

张 猛,石 瑛,丁义晶. 不同氮磷比和 Fe^{3+} 浓度对刚毛藻生长繁殖的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(6):196-198.

不同氮磷比和 Fe^{3+} 浓度对刚毛藻生长繁殖的影响

张 猛,石 瑛,丁义晶

(太原师范学院,山西太原 030031)

摘要:将刚毛藻放在不同 Fe^{3+} 浓度人工培养基中进行培养,研究不同 N/P、不同 Fe^{3+} 浓度对刚毛藻增长量的影响。结果表明,N/P 和 Fe^{3+} 浓度在藻类生长过程中都是重要的影响因子。在 N/P 为 40、含 0.6 mg/L Fe^{3+} 的培养基中,刚毛藻生长 9 d,生物量最大。

关键词:刚毛藻;培养基;N/P;Fe

中图分类号: Q939.99 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)06-0196-03

刚毛藻属 (*Cladophora*) 植物适应能力强,广泛分布于各地淡水或沿海浅水水域,常见的有丝状绿藻,它由单列细胞组成,多分枝,体色深绿色至黄绿色,漂浮于水面上的部分因日光曝晒而呈现黄白色。有研究指出,刚毛藻可以食用,含有丰富的 Ca 元素,且其他矿物元素如 Fe、Zn 等的含量也要高于紫菜和螺旋藻,游离氨基酸含量也较高,必需氨基酸的含量 40%,非必需氨基酸的含量为 60%^[1],符合 FAO/WHO 的理想蛋白模式要求,完全可以满足人们的营养需求和口感需求。刚毛藻在处理污水和富营养化湖泊水试验研究中显示出了优良的作用,如况琪军等的报道^[2];刚毛藻对富营养化湖水中的氮和磷具有较好的净化效果^[3],刚毛藻还可对污水中六六六、滴滴涕和二氯苯有较好的吸附富集作用^[4-5],对 Cu、Fe、Zn 和 Hg 等重金属有一定的去除作用^[6-7],对水华微囊藻生长的抑制率达到 99.63%^[3],所以刚毛藻在净化污染水体、修复受损湖泊及防治水体富营养化等方面具有潜在的应用前景^[8-9]。但是,关于刚毛藻人工培养的相关研究还比较少,而环境中的 N/P 和 Fe 浓度是影响藻类生长的 2 个重要因子^[10-11],所以本试验就先研究了 N/P 和不同浓度 Fe^{3+} 对刚毛藻生长繁殖的影响,旨在探索适合刚毛藻培养的培养液,为更好地利用刚毛藻资源提供依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

团集刚毛藻 (*Cladophora glomerata*),于 2012 年 3 月 25 日采自山西省太原市晋祠区。

1.2 方法

1.2.1 刚毛藻的驯化 分别向编号为 1~27 的锥形瓶中加入

100 mL 自来水,全部放入光照培养箱中,在温度为 22 ℃、光照强度为 2 200 lx、光暗比为 12 h : 12 h 的条件下放置 24 h,把试验所用的刚毛藻接种到锥形瓶中并封口,然后在相同条件下培养 24 h。

1.2.2 培养基的配制及分装 培养基整体上参照 M-11 培养基的配方^[12]:100 mg/L $NaNO_3$ + 10 mg/L KH_2PO_4 + 29 mg/L $MgCl_2 \cdot 7H_2O$ + 40 mg/L $CaCl_2 \cdot 5H_2O$ + 20 mg/L Na_2CO_3 + 6 mg/L EDTA - NaFe (FeocitrateoxH₂O) + 1 mg/L $Na_2EDTA \cdot 2H_2O$,并作了一些改动。改进后的培养基组成如表 1 所示。

表 1 改进后的培养基组成

试验号	N/P	$NaNO_3$ 添加量 (mg/L)	KH_2PO_4 添加量 (mg/L)	Fe^{3+} 浓度 (mg/L)	EDTA - NaFe 添加量 (mg/L)
1~3	16	100	10	0.3	2.25
4~6	16	100	10	0.6	2.25
7~9	16	100	10	0.8	2.25
10~12	40	250	10	0.3	4.50
13~15	40	250	10	0.6	4.50
16~18	40	250	10	0.8	4.50
19~21	80	500	10	0.3	6.00
22~24	80	500	10	0.6	6.00
25~27	80	500	10	0.8	6.00

