

王 敏,田孟丹,范耘硕,等. 不同营养盐水平对威氏海链藻生长特性的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(3):154-159.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.03.040

不同营养盐水平对威氏海链藻生长特性的影响

王 敏^{1,2}, 田孟丹¹, 范耘硕¹, 高金伟¹

(1. 天津农学院水产学院/天津市水产生态与养殖重点实验室, 天津 300380; 2. 大连海洋大学, 辽宁大连 116023)

摘要:以生物量、吸光度($D_{680\text{ nm}}$)和叶绿素含量为观察指标,利用试验生态学的方法研究氮磷比、钾钠比、硅浓度、铁浓度对威氏海链藻生长的影响。结果表明,氮磷比为 16:1 时,威氏海链藻为指数增长,其他试验组藻生长曲线波动性较大;钾钠比为 1:3 时生长情况均明显好于 1:1、3:1 的试验组;在硅含量为 0.0、4.0 mg/L 的培养液中,所测得威氏海链藻的生物量、吸光度和叶绿素含量均比 0.5、1.2 mg/L 时低;添加铁元素 2.0 mg/L 时藻的吸光度和叶绿素含量最高,没有铁的培养基中测得的威氏海链藻各生长指标均处于最低。

关键词:威氏海链藻;营养盐;生物量;叶绿素含量;吸光度;生态学法;生长特性

中图分类号: S968.43⁺9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)03-0154-06

威氏海链藻(*Thalassiosira weissflogii*)是一种典型的中心纲(Centricae)浮游硅藻,硅质化程度高,生存能力强^[1-2],细胞由无定型二氧化硅组成,具有精致而独特的微纳米分级结构。这种壳体具有多孔、比表面积大、机械性能良好、光学性能优异等特点^[3-4],在制备新型纳米材料和器件(如微型传感器、微过滤器、生物载体等)时具有独特的优势^[5-6]。硅藻生长速度快、营养需求低、遗传性状稳定,实现硅藻的大规模培养可为今后制备新型纳米材料提供丰富的原料^[7]。

收稿日期:2016-09-19

基金项目:天津农学院大学生创新创业训练计划(编号:201510061048);卫星海洋环境动力学国家重点实验室开放课题(编号:SOED1419);天津农学院科学研究发展计划(编号:2014N11)。

作者简介:王 敏(1992—),女,江苏泰州人,硕士研究生。E-mail:591716562@qq.com。

通信作者:高金伟,女,博士研究生,实验师,主要从事功能性饵料微藻研究。E-mail:gaojinwei@tjau.edu.cn。

参考文献:

- [1] 严杜建,周启武,路 浩,等. 新疆天然草地毒草灾害分布与防控对策[J]. 中国农业科学,2015,48(3):566-583.
- [2] 王 帅,贾琦珍,陈根元,等. 小花棘豆中毒对家兔生殖细胞 $\rho 53$ 、 $Bcl-2$ 和 Bax 表达的影响[J]. 基因组学与应用生物学,2016,35(5):1115-1122.
- [3] 王 帅,贾琦珍,陈根元,等. 小花棘豆中毒对大鼠下丘脑-垂体-卵巢轴 α -甘露糖苷酶的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版),2016,45(1):70-76.
- [4] 王 帅,陈根元,贾琦珍,等. 小花棘豆中毒对家兔丘脑-垂体-性腺轴 α -甘露糖苷酶的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2016,44(8):41-48.
- [5] 王 帅,胡建军,陈根元,等. 小花棘豆中毒家兔的病理形态学观察[J]. 江苏农业科学,2014,42(6):175-177,178.
- [6] 王 帅,廖秋萍,贾琦珍,等. 小花棘豆中毒对和田羊丘脑-垂体-性腺轴 α -甘露糖苷酶的影响[J]. 中国畜牧杂志,2015,51

微量元素在海水藻的生长过程中不可缺少,一方面是由于有些微量元素是细胞本身组成不可缺少的元素^[8],另一方面是由于有些微量元素是酶活性基团的组成部分^[9]。因此,在海水单胞藻培养过程中,必须使用微量元素,否则随着常量元素氮(N)、磷(P)等的消耗,微量元素将会限制海水单胞藻的生长。一般认为铁(Fe)、铜(Cu)、锌(Zn)、锰(Mn)、钼(Mo)、钴(Co)等是海洋浮游植物必需微量元素,通常以无机离子形式将上述微量元素加入单胞藻培养液中^[10]。本研究除选取培养试验研究较少的因子,钾钠比(K:Na)、硅(Si)、氮磷比(N:P)及微量元素铁(Fe)外,也研究了不同 N:P 对威氏海链藻生长的影响,为今后威氏海链藻大规模培养以及研究其形成赤潮的机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验藻种

本试验所用威氏海链藻由国家海洋局第二海洋研究所提供。

(23):59-62.

