

三十烷醇对几种单细胞藻生长影响的研究*

陈敏资 侯和胜

(辽宁师范大学生物系,大连 116022)

刘海涛 徐志明

(大连市甘井子区水产研究所,辽宁 116000)

提要 于1988—1990年,在大连凌水养殖二场,用 0.01×10^{-6} — 1.00×10^{-6} 三十烷醇处理亚心形扁藻、盐藻、微球藻、球等鞭金藻、新月菱形藻,观察其对藻的生长影响。结果表明,在各种浓度下以上5种藻均提前进入指数生长期。对前3种藻的最佳处理浓度为 0.10×10^{-6} ;后2种藻为 0.05×10^{-6} ;其中对亚心形扁藻,促生长效果尤为明显,可视为海产经济动物人工育苗阶段的优质饵料。

关键词 三十烷醇 单细胞藻类 增殖 生理活性 品质

作为生长调节物质的三十烷醇,无毒无污染,能对高等植物和大型经济海藻的生长起一些特殊的调节作用(Ries, 1983; 陈敏资, 1987; 姚南瑜, 1989)。随着水产养殖业的发展,单细胞藻类作为某些经济水产养殖种类人工育苗阶段的基础饵料,已广泛引起重视。关于三十烷醇对于单细胞藻类生长效应的研究,除衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*) (Houtz, 1985)外,其它单细胞藻的生长及生理效应在国内外尚未见报道。本文探讨三十烷醇对几种单细胞藻促进生长,提高生理活性和品质的最佳浓度,为其应用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料 于1986—1990年,在大连凌水养殖二场饵料室,选择处于指数生长期、细胞密度适宜且无污染的亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*)、盐藻(*Dunaliella* spp)、微球藻(*Nannochloris oculata*) (以上3种为绿藻类)、球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*, 金藻类)及新月菱形藻(*Nitzschia closterium*, 硅藻类)为试验材料。

1.2 方法 (1) 限量培养: 接种时,将藻液摇匀,按1:1比例接至已消毒F/2改良培养液中进行一次限量培养。培养液中三十烷醇(TA)的浓度分别为 0.01×10^{-6} , 0.05×10^{-6} , 0.10×10^{-6} 及 1.00×10^{-6} ,以不加TA为对照组。每个处理重复9次。培养温度,亚心形扁藻、盐藻、微球藻均在16—23℃;球等鞭金藻在20—23℃;新月菱形藻在15—20℃。光照强度分别在5 000—10 000lx, 1 500—3 000lx, 3 000—8 000lx(散射光)。每日3次振荡通气。接种后,每日上午测定各处理组细胞数目,重复3—4次,取其平均值计算出比对照提高的百分数及其生长效率(湛江水产专科学校,1980)。(2) 扩种培养: 以1 000ml亚心

* 辽宁省教委重点科研基金赞助,1989。

收稿日期: 1990年3月22日,接受日期: 1994年2月12日。

形扁藻藻种与 1 000ml 含 0.10×10^{-6} TA 的培养液接种,每隔 4 d 加入 1 000ml 培养液,测定细胞数目、生理活性并进行品质分析。以氧电极(上海植物生理学会,1985)测定光合速率,以分光光度法(Jensen,1978)测定叶绿素含量。以改良的Schmidt-Thannhauser-Schneider 法测定藻体中 DNA 和 RNA 含量。用 2,6-二氯酚靛酚滴定法测定 V_c 含量(蔡武成等,1982)。用酚-硫酸法和染料法(Kochert,1978)测定藻体中糖及蛋白质含量。

2 结果与讨论

2.1 TA 对限量培养的 5 种单胞藻细胞增殖速度的影响 结果表明,不同浓度的 TA 对采用的 5 种单胞藻的细胞增殖速度有不同程度的影响(表 1)。绿藻类对 TA 最敏感,其中对亚心形扁藻细胞增殖的促进作用最明显;其次是盐藻和微球藻。对亚心形扁藻的生长效率(相对生长常数 K'),测定结果表明,对照组为 0.22; 0.01×10^{-6} , 0.10×10^{-6} 及 1.00×10^{-6} 浓度组的分别为 0.31, 0.31 及 0.29 (时间以天——d 为单位)。群体细胞平均倍增时间分别为 1.37, 0.97, 0.97 及 1.04。 0.10×10^{-6} 浓度处理的亚心形扁藻,第二天的细胞数与对照组第 3 天的接近;第 3 天后可提前两天达到对照组的细胞数,直至第 8 天仍

表 1 TA 对限量培养的 5 种单胞藻细胞增殖的测定结果¹⁾

Tab. 1 The results of multiplication of five unicellular algae cultured in limited volume affected by TA (increase % compared with controlled one)

