

茉莉酸甲酯和水杨酸对坛紫菜生长与抗逆性的影响

侯赛男, 邹同雷, 汪芳俊, 孙 雪, 徐年军

(宁波大学海洋学院, 浙江省海洋生物工程重点实验室, 浙江 宁波 315211)

摘要: 为了探讨植物激素在藻类生理与抗逆方面的作用, 本文比较了不同浓度的茉莉酸甲酯(MJ)和水杨酸(SA)对坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)生长、藻胆蛋白、可溶性蛋白、脯氨酸含量和叶绿素荧光参数的影响。结果显示 100 $\mu\text{mol/L}$ SA 的添加可使坛紫菜生长率达到对照组的 1.57 倍, 而 MJ 对藻的生长影响不显著。50 $\mu\text{mol/L}$ MJ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ SA 显著促进了坛紫菜藻胆蛋白和可溶性蛋白的积累。50 $\mu\text{mol/L}$ MJ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ SA 添加后在 48 h 脯氨酸含量分别为对照组的 2.67 倍和 1.75 倍。25~50 $\mu\text{mol/L}$ MJ 对坛紫菜的 F_v/F_m 和 $Y(II)$ 影响不显著, 而 100 $\mu\text{mol/L}$ SA 则可以提高这两个叶绿素荧光参数。该研究表明适当浓度的 MJ 和 SA 可以促进坛紫菜生长, 提高其光合能力, 在一定程度上增强坛紫菜的抗逆性。

关键词: 坛紫菜(*Pyropia haitanensis*); 茉莉酸甲酯; 水杨酸; 生长; 抗逆性

中图分类号: S968.43

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2017)01-0104-09

DOI: 10.11759/hyxx20160418002

坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)属红毛菜纲(Bangiophyceae)、红毛菜科(Bangiaceae)的一种红藻, 是我国重要的海藻养殖品种。紫菜味道鲜美, 蛋白质含量高, 含有多种营养活性物质, 是优质的营养保健食品^[1], 还具有抗衰老、降血脂、抑制肿瘤和癌细胞活性等功效^[2], 是人类开发利用的重要经济海藻。紫菜主要生长在浅海潮间带, 其生长受自然环境影响较大, 如遇强台风、暴雨或持续高温天气, 海水盐度和温度变化会严重影响紫菜的产量和品质。

茉莉酸类物质(jasmonates, JAs)是一类脂肪酸衍生物, 主要包括茉莉酸(jasmonic acid, JA)和其甲基化产物茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA 或 MJ)等。JAs 不仅广泛存在于高等植物, 在藻类中也都有发现, 如绿藻门的杜氏藻 *Dunaliella tertiolecta* 和小球藻(*Chlorella* sp.)、红藻门的石花菜(*Gelidium latifolium*)、裸藻门的纤毛裸藻(*Euglena gracilis*), 甚至是蓝细菌中也检测到了相关的代谢组分^[3]。JAs 常作为信号物质调节植物的生长发育过程, 并且在高温、干旱、高盐、重金属、病原菌感染等生物和非生物胁迫条件下, JAs 还可以调节植物对逆境的防御反应, 增强植物的抗逆性^[4]。有研究发现, 外源 MJ 能够提高杜氏盐藻过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)活性, 诱导次级代谢产物 β -胡萝卜素的积累^[5]。在小球藻(*Chlorella* sp.)培养液中添加 10^{-8} ~ 10^{-6} mol/L 的 JA, 可引起藻细胞数目的增加, 类胡萝卜素、叶绿素和蛋白含量显著提高^[6]。Piotrowska-Niczyporuk 等还发现

JA 可以诱导普通小球藻(*C. vulgaris*)对 UV 射线、重金属和活性氧簇的抗性反应^[7]。

水杨酸(salicylic acid, SA)也是普遍存在于植物体内的生长调节物质, 在植物的生长发育和抵抗外界不良环境影响方面具有重要作用。研究发现, 植物在受到病原菌侵染时能够通过合成 SA 启动防御反应, 诱导病原相关蛋白的积累, 这对于植物建立自身和系统获得性抗性至关重要^[8]。用 1 $\mu\text{mol/L}$ SA 对六棱鸢尾(*Iris hexagona*)幼苗的根预处理 24 h, 可有效缓解重金属镉引起的干质量、光合速率、抗氧化酶活性等生理指标的下降, 保护镉导致的氧化性损伤^[9]。在藻类中, SA 可降低盐胁迫下盐生杜氏藻(*D. salina*) β -胡萝卜素的积累量^[10]。外源添加 SA 可以提高菊花江蕨(*Gracilarialichevoides*)的抗低温能力^[11]。水杨酸还可提高龙须菜(*Gracilariaopsis lemaneiformis*)的生长速率, 增加其抗氧化酶活性和脯氨酸含量, 同时减少丙二醛的积累, 增强藻体对高温的抗性^[12-13]。

目前, 有关茉莉酸甲酯和水杨酸在紫菜生长与抗逆性方面的研究还未见相关报道。本文使用不同

收稿日期: 2016-06-11; 修回日期: 2016-09-10

基金项目: 宁波市鄞州区农业科技攻关项目(HK2015000056)

[Foundation: Yinzhou District Ningbo agricultural science and technology research project, No.HK2015000056]

作者简介: 侯赛男(1991-), 女, 河南平顶山人, 硕士研究生, 主要从事藻类生化与分子生物学研究, 电话: 0574-87600170, E-mail: 1073336465@qq.com; 孙雪(1974-), 通信作者, E-mail: sunxue@nbu.edu.cn

浓度的茉莉酸甲酯和水杨酸对坛紫菜进行短期培养,比较坛紫菜的生理指标(生长速率、藻胆蛋白和可溶性蛋白含量)、渗透调节物质(脯氨酸含量)以及叶绿素荧光特性等方面的变化,从而明确这两种植物激素在坛紫菜生长和抗逆性中的作用,为坛紫菜健康养殖提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料的采集与处理

实验藻于2015年10月采集自浙江省宁波市鄞州区瞻岐镇近海养殖基地,为本地养殖种坛紫菜,日龄35 d左右,长度约5~15 cm。用软毛刷轻轻刷去藻体表面杂藻和泥沙后再用灭菌海水多次冲洗,放于光照培养箱中暂养。温度(23±1)°C,光照强度2 000~3 000 lx,光周期L:D(12 h:12 h),使用的培养液为自然过滤海水。

