

郭金耀,杨晓玲,秦洁,等. 外源维生素 B<sub>2</sub>对盐藻生长的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(5):216-217.

# 外源维生素 B<sub>2</sub>对盐藻生长的影响

郭金耀,杨晓玲,秦洁,王志龙,江苏苏

(淮海工学院海洋学院,江苏连云港 222005)

**摘要:** 将盐藻接入不同浓度的维生素 B<sub>2</sub> 培养液中,检测其对盐藻色素形成、细胞生长与蛋白质积累的影响。结果表明,维生素 B<sub>2</sub> 对盐藻的作用效应表现为低浓度促进、高浓度抑制;维生素 B<sub>2</sub> 浓度为 800 μg/L 时,盐藻 β-胡萝卜素、叶绿素 a 和叶绿素 b 形成最多、细胞繁殖最快、蛋白质积累量最大。

**关键词:** 维生素 B<sub>2</sub>;盐藻色素;细胞生长;蛋白质积累

**中图分类号:** Q945.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)05-0216-02

盐藻 (*Dunaliella salina*) 是价值颇高的一种经济藻种。盐藻 β-胡萝卜素具有非常重要的医疗和保健价值<sup>[1]</sup>,盐藻蛋白质是人类的理想食物和一些名贵水产动物幼体的优质饵料<sup>[2]</sup>,因此,开展盐藻培养的研究具有非常重要的意义。目前,许多学者正在由各种外加条件入手,探索改变盐藻的培养液,研究各种适宜的盐藻培养条件,期待得出一个有效、经济、环保的配方<sup>[3]</sup>。符方尧等研究了维生素 B<sub>1</sub> 和维生素 B<sub>12</sub> 对盐藻生长繁殖的影响<sup>[4]</sup>。作者探索了维生素 B<sub>2</sub> 与盐藻色素形成、细胞生长和蛋白质积累的关系,以期对盐藻的培养利用提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

盐藻由中国海洋大学提供,试验前培养至对数生长期。

### 1.2 试验方法

1.2.1 试验处理 取盐藻母液 4 000 r/min 离心 20 min,收集盐藻细胞洗入新鲜盐藻培养基<sup>[3]</sup>中,使藻液在 450 nm 处的吸光度约为 0.2,再分装到 100 mL 培养瓶中,每瓶 60 mL,共 15 瓶。然后分别向培养液中加入维生素 B<sub>2</sub> 母液适量,形成含维生素 B<sub>2</sub> 分别为 0、400、800、1 200、1 600 μg/L 的质量浓度梯度,每个维生素 B<sub>2</sub> 质量浓度重复 3 次。封口后放于恒温

培养箱中培养,培养温度白天为 25 ℃,夜间为 20 ℃;光照与黑暗时间比为 12 h : 12 h,白天的光照度为 3 500 lx。培养 15 d 后,检测盐藻色素、细胞生长与蛋白质的变化。

1.2.2 盐藻密度测定 取盐藻培养液,以未加入盐藻的培养基为空白,于波长 450 nm 下分别测定各盐藻培养液的吸光度  $D$ ,根据下式计算盐藻细胞密度。

$$\text{盐藻细胞密度} (\times 10^7 \text{ 个/mL}) = (943D - 61) \times 10^4$$

1.2.3 盐藻 β-胡萝卜素及叶绿素 a、b 测定 分别取 5 mL 各密度的盐藻藻液,4 000 r/min 离心 20 min 收集细胞,加入适量 90% 丙酮溶液提取色素,并于分光光度计读取  $D_{450 \text{ nm}}$ 、 $D_{665 \text{ nm}}$ 、 $D_{649 \text{ nm}}$ 。

根据 Jensen 公式<sup>[5]</sup>换算出藻液中的 β-胡萝卜素含量:

$$\beta\text{-胡萝卜素含量} (\text{mg/L}) = D_{450 \text{ nm}} \times V \times f \times 10^3 / 2\ 500 = 8 \times D_{450 \text{ nm}}$$

式中:  $V$  为提取液的体积 (10 mL);  $F$  为稀释倍数 (2); 2500 为吸光度与 β-胡萝卜素换算关系。

根据下式计算叶绿素 a、b 的含量<sup>[6]</sup>。由于所测盐藻液稀释至原藻液的 2 倍,下式算出的含量要乘以 2。

$$\text{叶绿素 a 含量} (\text{mg/L}) = 13.7D_{665 \text{ nm}} - 5.76D_{649 \text{ nm}}$$

$$\text{叶绿素 b 含量} (\text{mg/L}) = 25.8D_{649 \text{ nm}} - 7.6D_{665 \text{ nm}}$$

1.2.4 盐藻蛋白质测定 分别取 10 mL 各密度盐藻藻液,4 000 r/min 离心 20 min 收集盐藻细胞,加蒸馏水定容至 10 mL。在 -35 ℃ 低温冰箱中反复冻融 4 次,再用超声波细胞粉碎机破碎 120 s,4 000 r/min 离心 20 min 收集上清液,即为蛋白质提取液。分别于分光光度计测定波长为 280 nm 和

收稿日期:2012-09-26

作者简介:郭金耀(1956—),男,教授,研究方向为植物生理。

E-mail: gjyao6688@yahoo.com.cn.

