

21世纪

宁夏博士学术专著

发状念珠藻——生物学基础与应用

Nostoc flagelliforme —
Biological Foundation And Application

苏建宇 著



宁夏人民出版社

21世纪

宁夏博士学术专著

发状念珠藻——生物学基础与应用

FAZHUANG NIANZHUZAO——
SHENGWUXUE JICHU YU YINGYONG

苏建宇 著

宁夏人民出版社

图书在版编目(CIP)数据

发状念珠藻:生物学基础与应用 / 苏建宇著. — 银川:
宁夏人民出版社, 2007.12

ISBN 978-7-227-03685-2

I. 发… II. 苏… III. 念珠藻目 - 研究 IV. Q949.22

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第 003315 号

发状念珠藻——生物学基础与应用

苏建宇 著

责任编辑 景 岚 那大庆

封面设计 万明华

责任印制 来学军

宁夏人民出版社 出版发行

出版人 高 伟

地 址 银川市北京东路 139 号出版大厦(750001)

网 址 www.nxcbn.com

电子信箱 nxcbmail@126.com

邮购电话 0951-5044614

经 销 全国新华书店

印刷装订 宁夏飞马彩色印务有限公司

开 本 880×1230mm 1/32

印 张 4.125

字 数 150 千

印 数 1000 册

版 次 2007 年 12 月第 1 版

印 次 2007 年 12 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-227-03685-2/Q·14