- [7] 陈根元,贾琦珍,王 帅. 小花棘豆中毒对绵羊运氧能力和抗氧化损伤的研究[J]. 湖北农业科学,2015,54(13):3193-3196.
- [8] 邓 利,白万胜,陶大勇,等. 小花棘豆中毒对和田羊脏器指标的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(3):271-273.
- [9] 贾琦珍,王 帅,张 玲,等. 小花棘豆中毒对家兔脑组织 α -甘露糖苷酶的影响[J]. 塔里木大学学报,2015,27(1):18-23.
- [10] 丁伯良,王建辰,薛登民,等. 山羊甘肃棘豆中毒睾丸、附睾的病理学研究[J]. 畜牧兽医学报,1994,25(4):368-374.
- [11] Han H, Sun Z, Luo G, et al. Fluoride exposure changed the structure and the expressions of reproductive related genes in the hypothalamus - pituitary - testicular axis of male mice [J]. Chemosphere, 2015, 135:297-303.
- [12] Chimento A, Sirianni R, Casaburi I, et al. Role of estrogen receptors and g protein - coupled estrogen receptor in regulation of hypothalamus - pituitary - testis axis and spermatogenesis [J]. Frontiers in Endocrinology, 2014, 5:1-8.

1.2 藻种培养

培养用水由海水晶配制,盐度为 3%,经 0.45 μm 过滤、121 ℃ 灭菌 20 min 后,配制 f/2 海水培养液。22 ℃ 恒温培养箱中,60 μmol/(m²·s)光照,12 h:12 h 的明暗周期培养,在

光照条件时每 3 h 摇瓶 1 次,取指数生长期的威氏海链藻进行试验。

1.3 试验仪器

试验所用仪器详见表 1。

表 1 试验仪器信息

试验仪器	生产商及型号	用途
浮游植物荧光仪(PHY-PAM)	德国 Walz 公司	测叶绿素荧光
756MC 紫外可见分光光度计(UV-2102PC 出口型)	上海菁华科技仪器有限公司	测吸光度
Nikon Eclipse E200 尼康生物显微镜	上海普赫光电科技有限公司	测生物量
单人单面垂直净化工作台 SW-CJ-1FD	上海博讯医疗生物仪器股份有限公司	藻液扩培与
美国 Percival I-36VL 光照生物培养箱	北京五洲东方科技发展有限公司	藻种培养

1.4 试验设计

1.4.1 不同氮磷比对威氏海链藻的影响 分为固定氮含量组与固定磷含量组,各设置 5 个试验组,每组 3 个平行,将处于指数生长期的威氏海链藻(1:1)起始密度为 5 万个/mL 接种于 250 mL 三角瓶中,装瓶量为 150 mL。以 NaNO₃ 和 NaH₂PO₄·H₂O 分别为氮源和磷源,设置不同营养条件组:(1)固定氮组。N 浓度为 1 000 μmol/L,4:1 条件 P 浓度为 534 μmol/L,8:1 条件 P 浓度为 267 μmol/L,12:1 条件 P 浓度为 179 μmol/L,16:1 条件 P 浓度为 134 μmol/L,20:1 条件浓度为 107 μmol/L。(2)固定磷组。磷浓度为 250 μmol/L,4:1 条件氮浓度为 46.75 μmol/L,8:1 条件氮浓度为 93.5 μmol/L,12:1 条件氮浓度为 140.5 μmol/L;16:1 条件氮浓度为 187.25 μmol/L,20:1 条件氮浓度为 234 μmol/L。

其他培养基条件同 f/2。置于 22 ℃ 光照培养箱中,培养 8 d,每天摇瓶 4 次。培养过程中在 0、2、4、6、8 d 定时取样,测定威氏海链藻的生物量、吸光度和叶绿素含量。

1.4.2 不同 K:Na 对威氏海链藻的影响 设置 3 个试验组,每组 3 个平行,以 KNO₃ 和 NaNO₃ 分别为钠源和钾源,用该 2 种药品代替原来 f/2 培养基中的 NaNO₃ 母液,配制新的母液,设置不同营养条件:(1)1:3 条件。重新配制的 Na、K 母液中 NaNO₃、KNO₃ 含量分别为 1.16、87.74 g/L。(2)1:1 条件。重新配制的 Na、K 母液中 NaNO₃、KNO₃ 含量分别为 11.7、41.8 g/L。(3)3:1 条件。重新配制的 Na、K 母液中 NaNO₃、KNO₃ 含量分别为 29.31、20.9 g/L。其余同“1.4.1”节。

1.4.3 不同 Si 含量对威氏海链藻的影响 在 f/2 培养基的基础上添加 Na₂SiO₃·9H₂O 调节硅含量,不同组培养基中最终硅含量分别为 0.0、0.5、1.2、2.0 mg/L;取处于指数生长期的威氏海链藻(1:1)接种于 250 mL 三角瓶中,装瓶量为 150 mL。其余同“1.4.1”节。

1.4.4 不同 Fe 含量对威氏海链藻的影响 在 f/2 培养基的基础上添加 FeCl₃·6H₂O 调节铁含量,不同组培养基中最终铁含量分别为 0.0、0.2、2.0、4.0 mg/L。其余同“1.4.1”节。