1.2 实验方法

1.2.1 外源植物激素处理

根据预实验结果,在培养液中添加外源MJ母液使其终浓度分别为0、25、50、100和200 μmol/L;添加外源SA母液使其终浓度分别为0、50、100、200和400 μmol/L。放入2.0 g(鲜质量)生长状态良好的坛紫菜,培养24 h后弃去添加激素的培养液,清洗掉残余植物激素后更换正常培养液继续培养至72 h。每组3个平行,800 mL水体充气培养,其他培养条件同1.1。

1.2.2 坛紫菜生长的测定

挑选生长状态良好且长势相近的坛紫菜叶状体,裁到6 cm初始长度,在海水中恢复1 d。第2天分组处理开始正式实验,每组放5条坛紫菜叶状体。用不同浓度的MJ或SA培养液处理坛紫菜24 h后弃去培养液,清洗掉残余植物激素后更换正常培养液培养至72 h,测定坛紫菜叶状体的长度(cm)。采用公式 $K_1 = (L - L_0) / t$ 计算坛紫菜的绝对生长率(absolute growth rate, AGR)^[14]。L和L₀分别为时间t和开始时间的叶状体长度,t为时间(d)。

1.2.3 藻胆蛋白含量测定

激素处理及藻体培养同1.2.1,在整个培养过程的0、24、48和72 h分别取0.125 g坛紫菜,参考张学成等^[15]的方法测定藻胆蛋白含量。整个测定过程在0~4°C下进行且尽量避光。用721分光光度计测定在498、614和651 nm波长下的吸光度,分别计算各藻胆蛋白和总藻胆蛋白的含量(mg/g,鲜质量)。

1.2.4 可溶性蛋白含量测定

激素处理及藻体培养同1.2.1,在整个培养过程的0、24、48和72 h分别取样,采用考马斯亮蓝法^[16]测定坛紫菜中可溶性蛋白含量(试剂盒购自苏州科铭生物公司)。

1.2.5 脯氨酸含量测定

激素处理及藻体培养同1.2.1,在整个培养过程的0、24、48和72 h分别取样,采用磺基水杨酸法^[17]测定脯氨酸含量。在520 nm波长下测吸光度,通过标准曲线计算脯氨酸含量。

1.2.6 叶绿素荧光参数测定

激素处理及藻体培养条件同1.2.1,在整个培养过程的0、12、24、48和72 h分别取样。对各样品藻体先进行20 min暗处理,然后用Water-PAM便携式调制脉冲荧光仪(WALZ, Germany)测定叶绿素荧光参数^[18]:PSII(光系统)最大光能转换效率(F_v/F_m)、PSII实际光能转换效率[Y(II)]。

1.2.7 数据统计和分析

利用GraphPad Prism 5.0进行作图与数据处理,采用SPSS13.0中的单因素方差分析中的Duncan进行显著性分析,P<0.05表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 茉莉酸甲酯和水杨酸对坛紫菜生长的影响

随着MJ和SA浓度的增加,坛紫菜的绝对生长率(AGR)都呈现先增加后减少的趋势(图1)。如图1A所示,4个浓度(25~200 μmol/L)MJ处理组藻体绝对生长率分别是对照组的1.09、1.26、0.97和0.80倍,但差异都不显著。其中50 μmol/L MJ组紫菜的绝对生长率达到最大值,但也仅与200 μmol/L MJ组差异显著,与其他组差异不显著。

水杨酸由低到高浓度添加后,各处理组的坛紫菜绝对生长率分别是对照组的1.21、1.57、1.08和0.76倍(图1B)。其中,SA浓度为100 μmol/L时坛紫菜的绝对生长率最高,与其他组差异显著。与茉莉酸甲酯相比,100 μmol/L SA处理组的绝对生长率最大值(0.18 cm/d)高于50 μmol/L MJ组的绝对生长率(0.15 cm/d),可见外源SA对坛紫菜生长的影响更为显著。

2.2 茉莉酸甲酯和水杨酸对坛紫菜藻胆蛋白含量的影响

2.2.1 茉莉酸甲酯对坛紫菜藻胆蛋白含量的影响

不同浓度MJ处理24 h时(图2),坛紫菜叶状体

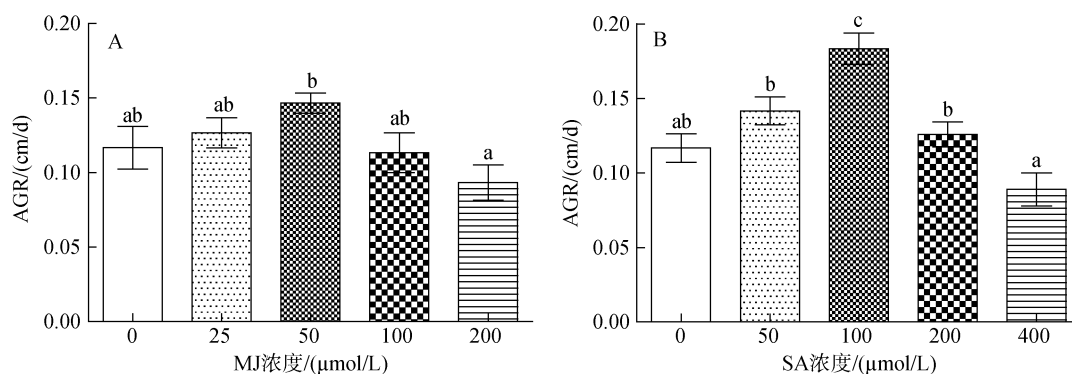


图 1 茉莉酸甲酯(A)和水杨酸(B)处理对坛紫菜绝对生长率的影响

Fig. 1 Effects of MJ (A) and SA (B) treatments on the absolute growth rate of *Pyropiahaitanensis*

a, b 等不同字母表示差异显著, 下同

a, b, and other letters indicate significant difference, the same as in the next sections

