

# 3种植物激素对螺旋藻生长和代谢产物含量的影响

陈颖, 赵培, 王雪青, 庞广昌

(天津市食品生物技术重点实验室, 天津商业大学 生物技术与食品科学学院, 天津 300134)

**摘要:**用单因素分析法研究 6-苜基氨基嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)和赤霉素(GA)3种植物激素对螺旋藻生长和代谢产物含量的影响。结果显示,添加 NAA(0.4 mg/L)和 GA(1.0 mg/L)分别使钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)和极大螺旋藻(*Spirulina maximum*)生物量达到最大值,与对照相比提高了 49.1%和 65.2%,比生长速率增加了 66.7%和 28.6%。同样,激素可以显著地影响螺旋藻的代谢产物含量。对于钝顶螺旋藻,GA(0.1 mg/L)使胞外总糖含量增加 5 倍;GA(0.3 mg/L)使胞内总糖含量提高 5 倍;6-BA(0.2 mg/L)使胞内蛋白含量提高 27.8%;NAA(0.2 mg/L)使 SOD 酶比活力提高 3.47 倍。对于极大螺旋藻,GA(0.3 mg/L)使胞外总糖含量增加 1.32 倍,使胞内总糖含量提高 2 倍;NAA(1.6 mg/L)使胞内蛋白含量提高 66.7%,6-BA(1.6 mg/L)使 SOD 酶比活力提高 3.47 倍。因此植物激素对螺旋藻生长和代谢产物合成有明显的促进作用,该结果为高密度规模化生产奠定基础。

**关键词:**螺旋藻;植物激素;总糖;蛋白;SOD

**中图分类号:**Q949.2

**文献标识码:**A

**文章编号:**1000-3096(2009)02-0011-06

植物生长激素对高等植物的生长发育具有明显的促进作用,因而在农业生产上有较多的应用<sup>[1]</sup>。近年研究发现植物激素对藻类的生长和代谢产物的合成也具有显著的刺激作用。曾晓春等<sup>[2]</sup>发现 2,4-二氯苯氧基乙酸(2,4-D)和 6-苜基氨基嘌呤(6-BA)使钝顶螺旋藻的生物产量具有明显的提高趋势。吡啶乙酸可以促进单细胞和多细胞藻的生长和分裂,赤霉素(GA)可增加大型海藻的生长速率,细胞激动素可以促进藻类的生长,加速细胞分裂,增加蛋白质和叶绿素的含量,并可调节藻类的形态建成和再生<sup>[3]</sup>。而系统地研究植物激素对钝顶螺旋藻和极大螺旋藻生物学的影响少见报道。本文通过研究植物激素对螺旋藻生物量、生长速率、总糖、蛋白、SOD 产量的影响,确定提高螺旋藻生物量和代谢产物含量的最佳激素种类及作用浓度,为螺旋藻的规模化培养提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 藻种培养

螺旋藻由中国科学院典型培养物保藏委员会淡水藻种库提供,分为钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)(# 834)和极大螺旋藻(*Spirulina maximum*)

(# 438)两类。实验前接种到 1 000 mL 三角烧瓶中进行活化纯培养,接种密度约为  $10^4$  个/mL。以 AB 培养基培养。光强设定为 3 000 lx,pH 为 10.0,温度为  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ,光暗周期为 14 h : 10 h,不充气培养,每天摇动 3 次,取指数生长期的藻液进行实验。

#### 1.1.2 试剂

6-苜基氨基嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)和赤霉素(GA),由上海莱鑫仪器有限公司提供。

#### 1.1.3 试验仪器

LD5-10 型低速离心机(北京医用离心机厂);LDZX-40BQ 立式自动压力蒸汽灭菌器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);JY 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司);净化工作台(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);7230G 型分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);玻璃仪器气流烘干器(郑州长城科工贸有限公司)。

收稿日期:2008-01-20;修回日期:2008-06-04

基金项目:天津市科技攻关计划重点项目(06YFBZNC04200);天津自然科学基金重点项目(08JCZDJ16600)

