

NAA 对小球藻生长及叶绿素和蛋白质含量的影响

吕 富,林伟峰,石祥根

(盐城工学院 化学与生物工程学院,江苏 盐城 224003)

摘 要:在室温 17~26 ℃、2000 Lx 连续光照条件下,研究了植物生长调节物质 NAA 对小球藻生长及叶绿素和蛋白质含量的影响。结果表明,与对照组相比,0.25~4.0 mg/L 的 NAA 对小球藻的生长及叶绿素和蛋白质含量都有不同程度的促进作用,其中 2.0 mg/L 的 NAA 对小球藻的生长及叶绿素和蛋白质含量的促进效果最佳。

关键词:小球藻;NAA;生长;叶绿素;蛋白质

中图分类号:S963.213

文献标识码:A

文章编号:1671-5322(2006)02-0042-04

小球藻(*Chlorella vulgaris*)营养丰富,蛋白质含量一般占干重的 50% 左右,藻体中必需氨基酸的含量丰富均衡,并且富含 EPA、DHA 和各种维生素与矿质元素,是人类理想的保健食品和营养源,经临床实验,其特有的多糖、糖蛋白和糖脂等物质对多种疾病有良好的疗效,Tanaka 等^[1]报道了小球藻的抗癌疗效,Yamaguchi^[2]报道了小球藻对贫血、高血压、糖尿病、营养不良和神经病等疾病的独特疗效,此外小球藻在水产养殖中也广泛应用。正是由于该藻的重要作用,人们对该藻非常重视,不断探索促进该藻生长和提高其营养品质的方法,一些学者研究了培养液营养盐对该藻生长和营养品质的影响^[3,4],刘世名等^[5]研究了 IAA(吲哚乙酸)、IBA(吲哚丁酸)及 6-BA(6-苄氨基嘌呤)三种植物生长调节物质对该藻异生长的影响。

植物生长调节物质具有低毒高效的特性,对高等农作物的增产促收效果显著,在高等农作物生产中的应用已十分普遍。现在,越来越多的学者开始研究植物生长调节物质对经济微藻生长和营养品质的影响,研究较多的植物生长调节物质有 IAA、IBA、6-BA、TA(三十烷醇)、2,4-D(2,4-二氯苯氧乙酸)、GA3(赤霉素),而关于 NAA

(奈乙酸)对于单细胞藻生长及品质的研究和运用较少,仅见徐淑风等^[6]、史成颖等^[7]和李师翁等^[8]分别对底栖硅藻、螺旋藻和蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)的研究。本文初步研究和探讨了 NAA 对小球藻生长及叶绿素和蛋白质含量的影响及其作用机理。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 藻种

小球藻由江苏省海洋研究所提供。

1.1.2 药品

NAA, C₁₂H₁₀O₂, 化学纯,中国医药集团上海化学试剂公司出品。

1.2 方法

1.2.1 培养液配置

将海水过滤后加热消毒,冷却至室温后,每 1 000 mL 海水依次加入 NaNO₃ 0.04 g, CO(NH₂)₂ 0.04 g, KH₂PO₄ 0.01 g, 1% FeC₆H₅O₇ 0.25 mL, 维生素 B₁ 200 μg, 维生素 B₁₂ 200 ng, 每加一种营养元素后经反复摇匀再加入另一种营养元素。

1.2.2 NAA 浓度梯度设置

以 1:4 的比例,将处于指数生长期的藻种接

• 收稿日期:2006-03-15

作者简介:吕 富(1971-),男,江苏东台市人,硕士,盐城工学院讲师,主要研究方向为水生经济动植物营养与生态生理。

入上述配制好的培养液中,充分摇匀后将藻液转移到24只消毒的锥形瓶中,添加NAA,使得各瓶中NAA的最终浓度分别为:0(对照)、0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0 mg/L,每个浓度梯度设置3个平行组。

