

文章编号: 1004-7271(2006)02-0190-05

复合氨基酸对小球藻的生长、叶绿素 a 含量 及光合放氧量的影响

谢 群, 王明学, 闫洪海

(华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430070)

摘 要:研究了液体和固体复合氨基酸对蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoides*)生长和生理活性的影响。结果表明,两种复合氨基酸对小球藻生长、叶绿素 a 含量和光合放氧量均有显著促进作用,液体复合氨基酸和固体复合氨基酸对小球藻促生长的最佳浓度分别为 40 mg/L 和 11.12 mg/L。当液体复合氨基酸浓度为 40 mg/L,相对增长率(RGR)较对照组增加了 81.58%,平均倍增时间(G)缩短了 45.08%,叶绿素 a 含量和光合放氧量比对照组分别增加了(72.25 ± 1.69)%和(38.05 ± 2.58)%;当固体复合氨基酸浓度为 11.12 mg/L,相对增长率较对照组增加了 17.31%,平均倍增时间缩短了 14.48%,叶绿素 a 含量和光合放氧量比对照组分别增加了(119.03 ± 4.72)%和(34.49 ± 1.98)%。

关键词:复合氨基酸;生长;小球藻;叶绿素 a;光合放氧量

中图分类号:S 968.41 文献标识码:A

The effect of compound amino acid on the growth, chlorophyll-a content and oxygen releasing of *Chlorella pyrenoides*

XIE Qun, WANG Ming-xue, YAN Hong-hai

(Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: The effect of compound amino acid on the growth and physiological activity of *Chlorella pyrenoides* was studied. The results showed that compound amino acid could significantly improve the growth rate, chlorophyll-a content and oxygen releasing of *Chlorella pyrenoides* with different concentrations. The optimum concentrations of liquid and solid compound amino acid used in *Chlorella pyrenoides* were 40 mg/L and 11.12 mg/L respectively. When the concentration of liquid compound amino acid was 40 mg/L, the relative growth rate increased by 81.58% compared with control group, and the average double time decreased by 45.08%. Compared to the control group, chlorophyll-a content and oxygen releasing increased (72.25 ± 1.69)% and (38.05 ± 2.58)% respectively; When the concentration of solid compound amino acid was 11.12 mg/L, the relative growth rate increased by 17.31% compared with control group, and the average double time decreased by 14.48%. Compared to the control group, chlorophyll-a content and oxygen releasing increased (119.03 ± 4.72)% and (34.49 ± 1.98)% respectively.

Key words: compound amino acid; growth; *Chlorella pyrenoides*; chlorophyll-a; oxygen releasing

收稿日期: 2005-05-25

基金项目: 湖北省“十五”科技攻关项目资助(2001AA211A)

作者简介: 谢 群(1980 -), 女, 湖南冷水江人, 硕士, 研究方向为资源环境。E-mail: xiequn@mail.hzau.edu.cn

通讯作者: 王明学, 湖北武汉人, 教授。

复合氨基酸化学性能稳定,生物效价高,无毒无刺激,同时具有杀菌和改善免疫等功能,对动植物具有增加产量、提高品质的作用^[1],已被国内外越来越多的研究所证实。在农作物方面,从主要粮食作物到油料作物、经济作物、水果、蔬菜等,复合氨基酸几乎对所有农作物都有不同程度的增产作用。目前,国外学者曾研究过甘氨酸对斜生栅藻与小球藻生长的影响^[2],及国内学者刘学铭和梁世中^[3]也作过关于谷氨酸对小球藻生长的影响的研究,而关于复合氨基酸对藻类生长效应的研究情况,在国内外尚未见报道。小球藻属于绿藻门中单细胞藻,它不仅是水产动物的天然饵料,同时很多研究表明在养殖水体接种小球藻可调节和优化浮游生物的群落结构,降低水体中氮、磷的浓度,增加溶解氧,从而改善水体的化学环境条件^[4,5],可达到防病的目的。因此,合理培养和利用小球藻在水产动物的健康养殖中具有重要意义。本试验采用分别在培养液中添加液体和固体复合氨基酸来培养小球藻,探讨这两种不同形式复合氨基酸对小球藻促生长的最佳浓度,为其利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料:蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoides*),引自中国科学院水生生物研究所藻种室;液体复合氨基酸氮态氮含量:7720.2 mg/100mL;固体复合氨基酸氮态氮含量:278 mg/100g,两种复合氨基酸均购于河北大学复合氨基酸厂。