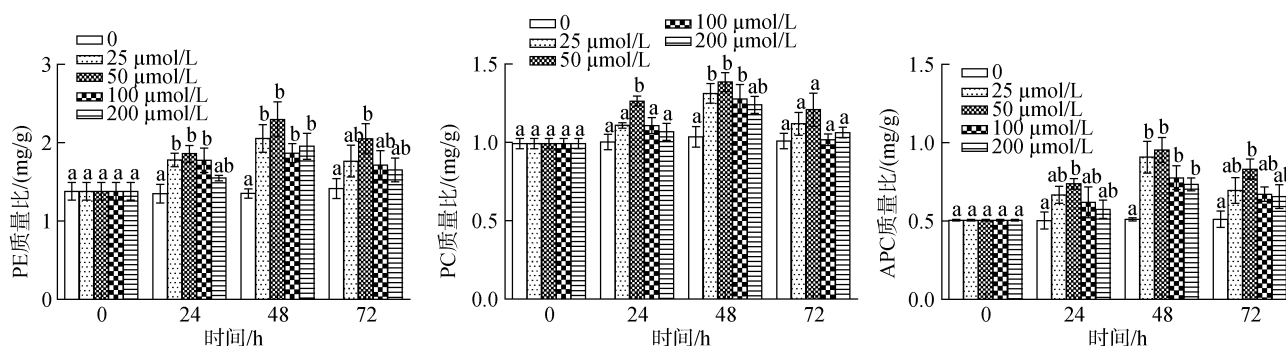


图 2 茉莉酸甲酯处理对坛紫菜藻红蛋白、藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白含量的影响

Fig. 2 Effect of MJ treatment on the PE, PC, and APC content of *P. haitanensis*

a, b 等不同字母表示同一取样时间点的数据差异显著

a, b, and other letters indicate significant difference at similar time points

的 PE、PC、APC 含量均有增加, 更换正常培养液后, 各藻胆蛋白含量仍持续增加, 在 48 h 达到最大值, 72 h 时虽然含量有所下降, 但仍高于 0 h。在 24 h, MJ 浓度为 50 μmol/L 组的 PE、PC、APC 含量分别是 1.86、1.26、0.74 mg/g 鲜质量, 为各浓度处理组中的最高值, 分别是各自对照组的 1.38 倍、1.26 倍、1.48 倍 ($P < 0.05$)。在 48 h, MJ 各浓度处理组中 3 种藻胆蛋白含量也均高于对照组, 且差异显著 (200 μmol/L 处理组的 PC 含量除外)。至 72 h, 50 μmol/L MJ 组的 PE 和

APC 含量仍高于对照, PC 含量在各组间差异不显著。

不同浓度 MJ 处理后坛紫菜总藻胆蛋白含量随时间和 MJ 浓度变化均呈现先增加后减少的趋势 (表 1)。添加 25~100 μmol/L MJ 培养 24 h 时, 坛紫菜总藻胆蛋白积累量分别比对照组高出 24.48%、33.57%、22.38% ($P < 0.05$), 但 200 μmol/L MJ 组对总藻胆蛋白含量影响不大。恢复正常培养后, 各 MJ 浓度处理组总藻胆蛋白含量在 48 h 仍高于对照组, 在 72 h 仅 50 μmol/L MJ 组藻胆蛋白含量仍高于对照组。

表 1 茉莉酸甲酯处理对坛紫菜总藻胆蛋白含量的影响

Tab. 1 Effect of MJ treatment on total phycobiliprotein content of *P. haitanensis*

时间(h)	MJ 浓度/(μmol/L)				
	0	25	50	100	200
0	2.88±0.18 ^a	2.88±0.18 ^a	2.88±0.18 ^a	2.88±0.18 ^a	2.88±0.18 ^a
24	2.86±0.23 ^a	3.56±0.46 ^{bc}	3.82±0.01 ^c	3.50±0.23 ^{bc}	3.19±0.27 ^{ab}
48	2.92±0.29 ^a	4.23±0.33 ^b	4.64±0.40 ^b	3.92±0.54 ^b	3.93±0.42 ^b
72	2.94±0.38 ^a	3.58±0.76 ^{ab}	4.09±0.59 ^b	3.40±0.43 ^{ab}	3.37±0.43 ^{ab}

注: 表中 a、b 等不同字母上标表示同一取样时间点的数据差异显著 ($P < 0.05$)

2.2.2 不同浓度水杨酸对坛紫菜藻胆蛋白含量的影响

在不同浓度外源 SA 作用下, 坛紫菜藻胆蛋白含量变化情况如图 3, PE、PC、APC 的含量在整个培养时期都呈现不断增加的趋势。在 24 h, 不同浓度 SA 处理组 PE 含量变化不大, 但 PC 和 APC 含量受 SA 影响较大, 其中 100 $\mu\text{mol/L}$ SA 组 PC 和 APC 含量分别是对照组的 1.29 倍和 1.60 倍 ($P<0.05$)。恢复正常培养后, 在 48 h 和 72 h, 各藻胆蛋白含量仍持续增

加, 中间浓度 (100 和 200 $\mu\text{mol/L}$) SA 处理组的 PE、PC、APC 的含量较高。

坛紫菜总藻胆蛋白含量受 SA 影响趋势与各藻胆蛋白含量变化一致 (表 2)。随着培养时间的延长, 坛紫菜藻胆蛋白含量不断增加。至 72 h, 各处理组藻体总藻胆蛋白含量分别比对照组高出 26.67%、66.67%、58.60%和 40%, 与对照组含量差异显著。与 MJ 处理相比, SA 对紫菜藻胆蛋白含量增加的影响更为显著。

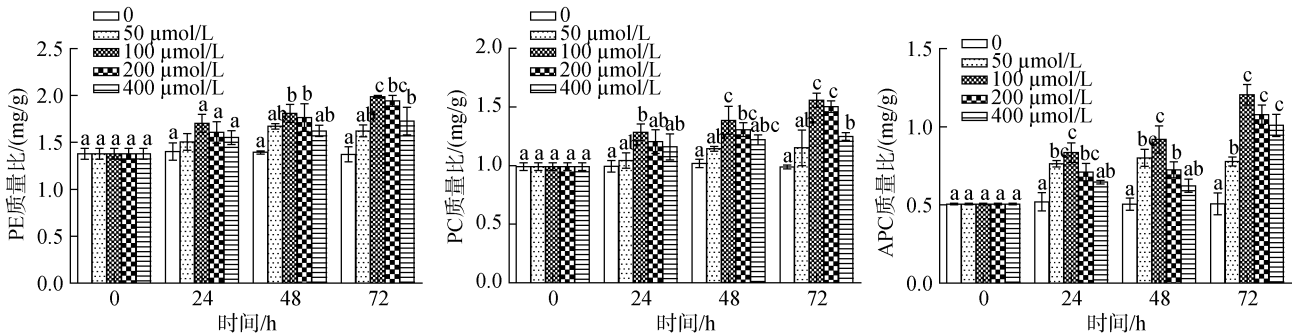


图 3 水杨酸处理对坛紫菜藻红蛋白、藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白含量的影响
Fig. 3 Effect of SA treatment on the PE, PC, and APC content of *P. haitanensis*

