

不同磷浓度下氮磷比对小球藻生长的影响

孔欣 张树林 戴伟 张达娟 毕相东

(天津农学院水产学院/天津市水产生态及养殖重点实验室, 天津 300384)

摘要: 通过室内试验研究不同磷浓度条件下氮磷比对小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 生长的影响。结果表明, 在低磷浓度 (0.05mg/L、0.1mg/L、0.2mg/L) 和中磷浓度 (0.4mg/L、0.6mg/L) 下, 随着氮磷比值增大, 小球藻密度逐渐升高。在高磷浓度 (0.8mg/L、1mg/L) 下, 小球藻密度随着氮磷比增大呈先升高后下降趋势。磷浓度为 0.8mg/L 条件下, N:P=40:1 时, 小球藻细胞密度达到最大值; 磷浓度为 1mg/L 条件下, N:P=30:1 时, 小球藻细胞密度达到最大值。以上研究结果表明, 小球藻生长既受氮磷营养盐浓度水平影响又受氮磷比值影响。

关键词: 小球藻; 磷; 氮磷比; 生长

中图分类号: S-3

文献标识码: A

DOI: 10.19754/j.nyyjs.20200215003

营养盐是水体中浮游生物赖以生存的主要营养来源, 其组成和含量直接影响生物的代谢活动及藻类的生长情况^[1]。其中, 氮、磷营养盐被认为是藻类生长过程中最关键的 2 个限制因素。氮磷会直接影响藻类吸收和同化的效率, 进而影响藻类的生长和胞内物质的积累^[2]。另外, 氮和磷的作用需要相互配合, 不同藻类对氮磷的需求量也不同。一般在低氮磷浓度下, 藻类生长缓慢, 随着浓度增加, 生长速率逐渐增高^[3]。李小梅等得出微藻在氮磷比等于 16 时生物量最大, 在氮磷限制情况下生长速率明显降低, 并影响藻细胞的最大光能转化速率和实际光能转化效率^[4]。

小球藻是水体微藻中的重要资源, 有生长速度快、环境耐受力强等特点^[5]。此外, 其还可以吸收水体中大量的氮磷作为自身生长的营养物质, 既抑制了有害藻类, 净化水体环境, 又为其他水生生物提供了饵料^[6]。Wu 等指出无论氮浓度或高或低, 小球藻都可以适应生长, 但缺少磷源的情况下却难以存活, 磷是小球藻的限制因子^[7]。因此, 本文通过配制不同磷浓度下不同氮磷比的培养液培养小球藻, 通过细胞密度变化及生长速率变化探究不同磷浓度下氮磷比对小球藻生长的影响, 以期为小球藻大规模培养提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 藻种与培养基

试验用小球藻藻株购自中国科学院水生生物研究所, 培养基为 BG11 培养基。

1.2 试验设置

将处于对数生长期的小球藻藻液离心 (5000r/min, 5min) 后获得的沉淀用无菌水重复洗涤 3 次, 然后加入到未添加尿素和 K_2HPO_4 的简易培养基中, 初始藻液密度为 2×10^6 个/mL, 再加入不同浓度的尿素和 K_2HPO_4 , 用尿素和 K_2HPO_4 调节所需氮磷比。设置磷浓度为低浓度 (0.05mg/L、0.1mg/L、0.2mg/L)、中浓度 (0.4mg/L、0.6mg/L) 和高浓度 (0.8mg/L、1mg/L), 氮磷质量比分别为 2:1、5:1、10:1、15:1、20:1、30:1、40:1、60:1。每个试验组设置 3 个平行。试验为期 10d, 培养温度为 25℃, 光照强度为 2000lux, 光暗比 12h:12h, 每隔 24h 取藻液测定其在波长 680nm 下的吸光度。