1.5 分析测定方法

1.5.1 威氏海链藻生物量和吸光度测定 在 0、2、4、6、8 d 定时取样,藻液经过预处理后,利用 XB-K-25 型血球计数板在电子显微镜下直接计算藻细胞数量。采用紫外可见分光光度计在 680 nm 处测定威氏海链藻的吸光度(*D*_{680 nm})。

1.5.2 叶绿素 a 含量测定 吸取 2 mL 藻液置于 2 mL 离心管中,于 12 000 r/min 离心 5 min,用移液枪吸去上清液。沉

淀藻于 1.5 mL 80% 丙酮中重悬浮,后用锡箔纸完全包裹 2 mL 离心管,并置于光线较暗处 55 ℃ 水浴放置 30 min,后于 12 000 r/min 离心 5 min,吸出上清液转移至 10 mL 离心管中,并用 80% 丙酮定容于 5 mL,测定 663 nm 处的吸光度,根据公式计算出叶绿素 a 含量:叶绿素 a 的含量(mg/L) = *D*_{663 nm}/82。

1.6 统计分析

试验数据以“平均值±标准差”表示。应用 SPSS 19.0 统计分析软件,采用 *t*-检验进行分析,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 不同的 N:P 对威氏海链藻生长的影响

2.1.1 固定 N 含量下不同 N:P 对威氏海链藻生长的影响

2.1.1.1 威氏海链藻的细胞密度 由图 1 可知,不同试验组中威氏海链藻的生物量曲线,威氏海链藻在 N:P=4:1 的培养液中,其藻细胞密度在培养 2~4 d 呈现快速的生长,4~6 d 时增长缓慢。威氏海链藻的生长状况在 N:P=16:1 条件下藻细胞密度增长速率最快,曲线的波动性小,直线增长。

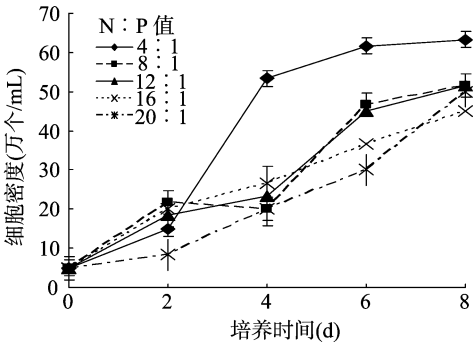


图1 不同 N:P 培养液对威氏海链藻生物量的影响

2.1.1.2 威氏海链藻吸光度 由图 2 可知,威氏海链藻在 N:P=20:1 的培养液中,吸光度曲线相比于其他试验组的平稳增长,其增长状况在 0~6 d 时稳定增长,6~8 d 时并未出现增长。培养后 8 d 吸光度最低的则为 N:P=12:1 试验组,*D*_{680 nm} 值为 0.148。在观察期内 N:P 为 4:1,试验组 *D*_{680 nm} 值始终高于其他试验组(P),8 d *D* 值为 0.221,经 *t*-检验,N:P=4:1 试验组的吸光度明显高于其他组(*P*<0.05)。

2.1.1.3 威氏海链藻叶绿素含量 由图 3 可知,不同氮磷比培养基中威氏海链藻叶绿素含量与所测得藻液吸光度的生长

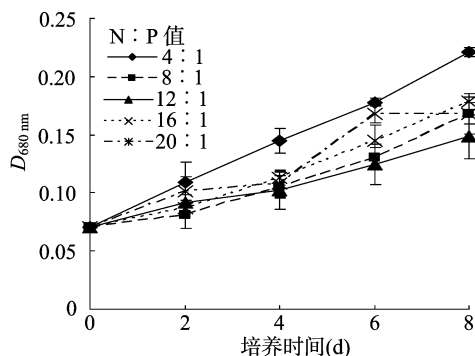


图2 不同N:P培养液对威氏海链藻光密度值的影响

曲线相似,在培养条件为 $N:P=4:1$ 时藻液的叶绿素含量呈指数增长,增长速率最快,在培养了 8 d 后叶绿素的含量最高,达到了 572.34 mg/m^3 。经 t -检验, $N:P=4:1$ 试验组的叶绿素含量从培养 4 d 到培养期结束均显著高于其他组 ($P<0.05$)。叶绿素含量最低的则为 $N:P=12:1$ 试验组,在培养期内每天所测得的叶绿素含量都是最低的。

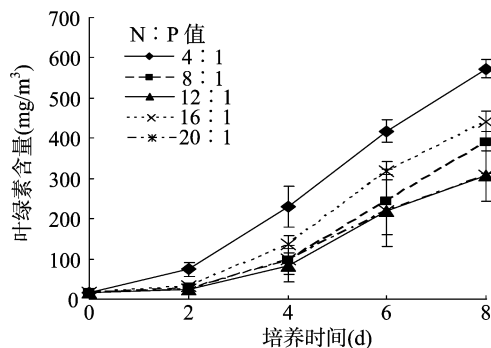


图3 不同N:P培养液对威氏海链藻叶绿素含量的影响

2.1.2 固定P含量下不同N:P对威氏海链藻生长的影响

2.1.2.1 威氏海链藻的生物量 由图 4 可知,不同 $N:P$ 试验组在培养 0~2 d 内藻细胞密度均在增长,增长最为显著的是 $N:P=4:1$ 、 $12:1$ 、 $20:1$ 培养基中的藻液。 $N:P=16:1$ 试验组藻在培养 6 d 内一直增长,在 6~8 d 时出现了藻类的死亡使细胞浓度减少,而其余各组在培养期间内都有一定的波动性。经 t -检验, $N:P=16:1$ 试验组的叶绿素含量均显著高于其他组 ($P<0.05$)。可见,威氏海链藻在 $N:P=16:1$ 的培养基条件下生长情况最好。

