

# 不同培养基对杜氏藻(*Dunaliella salina*)生长 和无机离子含量的影响

吕芝香 汪杏芬 成 玮

(南京大学生物系, 南京 210093)

**摘要** 培养在 Johnson 培养液、Johnson + 0.3% NaCl 培养液、海水和卤水中的杜氏藻, 其生长速度有区别, 在 Johnson + 0.3% NaCl 培养液中生长较好, Johnson 培养液和卤水次之, 海水中生长较差。杜氏藻生长的盐度范围为0~12%, 当培养基中 NaCl 浓度超过12%时, 细胞数几乎不增加, 甚至略有降低。在不同培养基中藻细胞 K<sup>+</sup>含量较稳定, 而积累 Ca<sup>2+</sup>, 在 Johnson + 0.3% NaCl 培养液中, 杜氏藻细胞 Na<sup>+</sup>含量增加; 而在含高浓度 Na<sup>+</sup>的海水和卤水中杜氏藻细胞中 Na<sup>+</sup>的含量低于培养液。

**关键词** 杜氏藻; 生长; 无机离子; NaCl

**Effect of various mediums on the growth and inorganic ions accumulation of *Dunaliella salina*** Lü Zhi-Xiang, Wang Xiang-Fen and Cheng Wei (Department of Biology, Nanjing University, Nanjing 210093), *J. Plant Resour. & Environ.* 1994, 3(3): 41~44

The change of growth rate and inorganic ions accumulation of *Dunaliella salina* cultured in various mediums were studied. For the growth of *Dunaliella salina*, it has been shown that Johnson solution containing 0.3% NaCl gives the best result, Johnson solution and brine come next, sea water gives worse result. The concentration range of NaCl for the growth of this algae is 0%~12%, the cells almost not increase if over 12% and even decrease slightly. Different accumulations of inorganic ions present in *Dunaliella salina* cells cultured in various mediums.

**Key words** *Dunaliella salina*; cell growth; inorganic ions accumulation; NaCl

## 1. 引 言

杜氏藻是杜氏藻属中一种广泛分布的单细胞海藻, 它不具多糖类物质的细胞壁, 只有一层由糖蛋白和神经氨酸组成薄而富有弹性的外膜包裹着原生质体<sup>[10]</sup>。杜氏藻含有较高的β-胡萝卜素, 类胡萝卜素的含量高达干重14%<sup>[5]</sup>, 而且甘油产量随外界培养液盐度升高而提高<sup>[4]</sup>, 并可作为单体蛋白及水产养殖的食物源, 因此杜氏藻引起国内外科学家的关注。杜氏藻具有较强的耐盐性和渗透调节能力<sup>[6, 15]</sup>, 但有关杜氏藻的耐盐力报道不一致, Brown等<sup>[5]</sup>提出, 其生长盐度约50 mM~5 M, Loeblich<sup>[6]</sup>认为杜氏藻的耐盐范围为1%~35%。至于盐境中杜氏藻积累无机离子的能力, Pick<sup>[14]</sup>等的研究表明, 杜氏藻能排除 Na<sup>+</sup>和积累 K<sup>+</sup>, 调节细胞内 Na<sup>+</sup>和 K<sup>+</sup>的浓度。本文研究不同培养基中杜氏藻的生长和无机离子的含量, 以了解杜氏藻

的耐盐力和无机离子含量的变化。

## 2. 材料和方法

2.1 材料 杜氏藻 (*Dunaliella salina*)。

2.2 方法 杜氏藻培养和细胞计数 用 Johnson<sup>[11]</sup>培养基加0.3% NaCl 培养, pH 为7.5。当悬浮液的藻细胞达一定密度后, 进行如下处理: 分别接种在含0%、4%、8%、12% NaCl 的 Johnson 培养基中和分别接种在含0.3% NaCl 的 Johnson 培养基、海水、卤水中(海水和卤水均采集连云港台南盐场, 并经高温消毒)。接种量大约为  $2.4 \times 10^{10}$  个藻细胞, 并置于  $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  光强和  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  中培养, 每天照光12 h, 加氧通气, 培养2、4、6、8、10和12天取样, 用血球计数板和比色进行悬浮液中细胞计数。重复3次。

