处理组有更强的生长能力( $P < 0.05$ )。具体表现为藻生长的平均相对生长率提高,细胞数增多,叶绿素含量提高,生物量增高。其中,细胞数净增率在低盐度(15)处理组最高达 18.0%,在高盐度(100)处理组最高达 35.0%。生物量净增率在低盐度处理组最高达 17.4%,在高盐度处理组最高达 36.9%。

(3) 四列藻在受到盐胁迫处理后,以及在恢复生长的过程中,对于盐度条件的变化,藻细胞能通过改变细胞内蛋白质、糖的含量,来启动渗透调节机制以维持正常的生理机能。

#### 参考文献:

- [1] 陈志伟,侯先志,赵志恭.反刍家畜补偿生长能力的研究进展[J].中国草食动物,1999,1(5):35-38.
- [2] 吴立新,董双林.水产动物继饥饿或营养不足后的补偿生长研究进展[J].应用生态学报,2000,11(6):943-946.
- [3] 王燕妮,张志蓉,郑曙明.鲤鱼的补偿生长及饥饿对淀粉酶的影响[J].水利渔业,2001,21(5):6-7.
- [4] Hayward R S, Noltie D B, Wang N. Use of compensatory growth to double hybrid sunfish growth rates [J]. *Trans Am Fish Soc*, 1997, 126:316-322.
- [5] Kim M K, Lovell R T. Effect of restricted feeding regimens on compensatory weight gain and body tissue changes in channel catfish *Ictalurus punctatus* in ponds [J]. *Aquaculture*, 1995, 135:285-293.

- [6] 安 渊, 李 博, 杨 持, 等. 植物补偿性生长与草地可持续利用研究[J]. 中国草地, 2001, 23(6): 1-5.
- [7] 张 荣, 杜国祯. 放牧草地群落的冗余与补偿. 草业学报[J], 1998, 7(4): 13-19.
- [8] Sadras V O. Compensatory growth in cotton after loss of reproductive organs [J]. Field Crops Res, 1995, 40: 1-49.
- [9] Tuomi J, Nilsson P, Astrom M. Plant compensatory responses: bud dormancy as an adaptation to herbivore [J]. J Ecol, 1994, 75(5): 1429-1436.
- [10] 段舜山, 郭羽丰, 刘振乾, 等. 四列藻在营养限制胁迫下的超补偿生长研究 [J]. 生态学报, 2003, 27(7): 1297-1304.
- [11] 刘宁宁, 段舜山. 蛋白核小球藻在光胁迫下的超补偿现象[J]. 生态科学, 2002, 21(1): 53-54.
- [12] 单振光, 吴玉树. 项圈藻的生长及其主要营养成分的研究[J]. 应用生态学报, 1994, 5(2): 172-176.
- [13] 赵素芬. 植物生长调节剂对绿色巴夫藻生长的影响 [J]. 湛江海洋大学学报, 1999, 19(4): 21-25.
- [14] 金相灿, 屠清瑛. 湖泊富营养化调查规范[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990. 17.
- [15] 张志良. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1992. 160-162.
- [16] 李文权, 黄贤芒, 陈清花, 等. 4种海洋单胞藻生化组成的环境因子效应研究 [J]. 海洋学报, 1999, 21(3): 59-65.
- [17] Manoharan K, Lee T K, Cha J M, et al. Acclimation of *Prorocentrum minimum* (Dinophyceae) to prolonged darkness by Use of an alternative carbon from triacylglycerides and galactolipids [J]. J. Phycol, 1999, 35: 287-292.
- [18] 赵可夫. 植物对盐渍逆境的适应 [J]. 生物学通报, 2002, 37(6): 7-10.

## Over - compensatory growth of *Tetraselmis tetrathele* following salt stress

GUO Yu - feng<sup>1,2</sup>, DUAN Shun - shan<sup>2</sup>, LI Ai - fen<sup>2</sup>, LIU Zhen - qian<sup>2</sup>

(1. Guangdong Science Center, Guangzhou 510033, China; 2. Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Received: July, 30, 2004

Key words: *Tetraselmis tetrathele*; salt stress; over - compensatory growth

**Abstract:** Micro - alga *Tetraselmis tetrathele* was used as experimental material in this study. Before the experiment, *T. tetrathele* were cultured under stress of several lower or higher salinities for 10 days, and then, all of the treated groups were cultured for another 10 days under the condition that the salinities were back to normal level (35). In the stage of recovery growth, the treated groups of lower salinity (15) and higher salinity (100) showed a stronger ability of growth than the control ( $P < 0.05$ ), showing higher average relative growth rate, more number of cells, more biomass, and higher chlorophyll - a content than those of the control in the middle - later culture time (6~8 d). Meanwhile, with the salinity changing, the content of intracellular protein and carbohydrate in *T. tetrathele* could changed correspondingly in order to start the regulating mechanism of osmotic potential to maintain the normal physiological function. The experiment result showed that *T. tetrathele* has the ability of over - compensatory growth in the after treated with salt stress.

(本文编辑:张培新)