

油菜素内酯对两种单细胞藻 生长和某些生理活性的影响*

侯和胜 陈敏资

(辽宁师范大学生物系, 大连 116029)

提要 研究于1991年3月—1992年7月在大连进行, 实验藻取自大连凌水养殖二场饵料室。分别用浓度为5, 10, 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和1, 5, 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的油菜素内酯处理亚心形扁藻及球等鞭金藻, 研究其对单细胞藻生长的影响。结果表明, 两种藻的各处理组的生长延缓期均缩短, 细胞生长加快。促进生长的最佳浓度, 亚心形扁藻的为10 $\mu\text{g}/\text{L}$, 球等鞭金藻的为5 $\mu\text{g}/\text{L}$; 油菜素内酯可提高实验藻的叶绿素含量并促进其光合作用; 在处理组的亚心形扁藻和球等鞭金藻中, 糖、蛋白质及维生素C含量均增加。两种藻的DNA和RNA含量也明显高于对照组的, 这可能是藻细胞增殖加快的物质基础。

关键词 油菜素内酯 亚心形扁藻 球等鞭金藻 生长 生理活性

油菜素内酯(Brassinolide, BR)由Grave等(1979)首次从油菜花粉中分离鉴定。10多年的大量研究表明, 在极低浓度下, 油菜素内酯能明显促进植物细胞的伸长和分裂, 并参与调节植物体内多种生理生化过程。BR对农作物的生理作用和应用研究已经取得了很大的进展(竹松哲夫等, 1983; Mandava, 1988; Takatsuto et al., 1983), 显示出其在农业生产上良好的应用前景。但BR对单细胞藻生长的影响及其生理作用国内外尚未见报道。亚心形扁藻和球等鞭金藻是常见的海参、鲍鱼、扇贝等海珍品养殖饵料。本文报道了BR对亚心形扁藻、球等鞭金藻生长和某些生理活性、生化物质含量的影响结果, 以探讨其促进单细胞藻增殖和改善藻细胞品质的最佳浓度, 为将其用于海珍品人工育苗培养优质饵料提供依据。

1 材料与方 法

实验于1991年3月—1992年7月进行。亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*)和球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)系辽宁师范大学生物系植物生理研究室藻类培养室保存种。该种来源于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, 无污染的藻液, 摇匀后按1:1比例接种至已灭菌的F/2改良培养液中(Janet, 1987)进行分批培养。两种藻分别各设3个处理组, 其培养液中BR的浓度亚心形扁藻的分别为5, 10, 50 $\mu\text{g}/\text{L}$; 球等鞭金藻的分别为1,

* 国家自然科学基金资助项目, 3860728号。辽宁省教委重点资助项目, 870330号。侯和胜, 男, 出生于1955年1月, 博士, 副教授。

收稿日期: 1995年5月2日, 接受日期: 1996年11月8日。

5, 10 $\mu\text{g/L}$; 另外每种藻各设一对照组, 不加 BR。每处理组共 9 次重复。亚心形扁藻的培养温度为 16—23 $^{\circ}\text{C}$, 光照度为 5 000—10 000lx。球等鞭金藻的培养温度为 20—23 $^{\circ}\text{C}$, 光照度为 1 500—3 000lx (散射光)。光暗周期为 12h:12h。每日 3 次振荡通气。接种后, 每日上午测定各组细胞数目, 每个重复测 3 次, 取其平均值比较。

用促进生长的最佳 BR 浓度 10 $\mu\text{g/L}$ 处理亚心形扁藻, 5 $\mu\text{g/L}$ 处理球等鞭金藻, 测定其生理活性和品质。每个测定设 3 次重复。光合作用速率用氧电极法测定 (叶济宇等, 1985); 叶绿素含量用分光光度法测定 (Jensen, 1987); DNA 和 RNA 含量用改良的二苯胺和紫外分光光度法测定 (Cherry, 1973); 糖含量用酚-硫酸法测定 (Kochert, 1987a); 蛋白质含量用染料法测定 (Kochert, 1987b); 维生素 C 含量用 2, 6-二氯酚靛酚法测定 (蔡武城等, 1982)。

2 结果与讨论

2.1 BR 对亚心形扁藻和球等鞭金藻生长的影响结果

测定表明, BR 在 1, 5 $\mu\text{g/L}$ 浓度下即可对两种藻细胞增殖起促进作用, 见表 1。BR 处理亚心形扁藻后, 对照组的生长速度 (生长常数 K) 为 0.23; BR 浓度为 5, 10 和 50 $\mu\text{g/L}$ 处理的 3 组分别为 0.27, 0.29 和 0.27。群体细胞倍增时间, 对照组的为 1.31d; BR 3 种浓度处理的分别为 1.11d, 1.04d 和 1.11d。BR 处理亚心形扁藻的最佳浓度为 10 $\mu\text{g/L}$, 以该浓度处理的亚心形扁藻, 处理后第二天的细胞数接近对照第三天的细胞数, 其细胞倍增时间比对照快了将近半天。处理组的静止期也比对照组的延后 1d。用 BR 浓度为 1, 5, 10 $\mu\text{g/L}$ 处理球等鞭金藻, 对照组的 K 值为 0.25, 处理组的分别为 0.28, 0.30 和 0.29; 平均世代时间, 对照组的为 1.08d, 处理组的分别为 0.97d, 0.91d 和 0.94d, 均比对照组的缩短。其最佳浓度为 5 $\mu\text{g/L}$ 。