作者简介:陈颖(1985-),女,硕士研究生,主要从事制药分离的研究,E-mail:chenyingtg@hotmail.com;王雪青,通信作者,博士,教授,E-mail:wxqing@tjcu.edu.cn

## 1.2 激素试验

在基础培养基 AB 中加入不同种类和浓度的激素,如表 1 所示。

表 1 激素单因子实验设计

Tab. 1 Phytohormone single factor test

促进剂种类	质量浓度 (mg/L)			
6-BA	0.2	0.4	0.8	1.6
NAA	0.2	0.4	0.8	1.6
GA	0.1	0.3	0.5	1.0

## 2 结果

### 2.1 3种植物激素对螺旋藻生物量的影响

以添加 0.4 mg/L 的 NAA 为例(图 1),螺旋藻空白样品在生长 3~7 d 时处于对数期,激素的添加使对数期增加至 9 d,而且每天的生物量均大于空白样。加入植物激素确实一定程度上加速藻体细胞增殖分裂,并明显延长其对数期。在第 9 天后,激素浓度明显减少。过低或过高的激素浓度会抑制植物生长,适宜的激素浓度会明显使藻液产气量增加,可在实验中观察到藻液中气泡含量增加,代谢旺盛。

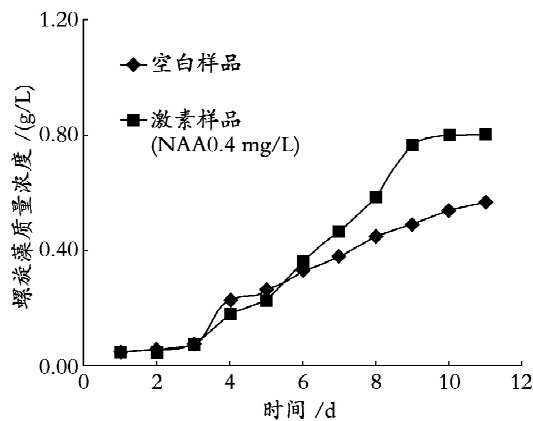


图 1 激素样品与空白样品对照

Fig. 1 Comparison between added phytohormone and the control group

#### 2.1.1 对钝顶螺旋藻生物量的影响

以最终获得的产物量相比,在各激素及其浓度中,添加 0.4 mg/L 的 NAA 使生物量达到最佳值。对钝顶螺旋藻来说,分别加入 0.4 mg/L 的 6-BA、0.4 mg/L 的 NAA 及 0.5 mg/L 的 GA 比加入其他浓度的激素效果好,分别使其生物量增加了 25.4%、49.1%、15.2%(图 2)。

将 3 种最适浓度激素进行对比发现,加入 NAA 后能明显延长对数期,加入 GA 能明显提高藻体生物量。

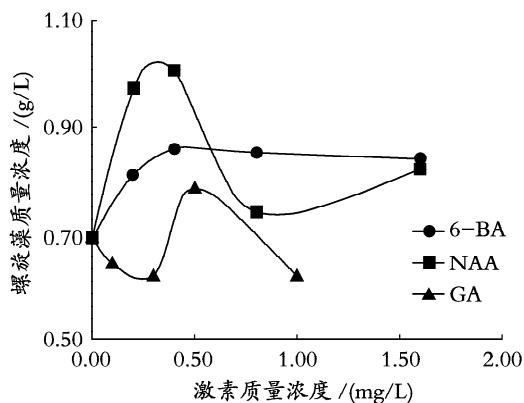


图 2 激素对钝顶螺旋藻生物量的影响

Fig. 2 Effect of phytohormones on biomasses of *Spirulina platensis*

#### 2.1.2 对极大螺旋藻生物量的影响

将最终获得的产物量相比,GA 的效果明显好于 6-BA 和 NAA。和钝顶螺旋藻相同,植物激素加速极大螺旋藻藻体细胞增殖分裂,延长了对数期。分别加入 0.2 mg/L 的 6-BA、1.6 mg/L 的 NAA 及 1.0 mg/L 的 GA 比加入其他浓度的激素效果好。它们分别使其生物量增加 44.9%、56.5%、65.2%将三种最适浓度激素进行对比发现,加入 GA 后能明显延长对数期,并且能明显提高藻体干重生物量。NAA 次之,6-BA 最差。螺旋藻对 GA 更敏感。微量就能影响螺旋藻的生长繁殖。

