

研究简报

钝顶螺旋藻海水驯化的初步研究

吴伯堂 何汝洪 彭云辉

(中国科学院南海海洋研究所, 广州)

钝顶螺旋藻在分类学上属于蓝藻门 Cyanophyta 蓝藻纲 Cyanophyceae、藻殖段目 Homogonales、颤藻科 Oscillatoriaceae。它需要较高的碱性培养环境(pH为8.5—10), 需要高浓度的重碳酸盐、硝酸盐、钙、镁和各种微量元素, 而昂贵的培养基价格就成为影响螺旋藻生产的一个重要因素。因此, 研究和解决好碳源以及其他各种必需的元素是直接关系到螺旋藻蛋白开发利用、降低生产成本、提高经济效益的一项重要课题。采用营养丰富的海水资源作为培养基质, 既能降低生产成本, 又不影响基本生物量生产, 甚至还可提高产量和蛋白质含量(表1)。

长期生长在淡水湖中的螺旋藻是否能驯化在含盐量高达30‰浓度的海水中生长, 这是本项研究首先要探索的第一个问题; 其次, 文献[8]研究结论: “自然海水含有过量的钙、镁等金属离子, 在高pH值条件下会使螺旋藻丝状体产生凝聚现象, 最后导致培养失败”, 是否如此, 这是进行海水驯化研究要探索的第二个问题。本文试图通过这两个问题的研究, 以使具淡水习性的钝顶螺旋藻能在海水培养环境中正常生长, 从而为开发利用这一资源提供一定的科学依据。

一、材料和方法

试验使用的原种来源于墨西哥的索沙·台克斯库库湖(Sosa Texcoco Lake), 以 Zarrouk 培养基(液体或者固体)保存。培养液为 CFTRI、南海85-1和南海85-2, pH调至8.5—10, 温度为25—30℃, 光照度为4或5 klx。以72型分光光度计测定生物量, 波长为560 nm; 藻体收集用蔡氏漏斗, 真空抽滤, 滤膜孔径为0.8 μm, 置阳光下晒至半干后于75℃烘箱烘干; 粗蛋白用凯氏法测定, 换算因子为6.25。主要驯化步骤如下。

1. 将原藻种接进于最低一级浓度的氯化钠(分析纯)配置的培养液中培养, 并经一段时间后通过显微操作挑选正常螺旋藻丝状体再接进于氯化钠稍高的培养液中培养。以此类推, 直到氯化钠的浓度为35‰。

2. 经过氯化钠培养液逐步驯化而获得正常丝状体, 用海盐(食用粗盐)配制的培养液再作进一步驯化, 顺序过程同上。

3. 将上述经海盐驯化过的螺旋藻, 以上述同样顺序过程和方法以自然海水培养, 直到海水盐度达35‰螺旋藻仍能正常生长, 不再产生任何程度的凝聚现象, 驯化即获成功。

二、结果和讨论

1. 钝顶螺旋藻在海水中的生长和粗蛋白含量 实验结果表明,螺旋藻在海水培养液中生长要比在淡水培养液中生长快,而且蛋白质含量也高,见表1。经过氯化钠、粗盐和海水逐级驯化的螺旋藻,不仅能在海水培养液(南海85-1和南海85-2)中长期保持正常生长繁殖,而且在南海85-2培养液中的生长速度远远高于原种在CFTRI淡水培养液中的速度(图1)。在相同培养条件下,经10天时间,以海水和淡水分别培养的光密度(OD_{560})、粗蛋白和干重如下:前者 OD_{560} 为1.50,粗蛋白为61.5%,干重为1.52 g/L;后者 OD_{560} 为1.00,粗蛋白为51.5%,干重为0.42 g/L。还有一个十分明显的结果是,用淡水培养的螺旋藻即使其 OD_{560} 大于海水培养的螺旋藻,其最后的干重也是小于后者。

表1 不同培养液对螺旋藻的生长和粗蛋白含量的影响

Tab. 1 Effects of different media on *Spirulina* growth and the content of crude protein