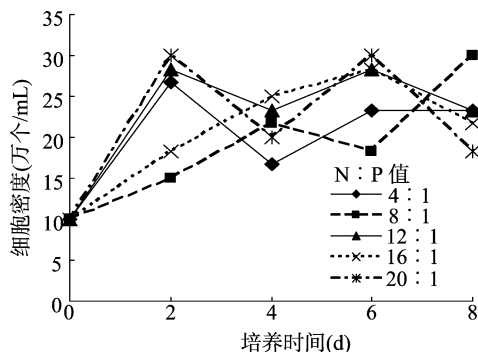


图4 不同N:P培养液对威氏海链藻生物量的影响

2.1.2.2 威氏海链藻光密度值 由图 5 可知,各威氏海链藻试验组的吸光度在培养 0~4 d 内都有明显的上升,随后在培

养 4~6 d 时其值均出现了下降,只有 $N:P=16:1$ 试验组的吸光度在培养 4~6 d 维持不变,仍为 0.115,可以说明在 $N:P=16:1$ 试验组培养基中的藻类虽没有在增长但相较于其他组也没有出现大量的死亡,且在观察期结束时,该试验组藻液的吸光度达到最高值,为 0.127。

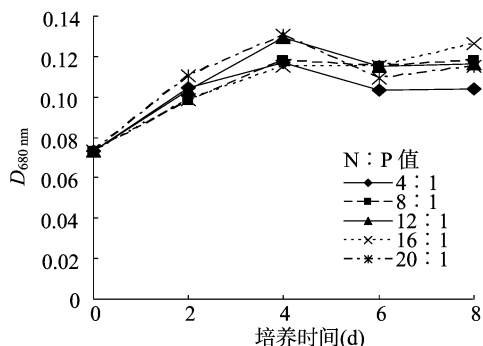


图5 不同N:P培养液对威氏海链藻吸光度的影响

2.1.2.3 威氏海链藻叶绿素含量 由图 6 可知, $N:P=4:1$ 的试验组叶绿素含量在观察期的 4 d 后出现明显的下降,其余试验组在培养 2 d 后叶绿素含量开始下降,与所测得藻液的吸光度不一样,吸光度在培养 4 d 后开始下降,但培养的 6 d 叶绿素含量与吸光度一样,都又开始增长了。相比于其他试验组,只有 $N:P=16:1$ 试验组的藻液的叶绿素含量在培养 4~6 d 时增加了,其余各组维持不变或有大幅下降趋势,观察期结束时,测得 $N:P=16:1$ 培养基中的藻液叶绿素含量最高,经 t -检验 ($P<0.05$) 可以得出该试验组的威氏海链藻的生长情况是最好的,吸光度和叶绿素含量达到最高。

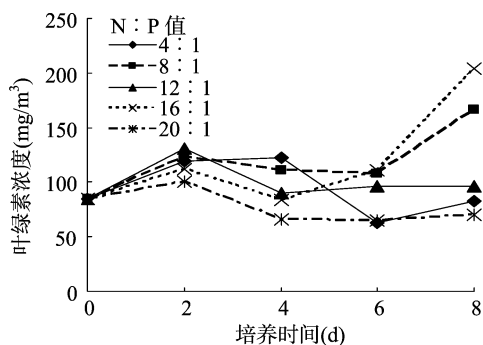


图6 不同N:P培养液对威氏海链藻叶绿素含量的影响

2.2 不同K:Na(摩尔比)环境对威氏海链藻生长的影响

2.2.1 威氏海链藻的生物量 由图 7 可知,威氏海链藻在 $K:Na=1:3$ 、 $3:1$ 试验组的藻细胞密度在培养期间一直增长, $K:Na=1:1$ 试验组的藻液浓度虽在培养 0~4 d 出现了大量的增长,所测得的藻细胞密度均比其余 2 个试验组高,但在观察期 4~6 d 却出现了大幅下降,代表藻类出现了大量的死亡。 $K:Na=1:3$ 试验组的培养基在培养 8 d 后其中的藻细胞数量最多,比原始培养增长了约 5 倍。

2.2.2 威氏海链藻光密度值 由图 8 可知,威氏海链藻在 $K:Na=1:1$ 的培养基中的吸光度的曲线与生物量是相似的,均在增长后大幅度下降。 $K:Na=3:1$ 试验组藻的吸光度明显地升高,而 $K:Na=1:3$ 的培养基中藻的吸光度与生物量曲线相似,呈稳定上升趋势,在培养期结束时其吸光度也达到 0.164。