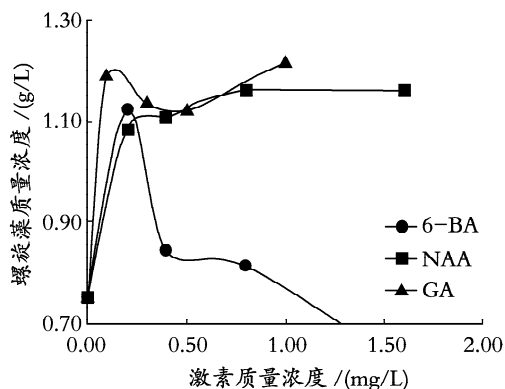


图 3 激素对极大螺旋藻生物量的影响

Fig. 3 Effect of phytohormones on biomass of *Spirulina maximum*

### 2.2 3种植物激素对钝顶螺旋藻比生长速率的影响

#### 2.2.1 对钝顶螺旋藻比生长速率的影响

比生长率是衡量生物量增加快慢的参数。由图 4 可以看出,当激素浓度较低时,添加 NAA 的藻株

生长速率明显高于添加 6-BA 和 GA 的藻株。当激素水平在高浓度时,三者相近。添加 6-BA 时,1.6 mg/L 6-BA 是最大生长速率的浓度;添加 NAA 时,0.4 mg/L NAA 是最大生长速率的浓度;添加 GA 时,1.0 mg/L GA 是最大生长速率的浓度。整体上看,各激素水平中,NAA (0.4 mg/L)是生长速率最大的,也即是相同时间内生产物量最大的,它使比生长率提高了 66.7%。不同的激素及其浓度对螺旋藻的生长状况影响不同,有其最适的激素水平。

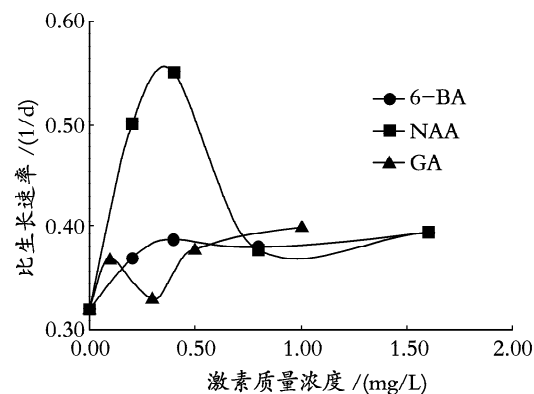


图 4 植物激素对钝顶螺旋藻比生长速率的影响

Fig. 4 Effect of phytohormones on the specific growth rate of *Spirulina platensis*

### 2.2.2 对极大螺旋藻比生长速率的影响

由图 5 可以看出,当激素浓度较低时,添加 NAA 的螺旋藻的比生长速率明显低于添加 6-BA 和 GA 的。当激素水平在高浓度时,三者相近。添加 6-BA 时,0.2 mg/L 是最大生长速率的浓度,其生长速度高于其他任何浓度水平;添加 NAA 时,1.6 mg/L 是最大生长速率的浓度;添加 GA 时,

