

# 固氮蓝藻的干燥保存試驗\*

曾繼綿 叶清泉 黎尙豪 刘富瑞 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,并需要經常进行移种培养;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,并开始进行田间肥效試驗以后,如何保存和运输蓝藻藻种也成为一個需要解决的問題。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<sup>[7]</sup>;因为带水分較多,体积和重量都大,运输上也有一定的困难。

在进行固氮蓝藻田间試驗时,最初,我們也携带培养液保存的藻种到田间接种,感到很便利;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,就考虑到如何保存和运输藻种的問題。

蓝藻植物是比較能忍耐不良的环境条件、保存其生活力的。在 1919 年 Bristol<sup>[2]</sup> 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* (Thwaites) Thuret.),经过 70 年,以及念珠藻(*Nostoc passerianum* Born. et Thuret.)、颤形魚腥藻(*Anabaena oscillatoroides* Bory var. *terrestris* Bristol) 和地衣型柱孢藻(*Cylindrospermum licheniforme* (Bory) Kütz.) 经过 47 年的干燥后,还保存其生命力,繼續生长。1941 年 Lipman 氏<sup>[6]</sup>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<sup>[2,3,4]</sup>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,我們就考虑到如何利用蓝藻所具有的这些特点,进行保存固氮蓝藻,以減少将来在田间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。用在烘箱內以 35—40℃ 之間烘干和用实验室内自制的热风烘箱(35—40℃)烘干的办法,来取得干燥的蓝藻。

干燥的步骤是:先将收穫得的蓝藻在玻璃板上摊开,然后放在烘箱內,用加温或加热热风使它干燥,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 无氮培养液内<sup>[1]</sup>,在螢光灯下 28℃ 左右培养。并观察其生长情况,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,藻絲向外伸张,顏色逐渐变为鮮艳,經 15 天后,顏色变为鮮艳的藍綠色,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)	恢复生长時間 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問。

表 2 不同浓度的培养液浸泡后,干燥的水生 686 恢复生長情况

溶 液 浓 度	接 种 量 (克)	接 种 时 間 (日/月)	恢复生长时 (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,即有藻絲向外伸长,呈鮮藍綠色环,部分藻种变黄,成为枯萎状态。經显微

鏡检查,藍藻細胞尚为藍綠色,外面黃色胶質較多。經 10 天后藍藻已长滿淺盆。虽未定量,但也充分說明,經半年的干燥后,对固氮藍藻的生命力并无多大的影响,但恢复速度稍緩慢。

2. 用各种不同浓度培养液的处理試驗为了試驗藍藻的恢复条件,我們將等分量的热风干燥的 686 固氮藍藻,接种到不同浓度的水生 105 培养液及过滤自来水中,泡浸两天后,再接入水生 105 培养液中,在玻璃碗内进行培养,結果以先用稀释三倍的培养液浸泡后的藻种,生长較佳(表 2)。

但由于培养液少,条件不如淺盆培养好,增长的速度也較低。

## 結 語

从上述兩項試驗結果,可以看出:虽然还有些技術問題需进一步解决,但利用干燥来保存固氮藍藻是完全可能的,就在干燥半年以后,还是可以接种生长。因为時間关系,未能作更長時間干燥的試驗,但从实用上說,对今后推广使用固氮藍藻作为水稻或其他作物肥源时,在藻种的保存和运输上的困难已得到初步的解决,为推广使用提供良好的条件;至于固氮藍藻在干燥后的生理生化上的变化,还有待以进一步的研究。

## 参 考 文 献

- [1] 黎尙豪等, 1959. 我国的几种藍藻的固氮作用. 水生生物学集刊 1959: 429—439.
- [2] Bristol, B., M. 1919. On the retention of vitality by algae from old stored soils. *New Phytol.*, 18, 92.
- [3] Evens, 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.