1.2 方法

培养基:小球藻采用 SE 培养基;培养方法:均采用 250 mL 三角瓶装培养液 200 mL,接种时将藻液摇匀,接种至已灭菌的培养液中。每个梯度均设置 3 个重复组,每日定时 3 次振荡通气,并随机交换各瓶位置以减少光照误差。光暗循环周期为 12 h:12 h,光强 2000 ~ 2200 lx,温度(25 ± 0.5) °C。

1.3 测定项目与统计分析

藻类细胞生长的测定:采用常规血球计数板计数,隔日一次。自接种当日起,隔日在同一时间(10:00 am)测定吸光度值。用 722 型分光光度计测定在波长为 650 nm 时的吸光度(OD)值,用 OD_{650 nm} 表示^[6,7];叶绿素 a 含量的测定^[8]:应用可见吸收光谱法测定 85% 丙酮提取液中叶绿素 a 的含量;光合放氧量的测定^[9]:碘量法;采用 Excel 软件对数据进行线性回归分析和单因素方差分析,多重比较采用 Duncan 氏检验方法。

2 结果与分析

2.1 复合氨基酸对小球藻生长的影响

2.1.1 液体复合氨基酸对小球藻生长的影响

从表 1 可知,液体复合氨基酸对小球藻促生长作用效果显著($P < 0.05$),经统计分析小球藻的生长速度与时间也呈直线相关。比较 RGR 值、G 值,小球藻的相对生长率随着复合氨基酸浓度的增加而增加,平均倍增时间随之缩短。在液体复合氨基酸浓度达到 40 mg/L 时,RGR 值最大,G 值最小,随着复合氨基酸浓度继续增加,小球藻的生长速度开始下降。在本试验设定的浓度梯度范围内,经过 12 d 的培养,当复合氨基酸浓度为 40 mg/L 时,每天测得的小球藻细胞浓度均显著高于其他浓度组($P < 0.05$),促进作用最明显,第 2 天的细胞浓度是初始浓度的 3 倍之多,测定结果的细胞浓度比对照组提高了 94.17%,相对生长率也较对照组增加了 81.58%,平均倍增时间缩短了 45.08%,生长率明显提高。

表1 液体复合氨基酸对小球藻生长的影响

Tab.1 Effect of liquid compound amino acid on the growth of *Chlorella pyrenoides*

复合氨基酸 (mg/L)	OD 值							回归方程	R	RGR	G(d)
	0 d	2 d	4 d	6 d	8 d	10 d	12 d				
CK	0.078	0.270	0.317	0.301	0.287	0.245	0.223	$Y = 0.0157X + 0.1478$	0.808	0.038	7.92
5	0.069	0.268	0.305	0.316	0.327	0.345	0.350	$Y = 0.0182X + 0.1737$	0.801	0.059	5.12
10	0.070	0.274	0.315	0.321	0.339	0.354	0.370	$Y = 0.0194X + 0.1757$	0.815	0.060	5.00
15	0.075	0.277	0.294	0.328	0.346	0.362	0.364	$Y = 0.0194X + 0.1756$	0.829	0.057	5.26
22	0.072	0.285	0.345	0.357	0.363	0.392	0.384	$Y = 0.0209X + 0.1889$	0.803	0.061	4.97
26	0.074	0.241	0.325	0.329	0.373	0.401	0.402	$Y = 0.0241X + 0.1616$	0.894	0.061	4.91
27	0.068	0.269	0.374	0.368	0.412	0.423	0.415	$Y = 0.0248X + 0.1841$	0.836	0.065	4.60
30	0.068	0.262	0.355	0.365	0.398	0.421	0.403	$Y = 0.0244X + 0.1782$	0.846	0.064	4.67
38	0.066	0.276	0.324	0.370	0.391	0.411	0.422	$Y = 0.0251X + 0.1723$	0.872	0.067	4.48
40	0.064	0.288	0.395	0.399	0.457	0.449	0.433	$Y = 0.0266X + 0.1953$	0.820	0.069	4.35
42	0.067	0.141	0.200	0.205	0.313	0.395	0.421	$Y = 0.0301X + 0.0685$	0.986	0.067	4.53
75	0.071	0.082	0.094	0.106	0.252	0.253	0.298	$Y = 0.0211X + 0.0386$	0.933	0.052	5.80

注: Y 为细胞浓度, X 为培养时间(d), RGR 为相对增长率, G 为平均倍增时间(d)

