

介质 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母生长的影响

赵宝华 齐志广 孙 涛

(河北师范大学生物系 石家庄 050016)

摘要: 采用正交实验研究了外加 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母生长的影响。结果表明: 外加 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母的生长均有显著的影响, 都呈现出低浓度时正效应和高浓度时负效应, 当 Ca^{2+} 浓度为 1mmol/L 及 La^{3+} 浓度为 $15\mu\text{mol/L}$ 时酿酒酵母生长最好。

关键词: Ca^{2+} 和 La^{3+} , 酿酒酵母, 生长

中图分类号: Q936 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654(2000)-01-033-04

EFFECTS OF Ca^{2+} AND La^{3+} ON THE GROWTH OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

ZHAO Bao-Hua QI Zhi-Guang SUN Tao

(Department of Biology HeBei Normal University, Shijiazhuang 050016)

Abstract: Effects of Ca^{2+} and La^{3+} on the growth of *saccharomyces cerevisiae* was studied with the method of orthogonal test design. The results show that extraneous Ca^{2+} and La^{3+} has significantly effects on the growth of *saccharomyces cerevisiae*. It has positive effects when the concentration of Ca^{2+} and La^{3+} is lower and has negative effects when the concentration of Ca^{2+} and La^{3+} is higher. The growth of *saccharomyces cerevisiae* is best when the concentration of Ca^{2+} is 1mmol/L and the concentration of La^{3+} is $15\mu\text{mol/L}$.

Key words: Ca^{2+} and La^{3+} , *Saccharomyces cerevisiae*, Growth

近年, 有关 Ca^{2+} 和 La^{3+} 的生理效应研究的报道越来越多, 外加 Ca^{2+} 促进动、植物细胞增殖的证据较多, 也比较明确^[1]。 Ca^{2+} 对微生物生理效应的研究报道较少, 袁生等报道了 Ca^{2+} 对真菌菌丝顶端生长的作用效应^[2]。 同样, La^{3+} 对动、植物生理效应的影响研究较多, 对微生物影响研究较少, 但也有些证据表明 La^{3+} 浓度在一定范围内促进红假单胞菌的生长^[3]; 在研究 La^{3+} 的生理效应时, 发现稀土元素 La^{3+} 和 Ca^{2+} 的作用机制相关^[4], 因此有关 Ca^{2+} 和 La^{3+} 相互作用机制的研究就显得格外重要。 本文在比较精确控制介质中 Ca^{2+} 和 La^{3+} 浓度的条件下, 采用正交实验, 以酿酒酵母为实验体系, 研究了

Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母生长的影响。

1 材料与方法

1.1 菌种

酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) AS 2.109, 购于中国科学院微生物研究所。

1.2 培养基和培养条件

1.2.1 斜面培养基: 培养基成分参照文献[5], 培养条件为: 28°C , 培养 36~48h。

1.2.2 种子培养基: 培养基成分参照文献[6], pH5.6, 培养条件为: 500mL 三角瓶装 80mL

表1 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母生长影响的实验设计

| La^{3+} 浓度 ($\mu\text{mol/L}$) | Ca^{2+} 浓度 (mmol/L) | | | | |
|--|--|------|-----|----|----|
| | 0 | 0.01 | 0.1 | 1 | 10 |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
| 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 |

28℃, 摇床转速为 200r/min, 培养 36~48h.

1.2.3 生长培养基: 同种子培养基, 在此基础上添加相应的 Ca^{2+} 和 La^{3+} , pH5.6, 培养条件为: 100mL 三角瓶装 20mL, 起始细胞浓度均为 9.5×10^6 , 于 28℃, 摇床转速为 200r/min, 培养 24h 和 48h 时分别取样.

1.3 实验设计

如表 1, 1~25 为处理号, 每个样本设 3 个重复.

1.4 酿酒酵母生长的测定方法

用 721 比色计测定 OD 值($\lambda = 600\text{nm}$), 测定时菌液稀释 10 倍.

