

球等鞭金藻生长抑制物对藻细胞的抑制效应 及抗氧化剂对抑制效应的抵制作用*

孙颖颖¹⁾ 王长海^{2)**}

(¹⁾大连理工大学环境与生命学院, 大连 116024; ²⁾烟台大学海洋学院, 烟台 264005)

摘要 以球等鞭金藻为材料, 研究生长抑制物 GI 对藻细胞生长、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (peroxidase, POD) 活性和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量的影响; 同时研究 4 种抗氧化剂(抗坏血酸、柠檬酸、乙二胺四乙酸二钠和 3-叔丁基-4-羟基-苯甲醚) 对 GI 抑制效应的抵制作用。结果表明, 0.10 mg/L GI 处理组藻细胞密度、SOD 和 POD 活性明显低于对照组, 而 MDA 含量明显高于对照组。且随着 GI 浓度的继续增大, 细胞密度、SOD 和 POD 活性急剧降低, 而 MDA 含量进一步升高。GI 浓度为 0.30 mg/L 时, 处理组藻细胞密度、SOD 和 POD 活性以及 MDA 含量分别为对照组藻细胞密度的 0.05 倍、SOD 活性的 0.56 倍、POD 活性的 0.59 倍和 MDA 含量的 2.2 倍。4 种抗氧化剂均能有效地抵制 GI 对藻细胞的抑制效应, 使细胞密度、SOD 活性和 POD 活性提高, MDA 含量降低。添加抗氧化剂处理组的藻细胞密度为对照组细胞密度的 1.38~1.90 倍、SOD 和 POD 活性分别为对照组活性的 1.49~2.12 倍和 1.55~2.13 倍, 而 MDA 含量比对照组含量降低 57.7%~87.9%。生长抑制物的胁迫使球等鞭金藻细胞体内积累了过量的活性氧, 而抗氧化剂通过清除藻细胞体内积累的活性氧, 减轻了膜脂过氧化伤害, 从而抵制了生长抑制物对藻细胞的抑制效应。

关键词 球等鞭金藻, 生长抑制物, 抑制效应, 抗氧化剂

学科分类号 Q436.1

在微藻培养过程中, 特别是高密度培养后期, 由于更加有限的细胞空间, 更小的细胞间距, 更强的细胞间相互作用, 使得细胞间相互抑制现象非常明显。某些学者已经在微拟球藻 (*Nannochloropsis vulgaris*), 雪藻 (*Parietochloris incisa*) 和球等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 等微藻的高密度培养物中发现了细胞间相互抑制现象^[1~3]。引起微藻细胞间相互抑制作用的物质被 Fogg 和 Hellebust^[4, 5] 称为“生长抑制物”(growth inhibitor)。目前, 微藻细胞间相互抑制现象在小球藻 (*Chlorella vulgaris*), 雨生红球藻 (*Haematococcus pluvialis*) 和中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 等微藻的培养过程中也被发现^[6~8]。现有生长抑制物的相关报道主要集中在生长抑制物对某些微藻的抑制现象和分离、纯化及结构鉴定上^[8~14], 有关生长抑制物的抑制作用的机理研究鲜见报道。

生物体在正常情况下, 能够依靠体内抗氧化体系中的超氧化物歧化酶活性 (superoxide dismutase, SOD) 和过氧化物酶 (peroxidase, POD) 消除过量的氧自由基, 从而起到保护细胞的作用^[15]。然而, 在外界胁迫下, 植物体内会增加活性氧的产量。如,

超氧化物阴离子自由基 ($O_2^{\cdot-}$)、过氧化氢 (H_2O_2)、羟自由基 ($\cdot OH$)、单线态氧 (1O_2)。这些自由基能参与叶绿体的降解, 降低抗坏血酸含量及抗坏血酸过氧化物酶活性, 攻击生物膜中的不饱和脂肪酸, 引发膜脂过氧化反应, 形成膜脂过氧化产物丙二醛 (malondialdehyde, MDA), 破坏细胞内膜系统, 导致细胞被破坏^[15~17]。