表 2 水杨酸处理对坛紫菜总藻胆蛋白含量的影响

Tab. 2 Effect of SA treatment on the total phycobiliprotein content of *P. haitanensis*

时间 (h)	SA 浓度/ $(\mu\text{mol/L})$				
	0	50	100	200	400
0	2.88 \pm 0.10 ^a	2.88 \pm 0.10 ^a	2.88 \pm 0.10 ^a	2.88 \pm 0.10 ^a	2.88 \pm 0.10 ^a
24	2.89 \pm 0.32 ^a	3.31 \pm 0.38 ^{ab}	3.82 \pm 0.36 ^b	3.52 \pm 0.32 ^{ab}	3.36 \pm 0.31 ^{ab}
48	2.89 \pm 0.13 ^a	3.52 \pm 0.45 ^{abc}	4.12 \pm 0.29 ^c	3.80 \pm 0.10 ^{bc}	3.47 \pm 0.48 ^{ab}
72	2.85 \pm 0.17 ^a	3.61 \pm 0.33 ^b	4.75 \pm 0.14 ^c	4.52 \pm 0.16 ^c	3.99 \pm 0.27 ^b

注: 表中 a、b 等不同字母上标表示同一取样时间点的数据差异显著 ($P<0.05$)

2.3 茉莉酸甲酯和水杨酸对坛紫菜可溶性蛋白含量的影响

不同浓度 MJ 和 SA 的添加对坛紫菜可溶性蛋白积累的影响比较显著 (图 4)。从 MJ 处理 24 h 至恢复培养 2 d 的过程中, 坛紫菜可溶性蛋白含量随时间延长表现为先增加后减少。在 24 h, 50 和 200 $\mu\text{mol/L}$ MJ 处理组藻的可溶性蛋白含量分别为 16.96 和 17.04 mg/g, 是对照组藻的 1.31 倍和 1.32 倍 ($P<0.05$); 在 48h, 25~200 $\mu\text{mol/L}$ MJ 组藻体内蛋白含量不断增加, 分别为对照组藻的 1.30 倍、1.65 倍、1.47 倍和 1.52 倍, 且与对照有显著性差异, 其中 50 $\mu\text{mol/L}$ MJ 处理组可溶性蛋白含量最高 (21.55 mg/g 鲜质量)。72 h 坛紫菜蛋白含量有所下降, 25~100 $\mu\text{mol/L}$ MJ 处理组

的蛋白含量仍高于对照。

不同浓度 SA 处理下, 坛紫菜可溶性蛋白含量变化与 MJ 处理时稍有不同 (图 4B)。SA 处理 24 h 时, 100~400 $\mu\text{mol/L}$ SA 添加后藻的可溶性蛋白含量分别比对照组高出 31.45%、39.45%和 57.56% ($P<0.05$); 恢复正常培养后, 48 h 和 72 h 各浓度水杨酸组藻体可溶性蛋白含量仍保持在较高水平。

2.4 茉莉酸甲酯和水杨酸对坛紫菜脯氨酸含量的影响

坛紫菜藻体内脯氨酸含量受外源 MJ 和 SA 影响显著 (图 5)。不同浓度 MJ 处理 24 h 后, 25~100 $\mu\text{mol/L}$ MJ 处理组藻体脯氨酸含量高于对照组, 分别为对照组的 1.74、2.43 和 1.43 倍。恢复正常培养后, 脯氨酸

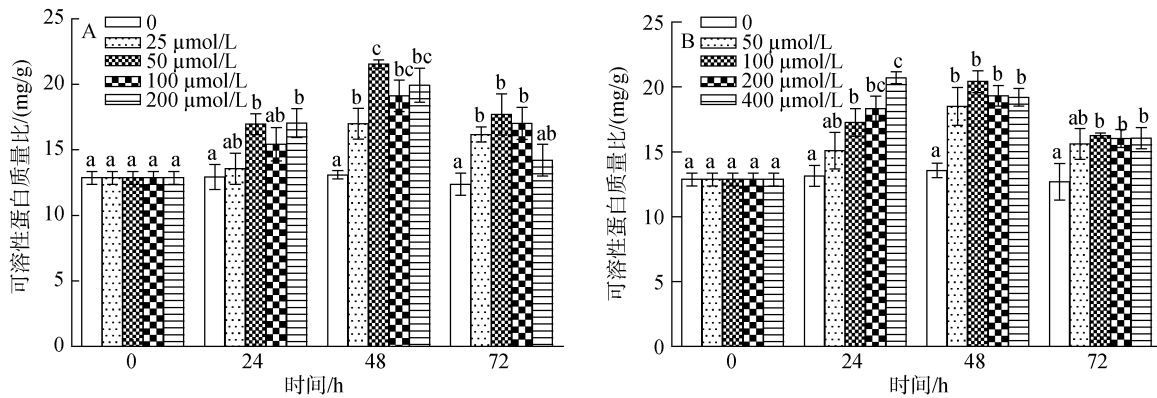


图 4 茉莉酸甲酯(A)和水杨酸(B)处理对坛紫菜可溶性蛋白含量的影响

Fig. 4 Effects of MJ (A) and SA (B) treatments on the soluble protein content of *P. haitanensis*

