

文章编号: 1004-7271(2002)03-0215-04

不同营养盐浓度下微绿球藻的生长 及水体中氮磷的变化

王丽卿, 黄旭雄

(上海水产大学渔业学院, 上海 200090)

摘要: 在单胞藻培养池中, 以 f/2 为基本培养配方(其主要成分为 NaNO_3 74.8mg, NaH_2PO_4 4.4mg, $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 3.9mg), 在经消毒的天然河口中, 分别添加 1 倍、2 倍、3 倍浓度 f/2 配方的营养盐培养微绿球藻。结果表明, 添加 2 倍营养盐浓度组, 微绿球藻的生长最快, 其相对生长常数显著大于添加 1 倍营养盐浓度组。在培养过程中, 水体中 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、总氮及 PO_4^{3-} -P 含量下降, 而 NO_2^- -N 含量在培养过程中先降后升。在高浓度营养盐条件下, 生产单位产量的微绿球藻需要消耗更多的氮肥。

关键词: 微绿球藻, 生长, 氮, 磷

中图分类号: S968.4 文献标识码: A

The growth of *Nannochloropsis oculata* cultured in different nutrient concentrations and the variations of nitrogen and phosphorus in culture tanks

WANG Li-qing, HUANG Xu-xiong

(Fisheries College, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: The microalgae, *Nannochloropsis oculata* was cultured in tanks fertilized with 1, 2, 3 times of f/2 formulated nutrient respectively. Main components of f/2 formulated nutrient are NaNO_3 74.8mg, NaH_2PO_4 4.4mg, $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 3.9mg. The results indicated: when fertilized with 2 times of f/2 formulated nutrient, *N. oculata* grow fastest. During the culture period, the concentrations of NH_4^+ -N, NO_3^- -N, total nitrogen and PO_4^{3-} -P decreased. But the concentration of NO_2^- -N decreased first and then increased. Under the high nutrient concentration, producing the unit biomass of *N. oculata* needs more nitrogen.

Key words: *Nannochloropsis oculata*, growth, nitrogen, phosphorus

微绿球藻(*Nannochloropsis oculata*)作为一种单细胞藻类, 具有易培养、繁殖迅速的特点, 在水产养殖中应用较为广泛。多用于培养轮虫等动物性生物饵料及亲贝^[1], 在河蟹育苗中应用也获得良好的效果^[2]。有关营养盐浓度及氮源对微绿球藻的生长及营养组成的影响已有报道^[3]。一般认为微绿球藻在有机质多, 特别是在氮肥多、铵盐丰富的水体中生长特别繁茂, 但对微绿球藻培养水体中氮磷水平的变化尚未见报道。本文测定了不同营养盐浓度下微绿球藻的生长及生长过程培养水体中三态氮(氨氮、亚

硝酸氮和硝酸氮)和可溶性磷酸盐的变化。

1 材料与方法

1.1 微绿球藻的培养

试验用微绿球藻藻种取自上海水产大学渔业学院藻种室。试验在浙江平湖水产试验场单胞藻培养室中进行。藻种经扩大培养后,接种到五面贴有白色瓷砖的单胞藻培养池(规格为 250cm × 120cm × 50cm)中进行一次性培养。接种浓度约为 $189 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。培养用水为经双层 300 目筛绢过滤,并经有效氯浓度为 20ppm 的漂白粉消毒的天然河水(盐度约为 10),培养过程中连续充气,水温 17.4 ~ 20.1℃,室内自然光照。培养所采用的基本配方为 f/2 配方^[1],其主要成分为 NaNO_3 74.8mg, NaH_2PO_4 4.4mg, $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 3.9mg。培养液中营养盐浓度设 3 个水平,分别为 1 倍、2 倍、3 倍 f/2 配方的营养盐浓度(以下分别称为浓度组 1、浓度组 2、浓度组 3),每水平平行 2 组。

