

特定红外辐射对钝顶螺旋藻生长的影响^①

谭辉玲 薛建刚

(重庆大学应用化学研究所, 重庆 630044)

摘要 在室内和荧光灯照射条件下培养钝顶螺旋藻 (*Spirulina Platensis*)。用特定红外辐射适当处理该藻种, 可改变该藻的生长动力学曲线。在本实验条件下, 可提高最大生物量 42%。此外, 还考察了该特定红外辐射影响该藻生长的原因。

关键词 钝顶螺旋藻 (*Spirulina Platensis*); 特定红外辐射; TDP; 生长动力学曲线

钝顶螺旋藻 (*Spirulina Platensis*) 属于蓝藻 (即蓝细菌) 类, 是一种多细胞微生物。由于它具有独特的营养价值, 近年来, 已由国外引进藻种并试生产成功。但在目前它的生产成本尚高, 因而限制了商业价值。本研究通过利用特定红外辐射的生物学效应, 提高了该螺旋藻的生长速率, 从而实现了增产。

红外辐射的生物学效应, 早已受到国内外的重视^[1-3], 但它对螺旋藻生长动力学的影响尚未见报道。^①

材料和方法

(一) 材料

1. 供试藻株: 钝顶螺旋藻 (*Spirulina Platensis*), 由西南农业大学植物生理生化教研室提供。

2. 药品: 所用药品全为国产市售。化学纯的有: 碳酸氢钠、硝酸钠、硫酸钾、氯化钠、硫酸镁、三氯乙酸、冰乙酸、氢氧化钠、盐酸。分析纯的有: 磷酸氢二钾、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、高锰酸钾、亚硝酸钠、草酸、对氨基苯磺酸、 α -萘胺。用蒸馏水配制试液和培养液。

3. 培养基: 采用简化培养基 CFTRI 配方^②。

4. 仪器: 特定红外辐射源用 CQ-12型 TDP 治疗仪, 波长范围 2—25 μm , 功率密度 32mw/cm², 重庆巴山仪器厂制造; TG328A 型万分之一光电分析天平 (上海); 电热真空干燥箱 (天

津北真空仪器厂); 800型离心机 (上海手术器械十厂); 721A 型分光光度计 (四川仪表九厂)。

(二) 方法

1. 培养箱: 68×46×65cm³ 的木柜, 用其中放置的恒温水浴调节和控制柜中气温。在柜中左、右和后面三方分别安装 20W 日光灯管 1 支, 柜顶方悬挂 1 支 30W 环型日光灯管。藻池表面达光照度 1100lx。培养容器用 80ml 玻璃烧杯若干个, 每杯杯口盖玻片一块。

2. 培养方法:

(1) 特定红外辐射处理藻种; 处理方式见表 1。

(2) 接种: 每组种液用 3 个烧杯均量分装, 总量 90ml, 用移液管吸取。每杯分别加入培养基液至 80ml 刻度 (即每组总量为 240ml)。置于暗柜内放置 24 小时。以后每天光照 10 小时, 断光 14 小时, 并跟踪测定吸光度 A 值 (721A 型分光光度计上测定, 移液管吸取试样, 测 A 值后再倒回原培养烧杯中, 并用少量蒸馏水冲洗比色皿, 洗液一并返回培养杯中)。柜中气温 30 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ 。每天搅动藻液 3 次。测 A 值前, 补充蒸馏水使液面保持在 80ml 刻度。取 3 个培养杯藻液 A

① 本工作得到了杨大析教授和周小华同志的帮助, 特此致谢。

② 引自农牧渔业部螺旋藻研究协作组编写的资料“蓝藻——螺旋藻的开发利用与生物技术”, 江西省农科院科技

值的平均值为1个组的实验A值(以下同)。

3. 藻中硝酸还原酶活力测定: 硝酸还原酶是该藻生长的关键代谢酶之一。为考察红外辐射影响藻生长的原因, 测定了该酶的活力。测定方法依据文献 [43]。每天测1次, 共9次。