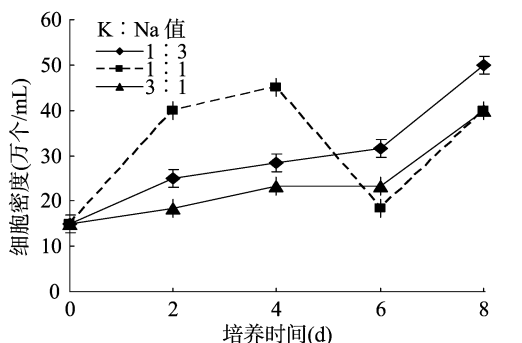


图7 不同 K : Na 培养液对威氏海链藻生物量的影响

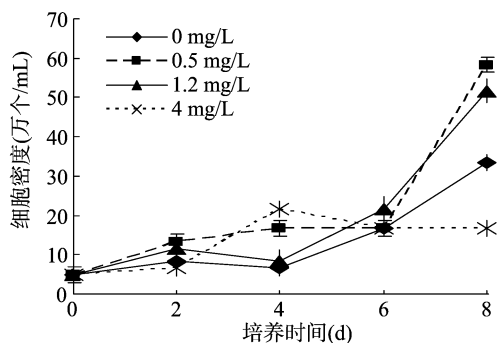


图10 不同 Si 含量的培养液对威氏海链藻生物量的影响

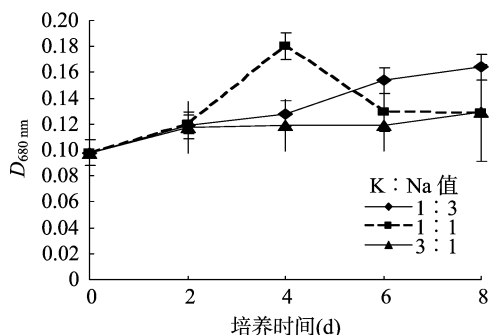


图8 不同 K : Na 培养液对威氏海链藻吸光度的影响

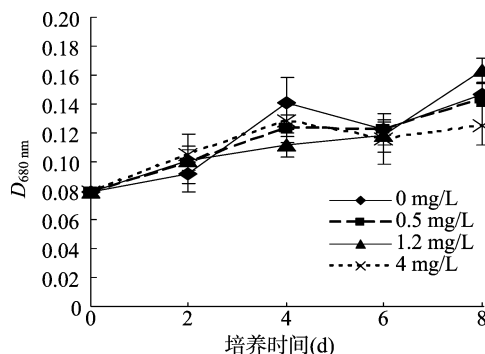


图11 不同 Si 含量的培养液对威氏海链藻吸光度的影响

2.2.3 威氏海链藻叶绿素含量 由图 9 可知,在不同 K : Na 的培养条件下,威氏海链藻均可以生长,其叶绿素含量都呈增加趋势,只是各试验组在培养 2~4 d 时均有下降的趋势,但 4 d 后又呈现增长的情况,藻的叶绿素含量增长最快的是 K : Na = 1 : 3 试验组,在培养期内每次所测得的叶绿素含量都是最高的,最终为 372.31 mg/m³。

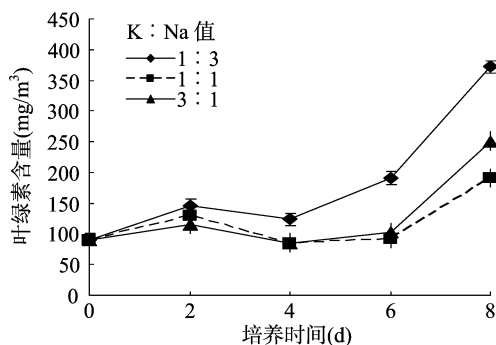


图9 不同 K : Na 培养液对威氏海链藻叶绿素含量的影响

2.3.3 威氏海链藻叶绿素含量 由图 12 可知,威氏海链藻在不同 Si 含量的培养基中生长一段时间后,所测得叶绿素含量与上述吸光度结果相似,Si 含量为 4 mg/L 的试验组叶绿素含量也是最低的,没有 Si 元素培养基中的藻的叶绿素含量增长也不是最高的,Si 含量为 1.2 mg/L 的试验组测得的叶绿素含量到达 347 mg/m³,是最高的。

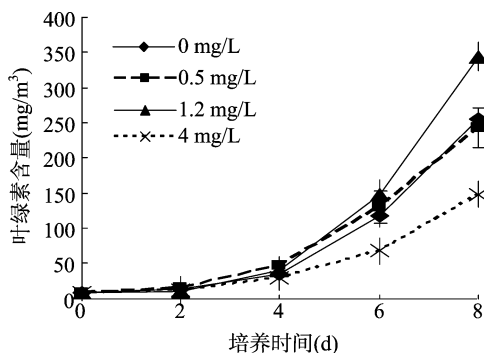


图12 不同 Si 含量的培养液对威氏海链藻叶绿素含量的影响

2.3 不同 Si 含量的培养液对威氏海链藻生长的影响

2.3.1 威氏海链藻的生物量 由图 10 可知,威氏海链藻在过高 Si 含量的培养液中长势最差,与初始培养基中藻细胞密度相比,其细胞密度只是出现微量的增加,没有硅元素添加的试验组虽比 Si 含量为 4 mg/L 藻细胞浓度高,但远没有添加 Si 元素 0.5、1.2 mg/L 的试验组生长状况好 ($P < 0.05$),培养 8 d 后藻细胞密度最高的是硅含量为 0.5 mg/L 的试验组。