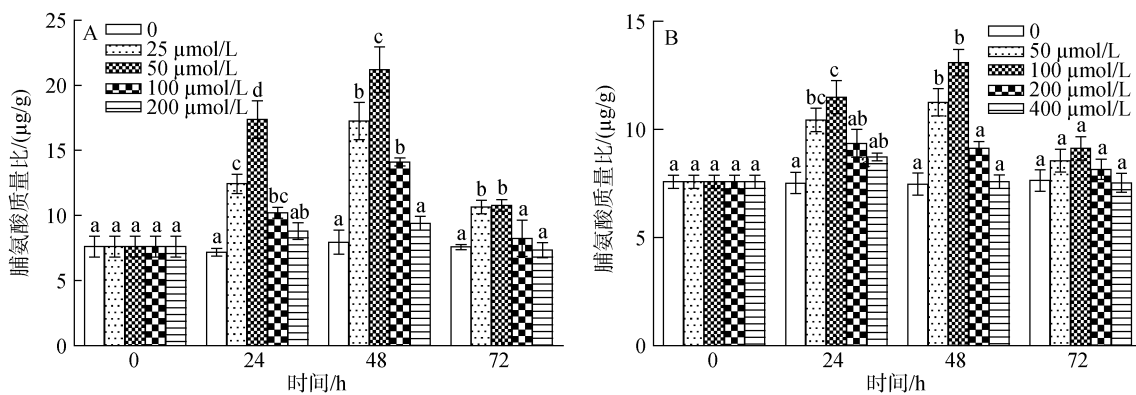


图 5 茉莉酸甲酯(A)和水杨酸(B)处理对坛紫菜脯氨酸含量的影响

Fig. 5 Effects of MJ (A) and SA (B) treatments on the proline content of *P. haitanensis*

含量在 48 h 达到最高水平, 25~100 μmol/L MJ 组脯氨酸质量比分别为 17.25、21.19 和 14.12 μg/g, 分别比对照组高出 117.01%、166.51%和 77.61% ($P < 0.05$)。至 72 h, 各处理组脯氨酸含量都有明显降低, 但 25 和 50 μmol/L MJ 处理组仍高于对照。

SA 处理组与 MJ 处理组藻体脯氨酸含量变化趋势基本相同 (图 5B), SA 处理组脯氨酸含量的增加幅度明显小于 MJ 组。在 24 h, 50 和 100 μmol/L SA 组脯氨酸含量分别是对照的 1.39 倍和 1.55 倍 ($P < 0.05$); 48h 这两组藻的脯氨酸含量仍高于对照组, 分别是对照的 1.5 倍和 1.75 倍 ($P < 0.05$); 但 72 h 时, 各组间坛紫菜脯氨酸含量已无明显差异。

2.5 茉莉酸甲酯和水杨酸对坛紫菜叶绿素荧光特性的影响

2.5.1 茉莉酸甲酯对坛紫菜叶绿素荧光特性的影响

不同浓度 MJ 作用下坛紫菜 PSII 最大光能转换效率 (F_v/F_m) 和实际光能转换效率 [$Y(II)$] 的变化如图 6 所示。坛紫菜 F_v/F_m 变化趋势受 MJ 影响不太明显,

在 24 h, 随 MJ 浓度增加各处理组 F_v/F_m 分别为对照的 1.01、0.96、0.94 和 0.86 倍, 其中只有 200 μmol/L MJ 组明显低于对照。恢复正常培养后, 各添加 MJ 组藻的 F_v/F_m 逐渐升高; 至 72 h 时, 各处理组与对照组 F_v/F_m 已无区别。

外源 MJ 添加后, $Y(II)$ 变化趋势与 F_v/F_m 相似, 在激素处理 24 h, 25~50 μmol/L MJ 处理对藻体 $Y(II)$ 影响不大, 较高浓度 (100 和 200 μmol/L) 处理组的 $Y(II)$ 则迅速减小至对照的 0.74 倍和 0.49 倍 ($P < 0.05$)。更换培养液恢复正常培养后, $Y(II)$ 值迅速升高, 48 h 后各组藻的 $Y(II)$ 都恢复正常水平。该结果表明低浓度 MJ 对坛紫菜影响不大, 而较高浓度 MJ 使坛紫菜受到一定的胁迫, 但更换培养液后迅速恢复到正常生理状态。

2.5.2 水杨酸对坛紫菜叶绿素荧光参数的影响

外源 SA 处理坛紫菜叶状体, PSII 最大光能转换效率 (F_v/F_m) 和实际光能转换效率 $Y(II)$ 的变化与 MJ 处理时有所不同 (图 7)。50~200 μmol/L SA 处理组 F_v/F_m 不断增加, 24 h 达到最大值, 其中 100 μmol/L