笔者在球等鞭金藻生长抑制物对藻细胞的抑制作用研究上已有初步结果^[3], 并且已经从球等鞭金藻培养液中分离获得纯度很高的生长抑制物 GI。本文在此基础上, 研究了生长抑制物 GI 胁迫下藻细胞 MDA 含量、SOD 和 POD 活性等变化, 进一步明确球等鞭金藻生长抑制物对自身藻细胞的抑制效应, 同时通过添加 3 种水溶性抗氧化剂 (抗坏血酸、柠檬酸、乙二胺四乙酸二钠) 和 1 种脂溶性抗氧化剂 (3-

* 国家“十五”科技攻关资助项目 (2001BA707B03)。

** 通讯联系人。

Tel: 053-56706288, E-mail: chwang2001@163.com

收稿日期: 2007-03-11, 接受日期: 2007-06-07

叔丁基-4-羟基-苯甲醚), 进行了抗氧化剂对生长抑制物作用于藻细胞抑制效应的抵制作用研究. 这对研究生长抑制物的抑制效应机制, 进一步提高微藻的高密度培养有重要意义.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

RE52CS-2型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); SHB-B₉₅型循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司); BS-100A自动部分收集器 (上海康华生化仪器制造有限公司); UV-1800紫外/可见分光光度计 (北京瑞丽分析仪器公司); ZF-1型三用紫外分析仪 (江苏省海门市其林贝尔制造有限公司).

微孔滤膜 (0.45 μm水膜, 0.45 μm有机膜) (北京金欧亚科技发展有限公司); SephadexG-15 (北京经科宏达生物技术有限公司); 硅胶GF₂₅₄薄层色谱预制板 (烟台市化学工业研究所); 乙酸乙酯为分析纯; 球等鞭金藻藻种 (烟台大学海洋生化工程研究所).

1.2 生长抑制物 (GI) 的制备

收集生长处于衰亡期的球等鞭金藻培养液(培养时间为28天), 采用离心和0.45 μm微孔滤膜过滤的方法, 除去藻细胞. 获得的上清液pH调至2~3后, 乙酸乙酯萃取, 萃取物减压蒸干后, 用适量NaOH溶解. 蒸馏水稀释后, 采用SephadexG-15凝胶层析柱(3.0 cm × 60 cm)进行分离. 测定235 nm处馏分的吸光度, 合并相同组分. 然后将每一组分的pH调至2~3后, 用乙酸乙酯萃取. 萃取物减压浓缩后, 进行硅胶G薄层层析制备 (20 cm × 20 cm × 0.20 mm). 最终通过反复改变薄层层析的条件, 获得纯度很高的样品(GI). 经结构鉴定, GI为长链脂肪族的醛酮衍生物, 分子质量为414 u.

1.3 抑制实验

将球等鞭金藻接入含有0, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25和0.30 mg/L GI的f/2培养基中, 培养7天. 每个实验组设定3个平行样, 每日取样进行细胞生物量的测定. 培养温度(23±1)℃, 光强3 200 Lx, 连续光照, 第7天确定GI对藻细胞的生长抑制量和半抑制浓度EC₅₀. 同时测定细胞MDA含量、SOD和POD活性, 确定相对酶活.

1.4 抗氧化剂对生长抑制物的抑制效应的影响

以含有半抑制浓度GI的f/2培养基作为基础培养液, 添加不同浓度的抗氧化剂后, 用于球等鞭金藻的培养. 培养10天, 温度(23 ±1)℃, 光强

3200 Lx, 连续光照. 每个实验组设定3个平行样, 每隔一日取样测定细胞生物量. 第7天测定细胞MDA含量、SOD和POD活性. 抗坏血酸、柠檬酸、乙二胺四乙酸二钠和3-叔丁基-4-羟基-苯甲醚浓度见表1.

Table 1 The concentration of antioxidants

Antioxidants	$\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$				
L-Ascorbic acid	0	10	15	20	25
Citrazinic acid	0	5	10	15	20
Lenediamiaettraacetic acid disodium salt	0	10	15	20	25
3-tert-butyl-4-hydroxyanisole	0	1.80	2.16	2.88	3.60

1.5 MDA含量、SOD和POD活性的测定

参照文献[18~20]方法, 重复3次, 取其平均值.

