

固氮藍藻的干燥保存試驗*

曾繼綿 叶清泉 黎尙豪 劉富瑞 王立美

(中国科学院水生生物研究所)

藻种或菌种的保存方法，在实验室中，一般是采用接种在固体培养基上，在較低的温度下进行保存，并需要經常进行移植培养；在生产上，固氮細菌一般是采用泥炭土等为基体混合保存，作为商品細菌肥料，体积重量都很大而所含的細菌数量有限，增加了运输上的困难。

在肯定了固氮蓝藻对水稻有一定的肥效，并开始进行田間肥效試驗以后，如何保存和运输蓝藻藻种也成为一个需要解决的問題。在日本，最初是采用航空运输培养液的方法，最近采用了藻种和灭菌的泥炭土混合，保持半干状态（含水率 20—50%），进行保存^[7]；因为带水分較多，体积和重量都大，运输上也有一定的困难。

在进行固氮蓝藻田間試驗时，最初，我們也携带培养液保存的藻种到田間接种，感到很不便利；曾試用烤干的湖泥和园土与藻种混合保存蓝藻的方法，但在保存过程中，藻种常为真菌侵染而变坏，結果并不合乎要求。因此，就考慮到如何保存和运输藻种的問題。

蓝藻植物是比较能忍耐不良的环境条件、保存其生活力的。在 1919 年 Bristol^[2] 就曾經报导过蓝藻耐干的事实，她用在标本室保存的 1846 年和 1893 年的干燥土壤标本进行培养，发现黏念珠藻(*Nostoc muscorum* Kütz.) 和哈氏节鞘藻(*Nodularia Harveyana* (Thweites) Thuret.)，經過 70 年，以及念珠藻(*Nostoc passerianum* Born. et Thuret.)、颤形魚腥藻(*Anabaena oscillatorioides* Bory var. *terrestris* Bristol) 和地衣型柱孢藻(*Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kütz.) 經過 47 年的干燥后，还保存其生命力，繼續生长。1941 年 Lipman 氏^[6]也发现地木耳(*Nostoc commune* Rauch.) 在干燥保存 87 年后，在培养中能繼續生长。最近 Evans 氏^[2,3,4]也报导了許多种藻类在干旱以后，不但維持其生命，而且也能在条件改变时，繼續发展。这些事实都充分說明：蓝藻植物是能耐干旱，在长期干燥以后还保持其生命力。因此，我們就考慮到如何利用蓝藻所具有的这些特点，进行保存固氮蓝藻，以減少将来在田間利用固氮蓝藻作为氮肥时的保存和运输上的困难。本試驗的目的是要找出一种簡便的保存固氮蓝藻的方法，既可保存藻种，又可減少运输上的困难。

試驗材料和方法

我們以水生 686 和水生 678 固氮蓝藻为試驗对象。用在烘箱内以 35—40℃ 之間烘干和用实验室內自制的热风烘箱(35—40℃)烘干的办法，来取得干燥的蓝藻。

干燥的步驟是：先将收穫得的蓝藻在玻璃板上摊开，然后放在烘箱内，用加温或加热风使它干燥，待干燥后，用刀片刮下来保存，并进行試驗。

* 1959 年 10 月 12 日收到。

藍藻含水量很多，在試驗中，100克水生686固氮藍藻在干燥后的重量为1.6克。用这样的方法干燥后的藍藻体，經測定它还含有14.11%的水份，即保留原鮮重的0.2%的水份。

試驗时称取一定量的干燥藍藻，切成碎块，接入定量的水生105无氮培养液內^[1]，在螢光灯下28°C左右培养。并觀察其生长情况，在一定時間后，收获并称取其鮮重，測定其数量增长的情况。

試 驗 結 果

1. 干燥固氮藍藻的恢复生长試驗 在1959年3月21日，我們将在干燥器內保存的1959年2月15—20日之間用溫箱烘干和热风烘干的水生686固氮藍藻干片，分別称取0.16克(相当于鮮重10克)，接入浅盆的水生105培养液中，在2支30瓦螢光灯下进行培养。两天后，藍藻开始生长，藻絲向外伸張，顏色逐漸变为鮮艳，經15天后，顏色变为鮮艳的蓝綠色，即进行收获，称取其鮮重。結果如表1。

表1 干燥的水生686固氮藍藻恢复生長的情况

干燥方法	接 种 量 (克)	接 种 时 間 (日/月)	恢復生長時間 日/月	培 养 15 天 后 藻 体 鮮 重 (克)
溫 箱 烘 干	0.16	21/III	23/III	44.7
热 风 烘 干	0.16	21/III	23/III	43.7