1.2 指标的测定及方法

用三角烧瓶培养高浓度的微绿球藻藻液(约 $3000 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$),稀释成一定的浓度梯度后用分光光度计(650nm)测定光密度值,制作工作曲线。培养过程中每天上午定时用分光光度计(650nm)测出各培养池中的相应的藻细胞浓度,下午定时测定经 0.45μm 滤膜过滤的培养水体中的三态氮和磷酸盐浓度。 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量采用锌镉还原-重氮偶氮法测定^[4], $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 含量采用重氮偶氮法测定^[4], $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量用 Wattenberg 法测定^[4], $\text{PO}_4^{3-} \text{-P}$ 含量用磷钼蓝法测定^[4]。

2 结果

2.1 不同营养盐浓度对微绿球藻生长的影响

图 1 为不同营养盐浓度组微绿球藻的指数生长回归曲线。浓度组 1、2、3 的指数生长回归方程分别为: $Y_1 = 169.48e^{0.1416x}$ ($R^2 = 0.9657$); $Y_2 = 162.57e^{0.1669x}$ ($R^2 = 0.9719$); $Y_3 = 141.2e^{0.153x}$ ($R^2 = 0.8202$)。从图及回归方程的相对生长常数可知,微绿球藻在浓度组 2 的培养水体中生长最快,在浓度组 3 的培养水体中的生长与在浓度组 1 的培养水体中生长差异小。对相对生长常数进行方差分析结果表明,不同浓度的营养盐对微绿球藻的相对生长常数有显著影响($p < 0.05$),浓度组 2 与浓度组 1 之间的差异显著,而浓度组 1 与浓度组 3 之间的差异不显著,浓度组 2 与浓度组 3 之间的差异也不显著。

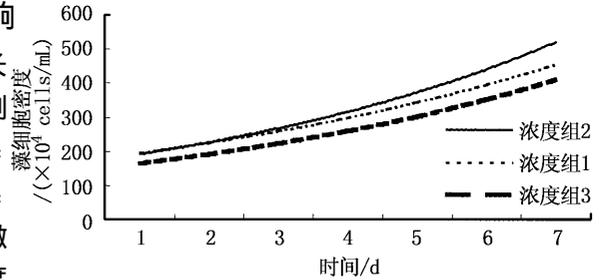


图 1 不同营养盐浓度下微绿球藻的指数生长模式图

Fig.1 The growth of *N. oculata* in different nutrient levels

2.2 添加不同营养盐浓度微绿球藻培养池中三态氮的变化

表 1 为不同营养盐浓度组培养池中三态氮的初始含量及在培养过程中的变化。

从表 1 可知,在微绿球藻培养过程中,水体的 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量持续下降,但下降量随添加的营养盐浓度增加而加大。在 6 天的培养过程中,浓度组 3 的培养池中,水体的 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量下降了 14.6225mg/L,而浓度组 1 的培养池中, $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量仅下降了 5.6495mg/L。而 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的含量在培养过程中呈现出先降后升的变化态势,添加不同营养盐水平对微绿球藻培养池中 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的绝对含量影响不大。添加不同营养盐浓度的微绿球藻培养池中, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量及变化趋势无明显差异,经 6 天的培养, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量的下降范围为 0.2985 ~ 0.3875mg/L,在前二天 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量下降明显,第四天后含量趋于稳定。从三态氮的变化情况看,随培养时间的延长,水体中三态氮总含量逐渐下降,添加营养盐浓度越高,三态氮总量的下降

也越多,浓度组 1 下降量为 5.9275mg/L,而浓度组 3 下降量为 15.9795mg/L。从表 1 也可以看出,浓度组 1、2、3 实验条件下,生产相同产量(107cells)的微绿球藻需要消耗的氮分别为 0.0232、0.0339、0.0611mg,即高浓度营养盐浓度条件下生产单位产量的微绿球藻需要消耗更多的氮肥。

表 1 不同营养盐浓度组微绿球藻培养池中三态氮的变化

Tab.1 The three nitrogen concentrations variations in *N. oculata* culture tanks fertilized with different nutrient levels (mg/L)