2.1.2 固体复合氨基酸对小球藻生长的影响

从表 2 可知,每个处理组的初始的吸光度随着固体复合氨基酸浓度的增加而增加,这是由于不同量的固体复合氨基酸溶于培养液后呈现的颜色,而每个处理组的小球藻的初始浓度是一致的。经统计分析小球藻的生长速度与时间也呈直线相关,比较 RGR 值、G 值,固体复合氨基酸在 0.695 ~ 12.51 mg/L 的浓度范围内对小球藻具有促生长作用,尤以 11.12 mg/L 为佳,每天测得的小球藻的细胞浓度均显著高于其他浓度组 ($P < 0.05$),促进作用最明显,相对增长率也较对照组增加了 17.31%,平均倍增时间缩短了 14.48%。从表 2 可以看出,当固体复合氨基酸浓度达到 13.90 mg/L 时,对小球藻的生长有抑制作用。

表2 固体复合氨基酸对小球藻生长的影响

Tab.2 Effect of solid compound amino acid on the growth of *Chlorella pyrenoides*

复合氨基酸 (mg/L)	OD 值						回归方程	R	RGR	G(d)
	0 d	2 d	4 d	6 d	8 d	10 d				
CK	0.036	0.075	0.084	0.090	0.111	0.119	$Y = 0.0073X + 0.0486$	0.952	0.052	5.80
0.695	0.038	0.080	0.082	0.098	0.118	0.128	$Y = 0.0083X + 0.0492$	0.965	0.053	5.71
1.39	0.042	0.079	0.087	0.105	0.126	0.143	$Y = 0.0095X + 0.0496$	0.987	0.053	5.66
2.28	0.048	0.082	0.103	0.125	0.135	0.169	$Y = 0.0112X + 0.0542$	0.990	0.055	5.51
5.56	0.052	0.088	0.112	0.134	0.156	0.179	$Y = 0.0123X + 0.0587$	0.995	0.054	5.61
8.34	0.063	0.115	0.163	0.182	0.195	0.230	$Y = 0.0156X + 0.0799$	0.974	0.056	5.35
11.12	0.074	0.161	0.217	0.266	0.282	0.299	$Y = 0.022X + 0.1067$	0.956	0.061	4.96
12.51	0.078	0.115	0.157	0.182	0.196	0.263	$Y = 0.017X + 0.08$	0.984	0.053	5.70
13.90	0.083	0.149	0.176	0.198	0.229	0.248	$Y = 0.0155X + 0.1029$	0.976	0.048	6.33
20.85	0.120	0.193	0.222	0.245	0.258	0.272	$Y = 0.014X + 0.1485$	0.939	0.036	8.47

注: Y 为细胞浓度, X 为培养时间(d), RGR 为相对增长率, G 为平均倍增时间(d)。

2.2 复合氨基酸对小球藻生理活性的影响

2.2.1 液体复合氨基酸对小球藻叶绿素和光合放氧量的影响

表 3 结果显示,经液体复合氨基酸处理的小球藻叶绿素 a 含量和光合放氧量均高于对照组。当液体复合氨基酸浓度为 40 mg/L 时,其叶绿素 a 含量和光合放氧量比对照组分别增加了 $(72.25 \pm 1.69)\%$ 和 $(38.05 \pm 2.58)\%$ 。随着液体复合氨基酸浓度继续增加为 75 mg/L 时,其叶绿素 a 含量和光合放氧量均有降低的趋势。这与上述测定液体复合氨基酸各处理浓度对小球藻促进生长的结果相符。这表明生长速度增加的原因可能是由于复合氨基酸增加了叶绿素含量,加强了光合作用,从而提高了光合作用

用效率,促进了小球藻生长。

此外,从表 3 中可以看到当复合氨基酸浓度为 27 mg/L 时,光合放氧量最大,比对照组增加了 (39.78 ± 2.12)%。这说明光合放氧量的大小与藻体细胞密度有关,浓度为 40 mg/L 的复合氨基酸对小球藻促生长效果最佳,其细胞密度是最大的,但在小球藻细胞悬浮液中,细胞密度增大,光透入的强度随之而减弱,这对小球藻的光合作用有一定影响。

表 3 液体复合氨基酸对小球藻的生理影响(平均值 ± 标准差)

Tab.3 Physiological effect of liquid compound amino acid on *Chlorella pyrenoides* (M ± SD)