定 价 28.00 元

版权所有 翻印必究

• 彩色插图 •



图1 发状念珠藻生长地自然景观



图2 野外生长的发状念珠藻



图3 雪地中生长的发状念珠藻

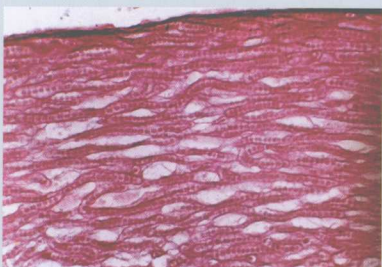


图4 发状念珠藻纵切

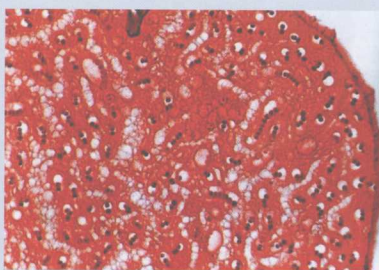


图5 发状念珠藻横切

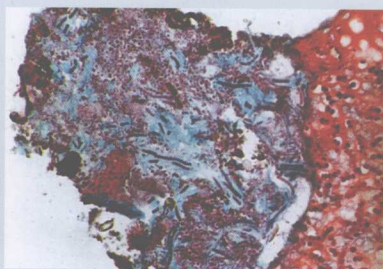


图6 发状念珠藻端结纵切

发状念珠藻——生物学基础与应用

Nostoc flagelliforme —
Biological Foundation And Application

• 彩色插图 •



图7 发状念珠藻及其周围
附生微生物菌落

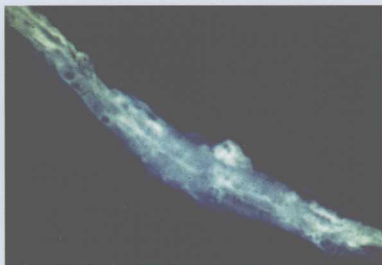


图8 解体的发状念珠藻



图9 发状念珠藻人工培养

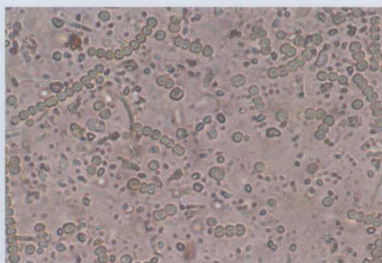


图10 匀浆分离的发状念珠藻单体细胞



图11 平板培养基上形成的发
状念珠藻细胞群落

发状念珠藻——生物学基础与应用

Nostoc flagelliforme —
Biological Foundation And Application

• 彩色插图 •

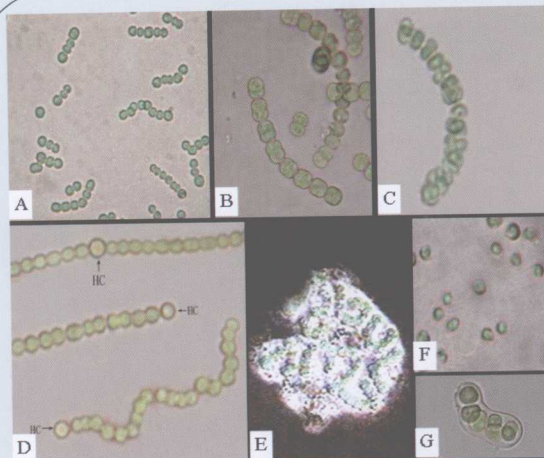


图12 液体悬浮培养下
单体发状念珠藻
细胞类型及形态

- A: 藻殖段
- B: 营养细胞 (横分裂)
- C: 营养细胞 (纵分裂)
- D: 异形胞
- E: 细胞团
- F: 厚壁孢子
- G: 繁殖体



图13 液体悬浮培养下单体发状念珠藻细胞形成的致密细胞群体

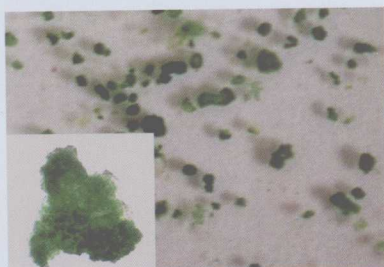


图14 液体悬浮培养条件下形成的发状念珠藻细胞聚合体



图15 发状念珠藻单体细胞光生物反应器培养



图16 沙粒基质上生长的发状念珠藻细胞群体

发状念珠藻——生物学基础与应用

Nostoc flagelliforme —
Biological Foundation And Application

• 彩色插图 •



图17 沙粒基质上生长的发状念珠藻细胞群体（干燥）



图18 固态培养下发状念珠藻细胞产生的胞外胶质物质

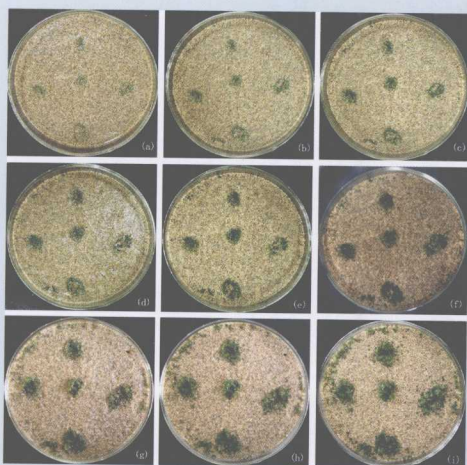


图19 不同培养时期沙粒基质上发状念珠藻细胞生长状态

a: 初始接种状态

b-i: 分别培养5天、10天、15天、20天、40天、60天、80天、100天

图20 发状念珠藻细胞在沙粒基质上形成的结皮



发状念珠藻——生物学基础与应用

Nostoc flagelliforme —
Biological Foundation And Application

前言

发状念珠藻又称“发菜”，是分布于荒漠—半荒漠地区的陆生蓝细菌（蓝藻），具有较高的营养和药用价值，在我国已有上千年的食用历史，深受广大消费者，尤其是闽、粤和港、澳、台消费者的喜爱。发状念珠藻对恶劣环境具有极强的适应性，是荒漠中的先锋生物，在荒漠化防治和生态恢复中具有重要的作用。由于生长极其缓慢，对野生发状念珠藻的过度采收已造成发状念珠藻资源濒临枯竭，发状念珠藻生长地的生态环境也因野蛮的采收方式而遭受严重破坏。因此，我国政府于2000年7月起全面禁止发状念珠藻的采收、加工和销售，发状念珠藻被列为国家一级保护植物。

本书以作者多年来进行发状念珠藻生物学特性和培养技术研究所积累的研究资料为基础，结合国内、外近年来的研究成果，较为系统的介绍了发状念珠藻的生物学特性、人工培养技术、发状念珠藻及其生理活性物质的开发应用等内容，以期能对这种特种生物资源的保护与开发利用提供一些理论和技术参考。