培 养 液	CFTRI	南海 85-1	南海 85-2
培养天数	10	10	10
OD_{560} (开始)	0.35	0.35	0.35
OD_{560} (最终)	1.00	0.70	1.50
干重 (g/L)	0.42	0.42	1.52
粗蛋白(%)	51.50	未测	61.50

2. 淡水螺旋藻通过逐步驯化适应在海水中的生长 近年来,许多研究^[3,4,6,7,9,13]表明,蓝藻的一些种类的细胞不仅能适应于NaCl溶液的各种浓度,而且有些淡水种类还能在从低浓度的NaCl一直过渡到高达30‰海水盐度的NaCl溶液中生长与繁殖,而且基本搞清楚了这种逐步适应高盐度的机制,即当这些来源于淡水习性的蓝藻细胞被移入较高盐度的NaCl培养液中时,其细胞自身能产生一种低分子的碳水化合物(glycosylglycerol)作为细胞渗透压的调节剂,而使细胞内外的渗透压达到平衡状态。显然这种调节剂的量与其细胞所在培养液中NaCl的浓度有着直接的关系^[1,2]。本项研究的第一个驯化步骤,就是基于这个基本原理。

Soong^[8]关于海水培养液在高pH值条件下,钙、镁离子能使螺旋藻丝状体产生凝聚结块现象,致使培养失败的结论,我们的试验也予以证实。本试验第二、三两个步骤似乎都是为了解决钙、镁等金属离子对于这种微藻丝状体的影响问题。曾经也试验过,整个驯化过程略去第二个步骤即粗盐阶段,结果不仅会使试验驯化的时间拖得很长,而且最终也会导致试验失败。这个结果表明,后两个步骤实际是钙、镁离子逐步增加的过程,因而同样盐度的海水和粗盐配置的培养液,两者钙、镁离子的含量和性质或许不尽相同。海水培养螺旋藻需要经过相当长的时间和反复多次逐步的驯化。来源于墨西哥索沙·台克斯库湖的同一个原种,经单株分离培养后获得形态、大小和生理特性不完全相同的四个株系。其中一个株系的丝状体比本文报道的大两至三倍。该株系海水驯化和培养虽近两年

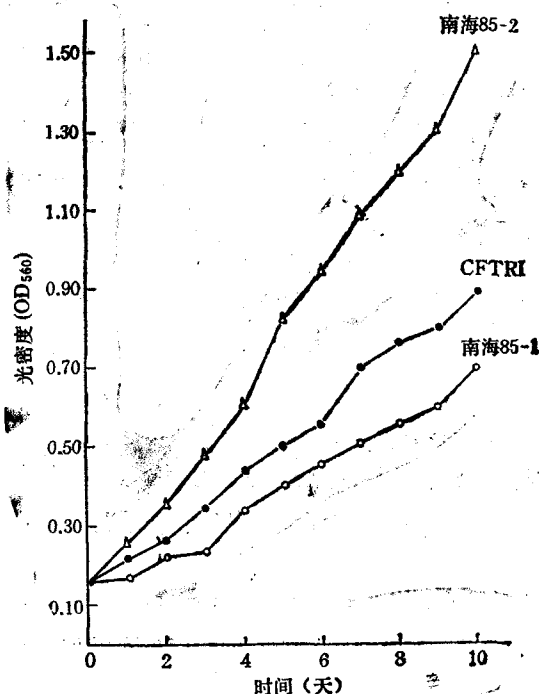


图1 钝顶螺旋藻在三种不同培养液中的生长比较

Fig. 1 Effects of different media on *Spirulina* growth

的时间,但每当移接于新鲜海水培养液中时,都要有一定的适应时间,然后才能恢复正常生长状态,至于适应时间的长短还取决于其他培养条件。比较之,本项试验驯化的株系从旧培养液中一移入新鲜海水培养液即能保持正常生长。