## 参 考 文 献:

- [1] 蔡春芳. 青鱼 (*Mylopharyngodon pices* Richardson) 和鲫 (*Carassius auratus*) 对饲料糖的利用及其代谢机制的研究 [D]. 上海: 华东师范大学, 2004.
- [2] 王沛宾, 林学群, 尹秀芬. 饥饿与恢复投喂对红鳍笛鲷血液生化指标的影响 [J]. 水产养殖, 2004, 25(5): 31-34.
- [3] 陈晓耘. 饥饿对南方鲇幼鱼血液的影响 [J]. 西南农业大学学报, 2000, 22(2): 167-169, 176.
- [4] 钱云霞. 饥饿对养殖鲈蛋白酶活性的影响 [J]. 水产科学, 2002, 21(3): 6-7.
- [5] 缪凌鸿, 刘波, 戈贤平, 等. 高碳水化合物水平日粮对异育银鲫生长、生理、免疫和肝脏超微结构的影响 [J]. 水产学报, 2011, 35(2): 221-230.
- [6] 伍莉, 陈鹏飞. 微生态制剂对大口鲈和鲫鱼生长及血液指标的影响 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2007, 32(1): 82-86.
- [7] 孙红梅, 黄权, 丛波. 饥饿对黄颡鱼血液中几种免疫相关因子的影响 [J]. 大连水产学院学报, 2006, 21(4): 307-310.
- [8] 冯涛, 郑微云, 洪万树, 等. 苯并(a)芘对大弹涂鱼肝脏谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响 [J]. 中国水产科学, 2001, 7(4): 19-21.
- [9] 谭树华, 何典翼, 严芳, 等. 亚硝酸钠对鲫鱼肝脏丙二醛含量和总抗氧化能力的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(增刊): 21-24.

260 nm 处吸光度,根据下式<sup>[6]</sup>计算藻液中盐藻细胞蛋白质含量。

$$\text{盐藻蛋白质}(\text{mg/mL}) = 1.55D_{280\text{nm}} - 0.76D_{260\text{nm}}$$

## 2 结果与分析

### 2.1 维生素 B<sub>2</sub> 与盐藻色素积累的关系

由图 1 可见,在不同浓度的维生素 B<sub>2</sub> 作用下,盐藻内  $\beta$ -胡萝卜素、叶绿素 a、叶绿素 b 具有相同的积累变化规律。当维生素 B<sub>2</sub> 浓度为 0 时,盐藻内各色素相对积累较少,随着维生素 B<sub>2</sub> 浓度由 0 升至 800  $\mu\text{g/L}$ ,各色素的积累呈上升状态,当维生素 B<sub>2</sub> 浓度达到 800  $\mu\text{g/L}$  时,各色素的积累达到最大值;当维生素 B<sub>2</sub> 浓度由 800  $\mu\text{g/L}$  升到 1 600  $\mu\text{g/L}$  时,盐藻内各色素积累呈现下降趋势,值较低。浓度过高或过低的维生素 B<sub>2</sub> 对盐藻光合色素积累不利,800  $\mu\text{g/L}$  的维生素 B<sub>2</sub> 可使  $\beta$ -胡萝卜素、叶绿素 a、叶绿素 b 积累达到最大值,从而促进盐藻的光合作用,增加细胞内物质积累,使盐藻生长加速。

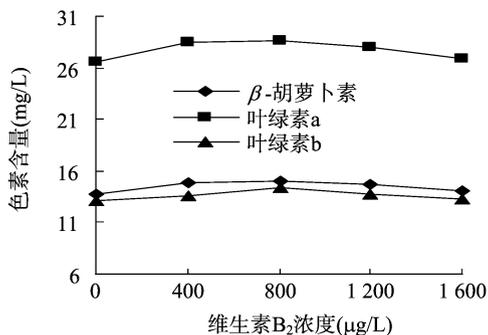


图1 维生素B<sub>2</sub>对盐藻色素的影响

### 2.2 维生素 B<sub>2</sub> 与盐藻生长的关系

由图 2 可见,在不同浓度的维生素 B<sub>2</sub> 作用下,盐藻密度的变化与光合色素的变化规律相同,即在维生素 B<sub>2</sub> 浓度由 0 升至 800  $\mu\text{g/L}$  时,盐藻密度增大;随着维生素 B<sub>2</sub> 质量浓度由 800  $\mu\text{g/L}$  进一步升至 1 600  $\mu\text{g/L}$  时,盐藻密度减少;在维生素 B<sub>2</sub> 质量浓度为 800  $\mu\text{g/L}$  时,盐藻密度最大。说明盐藻细胞的增殖与光合色素密切相关,随着盐藻细胞光合色素含量的提高,盐藻细胞的光合作用加强,合成的有机物质增多,促

