

叶志娟,刘兆普.海水养殖废水混合培养牟氏角毛藻和盐藻研究[J].江苏农业科学,2014,42(5):199-201.

海水养殖废水混合培养牟氏角毛藻和盐藻研究

叶志娟¹,刘兆普²

(1. 武汉软件工程职业学院,湖北武汉 430205; 2. 南京农业大学,江苏南京 210095)

摘要:以 f/2 培养基为对照,探讨海水养殖废水对牟氏角毛藻和盐藻纯种培养和混合培养的可行性,研究培养过程中 3 种处理下藻生长和叶绿素累积情况,测定培养后水样中总氮、总磷含量的变化以及藻体中累积的蛋白质和多糖含量。结果表明,牟氏角毛藻和盐藻纯种培养和混合培养 3 种处理在 f/2 和海水养殖废水中能正常生长,说明利用海水养殖废水培养纯种和混合藻是可行的,培养过程中混合培养藻的生长情况均低于纯种培养,纯种培养和混合培养中牟氏角毛藻的生长情况均优于盐藻生长,叶绿素累积情况同生长情况一致,培养后各处理水体中总氮和总磷显著下降,混合培养更有利于蛋白质和多糖的累积。

关键词:牟氏角毛藻;盐藻;海水养殖废水;混合培养

中图分类号: X714 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)05-0199-03

近年来,海水养殖业飞速发展,海水养殖废水有时不经任何处理排放到海中,给海洋环境造成严重污染,富营养化的水质导致某些藻类生长过盛,形成赤潮,进一步恶化水质,给渔业及其他水产动物带来严重的危害。牟氏角毛藻属于硅藻门,是一种沿岸性半咸水种,它繁殖快又耐高温,可作为海产经济动物的良好饵料^[1];同时,它也是一种典型的赤潮藻,在渤海经常暴发。盐藻属于绿藻门,大多可以生活在富含 NaCl 的水中,其藻体内富含大量的胡萝卜素、维生素等矿物质和微量元素,在医学上有广泛应用。国内外采用牟氏角毛藻和盐藻净化各种生活废水及工业废水,而它们对养殖废水的净化却鲜见报道。

本试验选用牟氏角毛藻和盐藻,以一种赤潮藻和一种非赤潮藻作为对照,研究在 f/2 和海水养殖废水中纯种培养和混合培养处理下藻的生长及叶绿素累积情况,以及培养后水样中总氮、总磷的去除情况,探究培养后藻体内蛋白质多糖的累积情况,以期在实际养殖业中养殖废水的处理提供理论依据,为养殖业的发展提供一定的技术支撑。

1 材料与方法

1.1 藻种

牟氏角毛藻和盐藻由大连理工大学海洋生物学实验室提供。

表 1 培养前海水和海水养殖废水水样养分特性

样品	总氮 (mg/L)	氨态氮 (mg/L)	硝态氮 (mg/L)	亚硝态氮 (mg/L)	磷酸盐磷 (mg/L)	pH 值	盐度 (%)
海水养殖废水	1.302	0.032	0.058	0.015	0.176	7.98	3.3
海水	0.786	0.021	0.071	0.005	0.009	8.02	3.2

1.4 培养条件

将生长在对数期的牟氏角毛藻和盐藻藻液接种于经消毒

1.2 海水养殖废水水样和 f/2 培养基

用于试验的海水养殖废水水样来源于某海水鱼类养殖厂。

f/2 培养基:f/2 微量元素 1 mL/L(硫酸锌 23 mg/L、氯化锰 178 mg/L、硝酸钠 74.8 mg/L、氯化钴 12 mg/L、硫酸铜 10 mg/L、钼酸钠 7.3 mg/L、磷酸二氢钠 4.4 mg/L、乙二醇四乙酸二钠 4.35 g/L、柠檬酸铁 3.9 g/L)、f/2 维生素 1 mL/L(维生素 B₁ 100 mg/L、维生素 B₁₂ 0.5 mg/L、生物素 500 μg/L),培养基用海水配制,海水水样来源于近海海域。

试验用海水和海水养殖废水均通过沉淀 24 h、微孔膜抽滤后使用。

1.3 试验设计方法

以 f/2 和海水养殖废水为培养基,设计了牟氏角毛藻和盐藻单独纯种培养和混合培养共 3 个处理,牟氏角毛藻和盐藻的初始接种密度均为 1.055×10^7 个/mL,而纯种培养中藻的密度与混合藻总密度相同,为 2.110×10^7 个/mL,确保有可比性。将 3 个处理的藻液接种于经高温消毒处理后的 150 mL 三角瓶中进行培养,培养 2、4、6、8、10 d 后同时分别测定 f/2 培养基和海水养殖废水培养过程中纯种藻和混合藻细胞数和叶绿素累积情况,测定培养后水体中的总氮、总磷的利用情况,以及培养后藻体中蛋白质、多糖等生化成分的含量,以探索混合培养对 2 种藻生长的影响及对水体的净化程度。试验用海水和海水养殖废水水样的养分特性见表 1。

