

海藻解壁酶研究

STUDIES ON THE ENZYMES OF ALGAL CELL WALL HYDROLYSIS

韩宝芹 刘万顺 王海 戴继勋

(青岛海洋大学 266003)

海藻生物技术始于 50 年代初期,其发展较陆生高等植物要缓慢得多。在海藻中缺乏特殊的海藻解壁酶是制约海藻生物技术发展的重要因素,因此在今后的研究中,迫切需要解决海藻解壁酶问题^[14]。

海藻解壁酶的种类很多,但主要有两个类源^[1, 2, 10, 12, 14, 18, 21, 22, 27-30]。

1 动物源的海藻解壁酶研究

1980~1984 年刘万顺等^[23]从海螺消化系统中制备了海螺酶,并用于紫菜、海带、裙带菜和江蓠的单细胞和原生质体分离,为开辟海洋动物源的海藻解壁酶奠定了基础,同时也是酶法制备红藻和褐藻原生质体的首次成功。1982 年,唐延林^[7]用海螺酶制备紫菜原生质体并再生叶状体获得成功。1984 年 Saga, N. 等^[25]从海胆中提取出粗酶液用于海带和紫菜的原生质体制备获得成功。1987 年, K loareg, B. 等^[21]从海兔内脏制备出褐藻酸酶,用于墨角藻合子的去壁,制备出了原生质体,并能发育再生。1988 年,刘万顺等^[1]研究了紫贻贝、日本蛸、滨螺消化酶对三角褐指藻和啤酒酵母的去壁作用,制备出大量酵母原生质体和去除大部分三角褐指藻细胞壁的细胞。1989 年, Yamaguchi, K. 等^[28]从海螺、鲍的内脏中制备出海藻解壁酶,用于某些红藻、褐藻、绿藻的细胞解离,可制备出原生质体。1995 年戴继勋等研究了 14 种无脊椎动物消化酶液对海藻的去壁作用,最终从滩栖螺、石鳖和笠贝中制备出海螺酶 III、石鳖酶和笠贝酶,并研究了这 3 种酶对 4 种绿藻、7 种红藻和 3 种褐藻细胞的解离作用。结果裙带菜、海带、条斑紫菜、凹顶藻的解离率达 90%,孔石莼、浒苔、羽藻的解离率达 60%,鸭毛藻、蜈蚣藻的解离率达 30%,角叉藻、叉枝藻、扁江蓠、马尾藻、松藻均很难

解离成单细胞。至此,动物源的海藻解壁酶有:海螺酶 I、海螺酶 II、海螺酶 III、海胆酶、海兔酶、鲍酶、蜗牛酶、石鳖酶、笠贝酶等。

动物源的海藻解壁酶是一种复合酶,主要成分有纤维素酶、 β -半乳糖苷酶、 β -葡萄糖苷酶、壳多糖酶、琼胶酶、褐藻酸酶等^[1],它们对很多海藻细胞的解离是有效的。但不同动物消化酶对同一种海藻细胞解离程度不同,同一种酶对不同海藻细胞解离作用也不同。同时,同一种动物消化酶其酶活力也随季节稍有变化,因而每批制剂的酶活性也有差异。另外,动物源的海藻解壁酶在大量生产时受到天然资源条件的限制。进行人工养殖是解决酶源材料的重要途径。

2 微生物源的海藻解壁酶研究

在微生物源的海藻解壁酶方面,1981 年, A raki, T. 等^[11]从产气单胞菌(*Aeromonas* sp.) 菌株 F-25 发酵培养制备出 β -甘露聚糖酶。1982 年, Bellon, C. 等^[13]通过未鉴定的海洋细菌发酵制备出卡拉胶酶。1983 年, M orrice, L. M. 等^[24]从假单胞菌(*Pseudomonas atlantica*) 的发酵物中制备出琼胶酶。1983 年卢澄清等^[9]用海洋细菌的发酵液分离了条斑紫菜营养细胞,发现分离的营养细胞能发育成正常叶状体。1985 年, Fujita, Y. 等^[17]利用假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) 的发酵液进行了紫菜的原生质体分离。1986 年, H atate, H. 等^[19]分别筛选出能够产生 β -1, 4-甘露聚糖酶、 β -1, 3-木聚糖酶和紫菜聚糖酶的海洋细菌,通过发酵培养制备出这三种酶,并利用这三种酶的混合液进行了紫菜的原生质体游离研究。1989 年, K itam ikado, M. 等^[20]分离到

收稿日期:1996 年 2 月 1 日

产生褐藻酸酶的海洋弧菌,并对酶的性质进行了研究。在国内,1979年陈 等^[8]在研究海带病害时对褐藻酸降解菌进行了研究。1995年,戴继勋等由海带、裙带菜病烂处分离出褐藻酸降解菌埃氏交替单胞菌(*A. teromonas espejiana*)和麦氏交替单胞菌(*A. teromonas macleodii*),并通过发酵培养制备出褐藻酸酶。利用该酶进行裙带菜、海带的细胞解离,获得了大量的单细胞和原生质体。至此,微生物源的海藻解壁酶有:琼胶酶、褐藻酸酶、卡拉胶酶、甘露聚糖酶、木聚糖酶、紫菜聚糖酶。