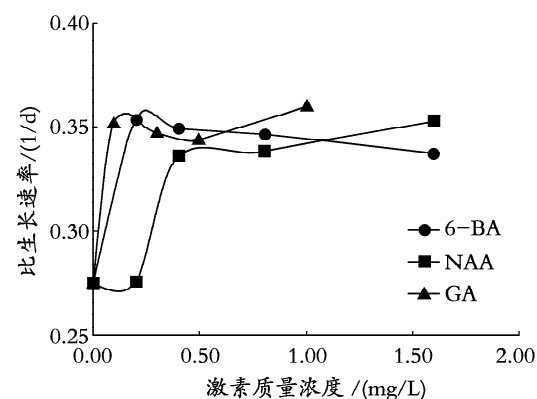


图 5 植物激素对极大螺旋藻比生长速率的影响

Fig. 5 Effect of phytohormones on the specific growth rate of *Spirulina maximum*

1.0 mg/L 是最大生长速率的浓度。整体上看,各激素水平的生长速率差别不大,激素的添加明显提高螺旋藻的生长速率,并且有其最适的激素浓度。

### 2.3 3种植物激素对螺旋藻胞内外活性物质的影响

藻类,特别是单细胞或群居的藻类,在他们所处的环境中排泄出大量的各种有机物和无机物以及低分子物质,包括糖、有机酸和肽类<sup>[4]</sup>。这些过量的细胞内合成物,通过细胞壁排泄到环境中。藻类培养时间的长短由排泄到细胞外的蛋白量来决定。随着藻的生长,胞外蛋白的含量逐渐增加。影响藻类生长繁殖的又一重要因素是磷元素。在激素和磷的协同作用下会增加光合作用,同时磷也是进入卡尔文循环的化合物<sup>[5,6]</sup>,糖的产生促进光合作用,进而刺激了藻类的生长繁殖<sup>[7]</sup>。

#### 2.3.1 对钝顶螺旋藻胞内外总糖含量的影响

对于钝顶螺旋藻,以每克藻体干物质为基准,衡量胞外总糖的产量,激素的添加明显使产量提高。由图 6 看出,对于 6-BA,低浓度和高浓度均有较高产量;NAA 随浓度增加,产量随之增加;对于 GA,中间浓度较差,但仍明显高于不加激素的产量。效果最好的是 GA(0.1 mg/L,和不加激素相比产量增加 5 倍),6-BA(0.2 mg/L),NAA(1.6 mg/L)。从整体上看,GA 效果最好,6-BA 次之,NAA 最差。

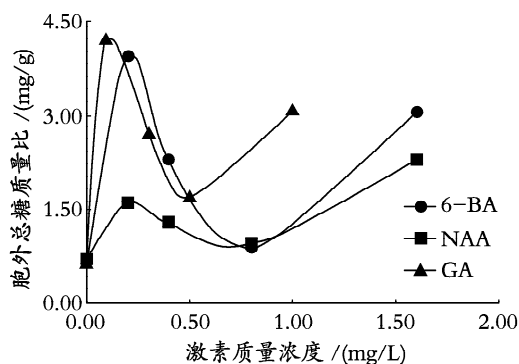


图 6 激素对钝顶螺旋藻细胞胞外总糖含量的影响

Fig. 6 Effect of phytohormones on extracellular total sugar of *Spirulina platensis*

由图 7 可知,对于胞内总糖,加入 6-BA,低浓度和高浓度均有较高产量;NAA 随浓度增加,产量随之增加;对于 GA,中间浓度较差,就其产量而言明显高于不加激素的。此情况和产胞外总糖的激素水平参数一致,说明对于相同藻种,任一激素水平的添加对胞内和胞外总糖的影响是一致的。效果最好的是 GA(0.3 mg/L),6-BA(1.6 mg/L),NAA(1.6 mg/L)。