1.6 数据处理

实验数据采用11.5软件包进行独立样本检验统计分析, 以 $P < 0.05$ 显著性差异, $P < 0.01$ 为极显著性差异.

生长抑制量的计算: 生长抑制量/% = $(1 - N/N_0) \times 100$, 其中 N 为处理组藻细胞密度/($10^4 \cdot \text{ml}^{-1}$); N_0 为对照组藻细胞密度/($10^4 \cdot \text{ml}^{-1}$).

相对丙二醛含量的计算: 相对丙二醛含量 = $M_{\text{处理组}}/M_{\text{对照组}}$, $M_{\text{处理组}}$ 为处理组的相应MDA含量/($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$); $M_{\text{对照组}}$ 为对照组的相应MDA含量/($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$).

相对酶活的计算: 相对酶活 = $U_{\text{处理组}}/U_{\text{对照组}}$, $U_{\text{处理组}}$ 为处理组的相应酶活(U/g或 $A_{470}/(\text{min} \cdot \text{g})$); $U_{\text{对照组}}$ 为对照组的相应酶活(U/g或 $A_{470}/(\text{min} \cdot \text{g})$).

2 结果与讨论

2.1 生长抑制物对球等鞭金藻细胞的抑制效应

2.1.1 生长抑制物对球等鞭金藻细胞生长的影响. 图1表明, 生长抑制物对球等鞭金藻细胞的生长有极显著的抑制作用($P < 0.01$). 在第7天, 不同浓度的生长抑制物对球等鞭金藻细胞的生长抑制量分别为39.2%、59.5%、83.1%、93.7%和94.6%. 通过计算, 我们确定了生长抑制物对藻细胞生长的半抑制浓度EC₅₀, 其值为0.127 mg/L.

2.1.2 生长抑制物对球等鞭金藻丙二醛含量和抗氧化体系酶活性的影响.

从图2可以看出, 当生长抑制物浓度从0.10 mg/L增大到0.30 mg/L时, 球等鞭金藻丙二醛含量随着生长抑制物浓度的增大而增大. 在

0.30 mg/L时, 相对丙二醛含量取得最大值, 为2.219, 丙二醛含量明显高于($P < 0.05$)对照组; 同时可以看到, 在5个生长抑制物浓度下, 丙二醛相对含量均在1.1之上. 而超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性却随着生长抑制物浓度的增大而显著降低($P < 0.05$), 生长抑制物浓度从0.10 mg/L增大到0.30 mg/L, 其相对酶活分别从0.820降低至0.567, 由0.841降低至0.588.

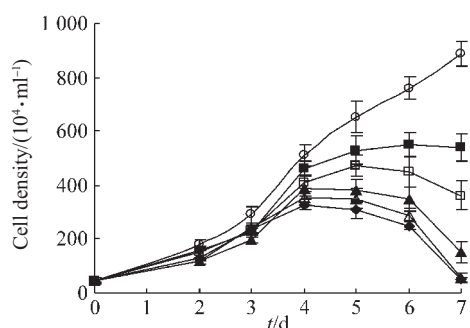


Fig. 1 Effect of different concentration of the growth-inhibitor on the growth of *Isochrysis galbana*

○—○: 0; □—□: 0.15 mg/L; △—△: 0.25 mg/L; ■—■: 0.10 mg/L; ▲—▲: 0.20 mg/L; ◆—◆: 0.30 mg/L.

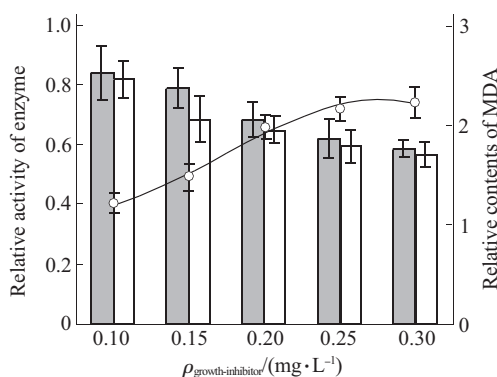


Fig. 2 The effect of content of MDA and the activity of POD and SOD of *Isochrysis galbana*

■: POD; □: SOD; ○—○: MDA.