2.3.2 威氏海链藻吸光度 由图 11 可知,不同 Si 含量的培养基中所测得威氏海链藻液的吸光度均呈上升趋势,与测得的藻细胞密度生长状况类似,在培养 8 d 后 Si 含量为 4 mg/L 时吸光度为最低,与其他试验培养基中测得的吸光度差异显著 ($P < 0.05$),Si 含量为 1.2 mg/L 的吸光度最高。

2.4 不同 Fe 含量对威氏海链藻生长的影响

2.4.1 威氏海链藻的生物量 由图 13 可知,威氏海链藻的藻细胞浓度波动性相对较小的是 Fe 含量为 1 mg/L 的试验组,藻细胞密度呈稳定的增多。而其余各组藻细胞的生长均有快速增长和死亡期,在图 13 中所表现出的即是细胞密度较大的波动性。

2.4.2 威氏海链藻吸光度 由图 14 可知,该藻在 Fe 含量为 2 mg/L 试验组中稳定增长,达到 0.12;Fe 含量为 0.0、0.5、1.0 mg/L 时,藻类吸光度上升后又出现了下降,与培养 2 d 后基本相同。

2.4.3 威氏海链藻叶绿素含量 由图 15 可知,缺少 Fe 元素的培养液是不适合威氏海链藻的生长的,表现为其叶绿素含

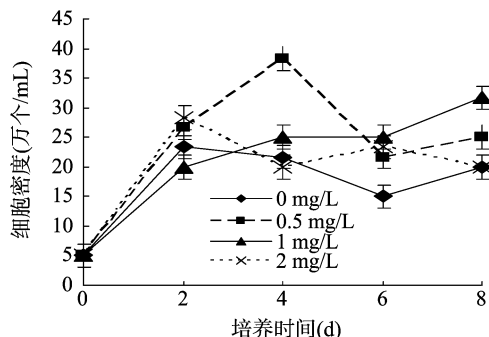


图13 不同 Fe 含量的培养液对威氏海链藻生物量的影响

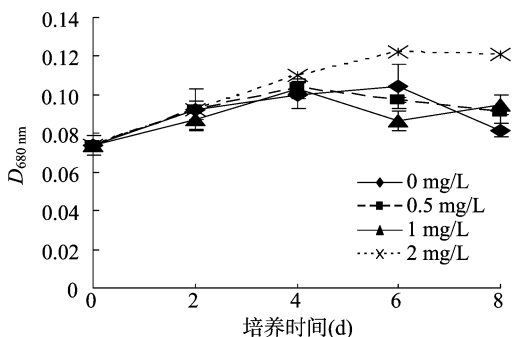


图14 不同 Fe 含量的培养液对威氏海链藻光密度值的影响

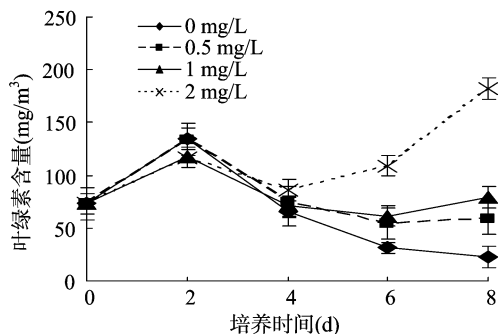


图15 不同 Fe 含量的培养液对威氏海链藻叶绿素含量的影响

量直线下降,培养 8 d 后的藻液叶绿素含量较初始培养基中藻液的叶绿素含量还低,说明藻类出现了大量的死亡。Fe 是微量元素,在培养液中添加一定量的 Fe 可以促进藻类的生长。相较于 Fe 含量为 0.0 mg/L 的试验组,Fe 含量为 0.5、1.0 mg/L 的威氏海链藻的叶绿素含量保持相等。藻液长势最好的则为培养基中 Fe 含量为 2 mg/L 的试验组,叶绿素含量增长最多,曲线明显的上升,比初始值增长了 3 倍。

3 讨论

3.1 不同 N : P 对威氏海链藻生长的影响

培养液中的 N 是组成植物细胞内的蛋白质、核酸等活性物质的重要成分,P 具有作为底物或调节物参与其光合作用,所以不同 N : P 的培养基会影响威氏海链藻的生长。

根据所测定的威氏海链藻的生物量、吸光度、叶绿素含量 3 个测定结果看,在 N : P = 16 : 1 的情况下增长速率更趋稳定,符合 Redfield 的 16 : 1 比值^[11]。微藻对主要营养盐(氮磷)的吸收是根据自身需要按一定的比例进行的^[12]。在分别固定 N 和 P 的条件下,威氏海链藻更适应 N : P = 16 : 1 的培