鉴于作者水平所限，书中难免有疏漏和不足之处，恳请读者批评指正。

目 录

第 1 章	发状念珠藻概述	1
1.1	发状念珠藻的分类地位	1
1.2	发状念珠藻的食用和药用价值	2
1.3	发状念珠藻的资源现状	4
第 2 章	发状念珠藻的分布及其生态学特性	6
2.1	发状念珠藻的分布	6
2.1.1	发状念珠藻分布地区的温度特征	7
2.1.2	发状念珠藻分布地区的水分特征	7
2.1.3	发状念珠藻分布地区日照条件	8
2.1.4	发状念珠藻分布地区的土质类型及主要成分	8
2.1.5	发状念珠藻分布地区的植被	10
2.2	发状念珠藻的生态学特性	10
2.3	发状念珠藻的生态学意义	11
第 3 章	发状念珠藻的生物学特性	12
3.1	发状念珠藻的形态	12
3.2	发状念珠藻的结构	13
3.2.1	发状念珠藻显微和亚显微结构	14
3.2.2	发状念珠藻胶质鞘	17

3.3	发状念珠藻的生长和繁殖	17
3.3.1	藻丝体的生长	17
3.3.2	藻丝体的繁殖	18
3.3.3	发状念珠藻的繁殖	19
第4章	发状念珠藻的光合、呼吸和固氮特性	20
4.1	发状念珠藻的光合和呼吸作用	20
4.1.1	发状念珠藻的光合作用	20
4.1.2	发状念珠藻的呼吸作用	21
4.1.3	影响发状念珠藻光合和呼吸作用的因素	21
4.2	发状念珠藻的固氮作用	24
第5章	发状念珠藻的培养	27
5.1	藻体附生微生物及其对发状念珠藻生长的影响	27
5.1.1	附生微生物种类和数量	27
5.1.2	附生微生物对发状念珠藻生长的影响	28
5.2	固态培养基上发状念珠藻的培养	29
5.2.1	藻体表面灭菌条件下发状念珠藻的培养	30
5.2.2	节律性供水条件下发状念珠藻的培养	30
5.3	发状念珠藻的生长条件	31
5.3.1	培养基成分	31
5.3.2	培养基初始 pH 值	32
5.3.3	温度	32
5.3.4	光照	32
5.4	发状念珠藻室外小区人工培养	33
5.4.1	培养方法	33
5.4.2	发状念珠藻生长量测定	33

5.4.3	供水节律对发状念珠藻生长的影响	34
5.4.4	培养基质对发状念珠藻生长的影响	35
5.4.5	制种方法对发状念珠藻生长的影响	36
5.4.6	对照区发状念珠藻生长情况	37
5.5	发状念珠藻大面积人工培养	37
5.5.1	培养试验地区选择	37
5.5.2	试验地土壤的理化性质	38
5.5.3	微喷灌	39
5.5.4	制种密度对发状念珠藻生长和产量的影响	42
5.5.5	发状念珠藻最适培养周期	43
5.6	发状念珠藻人工培养技术方案	44
第 6 章	发状念珠藻细胞培养	45
6.1	发状念珠藻细胞分离纯化	46
6.2	单体发状念珠藻细胞形态特征	47
6.2.1	发状念珠藻细胞光谱特性	47
6.2.2	单体发状念珠藻细胞形态类型	48
6.3	液体培养条件下单体发状念珠藻细胞的生长	49
6.3.1	细胞的生长过程	49
6.3.2	培养基中氮源对发状念珠藻细胞形态和发育的影响	51
6.3.3	发状念珠藻细胞聚合体的形成	51
6.4	单体发状念珠藻细胞光合和呼吸特性	52
6.4.1	光照强度对发状念珠藻细胞光合速率的影响	53
6.4.2	温度对发状念珠藻细胞光合和呼吸的影响	54
6.4.3	pH 值对发状念珠藻细胞光合和呼吸的影响	55
6.4.4	培养基成分对发状念珠藻细胞光合和呼吸	