1.2.3 小球藻的培养和管理

将添加NAA的各藻液摇匀后,置于室温17~26℃、2 000 Lx连续光照条件下培养,每天定时摇瓶4次。

1.2.4 小球藻生长的测定

使用unico-2100型紫外可见分光光度计每隔1 nm扫描藻液的吸收峰值,并在此波长下测定不同密度藻液的光密度,判断波长的选择是否合理。扫描结果在298 nm波长下藻液的吸光值最大,并且藻液的密度与OD₂₉₈值成直线关系,满足方程 $y = 1.0 \times 10^7 x$ (x 为OD₂₉₈值; y 为每毫升藻液的细胞数), $R^2 = 0.9876$ 。从培养初始时到培养终止时,每天测定藻液的吸光光度值。相对生长常数 $K = (\ln N_t - \ln N_0) / t$ (t 是培养时间, N_0 是培养初始时的OD₂₉₈值, N_t 是培养 t 时间后的OD₂₉₈值),倍增时间 $G = 0.301 / K$ 。

1.2.5 小球藻叶绿素和蛋白质含量的测定

藻液培养8 d后,4 000 r/min离心5 min,获取藻泥冷冻干燥,称取少量(0.018~0.040 g)藻粉加入80%的丙酮定容至10 ml,避光抽提24 h,

取上清液分别在665 nm和649 nm波长下测定吸光光度值OD₆₆₅和OD₆₄₉,根据公式 $Chla = 13.7 OD_{665} - 5.76 OD_{649}$, $Chlb = 25.8 OD_{649} - 7.6 OD_{665}$ 计算10 mL溶液中叶绿素a和叶绿素b的含量再除以10ml溶液中所含藻粉的质量即可算出每克藻粉中所含叶绿素a和叶绿素b的质量。称取少量(0.2~0.3 g)藻粉使用凯氏定氮法测定蛋白质含量。

2 结果与分析

2.1 NAA对小球藻生长的影响

NAA对小球藻生长的影响如表1所示,从第1 d到第8 d,添加0.25~4.0 mg/L的NAA,藻液的OD₂₉₈值都要相应地高于对照组的OD₂₉₈值,这表明0.25~4.0 mg/L的NAA可缩短小球藻生长的延缓期和延长小球藻的指数生长期时间,从而对小球藻的生长具有促进作用。当NAA的质量浓度在0~2.0 mg/L范围内,随NAA质量浓度增大,藻液的OD₂₉₈值也相应增大;当NAA的质量浓度在2.0~4.0 mg/L范围内,NAA的质量浓度越大,藻液的OD₂₉₈值就越小,这说明2.0 mg/L的NAA对小球藻的促生长作用最佳。由表1还可以看出,添加适量的NAA可有效的提高小球藻的相对生长常数,缩短藻细胞的倍增时间。

表1 NAA对小球藻生长的影响

Table1 Effect of NAA on the growth of *Chlorella vulgaris*

NAA 质量 μ/mg · L ⁻¹	OD ₂₉₈ 值										相对生长 常数 K	平均倍增 时间 G/d
	0 d	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d			
0	0.173	0.180	0.206	0.234	0.273	0.318	0.341	0.370	0.404	0.046 0	6.537 5	
0.25	0.173	0.187	0.210	0.245	0.286	0.327	0.349	0.381	0.418	0.047 9	6.285 1	
0.5	0.173	0.193	0.219	0.251	0.286	0.329	0.363	0.393	0.423	0.048 6	6.197 4	
1.0	0.173	0.209	0.241	0.271	0.300	0.328	0.372	0.412	0.436	0.050 2	5.998 4	
1.5	0.173	0.216	0.252	0.307	0.337	0.374	0.405	0.447	0.489	0.056 4	5.332 6	
2.0	0.173	0.218	0.289	0.348	0.393	0.434	0.474	0.497	0.515	0.059 3	5.079 7	
3.0	0.173	0.214	0.250	0.279	0.308	0.336	0.368	0.429	0.477	0.055 1	5.463 1	
4.0	0.173	0.179	0.208	0.248	0.301	0.338	0.358	0.419	0.463	0.053 5	5.628 2	