2 结果与讨论

2.1 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母生长的影响 (24h)

应用生物统计方法, 对 24h 测定的培养物的 OD 值数据进行了 F 测验和两两间的差异显著性检验-SSR 5% 和 SSR 1% 新复极差分析, 见表 2 和表 3.

从表 2 的 F 测验结果可以看出 $F_{0.05} < F <$

表2 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母生长影响的F测验结果

| 变异来源 | DF(自由度) | SS(平方和) | MS(均方) | F | $F_{0.05}$ | $F_{0.01}$ |
|------|---------|---------|----------|------|------------|------------|
| 处理 | 24 | 0.01524 | 0.002135 | | | |
| 误差 | 50 | 0.05426 | 0.001085 | 1.97 | 1.74 | 2.18 |
| 总变异 | 74 | 0.1055 | | | | |

表3 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母生长影响的SSR分析(标准误SE=0.019)

| 处理号 | 平均数 \bar{X} | 差异显著率 | | 处理号 | 平均数 \bar{X} | 差异显著率 | |
|-----|---------------|--------|----|-----|---------------|-------|----|
| | | 5% | 1% | | | 5% | 1% |
| 19 | 0.3797 | a | A | 23 | 0.3001 | cdef | A |
| 14 | 0.3707 | ab | A | 2 | 0.2957 | cdef | A |
| 18 | 0.3557 | abc | A | 7 | 0.2936 | cdef | A |
| 17 | 0.3396 | abcd | A | 6 | 0.2889 | def | A |
| 9 | 0.3797 | abcd | A | 1 | 0.2845 | def | A |
| 16 | 0.3345 | abcd | A | 15 | 0.2838 | def | A |
| 13 | 0.3307 | abcde | A | 22 | 0.2724 | def | A |
| 12 | 0.3275 | abcdef | A | 8 | 0.2783 | def | A |
| 11 | 0.3246 | abcdef | A | 10 | 0.2738 | def | A |
| 4 | 0.3190 | abcdef | A | 5 | 0.2666 | ef | A |
| 24 | 0.3139 | bcdef | A | 25 | 0.2639 | f | A |
| 3 | 0.3015 | cdef | A | 21 | 0.2637 | f | A |
| 20 | 0.3006 | cdef | A | | | | |

$F_{0.01}$, 表明各处理之间有显著差异但无极显著差异, 通过表 3 的 SSR 新复极差可以比较任意两个处理之间的差异显著性, 表中只要有相同字母的处理表明两两间的差异不显著, 含有字母完全不同的处理其两两间差异显著, 培养基中较优的组合为 19 号处理即: La^{3+} 的浓度为

15 $\mu\text{mol/L}$, Ca^{2+} 的浓度为 1mmol/L. 将 Ca^{2+} 和 La^{3+} 分别看作单一变量进行 F 测验和 SSR 新复极差分析, 其 F 值 (Ca^{2+} 和 La^{3+} 均为 22.55) 远远大于 $F_{0.01}$, 表明在培养 24h 时他们分别对酿酒酵母的生长有极显著的影响. 而 SSR 新复极差分析结果表明适当的 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母的

生长有促进作用 (La^{3+} 的浓度为 $15\mu\text{mol/L}$, Ca^{2+} 的浓度为 1mmol/L), 而较高的 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母的生长有抑制作用 (La^{3+} 的浓度为 $20\mu\text{mol/L}$, Ca^{2+} 的浓度为 10mmol/L).

2.2 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母生长的影响(48h)
培养 48h 时对所得 OD 值数据进行 F 测验和 SSR 新复极差分析, 结果见表 4 和表 5。
从表 4 的 F 测验可以看出 $F > F_{0.01}$, 表明此

表4 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母生长影响的F测验结果

| 变异来源 | DF(自由度) | SS(平方和) | MS(均方) | F | $F_{0.05}$ | $F_{0.01}$ |
|------|---------|---------|----------|-------|------------|------------|
| 处理 | 24 | 0.2282 | 0.00951 | | | |
| 误差 | 50 | 0.0374 | 0.000748 | 12.17 | 1.74 | 2.18 |
| 总变异 | 74 | 0.2656 | | | | |