1.3 测定方法

1.3.1 藻细胞密度标准曲线的建立

分别测定不同浓度梯度下小球藻藻液在波长 680nm 的吸光度, 并用显微镜计数相应吸光度下小球藻的细胞密度, 拟合藻细胞密度标准曲线。

收稿日期: 2019-12-20

基金项目: 天津市自然科学基金重点项目 (项目编号: 18JCZDJC97800); 天津市自然科学基金项目 (项目编号: 19JCYBJC30000); 天津现代产业技术体系-水产-水质调控岗位 (项目编号: ITTFR2017015); 天津市高等学校创新团队“天津现代水产生态健康养殖创新团队” (项目编号: TD13-5089)

作者简介: 孔欣 (1995-), 女, 硕士, 研究方向: 养殖水质调控; 通讯作者张树林 (1963-), 男, 教授, 研究方向: 养殖水质调控。

©1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.3.2 藻细胞密度测定

利用紫外分光光度计在波长 680nm 下测定小球藻吸光度值, 经过藻细胞密度标准曲线得到小球藻藻细胞密度。

1.3.3 比增长率的计算

参考易文利文献^[8]计算小球藻比增长率, 计算公式如下:

$$\mu = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{\Delta t}$$

式中, N_t 为第 t 天时的藻细胞密度; N_0 为某一时间间隔开始时的藻细胞密度; Δt 为某一时间间隔。

1.4 统计分析

试验结果采用平均值±标准差 (Means±SD) 表示, 用 SPSS18.0 中 one-way ANOVA 进行方差分析, LSD' S 多重比较检验各试验组间是否具有显著差异 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 小球藻藻细胞密度标准曲线