液体复合氨基酸 (mg/L)	叶绿素 a 含量 (μg/mL)	光合放氧量 (mg/L)	比 CK 增加(%)	
			叶绿素 a	光合放氧量
CK	0.231 5 ± 0.009 6 ⁱ	5.75 ± 0.17 ^h	0	0
5	0.268 2 ± 0.004 5 ^{fb}	6.23 ± 0.22 ^{fb}	16.00 ± 3.66	8.34 ± 1.66
10	0.251 4 ± 0.009 9 ^{hi}	6.54 ± 0.30 ^{ter}	8.62 ± 1.62	13.69 ± 1.83
15	0.274 3 ± 0.009 2 ^{fb}	5.96 ± 0.18 ^{fb}	18.53 ± 1.43	3.66 ± 1.20
22	0.289 6 ± 0.006 5 ^{cd}	7.06 ± 0.16 ^{cd}	25.20 ± 2.61	22.81 ± 1.42
26	0.297 6 ± 0.004 9 ^e	7.35 ± 0.13 ^c	28.69 ± 3.29	27.88 ± 1.65
27	0.331 7 ± 0.006 9 ^d	8.04 ± 0.33 ^a	43.41 ± 3.15	39.78 ± 2.12
30	0.348 2 ± 0.009 9 ^{cd}	7.41 ± 0.33 ^{bc}	50.50 ± 2.33	28.82 ± 2.29
38	0.361 2 ± 0.015 3 ^{bc}	6.97 ± 0.32 ^{cde}	56.03 ± 1.82	21.16 ± 2.17
40	0.398 6 ± 0.012 9 ^a	7.94 ± 0.33 ^{ab}	72.25 ± 1.69	38.05 ± 2.58
42	0.372 3 ± 0.013 5 ^b	6.43 ± 0.20 ^{efg}	60.86 ± 1.05	11.83 ± 1.14
75	0.256 5 ± 0.012 4 ^{fb}	5.84 ± 0.17 ^h	10.77 ± 1.53	1.57 ± 0.14

注:不同的字母表示不同质量浓度的液体氨基酸间有显著差异($P < 0.05$)

2.2.2 固体复合氨基酸对小球藻叶绿素和光合放氧量的影响

表 4 结果显示,经固体复合氨基酸处理的小球藻叶绿素 a 含量和光合放氧量均显著高于其它组 ($P < 0.05$)。当固体复合氨基酸浓度为 11.12 mg/L 时,叶绿素 a 的含量是对照组的 2 倍多,显著高于对照组 ($P < 0.05$)。从表 2 可以看出处理浓度为 11.12 mg/L 时,测定结果的细胞浓度差不多是对照组的 3 倍,尽管藻体细胞密度大,光的透入强度会受影响,但由于细胞迅速繁殖,参加光合作用的藻体数量会显著增多,光合放氧量也随之显著增加,因此,当复合氨基酸的浓度为 11.12 mg/L 时的光合放氧量最大。当固体氨基酸浓度继续增至为 20.85 mg/L 时,其叶绿素 a 含量和光合放氧量均有降低的趋势。当固体氨基酸浓度为 0.695 mg/L 和 20.85 mg/L 时,小球藻叶绿素 a 含量和光合放氧量与对照组 CK 无显著性差异 ($P > 0.05$)。固体复合氨基酸能增加小球藻叶绿素含量,加强光合作用,提高光合作用效率,促进了小球藻的生长。

表 4 固体复合氨基酸对小球藻的生理影响(平均值 ± 标准差)

Tab.4 Physiological effect of solid compound amino acid on *Chlorella pyrenoides* (M ± SD)

固体复合氨基酸 (mg/L)	叶绿素 a 含量 (μg/mL)	光合放氧量 (mg/L)	比 CK 增加(%)	
			叶绿素 a	光合放氧量
CK	0.112 4 ± 0.007 7 ^e	6.85 ± 0.19 ^c	0	0
0.695	0.119 6 ± 0.007 0 ^{de}	7.26 ± 0.13 ^{de}	6.52 ± 2.94	6.02 ± 1.42
1.39	0.127 3 ± 0.009 6 ^{de}	8.53 ± 0.13 ^{abc}	13.21 ± 1.33	24.58 ± 2.10
2.28	0.133 8 ± 0.007 4 ^{de}	8.67 ± 0.31 ^{abc}	19.15 ± 1.75	26.56 ± 2.35
5.56	0.142 0 ± 0.011 8 ^d	8.17 ± 0.13 ^c	26.20 ± 2.01	19.32 ± 2.08
8.34	0.171 6 ± 0.013 2 ^c	8.98 ± 0.23 ^{ab}	52.59 ± 3.14	31.12 ± 2.30
11.12	0.246 4 ± 0.020 0 ^a	9.21 ± 0.18 ^a	119.03 ± 4.72	34.49 ± 1.98
12.51	0.223 7 ± 0.010 9 ^{ab}	7.56 ± 0.35 ^d	99.33 ± 5.46	10.33 ± 2.89
13.90	0.203 2 ± 0.011 7 ^b	8.66 ± 0.32 ^{abc}	80.92 ± 2.14	26.42 ± 2.89
20.85	0.113 5 ± 0.007 8 ^e	7.34 ± 0.21 ^{de}	0.98 ± 0.15	7.16 ± 1.50