2.2 NAA对小球藻叶绿素和蛋白质含量的影响

由表2可知,与对照组相比,添加0.25~4.0 mg/L的NAA对小球藻叶绿素和蛋白质含量都有不同程度的促进作用,各添加组的Chla、Chlb和粗蛋白含量都明显高于对照组,其中2.0 mg/L的NAA对小球藻叶绿素和蛋白质含量的促进效

果最佳。这表明添加适量的NAA不仅可以提高小球藻的产量,而且还可以提高小球藻的品质。

3 讨论

3.1 NAA对小球藻生长及叶绿素和蛋白质含量影响的效果

表 2 NAA 对小球藻叶绿素和蛋白质含量的影响

Table 2 Effect of NAA on the chlorophyll and the protein content of *Chlorella vulgaris*

NAA 质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	每克干藻粉中叶绿素含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$		干藻粉中粗蛋白含量/%
	Chla	Chlb	
0	0.607 7	0.675 2	44.68
0.25	0.621 8	0.877 5	45.01
0.5	0.623 5	0.962 6	45.07
1.0	0.741 1	1.034 3	51.85
1.5	0.920 2	1.004 5	53.21
2.0	1.039 9	1.197 0	57.31
3.0	0.700 8	0.833 7	47.04
4.0	0.647 8	0.833 7	46.03

NAA 和其他植物生长调节物质一样,它对植物影响的效果与其施用的浓度有关,一般而言,在低浓度条件下促进植物的生长,高浓度条件下抑制生长甚至可以杀死植物体。本研究结果表明:0.25~4.0 mg/L 的 NAA 对小球藻的生长、叶绿素和蛋白质含量都有不同程度的促进作用,其中 2.0 mg/L 的 NAA 对小球藻的促进效果最佳,如果进一步增加 NAA 的浓度就有可能产生抑制作用甚至杀死小球藻。另外,不同的植物类型对 NAA 的敏感性也不相同,徐淑凤等^[6]研究发现 0.5 mg/L 的 NAA 即可对底栖硅藻的生长繁殖产生明显的促进作用,史成颖等^[7]研究发现 5.0 mg/L 的 NAA 对螺旋藻的生长有明显的促生长效果,而李师翁等^[8]研究发现 NAA 的浓度高达 25.0 mg/L 时,对蛋白核小球藻也有促生长效果。作者推测,NAA 对小球藻促生长的效果可能还与培养液中的营养盐以及培养的环境条件如光照、温度等有关,当培养液中的某些营养盐的量或培养条件不适时可能会影响 NAA 的促生长效果。郑凌凌等^[9]研究证实:在培养后期当培养液中的硝酸盐被消耗,TA 乳粉对螺旋藻硝酸还原酶活性的促进作用减弱,在光照强度 500~3 000 Lx 范围内,TA 乳粉可显著提高螺旋藻的光合活性,而在光照强度 4 000~5 000 Lx 范围内,TA 乳粉对螺旋藻的光合活性影响不大。NAA 对小球藻的作用是否

也有与 TA 乳粉对螺旋藻的作用有相似的情况,这有待于进一步研究证实。在今后,加强对 NAA 和营养盐及环境因子相关性研究十分必要,这将有助于在生产实践中更合理地使用 NAA。