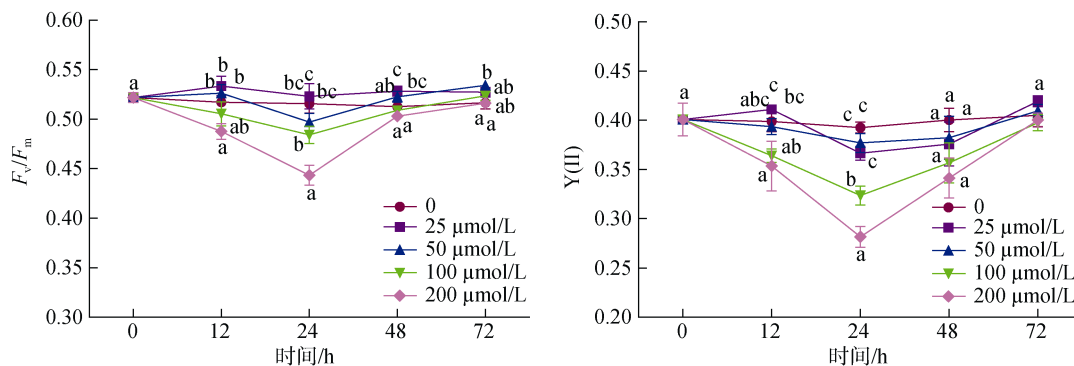


图 6 茉莉酸甲酯处理对坛紫菜 PSII 最大光能转换效率和实际光能转换效率的影响

Fig. 6 Effect of MJ treatments on F_v/F_m and $Y(II)$ of *P. haitanensis*

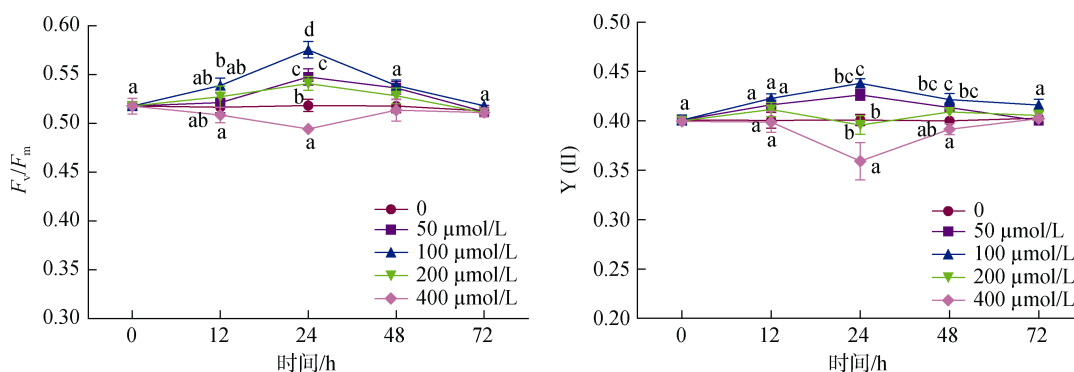


图 7 水杨酸处理对坛紫菜 PSII 最大光能转换效率和实际光能转换效率的影响

Fig. 7 Effect of SA treatment on F_v/F_m and $Y(II)$ of *P. haitanensis*

SA 组 F_v/F_m 值最大, 为对照组的 1.11 倍, 而 400 $\mu\text{mol/L}$ 组略低于对照 (0.95 倍)。恢复正常培养后, 藻体生长状态逐渐恢复, 至 72 h 各组 F_v/F_m 恢复至处理前水平。

水杨酸对 $Y(II)$ 的影响与对 F_v/F_m 类似, 100 $\mu\text{mol/L}$ SA 组坛紫菜的 $Y(II)$ 在 24 h 增加至最大值, 为对照的 1.09 倍, 400 $\mu\text{mol/L}$ SA 组 $Y(II)$ 则降低为对照的 0.90 倍, 差异显著。恢复正常培养后, 各组藻的 $Y(II)$ 值逐渐趋于一致。该结果表明低浓度的 SA (50~100 $\mu\text{mol/L}$) 提高了坛紫菜的光合效率, 而高浓度 SA (400 $\mu\text{mol/L}$) 对其则有抑制作用。

3 讨论

茉莉酸类物质和水杨酸作为内源植物生长调节剂, 在植物的生长发育和抗逆过程中发挥着重要的作用。茉莉酸类物质可以调控植物的发芽、幼苗发育、花的形成及叶片衰老等生长发育过程^[19]。与茉莉酸类似, 水杨酸可以通过影响植物的生长、产量、光合作用、植物水分关系等方面来调节植物的生长和发育^[20]。如外源添加茉莉酸能促进普通小球藻生长、总油脂含量及饱和、单不饱和和脂肪酸的积累^[21]。

10^{-5} mol/L SA 处理可以显著增加小麦幼苗的叶片数量和色素含量^[22]。100 $\mu\text{mol/L}$ SA 和 10 $\mu\text{mol/L}$ MJ 可促进雨生红球藻 (*Haematococcus pluvialis*) 中虾青素的积累, 但 500 $\mu\text{mol/L}$ 的 SA 或 MJ 则可抑制该藻的生长^[23]。可见, 两种植物激素作用在一定剂量下可以促进植物的生长发育, 但较高剂量时可能成为一种胁迫因素。

生长是藻体生理过程变化的直接表现。本研究中 SA 对坛紫菜生长的促进作用优于 MJ, 其中 100 $\mu\text{mol/L}$ SA 处理后坛紫菜取得了最好生长效果, 其绝对生长率是相应对照组的 1.57 倍, 且差异显著; 而高浓度的 MJ (200 $\mu\text{mol/L}$) 和 SA (400 $\mu\text{mol/L}$) 可对坛紫菜生长产生抑制作用。这与王重彬等^[12]报道的促进高温胁迫下龙须菜生长的 MJ 和 SA 最适作用浓度相同。

藻胆蛋白是红藻和蓝藻中特有的光合作用辅助色素蛋白, 它能够直接捕捉吸收光能, 参与叶绿体中的光能电子链传递。此外, 藻胆蛋白还可作为藻体的储备蛋白, 增强藻类的环境适应能力。本文中, 不同浓度的茉莉酸甲酯和水杨酸处理后, 坛紫菜中的藻红蛋白、藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白和可溶性总蛋白

的含量都有不同程度的提高,其中 50 $\mu\text{mol/L}$ MJ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ SA 处理均取得了最好的提高效果。但与 MJ 处理相比,SA 对坛紫菜藻胆蛋白含量的影响更为显著。朱招波等^[13]和王俏俏等^[24]报道的 10 $\mu\text{g/mL}$ SA 处理组的龙须菜藻红蛋白和藻蓝蛋白含量显著增加,与本文中 100 $\mu\text{mol/L}$ SA 的浓度较为接近。

植物体内脯氨酸含量是反应植物抗逆性的一个重要指标,它可以作为一种渗透调节物参与细胞的渗透调节,维持细胞膜的稳定性,保护细胞结构,调节胞内氧化还原电势和净化胞内游离氧自由基^[25]。Nazar 等^[26]研究发现施加外源 0.5 mmol/L SA 处理可增强芥菜 γ -谷氨酰激酶活性,降低脯氨酸氧化酶活性,使脯氨酸含量增加,增加芥菜对干旱胁迫的抗逆能力。本实验中,不同浓度茉莉酸甲酯和水杨酸单独处理坛紫菜,藻体脯氨酸含量均有不同程度的提高,且恢复培养 1d 后 50 $\mu\text{mol/L}$ MJ 或 100 $\mu\text{mol/L}$ SA 处理组的促进效果最为显著。总体来看,50 $\mu\text{mol/L}$ MJ 对脯氨酸含量积累的影响要大于 100 $\mu\text{mol/L}$ SA。这与王重彬等^[12]报道外源茉莉酸甲酯和水杨酸均可以不同程度地提高龙须菜脯氨酸的含量,且 50 $\mu\text{mol/L}$ MJ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ SA 单独处理促进效果最强的结果一致。