的影响	56
6.4.5 盐度对发状念珠藻细胞光合和呼吸的影响	59
6.5 单体发状念珠藻细胞的光自养液体培养条件	61
6.5.1 光照对发状念珠藻细胞生长的影响	61
6.5.2 温度对发状念珠藻细胞生长的影响	63
6.5.3 培养基初始 pH 值对发状念珠藻细胞生长的影响	64
6.5.4 氮源对发状念珠藻细胞生长的影响	66
6.5.5 磷酸盐对发状念珠藻细胞生长的影响	69
6.5.6 光强在发状念珠藻细胞培养液中的衰减	71
6.6 发状念珠藻细胞封闭式光反应器培养	75
6.6.1 发状念珠藻细胞光反应器中培养过程特性	76
6.6.2 通气量对发状念珠藻细胞生长的影响	79
6.6.3 搅拌速率对发状念珠藻细胞生长的影响	80
6.7 发状念珠藻细胞开放式液体培养	83
6.7.1 发状念珠藻耐碱性细胞株的分离筛选	83
6.7.2 发状念珠藻细胞开放式培养	85
6.8 发状念珠藻细胞固态基质培养	89
6.8.1 发状念珠藻细胞耐旱性	90
6.8.2 发状念珠藻细胞耐热性	92
6.8.3 沙粒上发状念珠藻细胞的生长	92
6.8.4 沙粒基质上发状念珠藻细胞的生长速率	93
6.8.5 影响发状念珠藻细胞固态培养的因素	96
6.8.6 发状念珠藻细胞及培养液对土壤渗水性和持水性的影响	98
6.8.7 发状念珠藻细胞生长对培养基质结构的影响	

.....	98
6.9 发状念珠藻细胞培养物成分分析及功能试验	99
6.9.1 发状念珠藻细胞培养物高效液相色谱 分析	99
6.9.2 发状念珠藻细胞培养物基本生化组成	101
6.9.3 发状念珠藻细胞培养物抗病毒功能	101
第 7 章 发状念珠藻多糖生产	103
7.1 细胞液体悬浮培养生产发状念珠藻多糖	104
7.1.1 细胞培养液中水溶性发状念珠藻多糖 含量测定方法	104
7.1.2 培养基成分对两种测定方法影响的比较	104
7.1.3 培养条件对发状念珠藻多糖产量的影响	106
7.2 发状念珠藻多糖提取工艺	110
7.2.1 发状念珠藻细胞培养液的超滤浓缩	110
7.2.2 发状念珠藻多糖的提取精制	111
7.2.3 发状念珠藻荚膜多糖的提取	116
参考文献	120

第 1 章

发状念珠藻概述

发状念珠藻是一种多细胞丝状聚合体蓝藻,具有完整结构的天然发状念珠藻个体称原植体(thallus)。由于干燥状态下发状念珠藻藻体呈黑色,贴附于地表,缠绕成团,与人的头发相似,故称其为“发菜”,也有些地区称其为“地毛”,蒙语称之为“嘎吉力乌苏”,意为“大地的头发”。



图 1-1 发状念珠藻

1.1 发状念珠藻的分类地位

根据 1994 年出版的《伯杰细菌鉴定手册》第九版的分类体系,

发状念珠藻属薄壁菌门(Gracilicutes)、产氧光细菌纲(Oxyphotobacteria)、念珠蓝细菌目(Nostocales)、念珠蓝细菌科(Nostocaceae)、念珠蓝细菌属(Nostoc),因此称其为发状念珠蓝细菌似更为恰当,但由于其诸多的藻类特性,以及蓝藻这一名称目前仍在广泛使用,故本书中仍沿袭发状念珠藻这一名称。

发状念珠藻 1873 年由 Nylander 首次在法国发现并记录,定名为 *Nematonostoc rhizomorphoides*, 1881 年 Bronet 和 Thret 改定为 *Nostoc flagelliforme*, 1888 年 Bronet 和 Flahault 将其放到普通念珠藻(*Nostoc commune*)中作为一个变种:*Nostoc commune* var. *flagelliforme*, 1931 年 Elenkin 又将其改定为 *Nematonostoc flagelliforme*。除 *Nematonostoc rhizomorphoides* 外,其余三种命名在不同文献中均有使用。

发状念珠藻在我国的首次记录是饶钦止先生 1947 年采自甘肃省的材料,当时采用的定名是 *Nostoc commune* var. *flagelliforme*。1979 年我国出版的《藻类学名词及名称》修订为 *Nostoc flagelliforme*,并在《中国淡水藻类》中使用,目前国内绝大部分文献采用此学名。

1.2 发状念珠藻的食用和药用价值

发状念珠藻含蛋白质 20% ~ 23.41%, 碳水化合物 57%, 粗脂肪 5.5% ~ 5.69%, 磷 0.27% ~ 0.30%, 铁 0.12% ~ 0.20%, 钙 0.27% ~ 2.56%, 灰分 6.62% ~ 7.65%。发状念珠藻除了含有叶绿素、胡萝卜素、维生素 B₂、海胆酮、叶黄素、藻蓝素和别藻蓝素等色素外,还有其他念珠藻种类所没有的裸藻酮。