处理后的 300 mL 三角瓶中,接种比例为 1:10,初始接种量为 1.055×10^7 个/mL,培养于智能光照培养箱中,培养温度 23 ℃,光照强度 3 000 lx,每天定时摇动 3 次,每次 1 min。

1.5 细胞计数

以 0.1 mL 血球计数板在光学显微镜下直接分别计数牟氏角毛藻和盐藻的细胞数,混合培养下分别计数后合计值为混合藻总数。

收稿日期:2014-01-20

基金项目:湖北省武汉市教育局重点教研项目(编号:2011029)。

作者简介:叶志娟(1980—),女,安徽安庆人,硕士,讲师,主要从事养殖废水处理研究。E-mail:zhijuanye@163.com。

1.6 牟氏角毛藻和盐藻叶绿素含量的测定

分别取 15 mL 牟氏角毛藻和盐藻纯种培养和混合培养下的藻液,真空抽滤到硝酸纤维滤膜上,将抽滤后获取的藻样置于离心管中,添加 5 mL 90% 丙酮,在低温黑暗中抽提 20 h 后,经高速离心机以 4 000 r/min 离心 5 min,获取的上清液在 663、645 nm 波长下分别测定吸光度 $D_{663\text{ nm}}$ 、 $D_{645\text{ nm}}$,采用以下公式计算叶绿素含量^[2]:

$$\text{叶绿素含量} = 8.02 \times D_{663\text{ nm}} + 20.2 \times D_{645\text{ nm}}$$

1.7 生理生化指标的测定

总氮含量采用过硫酸钾氧化-紫外分光光度法测定,磷酸盐含量采用磷钼蓝分光光度法测定,蛋白质含量采用考马斯亮蓝法测定,多糖含量的采用改良后的苯酚-硫酸法^[3]测定。

2 结果与分析

2.1 f/2 和海水养殖废水混合培养对牟氏角毛藻和盐藻生长的影响

2.1.1 f/2 培养基培养对牟氏角毛藻和盐藻生长的影响

f/2 培养基中藻的生长情况见图 1,对于纯种培养来说,牟氏角毛藻生长明显比盐藻快,牟氏角毛藻很快就进入到指数生长期;而混合藻培养下藻的生长情况均低于纯种培养,且指数期推迟;3 种处理下藻生长到 8 d 后均趋于衰退的趋势。

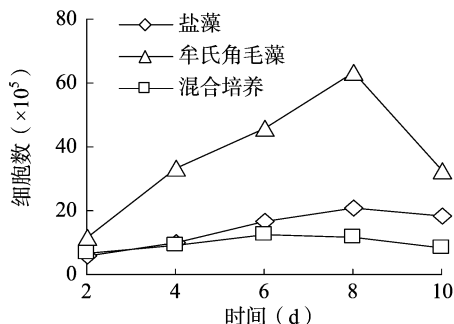


图1 f/2培养基中藻的生长情况

由图 2 可见,混合培养处理中牟氏角毛藻的生长显著快于盐藻的生长,这与纯种处理一致;且混合处理中 2 种藻均在 6 d 后就提前进入衰亡期,细胞数下降,可能是因为混合培养中 2 种藻之间相互竞争,而牟氏角毛藻作为一种赤潮藻,竞争能力明显强于盐藻。这也在一定程度上说明沿海赤潮暴发过程中牟氏角毛藻更容易迅速有效地吸取水体中的养分快速生长至衰亡期的现象,可能是牟氏角毛藻的生长特性决定了其生长较快,优于其他藻,也可能是牟氏角毛藻体内存在某种促进生长的成分,有利于它与其他藻竞争养分,具体有待进一步研究。

2.1.2 海水养殖废水培养对牟氏角毛藻和盐藻生长的影响

由图 3 可以看出,与 f/2 处理相比,海水养殖废水中藻细胞数少了一个数量级,总生长趋势基本上同 f/2 处理一致,这是因为 f/2 培养液和海水养殖废水水样的养分特性有显著差异,也说明了培养基的养分对藻的生长起决定性作用,但是海水养殖废水进行牟氏角毛藻和盐藻纯种培养和混合培养是可行的。