表1 BR对亚心形扁藻和球等鞭金藻生长的影响

Tab.1 Effects of BR on growth of *P. subcordiformis* and *I. galbana*

藻名	BR 浓度 ($\mu\text{g/L}$)	细胞数的对数 (以 10 为底)						
		测定时间 (接种后天数, d)						
		0	1	2	3	4	5	6
亚心形扁藻	0	2.04	2.15	2.32	2.36	2.37	2.45	2.46
	5	2.04	2.21	2.36	2.38	2.41	2.46	2.52
	10	2.04	2.22	2.37	2.42	2.43	2.49	2.57
	50	2.04	2.19	2.36	2.37	2.38	2.46	2.53
球等鞭金藻	0	1.98	2.11	2.25	2.31	2.34	2.45	2.49
	1	1.98	2.22	2.27	2.31	2.35	2.48	2.53
	5	1.98	2.22	2.28	2.33	2.42	2.49	2.55
	10	1.98	2.17	2.28	2.32	2.40	2.48	2.54

BR 处理单细胞藻, 可使其生长延缓期缩短, 迅速进入指数生长期, 且可使细胞保持较长时间的旺盛生长。生长静止期比对照组的稍有延后。这就使藻细胞在单位时间和体积内明显增加, 为缩短饵料培养时间, 在相同时间和相同培养容积的条件下, 获得更多的饵料提供了可能性。

2.2 BR 对亚心形扁藻和球等鞭金藻生理活性和品质的影响结果

用促进生长的最佳 BR 浓度(见 2.1)处理亚心形扁藻和球等鞭金藻后, 测定藻细胞的生理活性和品质变化。结果见表 2 和表 3。这里以亚心形扁藻的结果说明 BR 对藻细胞生理和品质的影响。处理后第 4 天测定其叶绿素含量和光合速率, 结果见表 2。光合速率单位表示的是每毫克叶绿素每小时放出氧气的毫克数。测定结果表明, BR 处理组的藻细胞叶绿素含量和光合速率分别比对照组的提高 10.6% 和 16.75%, 这对藻细胞的干物质积累是十分有利的。测定显示, 处理组的干重为 0.901g/L, 对照组的为 0.622g/L, 处理组的干物质比对照组的提高了 44.85%。处理后第 4 天测定藻细胞中的核酸含量, 结果见表 2。结果表明, 藻细胞内的核糖核酸(RNA)和脱氧核糖核酸(DNA)含量均明显提高, 分别增加 37.4% 和 26.3%。藻体内核酸含量的增加, 为该藻细胞分裂次数的增加, 提高生长速度提供了重要的物质保证。

BR 对亚心形扁藻品质的影响, 见表 3。可见, 亚心形扁藻经 BR 处理后, 藻体中糖、蛋白质和维生素 C 含量分别比对照组的提高了 4.4%, 14.3% 和 22.7%。藻体内这几种营养成分含量的增加, 一方面提高了细胞的干物质含量, 另一方面也明显改善了藻细胞的品质, 这就提高了亚心形扁藻作为饵料的营养价值, 对海珍品的培育是十分有利的。

表2 BR处理后亚心形扁藻和球等鞭金藻中叶绿素、光合速率和核酸含量的变化

Tab.2 Changes of chlorophyll, photosynthetic rate and nucleic acid contents in *P. subcordiformis* and *I. galbana* after BR treatment

藻名	BR浓度 ($\mu\text{g/L}$)	叶绿素含量 (mg/L)	光合速率 [$\text{mg}/(\text{mg}\cdot\text{h})$]	RNA		DNA	
				含量(mg/L)	增加%	含量(mg/L)	增加%
亚心形扁藻	0	5.65	1.97	1.23	0	0.19	0
球等鞭金藻	10	6.25	2.30	1.69	37.4	0.24	26.3
亚心形扁藻	0	5.24	1.76	1.24	0	0.20	0
球等鞭金藻	5	5.79	2.05	1.68	35.5	0.25	25.0

表3 BR对亚心形扁藻和球等鞭金藻中某些营养成分含量的影响

Tab.3 Effects of BR on the contents of some nutritive components in *P. subcordiformis* and *I. galbana*

藻名	BR浓度 ($\mu\text{g/L}$)	糖含量 (mg/L)	蛋白质含量 (mg/L)	维生素C含量 (mg/L)
亚心形扁藻	0	450	210	0.126
球等鞭金藻	10	470	240	0.155
亚心形扁藻	0	440	225	0.120
球等鞭金藻	5	465	255	0.148

本研究的结果表明, BR 对海珍品养殖的主要饵料亚心形扁藻和球等鞭金藻生长有明显的促进作用, 前者最佳施用浓度为 $10\mu\text{g/L}$, 后者为 $5\mu\text{g/L}$ 。BR 也表现出对亚心形扁藻和球等鞭金藻的某些生理活性和营养物质含量的促进作用, 其作用机制有待进一步研究。