无机离子含量的测定 取培养8天的材料, 按电感耦合等离子直读光谱仪(美国 J-A 1100 63道真空型)所要求的条件制备样品, 测定  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  等离子, 用  $\text{AgNO}_3$  滴定法定量测定  $\text{Cl}^-$  的含量。

## 3. 结果和讨论

### 3.1 不同浓度 NaCl 和不同培养液对杜氏藻生长的影响

培养在含0%、4%、8%、和12% NaCl 的 Johnson 培养液中杜氏藻的生长见图1。在不加 NaCl 的 Johnson 培养基中, 生长最迅速, 随着培养基中 NaCl 浓度的增大生长的抑制作用加大。

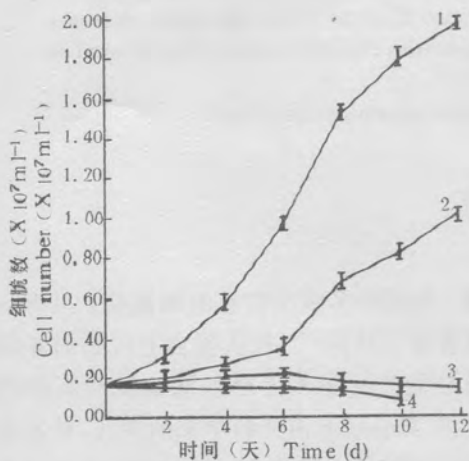


图1 不同浓度 NaCl 对杜氏藻生长的影响

Fig 1 Effect of NaCl concentration on the growth of *Dunaliella salina*

- 1 Johnson solution
- 2 Johnson solution + 4% NaCl
- 3 Johnson solution + 8% NaCl
- 4 Johnson solution + 12% NaCl

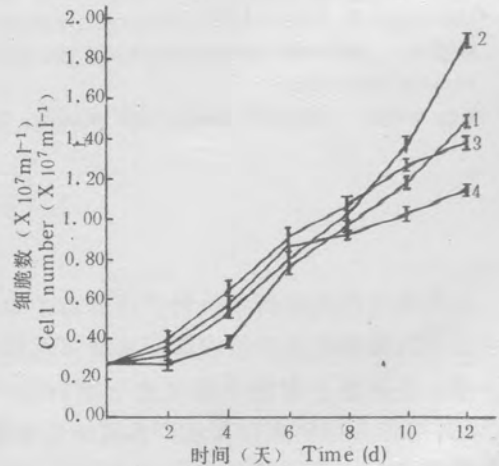


图2 不同培养基对杜氏藻生长的影响

Fig 2 Effect of various media on the growth of *Dunaliella salina*

- 1 Johnson solution
- 2 Johnson solution + 0.3% NaCl
- 3 Brine
- 4 Sea water

NaCl 的浓度为8%时,培养的最初6天细胞数略有增加,以后变化不大。NaCl 浓度达12%时,起初杜氏藻几乎不生长,6天后细胞数略减少。有关杜氏藻生存的盐度范围报道不一, Brown<sup>[7]</sup> 提出,杜氏藻生长的盐度范围为500 mM~5 M, Leoblich<sup>[13]</sup> 的研究表明,其耐盐范围从1%~35%,赵可夫<sup>[1]</sup> 提出,杜氏藻的生长不受盐浓度的限制。我们的试验结果表明,培养在 Johnson 培养液中的杜氏藻,生长的盐度范围为0~12%。此结果与 Brown 等<sup>[7]</sup> 和 Leoblich<sup>[13]</sup> 的报道结果不完全一致,可能与试验条件有关。