由图 4 可见,同 f/2 处理一样,海水养殖废水纯种培养下牟氏角毛藻的生长快于盐藻,混合培养处理下藻细胞数低于

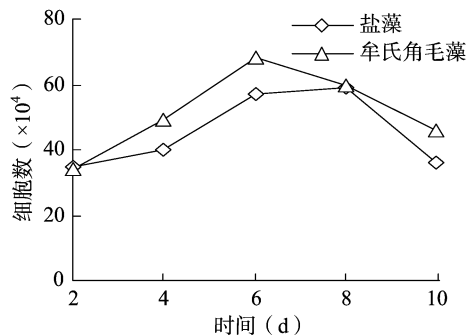


图2 f/2培养基混合培养处理牟氏角毛藻和盐藻的生长情况

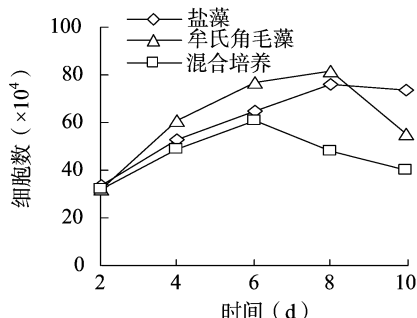


图3 海水养殖废水中藻的生长情况

纯种培养下藻细胞数,并且混合培养处理下藻的衰亡期提前出现,表现情况如下:牟氏角毛藻和盐藻纯种培养处理均在 8 d 后到达衰亡期,而混合培养处理在 6 d 后衰亡期就出现了。对于混合培养处理来说,牟氏角毛藻生长很快,并迅速进入衰亡期,而盐藻的生长情况及衰亡期基本上同纯种培养处理一致,在各处理下牟氏角毛藻的生长均优于盐藻,再一次证明了牟氏角毛藻的竞争能力强于盐藻这一论述。

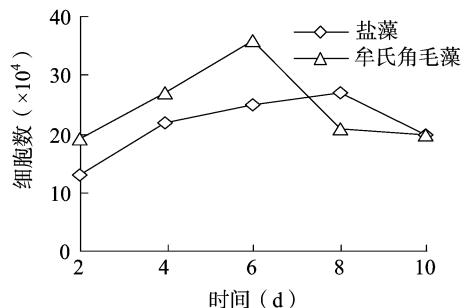


图4 海水养殖废水混合培养处理牟氏角毛藻和盐藻的生长情况

2.2 f/2 培养基和海水养殖废水培养对叶绿素含量的影响

由图 5 可以看出,藻的叶绿素累积情况同藻的生长情况基本保持一致,即随着培养时间延长,叶绿素累积逐渐增加,后随着藻生长的衰退而逐渐降低,纯种处理叶绿素含量培养 8 d 后达到最高,而混合培养处理下藻的叶绿素累积 6 d 时就达到了最高值;f/2 培养基处理下牟氏角毛藻叶绿素含量最高达 16.62 mg/L,盐藻最高达到了 8.97 mg/L,而海水养殖废水处理下牟氏角毛藻的叶绿素最高为 2.35 mg/L,盐藻最高仅为 1.63 mg/L,可能是因为 f/2 培养基中的充足养分更有利于叶绿素的积累,海水养殖废水培养处理也可累积一定的叶绿素,纯种培养比混合培养更有利于藻体内叶绿素的累积。

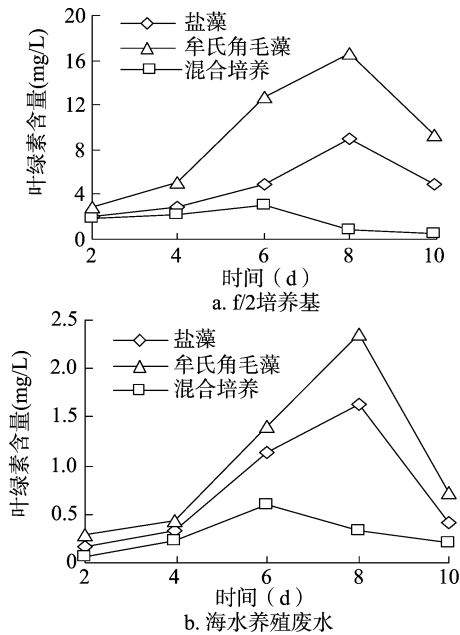


图5 f/2培养基和海水养殖废水中藻的叶绿素含量

2.3 f/2 和海水养殖废水培养牟氏角毛藻和盐藻对水体 N、P 的净化作用

由图 6 可以看出,牟氏角毛藻纯种培养下对总氮、总磷的吸收利用率显著高于盐藻纯种培养和混合培养,这与前面所得出的生长情况及叶绿素累积情况一致,因为藻的生长要吸收培养基中的氮、磷养分,同时在另一个角度上也说明可以去除海水养殖废水中的氮、磷成分,对海水养殖废水起到一定的净化作用。