3 结语

3.1 油菜素内酯明显促进亚心形扁藻和球等鞭金藻的生长, 施用于两种藻的最佳浓度

分别为 $10\mu\text{g} / \text{L}$ 和 $5\mu\text{g} / \text{L}$ 。

3.2 施用 BR 后, 可缩短饵料的培养时间, 以达到在相同的培养时间和培养体积条件下, 收获更多藻细胞的目的。

3.3 BR 处理后, 两种藻的糖、蛋白质和维生素 C 含量均有增加, 干物质积累明显高于对照组的。这说明饵料品质有所提高。这对海参等海珍品的养殖是十分有益的。

参 考 文 献

- 叶济宇等, 1985, 植物生理学实验手册, 上海科学技术出版社(上海), 100—104。
 蔡武城等, 1982, 生物物质常用化学分析法, 科学出版社(北京), 162—165。
 竹松哲夫等, 1983, 植物の化学调节, **18**(1): 38—54。
 Cherry, J. H., 1973, *Molecular Biology of Plant*, Columbia University Press (New York), pp. 68—82。
 Grave, M. D. et al., 1979, *Nature*, **281**: 216。
 Janet, R. S., 1987, *Handbook of Phycological Methods*, Cambridge University Press (New York), pp. 8—23。
 Jensen, A., 1987, *Handbook of Phycological Methods*, Cambridge University Press (New York), pp. 61—69。
 Kochert, G., 1987, *Handbook of Phycological Methods*, Cambridge University Press (New York), pp. 91—93a, 94—97b。
 Mandava, N. B., 1988, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **39**: 23—52。
 Takatsuto, S. et al., 1983, *Phytochemistry*, **22**(11): 2 437—2 441。

EFFECTS OF BRASSINOLIDE ON GROWTH AND SOME PHYSIOLOGICAL ACTIVITIES OF *PLATYMONAS* *SUBCORDIFORMIS* AND *ISOCHRYSIS GALBANA*

Hou Hesheng, Chen Minzi

(Department of Biology, Liaoning Normal University, Dalian 116029)

Abstract This March 1991—July 1992 study using unicellular algae *P. subcordiformis* and *I. galbana* supplied by the Second Lingshui Fisheries Culture Farm of Dalian was carried out to find the optimum Brassinolide (BR) concentrations which stimulate the multiplication and increase the quantity of the algae. It is important to determine the effects of BR on the growth and physiological activities of the algae because the scientific data thus obtained can be used to increase the production and enhance the quality of the algae treated with BR.

The algae were cultured in a sterilized f/2 media treated with BR at concentrations of 0, 5, 10, 50 $\mu\text{g} / \text{L}$ for *P. subcordiformis*, and 0, 1, 5, 10 $\mu\text{g} / \text{L}$ for *I. Galbana*. The cultures were maintained in 12:12 Light-dark cycles at 5 000—10 000lx, 16—23°C for *P. subcordiformis* and at 1 500—3 000 lx, 20—23°C for *I. galbana*. The growth of the algae during one week of BR treatment were measured with spectrophotometer every morning. Chlorophyll, photosynthesis, nucleic acid,

carbohydrate, protein and vitamin C in the algae were measured after 4 days of BR treatment (10 $\mu\text{g/L}$ and 5 $\mu\text{g/L}$ for *P. subcordiformis* and *I. galbana* respectively). The results show that algae cells multiplications were promoted at low BR concentrations (1, 5 $\mu\text{g/L}$ for *I. galbana* and *P. subcordiformis* respectively). The growth constants were 0.23 in the control, 0.27, 0.29, 0.27 in the treated group for *P. subcordiformis*. Similarly, they were 0.25 in the control, 0.28, 0.30, 0.29 in treated group for *I. Galbana*. The lag phase of growth were shortened about 0.5 day in every treated group. The optimum concentration of BR used for *P. subcordiformis* was 10 $\mu\text{g/L}$; it was 5 $\mu\text{g/L}$ for *I. galbana* (Tab.1). Chlorophyll content and photosynthetic rate increased by 10.6% and 16.75% respectively for *P. subeordiformis* and 10.5% and 16.48% respectively for *I. galbana* in treated groups. Dry weight of *P. subcordiformis* treated with BR was 0.901 g/L and it was 0.622 g/L in the control. The increases of nucleic acids in treated groups were 37.4%, 35.50% (RNA) and 26.3%, 25.0% (DNA) in *P. subcordiformis* and *I. galbana* respectively (Tab.2). In addition, carbohydrate, protein, and vitamin C in the algae increased by 4.4%, 14.3%, 22.7% and 5.68%, 13.3%, 23.3% respectively after BR treatment (Tab.3).

It may be concluded from these results that BR apparently has a growth promoting effect on the algae and can also improve the nutritive values of the algae. When cultures of the algae are treated with proper amount of BR, the yield will be increase.

Key words Brassinolide *Platymonas subcordiformis* *Isochrysis galbana*
Growth Physiological activity