发状念珠藻是一种食用蓝藻。我国食用发状念珠藻的历史可远溯至唐朝,开始是民间采食,尔后逐步成为地方性特产。清乾隆年间钟赓起修纂的《甘州府志》和民国时期白册侯原纂、余炳元续纂的《新修张掖县志》,均将发状念珠藻收录于“物产”部“蔬之属”中。因其形状酷似人的毛发,发状念珠藻被称作“发菜”,而“发菜”与“发财”谐音,故此受到广大消费者,尤其是闽、粤、港、澳、台和东南亚地区消费者的欢迎。在 2000 年以前,发状念珠藻是我国传统的出口

商品。

发状念珠藻营养丰富,其蛋白质含量是鸡蛋的1.52倍,分别比黑木耳、地木耳、银耳高出11.84%、4.36%和17.44%;其铁含量高于猪肝,钙含量是牛奶的2倍。发状念珠藻含17种氨基酸,其中人体必需的8种氨基酸含量高于黑木耳、猴头、香菇等,其食用安全性也已经过实验证实。

表1-1 发状念珠藻氨基酸含量

名 称	含量(%)
天冬氨酸	2.35
苏氨酸	1.27
丝氨酸	0.89
谷氨酸	2.29
甘氨酸	1.07
丙氨酸	1.28
脯氨酸	0.78
胱氨酸	0.06
缬氨酸	1.10
甲硫氨酸	1.15
亮氨酸	1.73
异亮氨酸	1.08
酪氨酸	0.45
苯丙氨酸	0.95
精氨酸	1.26
色氨酸	0.28
组氨酸	0.14

发状念珠藻性味甘寒,有清热解毒、消滞、软坚、化痰、顺肠理肺、明目降压、利尿渗湿和滋补作用。常食可助消化,解积腻,清肠

胃,降血压。清朝章穆编纂的《调疾饮食辨》中记载发状念珠藻熟食能“清肝肾之热”,生食能“下气和中”,明确指出了发状念珠藻的归经为入肝肾。《中华本草》中记载发状念珠藻具有补血、利尿、降压、化痰止咳的功能。现已证明,它对高血压、肥胖症、佝偻病、贫血、慢性气管炎、肝炎、浮肿以及癌、瘤、瘦、肿等都有一定疗效。临床上常用作营养医疗食品,辅助治疗高血压和某些妇女病。手术后的病人食用发状念珠藻能加速伤口愈合,对神经末梢损伤所致的失调疾病有一定疗效。

中国科学院植物研究所的研究结果表明,发状念珠藻具有延缓衰老的作用,其功效强于人参和螺旋藻。日本有关研究机构的研究结果表明,发状念珠藻中所含多糖物质可增强机体免疫力,发状念珠藻热水抽提物具有抗肿瘤活性。Kanekiyo 等从发状念珠藻中分离到一种酸性多糖 nostoflan,这种多糖对 1 型和 2 型单纯疱疹病毒、人巨细胞病毒和流感 A 型病毒都具有抗性,但对腺病毒和科萨奇病毒不具抗性,表明 nostoflan 对细胞信号受体是糖类的包被病毒具有广谱抗性,而无抗凝血酶活性。通过对发状念珠藻、地木耳和葛仙米 3 种念珠藻多糖对自由基的清除作用进行研究发现,3 种念珠藻多糖对超氧阴离子自由基和羟自由基具有很强的清除作用,且呈量效关系,地木耳清除超氧自由基作用最强,最高清除率达 72.3%,葛仙米和发状念珠藻分别为 46.7% 和 35.5%;发状念珠藻清除羟自由基效果最强,最高清除率达 74.3%,葛仙米和地木耳清除率分别为 49.0% 和 46.7%。

1.3 发状念珠藻的资源现状

发状念珠藻生长极为缓慢,年生长率低于 10%,自然蕴藏量相当有限,而多年来对发状念珠藻的掠夺性采收使得其资源遭受严重破坏,以致濒临枯竭。据调查,我国发状念珠藻主要产地之一的宁夏回族自治区,20 世纪 60 年代,发状念珠藻生长地面积约 360.7 万公顷,至 80 年代中期减少到 173.3 万公顷,到 90 年代末已减至不足