4. 藻中叶绿素含量测定: 螺旋藻中仅含叶绿素a, 其含量测定依据文献 [4]。

结果和讨论

(一) 藻生长曲线

以藻液吸光度 A_{550} 为纵坐标, 生长时间 t (d) 为横坐标作图 (图1)。为考察各组间的显著性差异程度, 对 n 对实验数据进行了 t -检验。由于第2组和对照组差异最小, 故作如下配对进行比较: 2-对, 1-2, 3-2, 3-1。结果见表2。

表2中 t 值, 各组都大于 $t_{0.01}=4.781$, 达到了极显著差异水平。其差异次序为: 第3组>第1组>第2组。这说明在本实验条件下, 红外辐照螺旋藻种的确可以促进螺旋藻生长和提高产量。而且以辐照5小时效果最好。

曾试验在生长初期, 每天辐照1次, 每次仍照1小时, 虽总辐照时间仍为1、3、5小时, 但生长曲线和对照组不存在显著性差异。只有处理藻种时才产生显著影响, 其原因尚待深入研究。

图1的开始点, 各组 A_0 值有少许相差, 但未达极显著性程度, 各组 A_0 值为: 0.220 (对照), 0.230 (1组), 0.220 (2组), 0.240 (3组)。尤其第2组的 A_0 和对照组完全相同。所以, 生长曲线的显著性差异不会是由于接种浓度之差产生的影响。

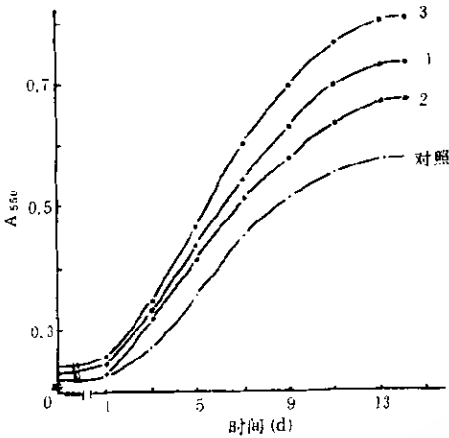


图1 钝顶螺旋藻生长曲线

表1 红外辐照藻种方式

组 别	对 照 组	试 验 组		
		1	2	3
处理累计时间(h)	---	1	3	5
辐照距离 (cm)		30		
其它条件	试样在流水冷却下受辐照; 每照1小时, 间停半小时; 藻种总量各1000ml。			

表2 t -检验结果 (t 值)

配对组别	2-对照	1 2	3-1	3-2
第1次实验	7.4536	4.9951	5.4482	5.5629
第2次实验	7.7033	5.0113	5.3319	5.4297

据自由度 $F=n-1=9$, 从 t -检验表中查得, $t_{0.05}=2.262$, $t_{0.001}=4.781$

(二) 生长动力学模型

选取 Verhulst-Pearl 方程⁽⁵⁾为生长动力学模型,

$$A_t = \frac{L}{1 + (\frac{L}{A_0} - 1)e^{-KLt}}$$

(1)

其中 A_t 表示生长到时间 t 时的生物量, 在此, 是 t 时藻液的吸光度。 A_0 是生长开始时藻液的吸光度, L 是极限生物量, 即藻液的最大吸光度, K 是生长速率常数。在对数期, $\frac{dA}{dt} = KLA$ 。

显然, K 和 L 是表征藻生长快慢的两个重要参数。将辐照5小时的藻生长数据, 按 (1) 式拟合, 结果如图2, 数据列于表3。表3中的 μ 是比生长速率, t 是 t -检验统计量。采用的拟合公式和各参数关系如下:

$$A = L / (1 + B \cdot \exp(-\mu t))$$

(2)

$$B = (L/A_0) - 1$$

(3)

$$dA/dt = KLA = \mu A$$

(4)