注:把配制好的培养基按次序加入试验所用的锥形瓶中,每个瓶中加入 100 mL。其中标号为 1、2、3 用于培养后 3、6、9 d 测定,其余依此类推。

1.2.3 测量的项目 (1)初重。用吸水纸把驯化后的刚毛藻表面的水充分吸干,然后逐个测量其初始重量并记录。(2)定期称重。将测量后的刚毛藻分别接种到已加入培养基的锥形瓶中,接种时尽量不要扯断藻丝,以保持藻丝的完整性,封口,再在光照培养箱中培养,培养条件为:温度 22 ℃,光照强度 2 200 lx,光暗比 12 h : 12 h。每个处理设 3 个重复,每 3 d 测量 1 次藻重并记录。

1.3 数据处理

数据采用 SPSS 17.0 软件进行分析。不同处理间的比较用单因素方差分析,并结合 LSD 进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 N/P 对刚毛藻增长量的影响

从图 1、图 2、图 3 中可以看出,刚毛藻在处理 3~6 d

收稿日期:2012-11-15

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金(编号:31100264);山西省青年自然科学基金(编号:2010021027-1);山西省高校高新技术产业项目(编号:2010019);山西省高等学校优秀青年学术带头人支持计划。

作者简介:张 猛(1978—),男,山西太原人,博士,讲师,主要从事藻类应用开发的研究。E-mail:tyzz780726@163.com。

通信作者:石 瑛,博士,教授,主要从事藻类多样性及应用研究。E-mail:lucia0812@163.com。

的生长速度非常快,但在6~9 d期间增长速度趋于平稳,几乎停止生长。 Fe^{3+} 浓度为0.3 mg/L时,N/P为40的培养基中的刚毛藻生长状况明显优于其余2组。随着 Fe^{3+} 浓度的

增加,N/P为16的培养基中的刚毛藻增长量也增大。但整体来看,N/P为40的培养基中的刚毛藻的增长量最大。

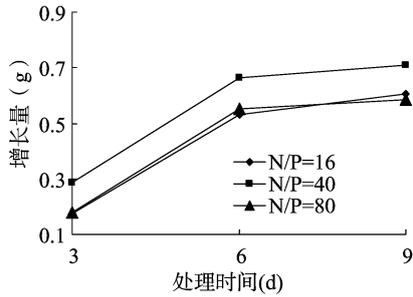


图1 0.3 mg/L Fe^{3+} 的培养基中不同 N/P 对刚毛藻增长量的影响

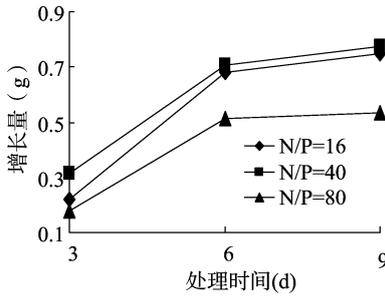


图2 0.6 mg/L Fe^{3+} 的培养基中不同 N/P 对刚毛藻增长量的影响

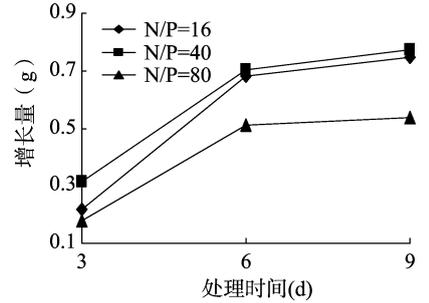


图3 0.8 mg/L Fe^{3+} 的培养基中不同 N/P 对刚毛藻增长量的影响

从表2中可以看出,N/P对刚毛藻的生长影响非常大。当N/P为16、40、80时,刚毛藻的增长量之间差异显著,不同N/P对刚毛藻增长量影响从大到小依次为40>16>80,这与折线图分析的结果相符。刚毛藻增长量随N/P增大而增大,但到一定程度后,N/P对其增长量的影响减小,当N/P增大至80时,其生长反而降低,这说明刚毛藻对于增加营养盐有一定的限度。