3.2 NAA 促进小球藻生长的作用机制

NAA 是一种生长素类似物,其本身并不参与对植物的营养作用,目前,人们对生长素调节植物生长的作用机制还没有完全清楚,一般认为生长素首先与其受体结合,进而通过复杂的生理生化反应诱导特定基因加速表达,促进 RNA 和蛋白质的生物合成,为细胞的分裂繁殖奠定物质基础。通过大量的研究,人们^[10]已经发现存在于植物体膜外表面的生长素受体 ABP I 和位于细胞核中的生长素受体 SABP I 和 SABP II,生长素与这些受体结合,形成“生长素-受体”复合物,可以识别基因的启动子部位,这为上述观点提供了理论依据。由试验结果可知,适量的 NAA 能够提高藻细胞的蛋白质含量,这与上述观点也极为一致。蛋白质是光合作用的基本结构——类囊体的物质基础,而类囊体是光合色素的载体,因此,藻细胞蛋白质含量的增高有利于叶绿素含量的增加,这与试验结果一致。而叶绿素含量的增高又有利于藻细胞的光合作用,可以进一步加速藻细胞内各种物质(包括蛋白质)的积累,这就为促进藻细胞的生长、分裂繁殖奠定了物质基础。

参考文献:

- [1] Tanaka K, Konishi F, Himeno K, et al. Augmentation of antitumor resistance by a strain of unicellular green alga *Chlorella vulgaris* [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 1984, 17:90-94.
- [2] Yamaguchi K. Recent advanced in microalgal bioscience in Japan, with special reference to utilization of biomass and metabolites: a review [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1997, 8:487-502.

- [3] 李荷芳,周汉秋. 营养盐对小球藻的生长、脂肪含量及 EPA 含量影响的研究[J]. 海洋科学集刊,2000,42:55-64.
- [4] 杨海波,于媛,刘艳,等. 营养元素对小球藻生长及胞内蛋白质和多糖含量的影响[J]. 水产科学,2004,23(1):6-9.
- [5] 刘世名,梁世中. 植物激素在小球藻异培养中的作用[J]. 植物学通报,1999,16(6):696-700.
- [6] 徐淑凤,刘志芳. 添加植物生长刺激素 α -萘乙酸钠培养底栖硅藻的效果[J]. 水产科学,1987,6(2):43-44.
- [7] 史成颖,蔡为荣,甘旭华,等. 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.
- [8] 李师翁,王毅民. 几种化学物质对小球藻生长和蛋白含量的效应[J]. 微生物学通报,1998,25(2):91-92.
- [9] 郑凌凌,庄惠如,刘德盛. TA(三十烷醇)乳粉对钝顶螺旋藻的促生长作用及生理调控[J]. 应用与环境生物学报,2004,10(5):631-634.
- [10] Barbier - Brygoo H. Tranking auxin receptors using functional approaches[J]. Critical Rev Plant Sci, 1995,14:1-25.

The Effects of NAA on the Growth, Chlorophyll and Protein Content of *Chlorella Vulgaris*

LV Fu, LIN Wei - feng, SHI Xiang - gen

(School of Chemical Engineering and Biological Engineering, Yancheng Institute of Technology, Jiangsu Yancheng 224003, China)

Abstract: The effects of NAA on the growth, chlorophyll and protein content of *Chlorella vulgaris* were studied under room temperature of 17-26°C and continual lighting of 2000lx. Results show that when compared with the control group, the NAA of 0.25~4.0mg/L has different contribution, of which the NAA of 2.0mg/L contributes most to the growth, chlorophyll and protein content of *Chlorella vulgaris*.

Keywords: *Chlorella vulgaris*; NAA; growth; chlorophyll; protein

(上接第 37 页)

Preparation, Characterization and Photocatalysis of Pt/TiO₂

ZHANG Feng

(Department of Material Engineering of Yancheng Institute of Technology, Jiangsu Yancheng 224003, China)

Abstract: TiO₂ nanoparticles were prepared by reverse microemulsion system and sol-gel method with titanium isopropoxide as precursor. Pt/TiO₂ was obtained by photo-reduction. The structure was characterized by XRD and XPS. XRD results showed TiO₂ as prepared was anatase and the average particle size was about 17 nm. XPS analysis revealed the presence of Pt as mainly metallic state and small oxidative state. Photocatalysis tests showed that Pt/TiO₂ exhibited higher activity than pure TiO₂. The mechanism of photocatalytic activity enhancement of the Pt/TiO₂ was discussed by photoluminescence spectra.

Keywords: Pt/TiO₂; sol-gel; photocatalysis