在外界环境胁迫下, 植物体内固有的活性氧产生与清除之间的平衡被打破, 造成膜脂过氧化水平的提高, 引起植物体的膜脂过氧化伤害, 从而破坏细胞的正常生长与繁殖^[21]. 然而, 生物在进化过程中形成了一套完整的抵抗外界不良因素的抗氧化系统, 在一定范围内能消除细胞内因环境压力存在而产生的自由基, 从而起到保护细胞的作用. 但当植物体内活性氧的浓度超过一定范围, 抗氧化体系酶不能及时清除时, 过量的氧自由基会导致抗氧化体系酶活性降低^[22]. 因此, 抗氧化体系酶活性可以间接反映植物细胞内活性氧的浓度^[16].

第7天加入GI的处理组藻细胞密度约为对照组

细胞密度的0.05~0.60倍, SOD和POD活性大约为对照组SOD和POD活性的0.5~0.8倍, 而MDA的含量是对照组MDA含量的1.2~2.2倍. 结果表明, 生长抑制物造成藻细胞内活性氧的大量产生和积累. 在过量活性氧的作用下, SOD和POD酶系受到破坏, 降低了活性, 无法及时清除藻细胞内多余的活性氧, 导致藻细胞内发生脂质过氧化作用, 进而影响藻细胞生长繁殖.

2.2 抗氧化剂对球等鞭金藻生长抑制物的抑制效应的抵制

2.2.1 抗氧化剂对球等鞭金藻生长抑制物对藻细胞生长抑制效应的影响. 不同浓度和种类抗氧化剂对生长抑制物的抑制作用的影响见图3. 结果表明, 4种抗氧化剂均能减轻生长抑制物对藻细胞生长的抑制作用. 当抗坏血酸、柠檬酸、乙二胺四乙酸二钠和3-叔丁基-4-羟基-苯甲醚浓度分别为20 mg/L、5 mg/L, 25 mg/L和2.16 mg/L时, 能显著地($P < 0.05$)抵制生长抑制物对藻细胞生长的抑制作用, 使细胞密度分别为对照组细胞密度的1.38倍、1.26倍, 1.46倍和1.90倍.

2.2.2 抗氧化剂对球等鞭金藻丙二醛含量的影响. 从表2可以看出, 抗氧化剂处理组的球等鞭金藻丙二醛含量明显($P < 0.05$)低于未加入抗氧化剂的对照组. 当抗坏血酸和乙二胺四乙酸二钠浓度从0增加到25 mg/L时, 丙二醛含量分别由8.49 nmol/g降至1.02 nmol/g, 由21.57 nmol/g降至4.90 nmol/g. 柠檬酸和3-叔丁基-4-羟基-苯甲醚浓度分别为5 mg/L和2.16 mg/L时, 丙二醛含量分别比对照组降低了57.7%和60.0%.

2.2.3 抗氧化剂对球等鞭金藻超氧化物歧化酶活性的影响. 与对照组相比, 抗氧化剂使球等鞭金藻超氧化物歧化酶的活性明显($P < 0.05$)提高(表3). 当抗坏血酸、柠檬酸、乙二胺四乙酸二钠和3-叔丁基-4-羟基-苯甲醚的浓度分别为20 mg/L、20 mg/L、15 mg/L和1.80 mg/L时, 球等鞭金藻超氧化物歧化酶的活性分别是对照组的2.12倍、1.67倍、2.12倍和1.49倍.

2.2.4 抗氧化剂对球等鞭金藻过氧化物酶活性的影响.

抗氧化剂对球等鞭金藻过氧化物酶活性的影响见表4. 表4表明, 抗氧化剂的加入, 有效地提高了球等鞭金藻的过氧化物酶活性. 当抗坏血酸、柠檬酸、乙二胺四乙酸二钠和3-叔丁基-4-羟基-苯甲醚浓度分别为25 mg/L, 5 mg/L, 15 mg/L和1.80 mg/L时, 能显著($P < 0.05$)提高过氧化物酶活性, 使过氧

化物酶活性分别为对照组的1.65倍、1.63倍、1.55倍和2.13倍。

植物体内存在两种清除活性氧的机制：a. 酶促机制，即植物体依靠某些酶 (如SOD和POD等) 的作用来消除多余的活性氧；b. 非酶促机制，即植物体依靠一些抗氧化剂(也称活性氧清除剂，如抗坏血酸等)来完成活性氧的清除^[15]。培养液中添加抗