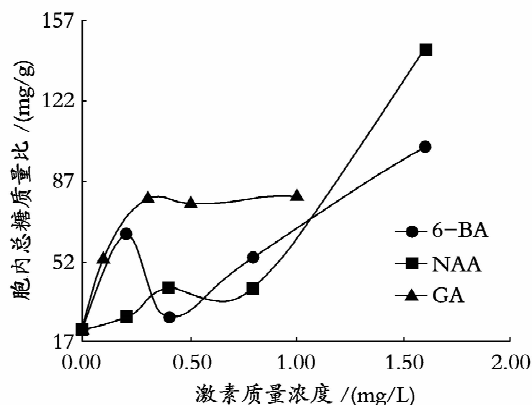


图7 激素对钝顶螺旋藻细胞内总糖含量的影响

Fig. 7 Effect of phytohormones on intracellular total sugar of *Spirulina platensis*

### 2.3.2 对极大螺旋藻胞内外总糖含量的影响

对于极大螺旋藻,以每克藻体干物质为基准,衡量胞外总糖的产量,加入的6-BA随浓度增加,产量随之增加;由图8可以看出,对于GA,中间浓度较差,低浓度和高浓度较好。效果最好的是GA(0.3 mg/L),6-BA(1.6 mg/L),NAA(1.6 mg/L)。从整体上看,GA效果最好,和不加激素相比产量增加1.32倍。6-BA次之,NAA最差。对于不同的藻种,促使其产糖的激素水平不同;单纯生物量的多少,不能衡量多糖产量的多少。

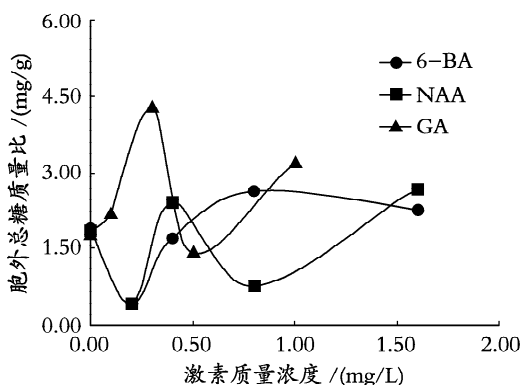


图8 激素对极大螺旋藻细胞外总糖含量的影响

Fig. 8 Effect of phytohormones on extracellular total sugar of *Spirulina maximum*

衡量胞内总糖的产量,发现激素的添加明显使产量提高,由图9可以看出,对于6-BA,随浓度增加,产量随之增加;对于GA,中间浓度较差,低浓度和高浓度较好。此情况和产胞外总糖的激素水平参数一致,说明对于相同藻种,任一激素水平的添加对胞内和胞外总糖的影响是一致的。效果最好的是GA(0.3 mg/L),6-BA(1.6 mg/L),NAA(1.6 mg/L)。

从整体上看,6-BA的效果明显优于NAA,和不加激素相比产量增加2.4倍。

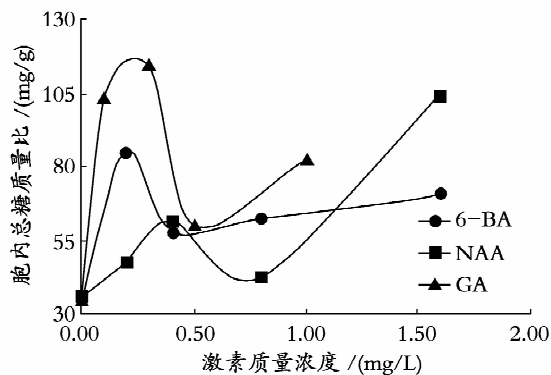


图9 激素对极大螺旋藻细胞内总糖含量的影响

Fig. 9 Effect of phytohormones on intracellular total sugar of *Spirulina maximum*

### 2.3.3 对钝顶螺旋藻胞内蛋白的影响

对于钝顶螺旋藻,以每克藻体干物质为基准,由图10可以看出,对于6-BA,低浓度和高浓度均有较高产量;NAA的中间浓度较差;对于GA,中间浓度较好。衡量胞内蛋白的产量,效果最好的是6-BA(0.2 mg/L),NAA(1.6 mg/L),GA(0.5 mg/L)。添加6-BA(0.2 mg/L)和不加激素相比产量增加27.8%。不同的藻种,促使其产蛋白的激素水平不同;单纯生物量的多少,不能衡量蛋白产量的多少。