叶绿素荧光技术是一种以光合作用理论为基础,利用体内叶绿素作为天然探针,研究和探测植物光合生理状况及各种外界因子影响的活体测定和诊断技术,能够跟踪检测藻体在高温环境下光合结构损伤程度^[27]。在叶绿素荧光参数中, F_v/F_m 代表 PS 最大光能转换效率,也称最大光化学量子产量,非胁迫条件下该参数变化极小,是研究光抑制和各种环境胁迫对光合作用影响的重要指标。 $Y(\text{II})$ 代表 PS 实际光能转换效率,反映了 PS 反应中心内的实际光合效率^[28],是研究光合结构生理状态的重要参数。

本研究中,低浓度 MJ 对坛紫菜的 F_v/F_m 、 $Y(\text{II})$ 几乎无影响,仅高浓度 (200 $\mu\text{mol/L}$) MJ 显著降低了 F_v/F_m 和 $Y(\text{II})$ 。而 SA 对这两个叶绿素荧光参数的影响更加明显,如 50~200 $\mu\text{mol/L}$ SA 提高了坛紫菜的 F_v/F_m ,100 $\mu\text{mol/L}$ SA 提高了 $Y(\text{II})$,400 $\mu\text{mol/L}$ SA 则显著降低了 F_v/F_m 和 $Y(\text{II})$ 。这与王晓黎等^[29]报道的外源水杨酸提高了黄瓜幼苗叶片中 PS 活性的结果一致。以上结果表明一定浓度的水杨酸 (如 100 $\mu\text{mol/L}$) 可以提高坛紫菜 PS 中 F_v/F_m 和 $Y(\text{II})$,使 PS 吸收光能中分配于光化学反应的能量增加,从而增强坛紫菜的光合能力。虽然高浓度 SA 和 MJ 处理 24 h 时显著抑制了这两个叶绿素荧光参数,但其对坛紫

菜 3 种藻胆蛋白含量的影响相对不明显,即 24 h 时,3 种藻胆蛋白含量变化与对照组差异不显著;但与最适用浓度的两种激素 (50 $\mu\text{mol/L}$ MJ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ SA) 处理相比,高浓度的两种激素不同程度地抑制了坛紫菜藻胆蛋白含量的升高。可见相对于色素蛋白含量的变化,叶绿素荧光参数能更快速、方便地体现外界胁迫对藻类光合系统的影响。

综上所述,适当浓度的茉莉酸甲酯和水杨酸处理可提高坛紫菜的生长速率,促进其藻胆蛋白、可溶性蛋白以及脯氨酸的积累,增强 PS 的光能利用率,从而有利于坛紫菜的生长,并在一定程度上增强其抗逆性。其中,50 $\mu\text{mol/L}$ MJ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ SA 的效果尤为显著。将两种植物激素进行比较,可以发现茉莉酸甲酯在促进坛紫菜总蛋白含量和脯氨酸积累方面优于水杨酸,而水杨酸在促进坛紫菜生长、藻胆蛋白积累和叶绿素荧光特性方面效果更为显著。

参考文献:

- [1] 郭雷,王淑军,吕明生,等. 浅谈紫菜的营养成分及加工前景[J]. 科学养鱼, 2009, 12: 70.
Guo Lei, Wang Shujun, Lu, et al. Mingshenget al. Nutritional composition and processing prospect of Porphyra [J]. 2009, 12: 70.
- [2] Taboada C, Millan R, Miguez I. Evaluation of marine algae *Undariapinnatifida* and *Porphyrapurpurea* as a food supplement: composition, nutritional value and effect of intake on intestinal, hepatic and renal enzyme activities in rats [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2013, 93(8): 1863-1868.
- [3] Tarakhovskaya E R, Maslov Y I, Shishova M F. Phytohormones in algae[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2007, 54(2): 163-170.
- [4] Wasternack C, Hause B. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in Annals of Botany[J]. Annals of Botany, 2013, 111(6): 1021-1058.
- [5] 章丽,龚一富,刘晓丹,等. 外源 MeJA 胁迫对盐生杜氏藻生理生化特性的影响[J]. 生物学杂志, 2013, 30(3): 38-42.
Zhang Li, Gong Yifu, Liu Xiaodan, et al. Effect of exogenous MeJA stress on Physiology and Biochemistry characteristics of *Dunaliellasalina* [J] Journal of Biology, 2013, 30 (3): 38-42.
- [6] Czerpak R, Piotrowska A, Szulecka K. Jasmonic acid affects changes in the growth and some components content in alga *Chlorella vulgaris*[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2006, 28(3): 195-203.