表5 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母生长影响的SSR分析(标准误SE=0.01579)

| 处理号 | 平均数 \bar{X} | 差异显著率 | | 处理号 | 平均数 \bar{X} | 差异显著率 | |
|-----|---------------|-------|---------|-----|---------------|-------|-------|
| | | 5% | 1% | | | 5% | 1% |
| 19 | 0.5452 | a | A | 3 | 0.4370 | defg | EFGHI |
| 14 | 0.5258 | ab | AB | 15 | 0.4223 | efgh | FGHIJ |
| 18 | 0.5176 | ab | AB | 7 | 0.4211 | efgh | GHIJ |
| 17 | 0.5080 | abc | ABC | 2 | 0.4109 | fghi | GHIJ |
| 24 | 0.5007 | abc | ABC | 16 | 0.4004 | def | GHIJ |
| 13 | 0.5060 | abc | ABCD | 25 | 0.3972 | def | IJ |
| 12 | 0.4994 | abc | ABCDE | 10 | 0.3942 | def | IJ |
| 23 | 0.4950 | abc | ABCDE | 11 | 0.3879 | def | IJ |
| 9 | 0.4822 | bcd | ABCDEF | 6 | 0.3791 | def | IJ |
| 4 | 0.4685 | bcde | BCDEFG | 5 | 0.3785 | ef | IJ |
| 22 | 0.4633 | cde | BCDEFGH | 1 | 0.3636 | f | J |
| 20 | 0.4414 | def | CDEFGHI | 21 | 0.3612 | f | J |
| 8 | 0.4378 | defg | DEFGHI | | | | |

时各处理之间已有极显著差异, 表 5 SSR 新复极差分析结果可知培养基中较优的组合仍为 19 号处理即: La^{3+} 的浓度为 $15\mu\text{mol/L}$, Ca^{2+} 的浓度为 1mmol/L 。同样把 Ca^{2+} 和 La^{3+} 分别看作单一变量进行 F 测验和 SSR 新复极差分析, 其 F 值 (Ca^{2+} 为 62.08, La^{3+} 为 20.05) 都远远大于 $F_{0.01}$, 表明在培养 48h 时他们分别对酿酒酵母的生长有极显著的影响, 且 Ca^{2+} 的作用较 La^{3+} 更明显。而 SSR 新复极差分析结果同样表明适当的 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母的生长有促进作用 (La^{3+} 的浓度为 $15\mu\text{mol/L}$, Ca^{2+} 的浓度为 1mmol/L), 而较高的 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母的生长有抑制作用。

本研究利用正交实验初步研究了外加 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母生长的影响。结果表明: 适当的 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母的生长有促

进作用, 而较高浓度的 Ca^{2+} 和 La^{3+} 对酿酒酵母的生长有抑制作用, 当 Ca^{2+} 浓度为 1mmol/L 及 La^{3+} 浓度为 $15\mu\text{mol/L}$ 时酿酒酵母生长最好, 而且 Ca^{2+} 对生长的影响较 La^{3+} 更显著。根据我们的实验结果及有关动植物方面的研究推测 La^{3+} 在较低浓度时的促进效应, 可能与 Ca^{2+} 的作用机制相似, 适当浓度的介质 Ca^{2+} 可能通过 Ca^{2+} -CaM 信号系统起到调节生理效应的作用, 有关 Ca^{2+} 和 La^{3+} 的作用机制有待于进一步研究。

参 考 文 献

[1] 赵宝华, 边艳青, 孙大业. 实验生物学报, 1996, 29(2): 179~184.
[2] 袁 生, 窦 洁, 陆 玲. 实验生物学报, 1998, 31(1): 13~17.

[3] 陈声明, 徐均焕, 胡勤海. 微生物学报, 1995, 35(5):

386~389.

[4] 陈旭, 周玉祥, 徐育敏. 生物物理学报, 1996, 12(3):

389~393.

[5] 文铁桥, 赵学慧. 微生物学通报, 1998, 25(2): 87~90.

[6] Chi Zhenming. The world of microbiology and
biotechnology, 1994, 28(4): 135~145.