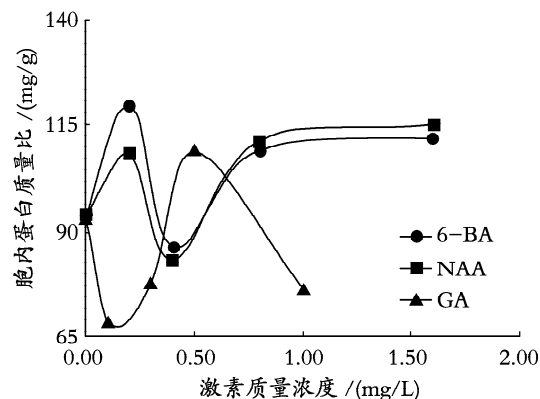


图10 激素对钝顶螺旋藻细胞内蛋白含量的影响

Fig. 10 Effect of phytohormones on intracellular protein of *Spirulina platensis*

### 2.3.4 对极大螺旋藻胞内蛋白的影响

对于极大螺旋藻,以每克藻体干重为基准,由图11可以看出,对于6-BA,随浓度增加,产量随之减少,有其最适的激素浓度,激素量过大会抑制螺旋藻的产蛋白能力;对于GA,浓度影响无太大差别,0.5 mg/L

最差。衡量胞内蛋白的产量,效果最好的是 NAA (1.6 mg/L),GA(0.3 mg/L),6-BA (0.2 mg/L)。从整体上看,GA 效果最好,NAA 次之,6-BA 最差。

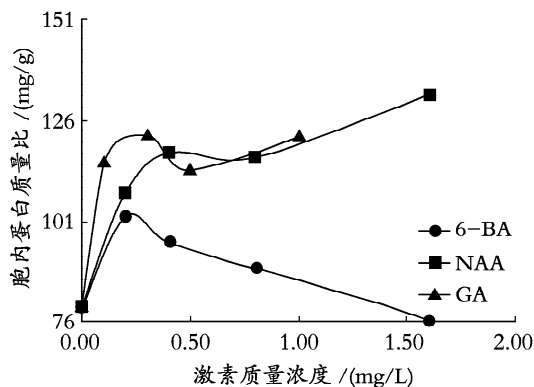


图 11 激素对极大螺旋藻细胞胞内蛋白含量的影响

Fig. 11 Effect of phytohormones on intracellular protein of *Spirulina maximum*

### 2.3.5 对钝顶螺旋藻 SOD 酶活力的影响

由图 12 可知,对于钝顶螺旋藻,当 6-BA 浓度为 0.2 mg/L 时产 SOD 酶最多,过高浓度会抑制 SOD 的产量,当 NAA 浓度为 0.2 mg/L 时产 SOD 酶最多,当 GA 浓度为 0.5 mg/L 时产 SOD 酶最多,过低过高的浓度都不适于 SOD 的产出。不同的藻种,促使其产 SOD 的激素水平不同;单纯生物量的多少,不能衡量 SOD 产量的多少。

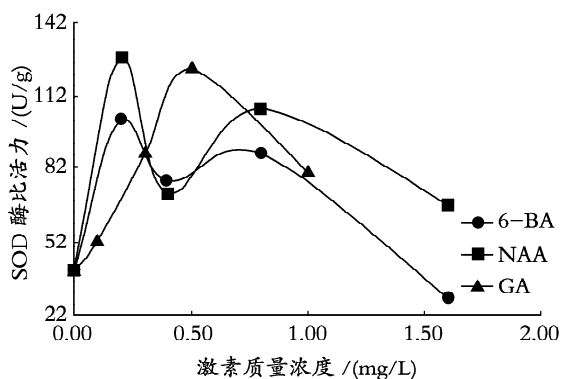


图 12 激素对钝顶螺旋藻 SOD 酶比活力的影响

Fig. 12 Effect of phytohormones on the level of SOD of *Spirulina platensis*

### 2.3.6 对极大螺旋藻 SOD 酶活力的影响

由图 13 可以看出,对于极大螺旋藻,当 6-BA 浓度为 1.6 mg/L 时产 SOD 酶最多,NAA 的中间浓度最好,当 NAA 浓度为 0.8 mg/L 时产 SOD 酶最多,当 GA 浓度为 0.5 mg/L 时产 SOD 酶最多。