表2 不同 N/P 对刚毛藻生长的影响的多重比较

N/P	N/P	平均增长量差 (g)	P	95% 置信区间(g)	
				下限	上限
16	40	-0.052 37*	0.000	-0.063 22	-0.041 52
	80	0.096 81*	0.000	0.085 96	0.107 67
40	80	0.149 19*	0.000	0.138 33	0.160 04

注: *表示差异显著。表3同。

2.2 Fe 浓度对刚毛藻生长的影响

图4、图5、图6表明,刚毛藻在处理3~6 d生长较快,之后生长速率减慢。当N/P为16时,高浓度 Fe^{3+} 的培养基中的刚毛藻生长占优势,但当N/P增大时,低铁浓度的培养基中的刚毛藻逐渐占优势。这表明刚毛藻最适生长的N/P与 Fe^{3+} 浓度之间有类似负相关的效应。

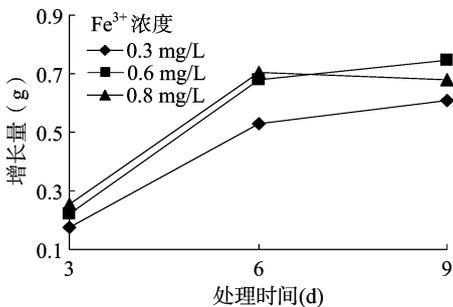


图4 N/P为16的培养基中不同 Fe^{3+} 浓度对刚毛藻增长量的影响

从表3中可以看出, Fe^{3+} 浓度对刚毛藻的生长影响非常大。当 Fe^{3+} 浓度为0.3、0.6、0.8 mg/L时,刚毛藻的增长量之间差异极显著,不同 Fe^{3+} 浓度对刚毛藻增长量影响从大到小依次为0.6 mg/L>0.8 mg/L>0.3 mg/L。说明在 Fe^{3+} 浓度较低时, Fe^{3+} 浓度是刚毛藻生长的限制因子,但随着 Fe 浓度增大,这种限制作用减小。