养液。含氮量较少或较多试验组的藻的生长受到了一定的限制,不同含磷量藻类都呈现增长趋势,但增长速率不一样。本组试验处理表明环境中的氮浓度影响远大于磷浓度的影响。这与一些赤潮发生的氮磷比环境相似^[13]。

3.2 不同 K : Na 对威氏海链藻生长的影响

由此推测,培养液中 K、Na 的含量和比例可能会影响藻类的生长。试验结果表明,在 K : Na = 1 : 1 时,培养藻液的细胞密度及吸光度在观察后 4 d 达到该组试验培养期内的峰值,但随后迅速减少,可能是因为该 2 种元素在藻细胞组成所占的比例不一样,外界培养环境中的该种元素限制了藻类的生长,藻类迅速生长后由于其制约作用又导致藻类的大量死亡。相较于 K : Na = 1 : 1,其余 K : Na = 1 : 3、3 : 1 的藻细胞从所测定的结果来看,虽然其增长速率不一样,但均能一直增殖。

3.3 不同 Si 含量对威氏海链藻生长的影响

Si 是硅藻生长繁殖的必需营养元素,它除了作为细胞壁结构成分外,还参与蛋白质、光合色素及 DNA 合成和细胞分裂等多种代谢和生长过程^[14]。

对营养盐硅的研究比较少。Lippemeier 等研究了不同浓度的硅对硅藻的影响,结果表明,当 Si 受限时,其非光化学淬灭 q_N 很强, F/F_m 、 F_v/F_m 下降^[15]。当 Si 恢复正常浓度后, F 、 F_m 、 F_v/F_m 在 20 min 内快速上升。细胞密度在 Si 含量为 0.5 mg/L 时达到最大值,威氏海链藻的生长随着硅含量的增加而加快,呈现出“低—高一低”的现象。本试验表明,较低 Si 含量限制了威氏海链藻的生长,这可能是因为 Si 元素参与细胞组成,微量元素缺失,不能够供应细胞正常的新陈代谢,导致光合作用减弱,细胞生长周期缩短。此外伴随着其他营养盐(N、P、Fe 等)的消耗,Si 限制变得不明显。Si 含量为 4 mg/L 时,威氏海链藻生长速度最慢,细胞密度和叶绿素含量最低,这是过高的 Si 含量限制了威氏海链藻的生长。这可能是高浓度的 Si 加快了威氏海链藻的代谢速度,不能累计足够的营养物质,供给细胞分裂的能量,导致藻类提前进入衰退期。此外,还可以看出,无论 Si 含量过高还是过低,相对于 Si 含量为 0 mg/L 时,都对威氏海链藻的生长起了促进作用,证明 Si 元素是威氏海链藻生长所必需的微量元素之一。

3.4 不同 Fe 含量对威氏海链藻生长的影响

Fe 是浮游植物生长的必需营养素,参与藻类细胞基本生理功能如光合作用和呼吸作用。水环境中 Fe 的可利用程度影响浮游植物的生产力、群落结构和生态功能^[16-18]。在藻类进行碳氮同化、色素合成及光合作用的过程中,Fe 是必不可少的元素^[19]。适宜的铁浓度对浮游植物的生长具有促进作用^[20]。当 Fe 受到限制时,浮游植物会呈现出典型的黄化现象,细胞体积变小,细胞内叶绿素数量减少,色素结合蛋白与光合作用蛋白也相应减少^[21]。研究表明,Fe 能够控制叶绿素的生物合成^[22-23]。Fe 离子在细胞呼吸链中起着重要作用,它形成的铁硫蛋白组成了呼吸链复合物 I、II 转移体、III,担任了电子的传递体及质子的移位体,促进细胞内 ADP 合成 ATP,为细胞新陈代谢提供能量。

在 Fe 含量为 0 mg/L 的情况下,威氏海链藻生长显著比添加 Fe 离子的试验组生长缓慢,细胞密度在 4 d 之后呈下降趋势,说明在消耗完常量元素 N、P 等之后,微量元素 Fe 成为

了限制藻类生长的因素。Fe 含量为 1、2 mg/L 时,藻类生长速度和细胞密度显著高于 0.5 mg/L,但是叶绿素含量在 Fe 含量为 2 mg/L 时最大,证明了 Fe 离子参与细胞的组成,并参与线粒体的氧化磷酸化,给细胞生长、繁殖提供能量。适宜 Fe 浓度对浮游植物的生长具有促进作用^[24]。Fe 离子作为藻类生长所必需的微量元素,在细胞培养中必须添加一定量的 Fe 元素。在海洋大环境中,控制含 Fe 废水的肆意排放,能够有效地预防赤潮等发生。

4 结论

培养环境中不同的 N:P 影响着威氏海链藻的生长速率,但是环境中的 N 浓度对其生长的制约作用要比 P 浓度显著,固定 P 的条件下生长趋势较固定 N 时生长曲线更为易辨。在其他条件不变的情况下,威氏海链藻 N:P 的组成都较接近于 Redfield 比值吸收外界营养盐 N:P=16:1。