实验还证实,螺旋藻在海水培养液中产生的凝聚现象不仅仅是由于钙、镁离子的影响,而且任何环境条件的突然急剧地改变均能使螺旋藻丝状体产生不可逆的凝聚现象。

参 考 文 献

- [1] Blumwald, E. and E. Tel-Or, 1982. Osmoregulation and cell composition in salt-adaptation of *Nostoc muscorum*. *Archs Microbiol.* **132**: 168—172.
- [2] Blumwald, E., R. J. Mehorn and L. Packer, 1983. Studies of osmoregulation in salt adaptation of cyanobacteria with ESR spinprobe techniques. *Proc. Natn. Acad. Sci. USA* **80**: 2599—2602.
- [3] Borowitzka, L. J., S. Demmerle, M. A. Mackay and R. S. Morton, 1980. Carbon-13 nuclear magnetic resonance study of osmoregulation in a blue-green alga. *Science N. Y.* **210**: 650—651.
- [4] Erdmann, N., 1983. Organic osmoregulatory solutes in blue-green algae. *Z. Pflphysiol.* **110**: 147—155.
- [5] H. Durand-Chastel, 1980. Production and use of *Spirulina* in Mexico. *Algae Biomass Production and Use*, ed. by G. Shelef and C. J. Soeder. Amsterdam, 51—64.
- [6] Mackay, M. A., R. S. Norton and L. J. Borowitzka, 1983. Marine blue-green algae have a unique osmoregulatory system. *Mar. Biol.* **73**: 301—307.
- [7] Mackay, M. A., R. S. Norton and L. J. Borowitzka, 1984. Organic osmoregulatory solutes in cyanobacteria. *J. Gen. Microbiol.* **130**: 2177—2191.
- [8] Soong, P., 1980. Production and development of *Chlorella* and *Spirulina* in Taiwan. *Algae Biomass Production*

- tion and Use, ed. by G. Shelef and C. J. Soeder. Amsterdam, 97—113.
- [9] Reed, R. H., J. A. Chudck, R. Foster and W. D. P. Stewart, 1984. Osmotic adjustment in cyanobacteria from hypersaline environments. *Archs. Microbiol.* **138**: 333—337.
- [10] Reed, R. H., D. L. Richardson, S. R. C. Warr and W. D. P. Stewart, 1984b. Carbohydrate accumulation and osmotic stress in cyanobacteria. *J. Gen. Microbiol.* **130**: 1—4.
- [11] Reed, R. H. and W. D. P. Stewart, 1985. Osmotic adjustment and organic solute accumulation in unicellular cyanobacteria from freshwater and marine habitats. *Mar. Biol.* **88**: 1—9.
- [12] Warr, S. R. C., R. H. Reed, J. A. Chudck, R. Foster and W. D. P. Stewart, 1985. Osmotic adjustment in *Spirulina platensis*. *Planta* **163**: 424—429.
- [13] Yopp, J. H., D. M. Miller and D. R. Tindall, 1978. Regulation of intracellular water potential in the halophilic blue-green alga *Aphanothece halophytica* (Chroococcales). In *Energetics and Structure of Halophilic Microorganisms*, ed. by S. R. Caplan and M. Ginzburg. Amsterdam, Elsevier, pp. 619—624.

A PRELIMINARY STUDY OF THE EFFECTS OF NaCl, CRUDE SALT, AND SEA WATER ON *SPIRULINA* GROWTH

Wu Botang, He Ruhong and Peng Yunhui

(South China Sea Institute of Oceanology, Academia Sinica, Guangzhou)

ABSTRACT

The effects of NaCl, crude salt, and sea water as the culture media on *Spirulina* growth were studied. The rich nutritive sea water could be used to cultivate fresh water *Spirulina*. At the beginning of the experiments *Spirulina* could not grow in sea water. When seed culture was added to sea water, the algae were clumped together and could not disperse in sea water because most calcium and magnesium ions were found to be unsuitable for the alga growth. However, the problem was settled by a series of experiments. Finally, our strain of *Spirulina* can not only grow normally in sea water, but also enhance biomass production.