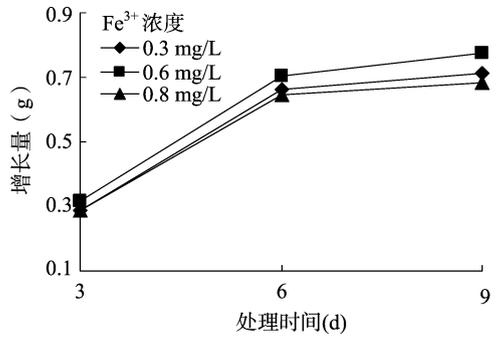


图5 N/P为40的培养基中不同 Fe^{3+} 浓度对刚毛藻增长量的影响

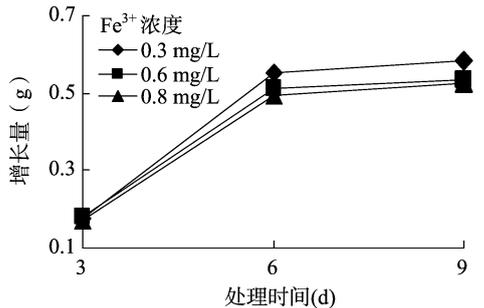


图6 N/P为80的培养基中不同 Fe^{3+} 浓度对刚毛藻增长量的影响

表3 不同 Fe^{3+} 浓度对刚毛藻生长的影响的多重比较

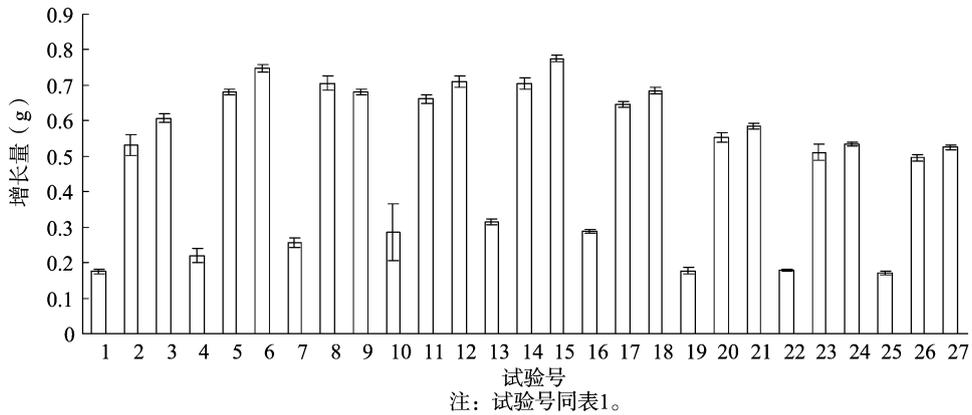
铁浓度 (mg/L)	铁浓度 (mg/L)	平均增长量差 (g)	P	95% 置信区间(g)	
				下限	上限
0.3	0.6	-0.042 22*	0.000	-0.053 07	-0.031 37
	0.8	-0.018 78*	0.001	-0.029 63	-0.007 93
0.6	0.8	0.023 44*	0.000	0.012 59	0.034 30

2.3 N/P、 Fe^{3+} 浓度和时间对刚毛藻的综合影响

由图7可看出,处理后9 d时,处理15(N/P为40、 Fe^{3+} 浓度为0.6 mg/L的培养基)中的刚毛藻生物量达到最大,为刚毛藻人工培养的最佳配方。

3 结论与讨论

本试验结果表明,N/P为40的培养基最适合刚毛藻生长,这与丰茂武等的研究结果^[13]相符。N和P都是刚毛藻生长不可缺少的营养因子,N是藻类细胞中构成蛋白质的主要



注：试验号同表1。
图7 N/P、Fe³⁺浓度和时间对刚毛藻的综合影响

成分,占藻类蛋白质含量的16%~18%,它对藻类的生长、发育、成熟以及功能完成至关重要;P是藻类细胞的细胞质、细胞膜和细胞核组成成分,并参与光合作用和呼吸作用,也是糖类、脂肪及氮代谢过程中不可缺少的元素^[14]。所以,适宜的N/P是评价藻类培养基优劣的重要指标。当N/P小于40时,N/P是刚毛藻生长的限制因子;但当N/P过高时,刚毛藻增长量的下降可能是由于Fe元素的影响作用,也可能与藻体生长过程中pH值或溶氧量的升高有一定关系^[15]。

0.6 mg/L Fe³⁺最适合刚毛藻生长,这与李雅娟等研究的氮、磷、铁、硅营养盐对底栖硅藻生长速率的影响试验结果^[16]接近。铁是藻类细胞内某些氧化还原载体和辅酶的组成成分,缺铁会影响多种代谢过程,以致抑制细胞生长。刚毛藻增长量随培养基中Fe³⁺浓度上升而增大,但当Fe³⁺浓度达到0.6 mg/L时反而下降,出现这种异常现象可能是由Fe³⁺的沉淀^[17]造成的。自然水体中的铁盐本身溶解度小,可利用率低,而且还会与磷酸盐生成沉淀,限制藻类对磷的利用。当在水体中加入适量的EDTA后,既能提高铁盐的可利用性,又能保持磷的可溶性,因此在培养液中,采用EDTA-NaFe。