注:不同的字母表示不同质量浓度的固体氨基酸间有显著差异($P < 0.05$)

3 讨论

复合氨基酸能促进植物的生长,改善作物品质,提高蛋白质、维生素的含量,刺激植物生长,提高农作物的产量,且对某些作物的病害有很好的防治作用^[10]。但是关于复合氨基酸对单细胞藻类生长效应研究至今未曾见报道。通过本研究证明了两种复合氨基酸对小球藻的生长和增殖均具有促进作用,尽管两种复合氨基酸对小球藻生长效率影响不同,但都能减少平均倍增时间,可缩短延缓期是藻类细胞迅速生长繁殖。

试验证明,液体复合氨基酸和固体复合氨基酸对小球藻促生长的最佳质量浓度分别为 40 mg/L 和 11.12 mg/L,2 种复合氨基酸在最佳质量浓度下对小球藻促生长效果有一定差别,经液体复合氨基酸处理的小球藻相对生长率比固体复合氨基酸增加 13.11%,平均倍增时间缩短 12.30%,表明液体复合氨基酸对小球藻促进生长效果较好。试验还表明,固体复合氨基酸的浓度过高则表现出抑制作用,如当质量浓度在 13.90 mg/L 时,小球藻的相对生长率比对照组降低了 7.69%,平均倍增时间比对照组增加了 9.14%;使用浓度过低,其促进作用也不明显。而对液体复合氨基酸而言,使用浓度范围很大,从 5 ~ 75 mg/L 对小球藻生长均有显著促进作用,以 40 mg/L 的浓度为小球藻最适宜的生长浓度。由于复合氨基酸中含有多种微量元素和氨基酸,刘思俭等^[11]研究指出适量的微量元素对促进孢子萌发是有一定的效果的,因此微量元素对藻类生长有一定的影响。而氨基酸可促进小球藻对不同氮源的利用,刘学铭和梁世中^[3]指出谷氨酸可明显促进小球藻对铵盐的利用,促进小球藻生物量增加和叶绿素合成;在以硝酸盐为氮源时,谷氨酸可增加小球藻的生物量,对叶绿素含量无明显影响。在本试验中,2 种复合氨基酸的浓度不同,影响小球藻生长效果也不同,这也许与它们所含的微量元素和氨基酸的种类和含量不同有关,因而造成对小球藻生长效果的不同差别,关于这点还需要进一步研究和验证。

参考文献:

- [1] 邵建华,韩永圣,高芝祥. 复合氨基酸微量元素螯合物饲料添加剂的应用与开发[J]. 广东微量元素科学,2001,8(12):12-18.
- [2] 中国农业科学院(译). 国外小球藻的试验和研究[M]. 上海:上海科学技术出版社,1961.
- [3] 刘学铭,梁世中. 谷氨酸对异养培养小球藻的影响[J]. 氨基酸和生物资源,1999,21(1):1-3.
- [4] Darnall D W. Selective recovery of gold and other metal ions from an algal biomass[J]. Environmental Science Technology,1986,20(2):206-208.
- [5] 张振华,韩士群,严少华,等. 虾池接种小球藻对浮游生物及水化学环境的影响[J]. 水产科技情报,2000,27(2):67-69.
- [6] 周永欣,章宗涉. 水生生物毒性试验方法[M]. 北京:农业出版社,1989.65-67,184-185.
- [7] 胡先文,董元彦,张新萍,等. 可见分光光度测定水华鱼腥藻[J]. 华中农业大学学报,2002,21(3):295-297.
- [8] 黄祥飞,孙鸿烈,刘光崧. 湖泊生态调查观测与分析[M]. 北京:中国标准出版社,2000.77-79.
- [9] 吴新儒. 淡水养殖水化学[M]. 北京:中国农业出版社,1999.219-221.
- [10] 邵建华,陆腾甲. 氨基酸微肥的生产和应用[J]. 应用技术,2000,(10):26-28.
- [11] 刘思俭,林本松,曾淑芳,等. 植物生长刺激素、微量元素、营养盐对细基江蕨孢子萌发影响的试验[J]. 水产学报,1984,8(2):179-184.