藻 种	处理浓度 ($\times 10^{-6}$)	测 定 结 果				
		接 种 后 天 数				
		1	2	4	6	8
亚心形扁藻	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.01	20.9	30.8	47.9	36.0	53.4
	0.10	9.7	36.4	53.4	46.0	53.2
	1.00	1.3	28.4	48.1	35.4	38.3
盐 藻	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.01	15.9	30.1	47.5	20.4	13.6
	0.10	19.1	41.3	55.0	20.9	15.3
	1.00	0.9	2.7	11.6	0.3	4.5
微球藻	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.01	4.6	17.7	24.9	6.3	1.0
	0.10	16.7	37.9	41.0	26.5	13.5
	1.00	9.9	15.6	20.1	8.2	8.7
球等鞭金藻	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.01	2.3	11.7	11.2	10.4	0.3
	0.05	9.7	24.5	29.6	23.9	20.3
	0.10	5.3	7.8	21.6	16.6	13.5
新月菱形藻	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.01	4.2	6.5	10.1	15.6	8.8
	0.05	13.6	25.6	20.3	18.9	20.3
	0.10	9.0	24.3	13.9	7.4	4.2

1) 测定结果以比对照组提高的百分数表示。

高于对照组的;其静止期也延后约 1d。用 0.10×10^{-6} TA 处理的盐藻相对生长常数也较对照组提高 7.5%, 其平均世代时间也略比对照组缩短。盐藻及微球藻在限量培养情况下, 处理组能提前 1—1.5d 达到对照组的细胞密度。3 种绿藻施用 TA 的最佳浓度为 0.10×10^{-6} , 球等鞭金藻及新月菱形藻的最佳浓度为 0.05×10^{-6} , 用其处理的藻均可提前一天达到对照组的细胞浓度。尽管 TA 对不同的藻细胞生长效率的影响不同, 但都能缩短延缓期使其迅速进入指数生长期。在单细胞藻类生产培养中, 接种培养后能否较快进入指数生长期, 在很大程度上决定着培养的成败, 施用 TA 使其延缓期缩短, 对生产培养是非常有利的, 处理组平均倍增时间缩短且静止期延后, 这就使藻类细胞迅速生长繁殖, 减少培养时间。

试验还证明, 以 $TA 0.10 \times 10^{-6}$ 浓度处理后, 限量培养第 4 天增殖效果最明显, 此效应可延续至 7—8d, 然后才逐渐与对照组有接近的趋势。可见, TA 促进单细胞藻生长的作用是比较持久的。

2.2 TA 对扩种培养的亚心形扁藻细胞增殖速度的影响 试验结果表明, 经 TA 处理后 2, 4, 6, 8d, 亚心形扁藻细胞数分别比对照组提高 10%, 34.5%, 43.8%, 60.5%; 接种后 12d, 就外观看, 处理组绿色明显比对照组深, 细胞数为对照组的 2.39 倍, 增殖速度显著提高。在水泥池开放式不通气系统大量培养中, 用 0.10×10^{-6} 浓度的 TA 处理该藻也收到同样效果。

表 2 TA 对扩种培养的亚心形扁藻细胞增殖的测定结果 ($\times 10^5$ cell/ml)

Tab. 2 The results of multiplication of *Platymonas subcordiformis* cultured in enlarged volume affected by TA ($\times 10^{-5}$ cell/ml)

处理浓度 ($\times 10^{-6}$)	测 定 结 果					
	接 种 后 天 数					
	0	2	4	6	8	12
0.00	37.3	77.5816	92.9480	103.5671	112.7495	127.3454
0.10	37.3	85.3273	125.0551	148.9167	180.9613	303.8301

2.3 TA 对亚心形扁藻生理活性的影响 测定结果表明, 以 $TA 0.10 \times 10^{-6}$ 浓度处理的亚心形扁藻、叶绿素、核酸含量和光合速率均高于对照组。叶绿素含量的提高, 增强了

表 3 TA 对亚心形扁藻叶绿素、核酸含量影响的测定结果

Tab. 3 The contents of chlorophyll and nucleic acid in *Platymonas subcordiformis* affected by TA

接种后天数	处理浓度 ($\times 10^{-6}$)	叶绿素含量 (mg/L)	比对照组提高 ($\pm\%$)	DNA		RNA	
				含 量 (mg/L)	比对照组提高 ($\pm\%$)	含 量 (mg/L)	比对照组提高 ($\pm\%$)
4	0.00	5.65	—	1.23	—	0.19	—
	0.10	6.09	+7.8	1.71	+39.0	0.25	+31.6
8	0.00	5.96	—	1.32	—	0.26	—
	0.10	7.99	+34.1	1.91	+44.7	0.37	+42.3