氧化剂后，处理组藻细胞密度为对照组细胞密度的1.38~1.90倍、SOD和POD活性分别为对照组活性的1.49~2.12倍和1.55~2.13倍，而MDA含量则比对照组含量低57.7%~87.9%。这表明生长抑制物对藻细胞的抑制效应，可以由抗坏血酸、柠檬酸、乙二胺四乙酸二钠和3-叔丁基-4-羟基-苯甲醚等4种抗氧化剂得到不同程度的抵制。

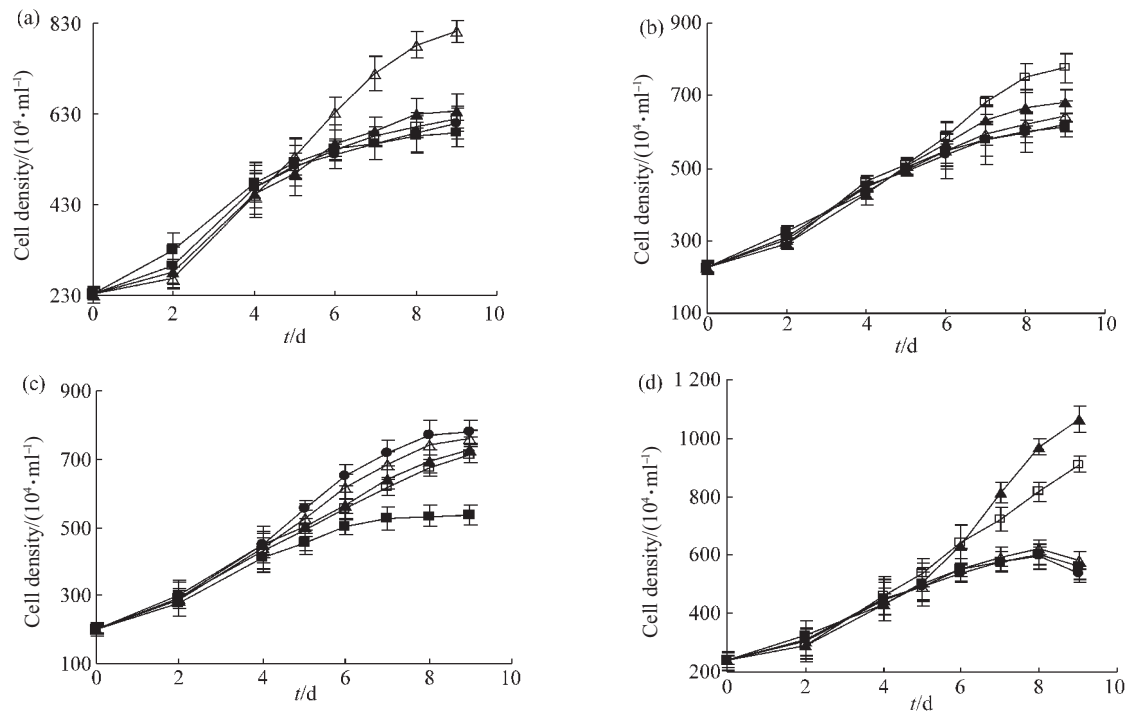


Fig. 3 Effect of antioxidants on the inhibitory activity of growth-inhibitor for growth of *Isochrysis galbana*
(a) L-Ascorbic acid. ■—■: 0; □—□: 10 mg/L; ▲—▲: 15 mg/L; △—△: 20 mg/L; ●—●: 25 mg/L. (b) Citrazinic acid. ■—■: 0; □—□: 5 mg/L; ▲—▲: 10 mg/L; △—△: 15 mg/L; ●—●: 20 mg/L. (c) Na₂EDTA. ■—■: 0; □—□: 10 mg/L; ▲—▲: 15 mg/L; △—△: 20 mg/L; ●—●: 25 mg/L. (d) 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole. ■—■: 0; □—□: 1.80 mg/L; ▲—▲: 2.16 mg/L; △—△: 2.88 mg/L; ●—●: 3.60 mg/L.