培养天数(天)	(α 初始值)	1	2	3	4	5	6	累积变化	
藻细胞密度($\times 10^4$ cells/mL)	190	210	290	308	340	393	445	255	
浓度组 1	$\text{NO}_3^- - \text{N}$ (mg/L)	13.7135	12.24	11.421	10.7255	9.9885	9.1695	8.064	-5.6495
	$\text{NO}_2^- - \text{N}$ (mg/L)	0.1620	0.1085	0.1545	0.1285	0.145	0.172	0.1825	0.0205
	$\text{NH}_4^+ - \text{N}$ (mg/L)	0.4820	0.269	0.1525	0.3555	0.1375	0.1775	0.1835	-0.2985
	三态氮累积变化(mg/L)		-1.74	-2.6295	-3.148	-4.0865	-4.0839	-5.9275	
藻细胞密度($\times 10^4$ cells/mL)	193	205	282	340	388	443	493	300	
浓度组 2	$\text{NO}_3^- - \text{N}$ (mg/L)	29.1870	25.2575	25.8305	24.275	21.123	19.5675	19.445	-9.742
	$\text{NO}_2^- - \text{N}$ (mg/L)	0.06655	0.0585	0.06	0.088	0.0815	0.097	0.1125	0.046
	$\text{NH}_4^+ - \text{N}$ (mg/L)	0.5250	0.4175	0.097	0.2125	0.188	0.1345	0.148	-0.377
	三态氮累积变化(mg/L)		-4.0455	-3.791	-5.203	-8.426	-9.9795	-10.172	
藻细胞密度($\times 10^4$ cells/mL)	183	193	230	285	328	385	428	245	
浓度组 3	$\text{NO}_3^- - \text{N}$ (mg/L)	44.6200	36.392	31.7255	30.866	30.0065	28.6875	29.9975	-14.6225
	$\text{NO}_2^- - \text{N}$ (mg/L)	0.0585	0.0445	0.0675	0.0875	0.091	0.089	0.089	0.0305
	$\text{NH}_4^+ - \text{N}$ (mg/L)	0.5250	0.369	0.1295	0.1805	0.1215	0.14	0.1375	-0.3875
	三态氮累积变化(mg/L)		-8.398	-13.281	-14.0695	-14.9845	-16.287	-14.9795	

注:表中数据为两平行的平均值

2.3 不同营养盐浓度水平下微绿球藻培养池中磷的变化

表 2 为添加不同营养盐浓度微绿球藻培养池中磷的变化情况。随培养时间的延长,培养池中的磷含量逐渐降低,降低值与添加的营养盐浓度相关,添加的营养盐浓度越高,培养水体中的磷含量变化也越大。

表 2 不同营养盐浓度组微绿球藻培养池中磷的变化

Tab.2 The phosphorus concentrations variations in *N. oculata* culture tanks fertilized with different nutrient levels (mg/L)

培养天数	(α 初始值)	1	2	3	4	5	6	$\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 累积变化
浓度组 1	0.5600	0.5220	0.2660	0.2045	0.1520	0.1280	0.0855	-0.4745
浓度组 2	1.1580	1.0820	1.0540	0.9780	0.9445	0.7235	0.6505	-0.5075
浓度组 3	1.4335	1.2530	1.1770	1.1205	1.1300	0.9920	0.7690	-0.6645

注:表中数据为两平行的平均值

2.4 不同营养盐浓度下微绿球藻培养池中可溶性总氮和可溶性磷比值的变化

表 3 列出了微绿球藻在不同营养盐浓度组的培养后,培养水体中可溶性总氮和可溶性磷比值(DTN/DP)的变化。浓度组 1,比值变化大,浓度组 2,变化最小。

表 3 添加不同营养盐浓度微绿球藻培养池中氮磷比的变化

Tab.3 The variations of DTN/DP in *N. oculata* culture tanks fertilized with different nutrient levels

	浓度组 1	浓度组 2	浓度组 3
培养起始 DTN/DP	25.64	25.71	31.5
培养终止 DTN/DP	98.6	30.14	39.3
培养前后 DTN/DP 方差	124.24	3.13	5.52

3 讨论

f/2 配方是单细胞藻类培养的常用配方,广泛应用于应多种藻类的培养。由试验结果可知,微绿球藻在 2 倍 f/2 配方的营养盐浓度下生长最快。但总体上三种营养盐水平下微绿球藻的生长较易翠萍等^[3]报道的缓慢,这可能与培养条件和接种浓度偏低有关。