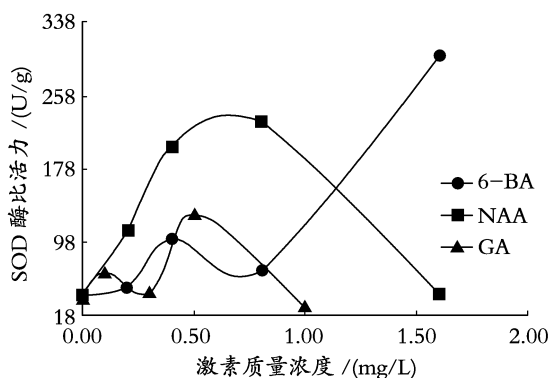


图 13 激素对极大螺旋藻 SOD 酶比活力的影响

Fig. 13 Effect of phytohormones on the level of SOD of *Spirulina maximum*

## 3 讨论

从实验结果可以得到:激素的添加明显优化了螺旋藻的生长态势(图 1~4),同时也极大地提高螺旋藻的代谢产物含量(图 5~10)。在实验中,螺旋藻生长对 GA 最敏感。添加 GA(0.5 mg/L),钝顶螺旋藻生物量增加 15.2%;添加 GA(1.0 mg/L),极大螺旋藻生物量增加 65.2%。

GA 是一种高效能的植物生长刺激素,促进细胞分裂和增长,促进 RNA 和蛋白质合成,使细胞壁酸化或消除细胞壁中 Ca 而使细胞寿命延长。GA 对藻类生长的促进作用也已有报道<sup>[8~11]</sup>。熊凡<sup>[10]</sup>进行了 GA 对加速小球藻繁殖的作用实验,证明其作用十分明显。张坤城<sup>[12]</sup>研究指出,质量浓度为 0.1 mg/L 的 GA 可以诱导孔石莼(*Ulvalactuca*)管状结构的加长,质量浓度为 0.1 mg/L 的 GA 能使小球藻(*Chlorella* sp.)的产量增加 20%,质量浓度为 34 mg/L 时,可使裸甲藻产量增加 40%。质量浓度为 0.4 mg/L 时,可使昆布的生长增加 3 倍;张芬来<sup>[13]</sup>报道了 GA 对于扁藻生长的最适质量浓度为 0.1 mg/L,GA 对 2 种底栖硅藻的最佳质量浓度均为 0.5 mg/L,低于或高于最佳质量浓度,2 种底栖硅藻的生长速率均有所下降,此实验结果与作者得到的结论类似。

植物激素促进螺旋藻生长的原因可能是它们作用于细胞时与细胞受体结合,从而促进质子分泌到细胞壁,致使细胞松弛,延伸快,还能促进 RNA 和蛋白质的生物合成,为原生质和光合膜的合成提供原料;也可能是激素本身作为藻类生长的营养因子,但准确机理还有待于进一步的研究<sup>[14]</sup>。

植物激素明显地促进了生物活性物质的产生。在生产胞内、外总糖时,GA 均从整体水平上高于 6-

BA 和 NAA,钝顶螺旋藻产胞内总糖、极大螺旋藻产胞外总糖的最佳激素水平均是 GA(0.3 mg/L),6-BA (1.6 mg/L),NAA(1.6 mg/L)。