本试验测得的小球藻藻细胞密度和吸光度之间的关系如图 1 所示。试验过程中测得藻液在波长 680nm 下的吸光度, 即可根据标准曲线换算出藻细胞密度。

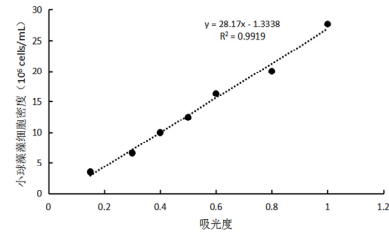


图 1 小球藻藻细胞密度标准曲线

2.2 不同磷浓度下氮磷比对小球藻生长的影响

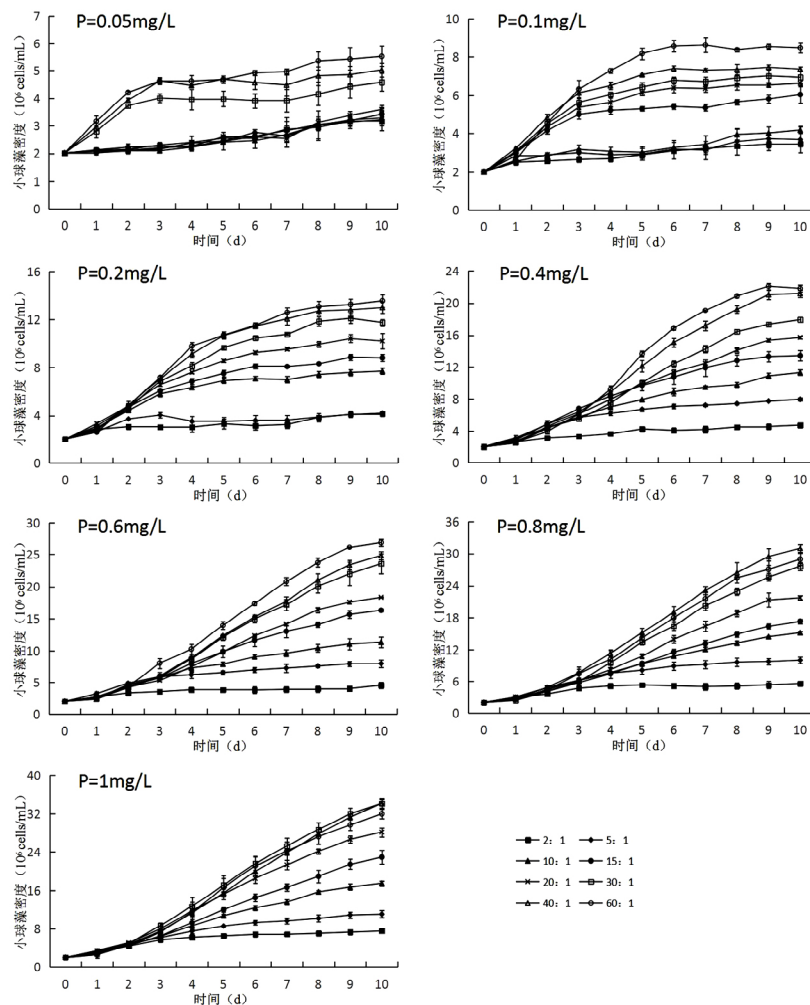


图 2 磷浓度下不同氮磷比对小球藻藻细胞密度的影响

如图 2 所示, 低磷浓度 (0.05mg/L、0.1mg/L、0.2mg/L) 下, 随着氮磷比值增大, 小球藻密度逐渐

升高。在培养时间内低氮磷比试验组与高氮磷比试验组差异显著 ($P < 0.05$)。中磷浓度 (0.4mg/L、

0.6mg/L) 下,随着氮磷比值增大,小球藻密度呈升高趋势。在前2d内,不同氮磷比试验组小球藻细胞密度均无显著差异 ($P>0.05$)。从第3天开始,氮磷比为2:1试验组小球藻细胞密度显著低于其他试验组。培养至第5天后,氮磷比为60:1试验组小球藻细胞密度开始显著高于其余各试验组细胞密度 ($P<0.05$)。

在高磷浓度(0.8mg/L、1mg/L)下,小球藻密度随着氮磷比增大呈先升高后下降趋势。磷浓度为0.8mg/L条件下,N:P=40:1时小球藻细胞密度达到最大值(3.1×10^7 个/mL),随着氮磷比值继续增大,小球藻密度显著下降;磷浓度为1mg/L条件下,N:P=30:1时小球藻细胞密度达到最大值($3.4\times$

10^7 个/mL),随着氮磷比值继续增大,小球藻密度呈下降趋势。磷含量为0.8mg/L时,高氮磷比组小球藻细胞密度显著高于低氮磷比组 ($P<0.05$)。

2.3 不同磷浓度下氮磷比对小球藻比增长率的影响

如图3所示,每种磷浓度下,不同氮磷比试验组间小球藻比增长率均存在显著差异 ($P<0.05$)。低磷与中磷浓度下随着氮磷比值升高,小球藻比增长率呈升高趋势,均在氮磷比为60:1时达到最大值。但在高磷浓度(0.8mg/L、1mg/L)下,随着氮磷比值升高,小球藻比增长率呈先升高后下降趋势。在 $P=0.8\text{mg/L}$,N:P=40:1时,小球藻比增长率最高; $P=1\text{mg/L}$,N:P=30:1时,小球藻比增长率最高。