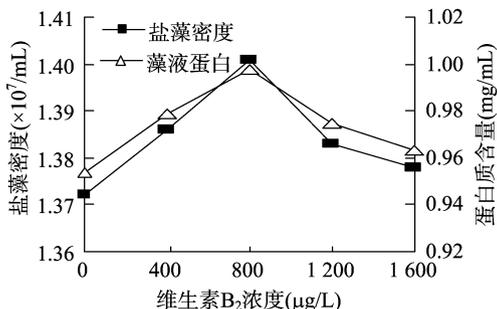


图2 维生素B<sub>2</sub>对盐藻生长与蛋白积累的影响

进盐藻细胞的生长;随着盐藻细胞光合色素含量的降低,盐藻细胞的光合作用减弱,合成的有机物质减少,盐藻细胞的生长受到抑制。

图 2 也显示,在不同浓度的维生素 B<sub>2</sub> 作用下,盐藻蛋白质积累变化规律与盐藻密度完全一致,即在维生素 B<sub>2</sub> 浓度由 0 升至 800  $\mu\text{g/L}$  时,盐藻蛋白升高;在维生素 B<sub>2</sub> 浓度为 800  $\mu\text{g/L}$  时,盐藻蛋白含量最高,达 0.998 mg/mL;而维生素 B<sub>2</sub> 浓度由 800  $\mu\text{g/L}$  继续升至 1600  $\mu\text{g/L}$  时,盐藻蛋白下降。说明单位藻液中盐藻细胞蛋白含量的变化与盐藻细胞密度正相关,即盐藻细胞密度越大,单位体积藻液中盐藻蛋白含量越高,反之则低。单位体积藻液中盐藻蛋白质的增加或减少是盐藻密度变化的主要原因之一,维生素 B<sub>2</sub> 通过调节色素的形成和光合作用而影响了蛋白质的积累量,进而又影响了盐藻密度的变化。

## 3 小结与讨论

维生素是人和动物维持正常的生理功能所必需的。不同的维生素对微藻的生长作用不同。胡桂坤等指出,维生素 B<sub>1</sub> 促小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 分裂作用极显著,但维生素 B<sub>12</sub> 和维生素 H 则无显著影响<sup>[7]</sup>。汪本凡等认为,维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>6</sub>、维生素 B<sub>12</sub> 和维生素 H 是盐藻增殖非必需的外源有机营养,是盐藻的生长促进因子<sup>[8]</sup>。盐藻在改良的 Johnsons 培养液中,维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>6</sub>、维生素 B<sub>12</sub>、维生素 H 最适浓度分别为 100、20、50、110  $\mu\text{g/L}$ 。在本试验中,维生素 B<sub>2</sub> 对盐藻的作用效应表现为低质量浓度促进、高质量浓度抑制;可使盐藻  $\beta$ -胡萝卜素、叶绿素 a 和叶绿素 b 形成最多、细胞繁殖最快、蛋白质积累量最大的维生素 B<sub>2</sub> 浓度为 800  $\mu\text{g/L}$ ,这对改进盐藻培养技术和提高生物量提供了基础性资料。

### 参考文献:

- [1] 刘成玉,王春波,蓝孝贞,等. 盐藻  $\beta$ -胡萝卜素对恶性肿瘤病人红细胞免疫粘附肿瘤细胞能力的影响[J]. 中国海洋药物,2000(1):30-32.
- [2] 刘亚军,赵文. 杜氏藻的生物学和生态学研究进展[J]. 大连水产学院学报,2004,19(2):126-131.
- [3] 郭金耀,杨晓玲. 锰对盐藻生长与物质积累的调控作用[J]. 水产科学,2008,27(3):148-150.
- [4] 符方尧,蒋霞敏,宋微微,等. V<sub>B1</sub>、V<sub>B12</sub>对盐藻生长繁殖的影响[J]. 水产科学,2006,25(5):236-239.
- [5] Hellebust J A, Craigie J S. Handbook of phycolgical methods[M]. Cambridge: Cambridge University Press,1978:59-70.
- [6] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006:143-144.
- [7] 胡桂坤,张青田,庞金鑫. 三种维生素对小球藻的增殖效应研究[J]. 海湖盐与化工,2005,34(4):22-25.
- [8] 汪本凡,唐欣响,赵良侠,等. 四种维生素对杜氏盐藻生长的影响[J]. 水生生物学报,2008,32(3):400-402.