## 参考文献:

- [1] Debata A, Murty K S. Translation & senescence in rice [J]. *Ind J Exper Biol*, 1981,19: 986-987.
- [2] 曾晓春,吴晓玉. 2,4-D 和 6-BA 对提高钝顶螺旋藻生物产量的效应 [J]. 江西农业大学学报,1998,4: 437-439.
- [3] Carlos E N, Sassano Joao C M C. Kinetics and bioenergetics of *Spirulina platensis* cultivation by fed-batch addition of urea as nitrogen source[J]. *Humana Press Inc*. 2004, 3: 5-25.
- [4] Watanabe Y A. Study of excretion and extracellular products of natural phytoplankton in Lake Nakanuma Japan[J]. *Int Rev Gesc Hydrobiol*. 1980,65:809-834.
- [5] Furbank R T, Taylor W C. Regulation of photosynthesis in C3 and C4 plants: a molecular approach[J]. *Plant Cell*. 1995,7: 797-807.
- [6] Mimura T. Homeostasis and transport of inorganic phosphate in plants[J]. *Plant Cell Physiol*. 1995,36:1-7.
- [7] Bajguz A, Koronka A. Effect of ecdysone application on the growth and biochemical changes in *Chlorella vulgaris* cells [J]. *Plant Physiol Biochem*. 2001,39:707-715.
- [8] 刘传琳,徐春野,徐庆勇. 利用生物反应器培养钝顶螺旋藻的研究[J]. 烟台大学学报,1999,2: 127-132.
- [9] 李雅娟,李梅,毛连菊. 几种植物生长物质对底栖硅藻生长速率的影响[J]. 大连水产学院学报,1999,4: 1-6.
- [10] 黄健,刘建国,闫培京. 发状态珠藻人工栽培的初步研究 [J]. 莱阳农学院学报,2001,3: 169-173.
- [11] 熊凡. 赤霉素对加速小球藻繁殖的实验[J]. 植物生理学通讯,1964,6: 40-41.
- [12] 张坤城. 藻类生长物质[J]. 海洋湖沼通报,1980,2: 28-33.
- [13] 张芬来. 植物激素影响扁藻生长的生理效应[J]. 浙江水产学院学报,1987,2: 21-125.
- [14] 史成颖,蔡为荣. 6种植物生长调节剂对钝顶螺旋藻生长的影响[J]. 安徽农业大学学报,2004,31(1): 26-29.

## Effect on biomass and the content of active components of *Spirulina* sp. by three phytohormones

CHEN Ying, ZHAO Pei, WANG Xue-qing, PANG Guang-chang

(Tianjin Key Laboratory For Food Biotechnology, Tianjin Commercial University, School of Biotechnology and Food Technology, Tianjin 300134, China)

Received: Jan. , 14, 2008

Key words: *Spirulina*; Phytohormone; Total suger; Protein; SOD

**Abstract:** The effects of three phytohormones, 6-Benzyl aminopurine (6-BA), Naphthalene acetic acid (NAA) and Gibberellic acid (GA), on the biomass and content of active components of *Spirulina* sp. have been researched through a single factor test. It was shown that;added NAA (0.4 mg/L) to *Spirulina platensis* and GA (1.0 mg/L) to *S. maximum* respectively made the biomass maximize 49.1%,65.2% and the specific growth rate maximize 66.7%,28.6%. The regulated reaction of hormone made the *Spirulina* sp. reach the largest throughput. Due to the metabolization of *S. platensis*, 0.1 mg/L GA can increase the content of its extracellular total sugar by 5 times, intracellular total suger augmented 5 times on GA (0.3 mg/L). Intracellular protein increased 27.8% on 6-BA(0.2 mg/L). NAA(0.2 mg/L) could increase the level of SOD of *S. platensis* by 3.47 times. To *S. maximum*,total in-extracellular suger augmented 1.32 times and 2 times on GA(0.3 mg/L). NAA(1.6 mg/L) and 6-BA (1.6 mg/L) could respectively increase the intracellular protein and SOD by 66.7% and 3.47 times. It was concluded that phytohormones can promote the growth of *Spirulina* sp. This result can establish the rationale for large-scale high-density production.

(本文编辑:张培新)