藻的群体光合,处理后 4,8,12d, 光合速率比对照组分别提高 20%,22%,12%,这就有利于该藻干物质的积累。藻中 DNA 和 RNA 含量的提高,可能是 TA 促进该藻细胞分裂次数增加,生长速度加快的原因。

2.4 TA 对亚心形扁藻品质的影响 亚心形扁藻经 TA 处理后 12d, 藻体中糖、蛋白质和 V_C 含量分别比对照组提高 5%,10% 和 25%,从而提高其饵料价值。Ries 等(1988)认为,TA 能被植物很快吸收,并能以不变的形式活动,它能激活某些酶的活性或改变一种细胞膜的结构,从而使代谢过程和各种中间代谢产物发生变化。本研究证明,TA 对单胞藻类的细胞增殖、生理活性及其品质提高有促进作用,但其作用机制尚有待进一步深入探讨。

参 考 文 献

- 上海植物生理学会,1985,植物生理学实验手册,上海科学技术出版社(上海),100—104。
陈敏资等,1987,三十烷醇对海带产量及品质的影响,海洋湖沼通报,4: 58—61。
陈敏资等,1987,三十烷醇对裙带菜产量的影响,水产科学,1: 12—16。
姚南瑜、陈敏资,1989,三十烷醇对海带的生长和生理活性的影响,水产学报 13(2): 133—137。
湛江水产专科学校主编,1980,海洋饵料生物培养,农业出版社(北京),58—76,89—106,195—196。
蔡武成、袁厚积,1982,生物物质常用化学分析法,科学出版社(北京),30—31,148—150,162—163。
Jensen, A., 1978, Handbook of Phycological Methods, Cambridge University Press (Cambridge), pp. 61—69。
Kochert, G., 1978, Handbook of Phycological Methods, Cambridge University Press (Cambridge), pp. 91—94, 95—98。
Ries, S. K. and Houtz, R., 1983, Triacantanol as a plant growth regulator, *Horiscience*, 18(5): 654—662。
Ries, S. K. and Violet, F. W., 1988, Rapid elicitation of second messengers by nanomolar doses of triacantanol and octacosanol, *Planta*, 173: 79—87。
Houtz, R. L. et al., 1985, Effect of Triacantanol on *Chlamydomonas* I. and II., *Plant Physiol.*, 79: 357—364, 365—370。

THE EFFECTS OF TRIACONTANOL ON MULTIPLICATION, PHYSIOLOGY, ACTIVITY AND QUALITY OF UNICELLULAR ALGAE

Chen Minzi, Hou Hesheng

(Biology Department, Liaoning Normal University, Dalian 116022)

Liu Haitao, Xu Zhiming

(Ganjing District Fisheries Research Institute, Dalian 116000)

ABSTRACT

The effects of triacontanol (TA) on unicellular algae multiplication, physiology, activity and quality were studied in Dalian during 1988 and 1990. *Platmonas subcordiformis*, *Dunaliella* spp., *Nannochloris oculata*, *Isochrusis galbana* and *Nitzschia closterium* were treated with different concentrations of TA (0.01×10^{-6} , 0.05×10^{-6} , 0.10×10^{-6} and 1.00×10^{-6}) respectively. The results showed that the lag phase of growth was shortened and cell multiplication was stimulated. The relative growth coefficient (K') of *P. subcordiformis* was 0.22 in the control, but 0.31, 0.31, and 0.29 respectively in three different treated groups (0.01×10^{-6} , 0.10×10^{-6} and 1.00×10^{-6}). The average double time of cells was 1.37 in the control, but 0.97, 0.97 and 1.04 respectively in the 0.01×10^{-6} , 0.10×10^{-6} , and 1.00×10^{-6} groups (time expressed as day). The algae cell number of the 0.10×10^{-6} group cultured two days was similar to that of the control group cultured three days. The K' in *D. spp.* treated with 0.10×10^{-6} TA was 7.5% more than that of the control. The treated groups of *D. spp.* and *N. oculata* could reach the same cell density as that in the controls 1—1.5 days early in limited culture. The optimum concentration of TA used in the treated groups of *P. subcordiformis*, *D. spp.* and *N. oculata* was 0.01×10^{-6} , but in *I. galbana* and *N. closterium* was 0.05×10^{-6} .

In enlarged culture after being treated 2,4,6,8 and 12 days, the cell numbers of *P. subcordiformis* were increased by 10%, 34.5%, 43.8%, 60.5% and 239% respectively over that of the controls.

The study indicated that treatment of *P. subcordiformis* with 0.01×10^{-6} TA can increase the photosynthesis rate and enhance the content of chlorophyll, nucleic acid, carbohydrate, protein and Vitamin C in algae. So it promotes cell multiplication and improves the algae's quality.

Key words Triacontanol Unicellular algae Multiplication Physiology
activity Quality