Johnson 培养液、含0.3% NaCl 的 Johnson 培养液、海水和卤水中的杜氏藻生长见图2。培养的前6天不同培养基中藻细胞的生长差异不明显。随培养时间的延长差异较显著( $P < 0.05$ )。不同培养基对杜氏藻生长影响不同,培养在含0.3% NaCl 的 Johnson 培养液中杜氏藻生长速度最快,Johnson 培养液和卤水次之,海水最差。从表1结果看出,海水和卤水的  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$  和无机离子总量明显高于含0.3% NaCl 的 Johnson 培养液,杜氏藻的生长受抑制,并随培养液的 NaCl 浓度提高,抑制更明显。这些结果表明,培养液的低浓度的 NaCl 可促进藻细胞生长,而高浓度的 NaCl 则抑制藻细胞的生长

### 3.2 不同培养基对杜氏藻无机离子含量的影响

表1 不同培养基对杜氏藻  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$  和  $\text{Ca}^{2+}$  含量的影响

Tab 1 Effects of various mediums on contents of  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$  of *Dunaliella salina*

培养基* Medium	培养基 Medium (mg/ml)	$\text{K}^+$		$\text{Na}^+$		$\text{Ca}^{2+}$			
		藻 <i>D. salina</i> (%)		藻 <i>D. salina</i> (%)		培养基		藻 <i>D. salina</i> (%)	
		培养前 Before culture	培养后 After culture	培养前 Before culture	培养后 After culture	培养前 Before culture	培养后 After culture	培养前 Before culture	培养后 After culture
1	0.48±0.35	1.55±0.80	1.75±0.96	1.25±0.85	5.05±0.90	1.80±0.78	0.04±0.08	0.14±0.08	0.35±0.25
2	0.31±0.16	1.55±0.80	1.04±0.98	8.50±0.80	5.05±0.90	5.21±0.80	0.34±0.09	0.14±0.08	0.37±0.15
3	0.54±0.30	1.55±0.80	1.40±0.75	12.6±0.98	5.05±0.90	5.76±1.05	0.56±0.20	0.14±0.08	0.18±0.35

\* 1 Johnson solution + 0.3% NaCl; 2 Sea water; 3 Brine

表2 不同培养基对杜氏藻  $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Cl}^-$  含量的影响

Tab 2 Effects of various mediums on contents of  $\text{Mg}^{2+}$  and  $\text{Cl}^-$  of *Dunaliella salina*

培养基 Medium	培养基 Medium (mg/ml)	$\text{Mg}^{2+}$		$\text{Cl}^-$		无机离子的总量		
		藻 <i>D. salina</i> (%)		藻 <i>D. salina</i> (%)		培养基	藻	
		培养前 Before culture	培养后 After culture	培养前 Before culture	培养后 After culture	培养前 Before culture	培养后 After culture	
1	0.23±0.20	0.48±0.30	0.60±0.56	2.80±0.98	8.81±0.98	8.50±0.90	0.45	13.40
2	1.05±0.45	0.48±0.30	0.93±0.75	16.4±0.75	8.81±0.98	8.42±1.02	2.61	16.17
3	2.09±0.78	0.48±0.30	0.93±0.65	28.5±1.05	8.81±0.96	12.23±1.25	4.27	20.29

\* 1 Johnson solution + 0.3% NaCl; 2 Sea water; 3 Brine

在含0.3% NaCl 的 Johnson 培养液、海水和卤水中生长的杜氏藻无机离子变化见表1,2。培养基中  $\text{K}^+$  含量是卤水较高,海水次之,含0.3% NaCl 的 Johnson 培养液较低。而藻细胞中  $\text{K}^+$  含量是培养在 Johnson 培养液中偏高,在海水和卤水培养基中培养的藻细胞中  $\text{K}^+$  比培养前减少; Johnson 培养液、海水和卤水的  $\text{Na}^+$  含量分别为  $1.25 \pm 0.85$  mg/ml,  $8.5 \pm 0.8$  mg/ml 和  $12.6 \pm 0.98$  mg/ml, 培养后藻细胞的  $\text{Na}^+$  含量为  $1.8 \pm 0.78\%$ 、 $5.21 \pm 0.80\%$  和  $5.76 \pm 1.05\%$ , 可以看出,海水和卤水的  $\text{Na}^+$  含量相差高达50%, 而培养在其中的杜氏藻,  $\text{Na}^+$  含量相差较少; 含0.3% NaCl 的 Johnson 培养液中  $\text{Ca}^{2+}$  含量明显低于海水和卤水, 但培养在其中的藻细胞  $\text{Ca}^{2+}$  的相对含量较高; 3种培养液中  $\text{Cl}^-$  含量依次是卤水 > 海水 > 0.3% NaCl 的