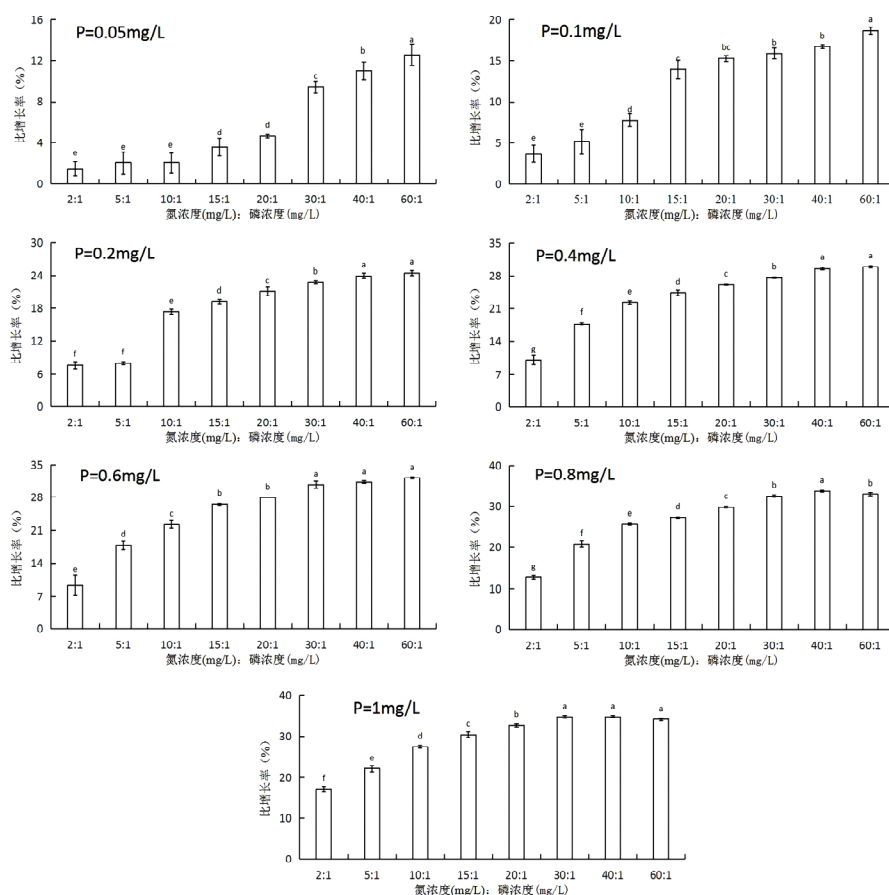


图3 磷浓度下不同氮磷比对小球藻比增长率的影响

3 讨论

在浮游植物生长过程中,营养盐的输入起关键性作用^[9]。一般来说,氮和磷是影响藻类生长最重要的限制性因素,并且氮和磷的作用也是相互的^[10]。本试验显示,在磷浓度低于0.6mg/L时,随着氮磷比值增大,小球藻密度逐渐升高。孟顺龙研究得出,小球藻细胞随着氮磷的增加而增加,丰富的氮磷浓度可

使小球藻快速生长,在一定范围内,高氮磷组最适合生长,与本试验结果相一致^[11]。在高氮磷比水体中,浮游藻类会利用水体中的氮磷元素进行大量繁殖,使水层的透光率大大降低,抑制其他有害藻类的正常生长,对缓解水体富营养化起着积极作用^[12]。但藻类生长时营养物质缺乏对其生长量和脂肪产量也有显著影响^[13]。当氮元素不足时会影响藻类细胞内的氨基酸合成;磷元素不足时影响藻类的光合转化效率,削

弱藻细胞的光合作用,使其生长停滞不前^[14]。许可等研究表明当磷浓度小于 0.4mg/L 时,氮磷比越低,小球藻的生长和光合作用越会受到抑制^[15]。

在本研究选取的高磷浓度范围内,低氮磷比下小球藻生长速率最低,并且随着氮磷比升高,小球藻生长速度呈先上升后下降趋势。低氮磷比时由于培养基中磷充足,使得小球藻过量吸收,细胞内储存更多的磷,为快速生长提供了物质条件^[16]。但并不是氮磷比越高小球藻生长就越好,过高的氮磷比反而会抑制小球藻的生长。刘聪得出氮磷营养物过高或过低都会显著影响小球藻的生长和色素的积累^[17]。因此在培养小球藻时,选择合适的氮磷比才可以促进小球藻的快速生长。

磷是合成 DNA 和 RNA 的重要物质,也是影响小球藻生长的主要因素。当磷浓度过低时,导致藻细胞分裂速度减慢,吸收氮磷营养盐受限制,使其不能快速生长^[18]。本试验中,在氮磷比相同的情况下,磷浓度越高,小球藻密度越大。马彩虹等研究得出在高磷浓度下小球藻的生物量和比增长速率高于低磷浓度水平^[19]。低磷浓度下小球藻受到的抑制作用相对较大,削减其光合效率,被吸收的光能直接转化成热和荧光发射^[20]。

4 结论

低磷水平和中磷水平下氮磷比值为 2:1~60:1 范围内,低氮磷比不利于小球藻生长,高氮磷比有利于小球藻生长;高磷水平下,小球藻生长在一定的氮磷比值范围内随氮磷比升高而加快,但过高的氮磷比反而会抑制小球藻的生长。因此,在高密度培养小球藻时,氮磷营养盐是一个重要影响因素,适宜的氮磷浓度及氮磷比可以使小球藻快速增殖。