从結果来看，虽經干燥一个月后，固氮藍藻不但保持其生命力，而且生长也还是很旺盛，在15天里从恢复而至增长到原鮮重的3.3—3.4倍。我們先后进行了四次試驗，虽然增长数量上有所不同，但可以保持其生命力是毫无疑问。

表2 不同浓度的培养液浸泡后，干燥的水生686恢复生長情況

溶液浓度	接 种 量 (克)	接 种 时 間 (日/月)	恢復生長時 間 日/月	14天后的藻体增长量	
				鮮 重 (克)	平均量(克)
全 溶 液	0.08	7/IV	8/IV	2.5 2.4 5.4 6.0	4.075
稀 释 一 倍	同 上	同 上	同 上	4.0 4.5 4.1 5.0	4.40
稀 释 二 倍	同 上	同 上	同 上	4.7 2.6 5.4 6.0	4.675
过 滤 自 来 水	同 上	同 上	同 上	5.0 5.7 1.8 1.9	3.60

在8月26日，我們又取前干燥的水生678固氮藍藻的干燥保存藻种，进行培养。在2—3天以后，即有藻絲向外伸長，呈鮮藍綠色环，部分藻种变黃，成为枯萎状态。經顯微

鏡檢查，藍藻細胞尚為藍綠色，外面黃色膠質較多。經 10 天後藍藻已長滿淺盆。雖未定量，但也充分說明，經半年的干燥後，對固氮藍藻的生命力並無多大的影響，但恢復速度稍緩慢。

2. 用各種不同濃度培養液的處理試驗為了試驗藍藻的恢復條件，我們將等分量的熱風干燥的 686 固氮藍藻，接種到不同濃度的水生 105 培養液及過濾自來水中，泡浸兩天後，再接入水生 105 培養液中，在玻璃碗內進行培養，結果以先用稀釋三倍的培養液浸泡後的藻種，生長較佳（表 2）。

但由于培養液少，條件不如淺盆培養好，增長的速度也較低。

結 語

從上述兩項試驗結果，可以看出：雖然還有些技術問題需進一步解決，但利用干燥來保存固氮藍藻是完全可能的，就在干燥半年以後，還是可以接種生長。因為時間關係，未能作更長時間干燥的試驗，但從實用上說，對今后推廣使用固氮藍藻作為水稻或其他作物肥源時，在藻種的保存和運輸上的困難已得到初步的解決，為推廣使用提供良好的條件；至於固氮藍藻在干燥後的生理生化上的變化，還有待以進一步的研究。

參 考 文 獻

- [1] 黎尚豪等，1959。我國的幾種藍藻的固氮作用。水生生物學集刊 1959: 429—439。
- [2] Bristol, B., M. 1919. On the retention of vitality by algae from old stored soils. *New Phytol.*, 18, 92.
- [3] Evans, J. H. 1958. The survival of freshwater algae during dry periods. Part I. An investigation of five small ponds. *Jour. Ecol.*, 46: 149—68.
- [4] ———, 1959. The survival of freshwater algae during dry periods. Part II. During experiments. *Jour. Ecol.* 47: 55—71.
- [5] ———, 1959. The survival of freshwater algae during dry periods. Part III. Stratification of algae in pond margin litter and mud. *Jour. Ecol.*, 47: 72—81.
- [6] Lipman, C. B. 1941. The successful revival of *Nostoc commune* from a herbarium specimen eighty-seven years old. *Bull. Torrey Bot. Club*, 68: 664—666.
- [7] Watanabe, A. 1956. On the effect of the atmospheric nitrogen-fixing blue-green algae on the yield of rice (in Japanese). *Bot. Mag. (Tokyo)* 69: 530—536.

A METHOD FOR CONSERVATION OF THE NITROGEN-FIXING BLUE-GREEN ALGAE FOR INOCULATION

TSENG CHI-MIEN, YEH TSING-CHUAN, LEY SHANG-HAO, LIU FU-JUI & WANG LIH-MEI

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica)

SUMMARY

In implementing the large-scale use of blue-green algae as biological fertilizers, a problem has arisen as to the conservation of the algae in a viable state, and at the same time in a condition facilitating transportation. Experiments have been made in drying the algal cultures in an incubator, and also by hot drying air, at temperatures of 35° to 40°C. We found that the dried algal material grew well after inoculating medium HB No. 105, even after it had remained from one to six months in the dried condition. Also, that a better growth was obtained when the dried material was first inoculated onto a diluted medium and 2 days later subcultured onto the normal strength medium.