Table 2 Effect of antioxidants on the malondialdehyde content of *Isochrysis galbana*

ρ (L-ascorbic acid) /(mg·L ⁻¹)	Contents of MDA /(nmol·g ⁻¹)	ρ (Citrazinic acid) /(mg·L ⁻¹)	Contents of MDA /(nmol·g ⁻¹)
0	8.49±1.55	0	12.6±2.12
10	7.45±1.20	5	5.34±0.61
15	6.13±1.64	10	6.12±1.13
20	1.93±0.27	15	7.70±1.68
25	1.02±0.33	20	9.38±1.08

ρ (Na ₂ EDTA) /(mg·L ⁻¹)	Contents of MDA /(nmol·g ⁻¹)	ρ (3-tert-butyl-4-hydroxyanisole) /(mg·L ⁻¹)	Contents of MDA /(nmol·g ⁻¹)
0	21.5±2.12	0	12.4±1.31
10	19.8±1.87	1.80	7.15±1.18
15	10.3±1.36	2.16	4.97±0.79
20	6.03±1.14	2.88	8.47±1.08
25	4.90±0.68	3.60	10.0±1.27

Table 3 Effect of antioxidant on the SOD activity of *Isochrysis galbana*

$\rho(\text{L-ascorbic acid})$ $/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	Activities of SOD $/(\text{U} \cdot \text{g}^{-1})$	$\rho(\text{Citrazinic acid})$ $/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	Activities of SOD $/(\text{U} \cdot \text{g}^{-1})$
0	14.63 $\pm$ 1.95	0	27.86 $\pm$ 2.17
10	27.31 $\pm$ 2.03	5	3239 $\pm$ 3.82
15	27.95 $\pm$ 3.95	10	33.13 $\pm$ 3.99
20	30.40 $\pm$ 4.71	15	37.03 $\pm$ 3.26
25	17.32 $\pm$ 2.03	20	45.87 $\pm$ 2.56
$\rho(\text{Na}_2\text{EDTA})$ $/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	Activities of SOD $/(\text{U} \cdot \text{g}^{-1})$	$\rho(3\text{-tert-butyl-4-hydroxyanisole})$ $/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	Activities of SOD $/(\text{U} \cdot \text{g}^{-1})$
0	23.33 $\pm$ 2.40	0	17.07 $\pm$ 1.24
10	27.58 $\pm$ 3.56	1.80	25.49 $\pm$ 2.13
15	49.68 $\pm$ 4.07	2.16	9.41 $\pm$ 1.80
20	29.53 $\pm$ 3.92	2.88	10.45 $\pm$ 1.69
25	23.79 $\pm$ 2.27	3.60	10.02 $\pm$ 1.31

Table 4 Effect of antioxidant on the POD activity of *Isochrysis galbana*

$\rho(\text{L-ascorbic acid})$ $/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	Activities of POD $/(\text{U} \cdot \text{g}^{-1})$	$\rho(\text{Citrazinic acid})$ $/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	Activities of POD $/(\text{U} \cdot \text{g}^{-1})$
0	0.154 $\pm$ 0.056	0	0.152 $\pm$ 0.036
10	0.166 $\pm$ 0.052	5	0.236 $\pm$ 0.093
15	0.195 $\pm$ 0.037	10	0.210 $\pm$ 0.076
20	0.228 $\pm$ 0.083	15	0.204 $\pm$ 0.075
25	0.255 $\pm$ 0.079	20	0.184 $\pm$ 0.041
$\rho(\text{Na}_2\text{EDTA})$ $/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	Activities of POD $/(\text{U} \cdot \text{g}^{-1})$	$\rho(3\text{-tert-butyl-4-hydroxyanisole})$ $/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	Activities of POD $/(\text{U} \cdot \text{g}^{-1})$
0	0.184 $\pm$ 0.041	0	0.287 $\pm$ 0.072
10	0.218 $\pm$ 0.053	1.80	0.470 $\pm$ 0.101
15	0.299 $\pm$ 0.043	2.16	0.357 $\pm$ 0.074
20	0.281 $\pm$ 0.086	2.88	0.326 $\pm$ 0.091
25	0.210 $\pm$ 0.061	3.60	0.305 $\pm$ 0.083