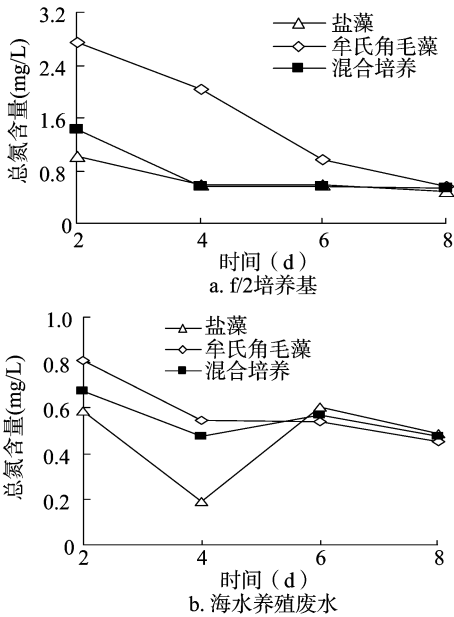


图6 f/2培养基和海水养殖废水处理水体中总氮、总磷的含量

2.4 f/2 培养基和海水养殖废水混合培养处理后牟氏角毛藻和盐藻中生化成分的含量

由表 2 可以看出,f/2 培养基和海水养殖废水混合培养处理后藻的蛋白质含量均显著高于纯种培养处理组 ($P <$

0.05);因为培养基中的养分差异,f/2 处理生化成分含量明显高于海水养殖废水处理;对于纯种培养来说,牟氏角毛藻中的蛋白质含量高于盐藻。2 种培养基下混合藻中的多糖含量高于纯种处理,但各处理间均无显著差异,说明同蛋白质累积情况一样,混合培养处理也有助于藻体多糖的累积。结果表明,虽然混合培养由于种间的竞争导致藻生长情况低于纯种培养,但却明显促进了蛋白质、多糖这些有机成分的累积,可考虑在实际生产中根据收集物的不同来合理选择是纯种培养还是混合培养,以获得更多的生产利润。

表 2 f/2 培养基和海水养殖废水处理藻体内的生化成分

培养条件	藻类	蛋白质含量 (μg/g)	多糖含量 (%)
f/2 培养基	盐藻	0.051c	0.058a
	牟氏角毛藻	0.230b	0.068a
	混合藻	0.357a	0.088a
海水养殖废水	盐藻	0.004c	0.005a
	牟氏角毛藻	0.074b	0.057a
	混合藻	0.170a	0.079a

注:同列数据后不同小写字母表示相同培养条件不同藻类间在 0.05 水平差异显著。

3 讨论

牟氏角毛藻在 f/2 培养基和海水养殖废水中的生长显著优于盐藻,混合培养下藻生长情况比纯种培养差,混合培养时牟氏角毛藻生长比盐藻快,提前进入衰亡期。

在海水养殖废水中牟氏角毛藻和盐藻纯种培养和混合培养处理下藻体中叶绿素的累积情况同生长情况基本一致。叶绿素累积随着培养时间的延长而逐渐增加,又随着藻生长的衰退而逐渐降低,混合培养处理下藻的叶绿素累积提前达到了最高值,海水养殖废水培养处理也可累积一定的叶绿素,培养基中的养分越充足,越有利于叶绿素的积累,纯种培养比混合培养更有利于藻体内叶绿素的累积。

f/2 培养基和海水养殖废水中纯种培养和混合培养处理后发现,牟氏角毛藻纯种培养对总氮、总磷的吸收利用率显著高于盐藻纯种培养和 2 种藻混合培养,与生长情况及叶绿素累积情况一致,藻的生长要吸收培养基中的氮、磷养分,也说明利用藻可以净化海水养殖废水,有效去除海水养殖废水中的氮、磷成分。

无论是在 f/2 培养基中,还是在海水养殖废水中,混合藻培养处理藻体内蛋白质和多糖的含量均显著高于纯种藻培养处理,说明混合培养有助于藻体蛋白质和多糖的累积,其具体原因有待进一步研究。

参考文献:

[1]金彬明,曾国权. 牟氏角毛藻培养技术[J]. 中国水产,2004 (10):73-74.

[2]姚南瑜. 藻类生理学[M]. 大连:大连工学院出版社,1987:115-121.

[3]Leonardos N, Lucas I A N. The nutritional value of algae grown under different culture conditions for *Mytilus edulis* L. larvae[J]. Aquaculture,2000,182(3/4):301-315.