表3 藻生长曲线拟合结果

参 数	L	B	$\mu(d^{-1})$	R	t
对照组	0.665	2.261	0.218	0.9892	19.09
1 组	0.854	2.751	0.222	0.9931	23.95
2 组	0.773	2.633	0.220	0.9943	26.38
3 组	0.941	3.035	0.228	0.9932	24.13

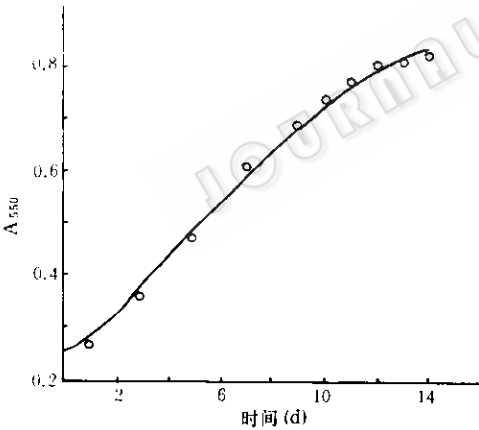


图2 第3组藻液生长曲线拟合
("○"实验值, "—"拟合线)

表3指出, 相关系数 $R \geq 0.99$, 说明拟合效果很好。各实验组的最大生物量 L 和比生长速

率 μ 都高于对照组。第3组最高, L 和 μ 分别为对照组的1.42倍和1.05倍。 μ 达5%之差, 这再次说明, 生长动力学曲线的显著性差异, 不是由于接种浓度差造成, 而是因藻种受红外辐照后产生的影响。

(三) 硝酸还原酶活力和叶绿素 a 含量

酶活力测定结果列于表4, 叶绿素 a 含量列于表5。由表中结果看出, 红外辐照提高藻中硝酸还原酶活力达到平均两倍多, 而且提高了藻中叶绿素 a 含量达15—23%。这说明红外辐射处理藻种之所以能提高藻产量, 可认为是由于红外辐照能提高代谢酶活力和加强光合作用所致。另外, 通过光谱分析还发现⁽⁶⁾, 红外辐射还能提高藻中藻蓝蛋白六聚体含量, 而六聚体比之单体和三聚体传能更有效⁽⁷⁾, 从而提高藻的光合效率, 促进藻生长。

表4 硝酸还原酶活力(亚硝酸钠 $\mu g/g$ 鲜重 $\cdot h$)

组 别	生 长 时 间 (d)					活力平均	比率
	1	3	5	7	9		
对 照 组	60.66	42.01	24.64	15.96	15.95	31.84	1
第 2 组	83.07	75.69	62.94	53.30	76.81	70.36	2.21
第 3 组	193.29	92.57	62.02				

表5 藻中叶绿素 a 含量比值

样 品 对	生 长 时 间(d)					平 均 值
	1	3	5	7	9	
第2组/对照组	1.10	1.12	1.19	1.07	1.29	1.15
第3组/对照组	1.11	1.13	1.21	1.31	1.40	1.23

参 考 文 献

1. Smith T F and M Ross: *International Journal of Peptide Research*, **14**: 313, 1979.
2. 杨太保: 河北省科学学报, **2**: 44, 1985.
3. 谭辉玲: 自然杂志, **13** (8): 507, 1990.
4. 华东师范大学生物系植物生理教研组: 植物生理学实验指导, 第73和88页, 高等教育出版社, 上海, 1986.
5. Spain J D 著, 谢正祥等译: 生物学中的 BASIC 微计算机模型, 第28页, 科学技术文献出版社重庆分社, 重庆, 1987.
6. 谭辉玲等: 生物化学与生物物理进展, **18** (5): 377, 1991.
7. Berns D S et al.: *Chem. Rev.*, **89**: 807, 1989.

(1992-01-07收稿)