- [7] Piotrowska-Niczyporuk A, Bajguz A, Zambrzycka E, et al. Phytohormones as regulators of heavy metal bio-sorption and toxicity in green alga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae)[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, 52(1): 52-65.
- [8] Loake G, Grant M. Salicylic acid in plant defence-the players and protagonists[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2007, 10(5): 466-472.
- [9] Han Y, Chen G, Chen Y, et al. Cadmium toxicity and alleviating effects of exogenous salicylic acid in *Iris hexagona*[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2015, 95(6): 796-802.
- [10] Moein M, Shariati M. Effect of salicylic acid and salt stress on growth (cell division), photosynthetic pigments and beta-carotene content of unicellular alga *Dunaliellasalina* Teod[J]. *Iranian Journal of Biology*, 2011, 23(5): 638-647.
- [11] 范皖苏, 黄鹤忠, 徐汗福, 等. 外源添加剂水杨酸对菊花江蓠抗寒性的影响[J]. *海洋科学*, 2011, 35(2): 38-43.
Fan Wansu, Huang Hezhong, Xu Hanfu, et al. Additive effect of salicylic acid on the cold resistance of *Gracilarialichevooides* [J]. *Marine Sciences*, 2011, 35 (2): 38-43.
- [12] 王重彬, 邹同雷, 孙雪, 等. 水杨酸和茉莉酸甲酯对高温龙须菜 (*Gracilariaopsislemaneiformis*) 理化及基因表达的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2015, 46(5): 1132-1138.
Wang Zhongbin, Zou Tonglei, Sun Xue, et al. Salicylic acid and methyl jasmonate on high temperature asparagus (*Gracilariaopsislemaneiformis*) [J]. *Oceanology and Limnology*, 2015, 46(5): 1132-1138.
- [13] 朱招波, 孙雪, 徐年军, 等. 水杨酸对龙须菜抗高温生理的影响[J]. *水产学报*, 2012, 36(8): 1304-1312.
Zhu Zhaobo, Sun Xue, Xu Nianjun, et al. Effect of salicylic acid on *Gracilariaopsislemaneiformis* high temperature resistant physiology[J]. *Journal of fisheries*, 2012, 36 (8): 1304-1312.
- [14] Stein-Taylor J R. Culture methods and growth measurements[M]. University Press, 1973.
- [15] 张学成, 王永旭, 仵小南, 等. 不同产地龙须菜光合色素的比较研究[J]. *海洋湖沼通报*, 1993, 1: 52-59.
Zhang Xuecheng, Wang Yongxu, Wu Xiaonan, et al. Different areas *Gracilariaopsislemaneiformis* photosynthetic pigments comparative study[J]. *Trans Oceanol-Limnol*, 1993, 1: 52-59.
- [16] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical biochemistry*, 1976, 72(1-2): 248-254.
- [17] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- Li Hesheng. Principle and technology of plant physiology and biochemistry [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [18] 李静, 王俏俏, 徐年军, 等. 24-表油菜素内酯对龙须菜抗高温胁迫的研究[J]. *海洋学报*, 2014, 36(8): 82-90.
Li Jing, Wang QiaoQiao, Xu nian Jun, et al. 24- Epi-brassinolide on *Gracilariaopsislemaneiformis* high-temperature stress research[J]. *Acta oceanologica Sinica*, 2014, 36(8): 82-90.
- [19] Wasternack C, Hause B. Jasmonates and octadecanoids: signals in plant stress responses and development[J]. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, 2002, 72(72): 165-221.
- [20] Hayat Q, Hayat S, Irfan M, et al. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2010, 68(1): 14-25.
- [21] Jusoh M, Loh S H, Chuah T S, et al. Elucidating the role of jasmonic acid in oil accumulation, fatty acid composition and gene expression in *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae) during early stationary growth phase[J]. *Algal Research*, 2015, 9: 14-20.
- [22] Hayat S, Fariduddin Q, Ali B, et al. Effect of salicylic acid on growth and enzyme activities of wheat seedlings[J]. *Acta Agronomica Hungarica*, 2005, 53(4): 433-437.
- [23] Raman V, Ravi S. Effect of salicylic acid and methyl jasmonate on antioxidant systems of *Haematococcuspluvialis*[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2011, 33(3): 1043-1049.
- [24] 王俏俏, 徐年军, 朱招波. 外源水杨酸对龙须菜生长及生理的影响[J]. *海洋学研究*, 2013, 31(2): 78-85.
Wang Qiaoqiao, Xu Nianjun, Zhu Zhaobo. Study of effect exogenous salicylic acid on growth and physiology of *Gracilariaopsislemaneiformis*[J]. *Journal of Marine Sciences*, 2013, 31 (2): 78-85.
- [25] Liu C, Zhao L, Yu G. The dominant glutamic acid metabolic flux to produce γ -Amino butyric acid over proline in *Nicotianatabacum* leaves under water stress relates to its significant role in antioxidant activity[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2011, 53(8): 608-618.
- [26] Nazar R, Umar S, Khan N A, et al. Salicylic acid supplementation improves photosynthesis and growth in mustard through changes in proline accumulation and ethylene formation under drought stress[J]. *South African Journal of Botany*, 2015, 98: 84-94.
- [27] Campbell D, Hurry V, Clarke A K, et al. Chlorophyll fluorescence analysis of cyanobacterial photosynthesis and acclimation[J]. *Microbiology and Molecular Biol-*

- ogy Reviews, 1998, 62(3): 667-683.
- [28] 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J]. 植物学通报, 1999, 16(4): 444-448.
Zhang Shouren. Significance and discussion of chlorophyll fluorescence kinetic parameters [J]. Bulletin of Botany, 1999, 16 (4): 444-448.
- [29] 王晓黎, 郝敬虹, 董春娟, 等. 外源水杨酸对黄瓜幼苗叶片 PS 活性和光能分配的影响[J]. 西北植物学报, 2011, 31(8): 1644-1650.
Wang Xiaoli, Hao Jinghong, Dong Chunjuan, et al. Effects of exogenous salicylic acid on the activity of PS II and distribution of light energy in cucumber seedling leaves [J]. Northwest Journal of botany, 2011, 31(8): 1644-1650.

Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the growth and stress resistance of *Pyropia haitanensis*

HOU Sai-nan, ZOU Tong-lei, WANG Fang-jun, SUN Xue, XU Nian-jun

(School of Marine Sciences, Ningbo University, Key Laboratory of Marine Biotechnology of Zhejiang Province, Ningbo 315211, China)

Received: Jun.11, 2016

Key words: *Pyropia haitanensis*; methyl jasmonate; salicylic acid; growth; stress resistance

Abstract: To explore the effects of plant hormones on algal physiology and stress resistance, we compared the effects of different methyl jasmonate (MJ) and salicylic acid (SA) concentrations on the growth rate, phycobiliprotein content, soluble protein accumulation, proline content, and chlorophyll fluorescence parameters in *Pyropia haitanensis*. Results revealed that the growth rate of *P. haitanensis* in the 100 $\mu\text{mol/L}$ SA treatment groups increased 1.57 folds compared with that in the untreated control group. MJ treatment had no significant effect on the algal growth. We demonstrated that treatment with 50 $\mu\text{mol/L}$ MJ and 100 $\mu\text{mol/L}$ SA could significantly improve the algal phycobiliprotein content and soluble protein accumulation. Compared with the untreated control, proline content increased by 2.67 and 1.75 folds at 48 h when treated with 50 $\mu\text{mol/L}$ MJ and 100 $\mu\text{mol/L}$ SA, respectively. While the treatment with 25~50 $\mu\text{mol/L}$ MJ had no significant effect on F_v/F_m and $Y(\text{II})$, treatment with 100 $\mu\text{mol/L}$ SA improved both the two chlorophyll fluorescence parameters of *P. haitanensis*. These results indicate that treatment with MJ and SA at appropriate dosages was beneficial to the growth, photosynthetic capacity, and stress resistance ability of *P. haitanensis*.

(本文编辑: 梁德海)