3 海藻解壁酶的应用研究

3.1 海藻解壁酶在海藻养殖中的应用

1980年,方宗熙等利用海螺酶法分离紫菜细胞,进行采苗试验,养殖的紫菜藻体长10~20cm,达到采收要求^[5]。1987年,王素娟等^[6]用坛紫菜营养细胞在苗绳上代替壳孢子采苗,并将幼苗下海养殖。实验研究了种藻的来源与出苗率的关系,营养细胞附着条件,直接采苗后的育苗情况以及下海养殖后的幼苗生长情况。1988年,戴继勋等^[3,16]应用海螺酶将紫菜叶状体细胞分离成单细胞和原生质体,研究了叶状体的不同细胞类型的再生和发育,不同海水比重、不同温度对细胞的分离和培养的影响,以及单细胞和原生质体的附着和海上养殖。1992~1995年,他们对紫菜叶状体细胞酶法育苗及养殖技术做了进一步研究。研究表明,网帘附苗密度在15~30个细胞/cm,网帘上的紫菜与壳孢子采苗没有区别,完全符合生产要求,紫菜养殖的结果达到采收标准。戴继勋等^[4,16]还利用酶法制备了紫菜原生质体,进行了原生质体诱变育种和种间的细胞融合研究。

3.2 海藻解壁酶在单细胞饵料生产中的应用

1992~1995年,戴继勋等对酶解大型海藻生产单细胞饵料进行了研究。将紫菜叶状体酶解成单细胞和原生质体作为饵料,培育海湾扇贝亲体及魁蚶亲体。结果表明,利用紫菜酶法生产单细胞饵料,对海湾扇贝亲体的促熟效果与用单细胞藻饵料的效果相当;如果利用单胞藻和紫菜单细胞混合投喂,可明显地加速亲体的性腺发育和成熟。酶法生产的紫菜单细胞饵料和硅藻一样,能促使魁蚶亲体性腺成熟,并产卵排精,产生的幼体也能正常发育成D形幼虫。在目前的海水养殖中,为养殖动物育苗期提供充足的优质饵料一直是制约生产的一个关键因素。由于单胞藻活体饵料的供应不足,严重地影响着育苗的产量和质量。酶解大型海藻,分离成单细胞,作为海洋养殖动物的饵料,具有营

养全面、材料易得、生产加工简便等优点。因而,采用酶解大型海藻生产单细胞饵料这一技术,对于海水养殖业的发展有着重要的实际意义。

参考文献

- [1] 刘万顺、李 颀,1988. 山东海洋学院学报 18(1): 54~61.
- [2] 戴继勋,1987. 海洋湖沼通报 1: 84~88.
- [3] 戴继勋、包振民等,1988. 生物工程学报 4(2): 133~137.
- [4] 戴继勋、张全启等,1990. 海洋与湖沼 21(3): 293~296.
- [5] 方宗熙、戴继勋等,1986. 海洋科学 10(3): 46~47.
- [6] 王素娟、孙云龙等,1987. 海洋科学 1: 1~6.
- [7] 唐延林,1982. 山东海洋学院学报 12(3): 37~50.
- [8] 陈 林、林光恒等,1979. 海洋与湖沼 10(4): 329~333.
- [9] 卢澄清等,1983. 第一届中国藻类学术讨论会论文集. 科学出版社, 45~55.
- [10] Aoki T., Arai T. and Kitamiyado, M., 1988. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54(2): 227-281.
- [11] Arai T. and Kitamiyado, M., 1981. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 47(6): 753-760.
- [12] Arai T., Aoki T. and Kitamiyado, M., 1987. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53(11): 2077-2081.
- [13] Bellon, C., Hamer, G. K. and Yaphe, W., 1982. *Can. J. Microbiol* 28: 874-880.
- [14] Butler, D. M., Stgaard, K., Boyen, C., Evans, L., Jensen, A. and Kloarey, B., 1989. *Journal of Experimental Botany* 40(220): 1237-1246.
- [15] Cheney, D. P., 1986. *Beih. Nova Hedegia* 83: 22-29.
- [16] Dai Jixun and Bao Zhenmin, 1988. *Chinese Journal of Genetics* 15(3): 253-258.
- [17] Dai Jixun and Zhang Quanqiet al., 1993. *Aquaculture* 111: 139-145.
- [18] Fujita, Y. and Migita, S., 1985. *Bull. Fac. Fish. Nagasaki Univ.* 57: 39-45.
- [19] Hatate, H., Aoki T. and Kitamiyado, M., 1986. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 52(3): 545-548.
- [20] Kitamiyado, M. and Tseng, C. H., et al., 1989. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55(4): 709-713.
- [21] Kloarey, B. and Quatrano, R., 1987. *Plant Science* 50: 189-194.
- [22] Leon, O. and Quintana, L., 1992. *Applied and Envi-*

- ronmental Microbiology* **58**(12): 4 060-4 063.
- [23] Shun, L. W. and Lin, T. Y., *et al.*, 1984. *Hydrobiologia* 116-117: 319-320.
- [24] Morrice, L. M. and Mclean, M. W., *et al.*, 1983. *Eur. J. Biochem.* 135: 553-558.
- [25] Saga, N. and Sakai, Y., 1984. *Bulltin of Japanese Society of Scientific Fisheries* **50**(6): 1 085.
- [26] Sugano, Y. and Terada, I. *et al.*, 1993. *Applied and Environmental Microbiology* **59**(5): 1 549-1 554.
- [27] Tseng, C. H. and Yamaguchi, K. *et al.*, 1992. *Nippon Suisan Gakkaishi* **58**(11): 2 063-2 067.
- [28] Yamaguchi, K. and Arai, T. *et al.*, 1989. *Nippon Suisan Gakkaishi* **55**(1): 105-110.
- [29] Yamaguchi, K. and Kitamikado, M. *et al.*, 1992. *Nippon Suisan Gakkaishi* **58**(12): 2 361-2 365.