已知营养盐的形式和水平对微藻的营养价值有影响。易翠萍等^[3]报道了氮源及其水平对微绿球藻的脂肪及脂肪酸组成有影响。周洪琪等^[4]认为氮水平会影响三角褐指藻和牟氏角毛藻的脂肪及脂肪酸组成。郑爱榕等^[5]认为铵的积累会抑制藻类氨基酸的合成。冯伟民等^[6]报道了氮的缺乏会降低螺旋藻的蛋白质含量。本试验中,生产单位产量的微绿球藻所消耗的氮量随培养液中氮磷添加水平的增加而增大(见表 1)。究其原因可能有:① 在高氮磷的营养水平下培养的微绿球藻含有较高的粗蛋白,② 在生产性培养条件下,藻液中的其他微生物利用了培养液中的部分氮肥。

浮游植物利用可溶性无机氮的能力,一般是 $\text{NH}_4^+ - \text{N} > \text{NO}_3^- - \text{N} > \text{NO}_2^- - \text{N}$, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 一般不被植物直接所利用,同时不同藻类对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 的吸收具有选择性。徐宁等^[7]认为细弱海链藻选择吸收 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$,而对 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 吸收不明显,裸甲藻优先吸收 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$,同时也少量吸收 $\text{NO}_3^- - \text{N}$,角毛藻主要吸收 $\text{NO}_2^- - \text{N}$,而对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 则无明显吸收。从本试验的结果看,微绿球藻主要吸收 $\text{NO}_3^- - \text{N}$,水体中 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 含量略有升高,可能是不吸收 $\text{NO}_2^- - \text{N}$,同时在充气培养条件下,水体中的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 氧化成 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 所致。由此可见,把微绿球藻应用于生活污水或养殖废水的处理可有效的去除 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 和部分的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$,同时可重新利用于养殖生产。

DTN/DP 比值在一定程度上可表明藻类培养过程中水体的营养状况,是藻类受氮、磷限制的重要指标,高的 DTN/DP 比值意味磷的限制。在不同营养盐水平下,微绿球藻培养后水体中的氮磷比均比培养前水体中的氮磷比大(表 3),说明随着微绿球藻培养的进行,水体中的磷元素相对与氮元素,正逐渐成为微绿球藻进一步生长的限制因子。从培养前后氮磷比变化的方差大小,也反映出浓度组 2 的培养水体中的氮磷比更接近微绿球藻在现有培养条件下的氮磷比的实际需求。从生长情况也可证实浓度组 2 更适合微绿球藻的实际需求,其生长也最快。

生物学专业 2001 届毕业生张维和武晋宣参加部分工作,谨此致谢。

参考文献:

- [1] 陈明耀. 生物饵料培养[M]. 北京:农业出版社,1995. 29-30.
- [2] 沈和定,黄旭雄. 三种藻类对中华绒螯蟹 I 期蚤状幼体培育效果的比较[J]. 上海水产大学学报,1999,8(3):202-209.
- [3] 易翠萍,周洪琪,丁卓平,等. 氮源及其浓度对微绿球藻生长、总脂肪含量及其脂肪酸组成的影响[J]. 上海水产大学学报,1998,7(增刊):332-337.
- [4] 周洪琪,丁卓平,张旭日,等. 微藻(三角褐指藻和牟氏角毛藻)饵料的研究[J]. 上海水产大学学报,1998,7(增刊):323-331.
- [5] 郑爱榕,李淑英,李文权. 几种藻类对氮磷的同化率与其营养成分的关系[J]. 海洋渔业,1991(1):11-13.
- [6] 冯伟民,汪延,方光如,等. 螺旋藻生产中的质量控制[J]. 水产养殖,1999,(1):25-27.
- [7] 徐宁,陈菊芳,王朝晖,等. 广东大亚湾藻类水华的动力学分析 II 藻类水华与营养元素的关系研究[J]. 环境科学学报,2001,21(4):400-404.