3 结 论

GI明显地抑制藻细胞的生长,降低藻细胞的SOD和POD活性,并提高膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)的含量,而4种抗氧化剂能够有效地抵制生长抑制物对藻细胞造成的伤害,使藻细胞密度提高、SOD和POD活性提高、膜脂过氧化产物MDA含量降低.我们认为,生长抑制物造成藻细胞体内活性氧的积累,引起藻细胞的膜脂过氧化伤害,从而破坏藻细胞的正常生长与繁殖.而抗氧化剂能够有效地清除藻细胞体内积累的活性氧,减轻球等鞭

金藻的膜脂过氧化伤害,从而能够抵制生长抑制物对藻细胞的抑制效应.然而,由于生长抑制物对藻细胞抑制效应的复杂性以及抗氧化剂对藻细胞作用机理的不确定性,抗氧化剂对生长抑制物抑制效应的抵制作用的途径和机理还有待进一步研究.

参 考 文 献

- 1 Liu J G, Zhang C W, Cohen Z, *et al.* Physiological inhibitory effects of OCS in arachidonic acid-rich *Parietochloris incisa* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *Chin J Oceanol Limnd*, 2002, **20** (3): 248~255
- 2 Zhang C W, Richmond A. 8th International Conference on Applied

- Algology-Abstracts, In: South africa durban, 1999, **52**
- 3 王长海, 孙颖颖. 球等鞭金藻细胞生长抑制因子的初步研究. 海洋通报, 2006, **25** (3): 29~33
Wang C H, Sun Y Y. Marine Science Bulletin, 2006, **25** (3): 29~33
 - 4 Fogg G E. Symbiosis of hydra and algae- III Extracellular products of the algae. Comp Biochem Physiol, 1965, **16** (1): 77~84
 - 5 Hellebust J A. Excretion of some organic compounds by marine phytoplankton. Limnol Oceogr, 1965, **10** (2): 192~206
 - 6 Robertson P. Studies on *Chlorella vulgaris*. V some properties of the growth-inhibitor formed by *Chlorella* cells. Amer J Bot, 1942, **29** (29): 142~148
 - 7 孙艳妮, 殷明炎, 刘建国. 雨生红球藻的信号物质. 海洋湖沼通报, 2001, **3** (3): 22~28
Sun Y N, Yin M Y, Liu J G. Transactions of Oceanology and Limnology, 2001, **3** (3): 22~28
 - 8 Imada N, Kobayashi K, Tahara K, *et al.* Production of an autoinhibitor by *Skeletonema costatum* and its effect on the growth of other phytoplankton. Nippon Suisan Gakkaishi, 1991, **57** (12): 2285~2290
 - 9 Imada N, Kobayashi K, Isomura K, *et al.* Isolation and identification of an autoinhibitor produced by *Skeletonema costatum*. Nippon Suisan Gakkaishi, 1992, **58** (9): 1687~1692
 - 10 McCracken M D, Middaugh R D, Middaugh R S. A chemical characterization of an algal inhibitor obtained from *Chlamydomonas*. Hydrobiologia, 1980, **70** (3): 271~276
 - 11 Ikawa M, Hartshorne T, Caron L A, *et al.* Inhibition of *Chlorella* growth of the green algae *Chlorella phrenoidosa* by unsaturated fatty acids. J am Oil, Chemists' Soc, 1984, **61**: 1877~1878
 - 12 Ikawa M, Saner J J, Haney J F. Lipid of cyanobacterium *Aphanizomenos flos-aquae* and inhibition of *Chlorella* growth. J Chem Ecol, 1994, **20**: 2429~2436
 - 13 Ikawa M M, Sasner J J, Haney J F. Inhibition of *Chlorella* growth by degradation and related products of linoleic and linolenic acids and the possible significance of polyunsaturated fatty acids in phytoplankton ecology. Hydrobiologia, 1997, **356** (1~3): 143~148
 - 14 Yamada Y, Murakami N N, Morimoto T, *et al.* Auto-growth inhibitory substance from the fresh-eater cyanobacterium *Phormidium tenue*. Chem Pharm Bull, 1993, **41** (10): 1863~1865
 - 15 李峰民, 胡洪营, 门玉洁, 等. 化感物质对小球藻抗氧化体系酶活性的影响. 环境科学, 2006, **27** (10): 2091~2094
Li F M, Hu H Y, Men Y J, *et al.* Environmental Science, 2006, **27** (10): 2091~2094
 - 16 唐学玺, 李永祺. 抗氧化剂对扁藻久效磷毒害的抑制效应. 环境科学, 2000, **21** (1): 87~89
Tang X X, Li Y Q. Environmental Science, 2000, **21** (1): 87~89
 - 17 顾静, 张文, 唐辉, 等. 纳米Ag₂O₂-PbO₂化学修饰电极对大肠杆菌细胞膜壁和DNA损伤的研究. 高等学校化学学报, 2005, **26** (12): 2214~2217
Gu J, Zhang W, Tang H, *et al.* Chemical Journal of Chinese Universities, 2005, **26** (12): 2214~2217
 - 18 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000. 39~42
Li H S. Principle and Technology of Experiments of Plant Physiology and Biochemistry. Beijing: Higher Education Press, 2000. 39~42
 - 19 Giannoplities C N, Ries S K. Superoxid dismutase purification and quantitative relationship with water soluble protein in seedling. Plant Physiol, 1977, **59**: 315~318
 - 20 Evans S S. The distribution of peroxidase in extreme dwarf and normal tomato. Phytochemistry, 1965, **4** (4): 449~503
 - 21 王建华, 刘鸿先, 徐同. 超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理中的作用. 植物生理学通讯, 1989, (1): 1~7
Wang J H, Liu H X, Xu T. Plant Physiology Communications, 1989, (1): 1~7
 - 22 Oncel I, Yurdakulol E, Keles Y, *et al.* Role of antioxidant defense system and biochemical adaptation on stress tolerance of high mountain and steppe plants. Acta Oecologica International Journal of Ecology, 2004, **26** (3): 211~218