参考文献

- [1] 王英英. 不同氮磷质量浓度对太浦河四种优势藻类生长影响的研究 [D]. 上海: 上海师范大学, 2016.
- [2] Ni Yan, Xiaohong Hu, Chuan Chen. Optimal Light Intensity and Nitrogen-to-Phosphorus Ratio for Growth of *Nitzschia capitellata* Hust [J]. Agricultural Science & Technology, 2014, 15 (03): 453-456.
- [3] 易柏林. 双台子河口氮、磷营养盐的地球化学研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- [4] 李小梅. 氮磷比与光、二氧化碳对三角褐指藻光合无机碳利用的交互作用 [D]. 广州: 广州大学, 2012.
- [5] 江怀真, 张维, 刘天中, 等. 氮、磷浓度对小球藻生长及油脂积累的影响 [J]. 食品工业科技, 2011, 32 (06): 204-207, 211.
- [6] Changfu Wang, Xiaoqing Yu, Hong Lv, et al. Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater by the green alga *Chlorella* sp. [J]. Journal of Environmental Biology, 2013 (34): 421-425.
- [7] Junsen Wu, Ruibao Jia, Bing Li, et al. Study On the Correlation of N, P Nutrients and *Chlorella* Growth [J]. Journal of Environmental Biology, 2014, 641-642: 1183-1186.
- [8] 易文利. 不同营养盐对铜绿微囊藻生长的室内模拟研究 [D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2005.
- [9] 王文杰, 姚旦, 赵辰红, 等. 氮磷营养盐对四种淡水丝状蓝藻生长的影响 [J]. 生态科学, 2008 (04): 202-207.
- [10] 魏杰, 刘倩, 王月琪, 等. 氮磷比对蛋白核小球藻和塔玛亚历山大藻种间竞争的影响 [J]. 环境科学学报, 2015, 35 (04): 1074-1081.
- [11] 孟顺龙, 裴丽萍, 胡庚东, 等. 氮磷比对两种蓝藻生长及竞争的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2012, 31 (07): 1438-1444.
- [12] 马帅, 王程丽, 张亚捷, 等. 氮磷浓度对藻-藻-草间相互作用的影响 [J]. 水生生物学报, 2012, 36 (01): 66-72.
- [13] Kalla N, Khan S. Effect of nitrogen, phosphorus concentrations, pH and salinity ranges on growth, biomass and lipid accumulation of *Chlorella vulgaris*. [J]. Journal of Urology, 2016, 189 (1): 172-3.
- [14] 曹煜成, 李卓佳, 胡晓娟, 等. 磷浓度与氮磷比对蛋白核小球藻氮磷吸收效应的影响 [J]. 生态科学, 2017, 36 (05): 34-40.
- [15] 许可. 不同氮磷浓度对普通小球藻生长及光合作用的影响研究 [D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2018.
- [16] 刘莲, 周小玉, 赵良杰, 等. 氮磷比率对两种蓝藻和两种绿藻生长的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23 (04): 573-581.
- [17] 刘聪, 许平平, 王亚, 等. 不同氮磷浓度对蛋白核小球藻种富集和转化的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2016, 35 (09): 1665-1671.
- [18] Deng X, Fei X, Li Y. The effects of nutritional restriction on neutral lipid accumulation in *Chlamydomonas* and *Chlorella* [J]. African Journal of Microbiology Research, 2011, 5 (3): 260-270.
- [19] 马彩虹, 麻晓霞, 马玉龙, 任佳, 马丽萍. 不同氮磷浓度对小球藻生长性能的影响 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40 (22): 11367-11369.
- [20] 王晓昌, 许可, 黄悦, 罗丽. 低磷浓度下普通小球藻的生长及其叶绿素荧光特性研究 [J]. 西安建筑科技大学学报 (自然科学版), 2019, 51 (01): 7-13.

(责任编辑 贾灿)