本试验的人工培养基中的N/P与Fe³⁺浓度都取中间梯度,即N/P为40、Fe³⁺浓度为0.6mol/L时,刚毛藻生长速率才能达到最大,所以培养刚毛藻的最佳试验配方是:100 mg/L NaNO₃ + 10 mg/L KH₂PO₄ + 29 mg/L MgCl₂ · 7H₂O + 40 mg/L CaCl₂ · 5H₂O + 20 mg/L Na₂CO₃ + 2.25 mg/L EDTA-NaFe + 1 mg/L Na₂EDTA · 2H₂O。关于刚毛藻培养的营养需求研究还有许多待解决的问题,如季祥等研究显示藻类对氮盐喜好和利用能力存在差异的观点^[18]。孙凌等研究表明,藻类细胞组成的原子比例C:N:P=106:16:1,如果N:P超过16:1,P被认为是限制性因素;反之,当N:P小于10:1时,N通常被认为是限制性因素;而当N/P在20~30之间时,限制性因素则变得不确定^[19]。此外,影响刚毛藻生长的因素还包括pH值、光照、温度等因素,因此培养刚毛藻的最佳培养方案及许多其他问题尚待进一步研究。

参考文献:

- [1]方利英,刘宏茂,许又凯. 西双版纳几种食用藻的营养分析[J]. 食品科技,2006,31(7):277-279.
- [2]况琪军,凌晓欢,马沛明,等. 着生刚毛藻处理富营养化湖泊水[J]. 武汉大学学报:理学版,2007,53(2):213-218.
- [3]黄新苹,朱校斌,刘建国,等. 几种海藻富集N、P净化水质的研究[J]. 海洋科学,2004,28(12):39-42.
- [4]林毅雄. 汉沽污水库生物净化效应(六)刚毛藻(*Cladophora* sp.)对666和DDT的富集研究[J]. 环境科学丛刊,1982,5(4):74-76.
- [5]石瑛,李砧,张猛,等. 二氯苯对刚毛藻生理指标的影响[J]. 广州农业科学,2012,39(7):153-155.
- [6]曹德菊,李浩,叶碧碧. 刚毛藻对Cu、Fe、Zn的耐受与污染控制研究[J]. 资源开发与市场,2010,26(8):728-730.
- [7]高玉荣. 刚毛藻在半咸水中对汞的累积[J]. 海洋与湖沼,1991,22(1):14-20.
- [8]Tegethoff K, Herbold B A, Bomhard E M. Investigations on the mutagenicity of 1,4-dichlorobenzene and its main metabolite 2,5-dichlorophenol *in vivo* and *in vitro* [J]. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2000, 470(2):161-167.
- [9]Whitton B A, Burrows I G, Kelly M G. Use of *Cladophora glomerata* to monitor heavy metals in rivers [J]. Department of Biological Sciences, 1989, 1(4):293-299.
- [10]王梅梅, 阚振荣, 郭春雨, 等. 饮水中藻类在不同培养基中的生长状况[J]. 河北大学学报:自然科学版, 2005, 25(2):185-188, 193.
- [11]陈汉辉. 利用藻类净化水源水质的实践与探讨[J]. 水资源保护, 1999(1):18-20, 23.
- [12]胡小贞, 马祖友, 易文利, 等. 4种不同培养基下铜绿微囊藻和四尾栅藻生长比较[J]. 环境科学研究, 2004, 17(增刊):55-57.
- [13]丰茂武, 吴云海, 冯仕训, 等. 不同氮磷比对藻类生长的影响[J]. 生态环境, 2008, 17(5):1759-1763.
- [14]姜登岭, 马轩凯, 倪国威. 氮、磷对陡河水库藻类生长的影响[J]. 河北理工大学学报:自然科学版, 2010, 31(1):98-101.
- [15]张浩. 论藻类植物的经济价值及其对人类的意义[J]. 安徽教育学院学报, 2000, 18(3):79-80.
- [16]李雅娟, 王起华. 氮、磷、铁、硅营养盐对底栖硅藻生长速率的影响[J]. 大连水产学院学报, 1998, 13(4):7-14.
- [17]张铁明. 微量元素——锌、铁、锰对淡水浮游藻类增殖的影响[D]. 北京:首都师范大学, 2006.
- [18]季祥, 王金荣, 丁潇, 等. 5种营养盐对富油舟形藻生长的影响[J]. 水产科学, 2010, 29(11):666-668.
- [19]孙凌, 金相灿, 钟远, 等. 不同氮磷比条件下浮游藻类群落变化[J]. 应用生态学报, 2006, 17(7):1218-1223.