不同 K:Na 的培养液条件下,威氏海链藻的各生物学指标的区别并没有其他试验组的曲线区别更具有差异性,但也可以得出在 K:Na 为 1:3 时生长最为快速及平稳,藻细胞密度、藻液的吸光度和叶绿素含量都能到达最高,K:Na=1:1 的试验组各生物学指标都是最低的,而且各曲线的波动性较大,K:Na=3:1 对威氏海链藻的生长没有抑制作用但也没有很大的促进作用。

培养液中没有相应的元素 Si 或含量过高均对威氏海链藻的增长起一定的抑制作用,所测得的藻细胞密度、吸光度和叶绿素含量都没有其含量为 0.5、1.2 mg/L 测得的指标高,可得出威氏海链藻只有在适量 Si 元素的添加的培养基中才能平稳的增长,该试验得出 Si 含量为 1.2 mg/L 时最适合该藻的生长。

Fe 是叶绿素合成的重要元素之一,在缺 Fe 即 Fe=0 mg/L 的条件下叶绿素含量很低,藻类出现了大量的死亡。在 Fe 含量最高(为 2 mg/L)时,测得威氏海链藻的叶绿素含量最高。根据其细胞密度及吸光度来看,在 Fe 含量最高时,生长状况也最好。

参考文献:

- [1]郭玉洁,钱树本. 中国海藻志[M]. 北京:科学出版社,2003:204-206.
- [2]克拉默. 欧洲硅藻鉴定系统[M]. 广州:中山大学出版,2012:199.
- [3]Losic D,Short K,Mitchell J G,et al. AFM nanoindentations of diatom biosilica surfaces[J]. Langmuir,2007,23(9):5014-5021.
- [4]de Stefano L,Rea I,Rendina I,et al. Lensless light focusing with the centric Marine diatom *Coscinodiscus walesii* [J]. Optics Express, 2007,15(26):18082-18088.
- [5]Dickerson M B,Sandhage K H,Naik R R. Protein- and peptide-directed syntheses of inorganic materials[J]. Chemical Reviews,

- 2008,108(11):4935-4978.
- [6]Hamm C E,Merkel R,Springer O,et al. Architecture and material properties of diatom shells provide effective mechanical protection [J]. Nature,2003,421(6925):841-843.
- [7]Wang Y,Zhang D,Cai J,et al. Biosilica structures obtained from *Nitzschia*, *Ditylum*, *Skeletonema*, and *Coscinodiscus* diatom by a filtration-aided acid cleaning method[J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2012,95(5):1165-1178.
- [8]佚名. 微生物学[M]. 北京:高等教育出版社,1987:258.
- [9]范代娣. 细胞培养与蛋白质工程[M]. 北京:化学工业出版社,2000:108.
- [10]陈明耀. 生物饵料培养[M]. 北京:中国农业出版社,1995:65-71.
- [11]Redfield A C. The biological control of chemical factors in the environment[J]. Science Progress,1960,11:150-170.
- [12]Rhee,Y G. Effects of N:P atomic ratios and nitrate limitation on algal growth, cell composition, and nitrate uptake [J]. Limnol. Oceanogr,1978,23:10-25.
- [13]郝建华,霍文毅,俞志明. 胶州湾养殖海域营养状况与赤潮形成的初步研究[J]. 海洋科学,2000,20(4):37-41.
- [14]Werner D. Silicate metabolism[M]. London:Black Well Scientific publications,1977:110-149.
- [15]Lippemeier S,Frampton D F,Black B I,et al. Influence of phosphorus limitation on toxicity and photosynthesis of Alexandrium (Dinophyceae) monitored by in-line detection of variable Chlorophyll fluorescence[J]. Phycol,2003,38:320-331.
- [16]Liu Z Y,Wang G C,Zhou B C. Effect of Iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris* [J]. Bioresource Technology, 2008,99(11):4717-4722.
- [17]Gledhill M,Buck K N. The organic complexation of iron in the marine environment;a review[J]. Frontiers in Microbiology,2012,3:69.
- [18]姚波,席北斗,胡春明,等. 铁限制对浮游植物生长和群落组成的影响研究综述[J]. 生态环境学报,2010,19(2):459-465.
- [19]Thakur A,Kumar H D. Nitrate and phosphate uptake by the cells of *Dunaliella salina* [J]. Bulletin of Environment Contamination and Toxicology,1999,62:70-78.
- [20]Martin J H,Gordon R M,Fitzwater S E. Iron in Antarctic water[J]. Nature,1990,345:156-158.
- [21]姚波,席北斗,胡春明,等. 铁限制对浮游植物生长和群落组成的影响研究综述[J]. 生态环境学报,2010,19(2):459-465.
- [22]苏律,宋俊霞,胡同乐,等. 铁肥不同施用方式对苹果缺铁黄化病的矫正效果[J]. 江苏农业科学,2016,44(1):188-189.
- [23]颜廷帅,姜振升,侯文通,等. 缺铁及不同铁源对水培大白菜生物量、光合参数和矿质元素含量的影响[J]. 江苏农业科学, 2016,44(6):275-278.
- [24]Martih J H,Gordon R M,Fitzwater S E. Iron in antarctic water[J]. Nature,1990,345:156-158.