Inhibitory Effect of Growth-inhibitor on *Isochrysis galbana* and Inhibition of Antioxidants on Growth-inhibitor Damage to Its Cells*

SUN Ying-Ying¹⁾, WANG Chang-Hai^{1,2)}**

(¹⁾School of Environmental and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China;

²⁾ School of Ocean, Yantai University, Yantai 264005, China)

Abstract The inhibitory effects of growth-inhibitor on the growth of *Isochrysis galbana*, malondialdehyde (MDA) content and activities of antioxidant enzymes (superoxide dismutase and peroxidase) were studied. And the inhibition effects of 4 species of antioxidants on this damage to its cells were also investigated. The results showed that 0.10 mg/L of GI marked decreased cell densities, activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD), and MDA content increased. With increase of GI concentrations, cell densities and activities of SOD and POD decreased sharply, and MDA content increased obviously. When concentration of GI was 0.30 mg/L, the cell densities, activities of SOD and POD decreased to 0.05, 0.56 and 0.59 folds of the control, respectively, and MDA content increased to as higher as 2.2 folds of that of the control set. L-Ascorbic acid, citrazinic acid, lenediamiaettraacetic acid disodium salt (Na₂EDTA) and 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole could decrease MDA content obviously, and marked increased cell densities and activities of SOD and POD. When 4 species of antioxidants were added to the medium, the cell densities, and activities of SOD and POD increased to as high as 1.38~1.90, 1.49~2.12 and 1.55~2.13 folds of that of the control set, respectively, and MDA content decreased by 57.7%~87.9%. It was indicated that the excess active oxygens were produced under growth-inhibitor stress and active oxygen participated in the damage of growth-inhibitor to *Isochrysis galbana*; the L-ascorbic acid, citrazinic acid, lenediamiaettraacetic acid disodium salt and 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole could effectively inhibit membrane lipid peroxidation and further alleviated algal damage.

Key words *Isochrysis galbana*, growth-inhibitor, inhibitory activity, antioxidants

* This work was supported by a grant from The Key Project of The National 10 th-Five Plan (2001BA707B03)

**Corresponding author. Tel: 86-53-56706288, E-mail: chwang2001@163.com

Received: March 11, 2007 Accepted: June 7, 2007