Johnson 培养液, 而培养在卤水中的藻细胞  $\text{Cl}^-$  含量略有增高; 0.3% NaCl 的 Johnson 培养液和海水中的  $\text{Cl}^-$  有下降的趋势。这些结果说明, 培养在不同培养基中的杜氏藻, 无机离子含量有明显差异。盐境中杜氏藻无机离子的含量报道不一致, 藻细胞  $\text{Na}^+$  的浓度低于外部  $\text{Na}^+$  浓度 10%<sup>[3,6,12]</sup>, 甚至高达 50%<sup>[8,16]</sup>, Ginzburg<sup>[9]</sup> 等研究指出, 藻细胞  $\text{Na}^+$  的含量随外部 NaCl 浓度增加而提高, Pick 等<sup>[14]</sup> 的研究结果表明, 当杜氏藻培养在 1 M 到 4 M NaCl 中时, 藻细胞  $\text{Na}^+$  浓度比培养基的低,  $\text{K}^+$  含量相当稳定, 并积累  $\text{Ca}^{2+}$ , 我们的试验结果表明, 藻细胞无机离子总量随培养基无机离子含量的增加而提高, 培养在不同培养液中的藻细胞,  $\text{K}^+$  含量较稳定, 在含高浓度  $\text{Na}^+$  的海水和卤水中, 藻细胞  $\text{Na}^+$  的含量低于培养液, 而  $\text{Ca}^{2+}$  积累。这些结果与 Ginzburg<sup>[9]</sup> 等报道不一致, 而与 Pick 等<sup>[14]</sup> 的结果基本一致。

### 参 考 文 献

- 1 赵可夫. 1984; 曲阜师范学院学报, 植物抗盐生理专刊 5~22.
- 2 Adriana K, U Pick, M Avron. 1989; *Biochem. Biophys. Acta* 983: 9~14.
- 3 Ben-Amotz A, M Avron. 1972; *Plant Physiol.* 49: 240~243.
- 4 Ben-Amotz A, M Avron. 1973; *Plant Physiology* 51: 875~878.
- 5 Ben-Amotz A, M Avron. 1982; In A. San Pietro (ed.) *Biosaline Research: A Look to the Future*, New York; Plenum Publishing Corporation.
- 6 Borowizka L J, A D Brown. 1974; *Arch Microbiol.* 96: 37~52.
- 7 Brown A D, L J Borowitzka. 1979; In M. Levandowsky and S. H. Hunter (editors). *Biochemistry and Physiology of Protozoa*. Vol. 1, Second Academic Press, New York. 139~190.
- 8 Gimmver H, R Schirling. 1978; *Z Pflanzenphysiol* 87: 435~444.
- 9 Ginzburg M, B Z Ginzburg. 1985; *J. Exp. Bot.* 36: 1064~1074.
- 10 Ginzburg M. 1987; *Adv. Botanical Rev.* 14: 93~183.
- 11 Johnson M K, E J Johnson, R D McElroy et al. 1988; *J. Bacteriology* 95: 1466~1468.
- 12 Katz A, M Avron. 1985; *Plant Physiol.* 78: 817~820.
- 13 Leoblich L A. 1972; Ph. D. thesis, University of California, San Diego.
- 14 Pick U, L Karni, M Avron. 1986; *Plant Physiol.* 81: 92~96.
- 15 Richmond A. 1986; *Handbook of Microalgal Mass Culture*. CRC Press. 230~440.
- 16 Zmiri A, B Z Ginzburg. 1983; *Plant Sci. Lett.* 30: 211~218.

(责任编辑: 罗 莹)