

不同氮源对四尾栅藻生长的影响

李慧明¹ 朱 伟² 李建龙¹

(1. 南京大学生命科学院, 江苏 南京 210093; 2. 河海大学水文水资源与水利工程科学国家重点实验室, 江苏 南京 210098)

摘要: 为探讨四尾栅藻的生长与不同氮源的关系, 在铵态氮、硝态氮和有机氮的不同浓度下分批培养四尾栅藻, 并对每组中藻的生长曲线和最大比增长速率进行了分析和比较。结果表明, 在实验设定的浓度范围内, 四尾栅藻生长所需的最适初始氮质量浓度情况分别为: 铵态氮 10 mg/L 左右、硝态氮 40 ~ 60 mg/L、有机氮 40 mg/L 或 80 mg/L 左右。对于两种无机氮源, 四尾栅藻对铵态氮的利用效率较硝态氮的高; 对于有机氮源, 在合适的浓度范围内, 四尾栅藻可以较好地利用尿素作为氮源, 其最大生物量远远大于另外两种无机氮源, 相应的最大比增长速率亦大于两种无机氮源。

关键词: 四尾栅藻; 水体富营养化; 铵态氮; 硝态氮; 有机氮; 生长曲线; 最大比增长速率

中图分类号: X949.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-693X(2008)S1-0060-04

目前, 水体富营养化及“水华”灾害已成为国内外江河湖库水环境中的重大问题。据报道, 引起水华的藻类大多为蓝藻, 还有绿藻、裸藻和硅藻等^[1]。氮、磷是藻类生长过程中所必需的营养元素^[2], 它们在水体中的含量直接影响藻类的生长, 从而决定了水华的发生及可能形成的规模和程度, 但对于氮、磷等营养因子具体需要多少量才导致水华的发生, 目前还没有定论。同时, 在总氮浓度相近的天然水体中, 由于污染物来源、环境条件、水交换和动力条件的不同, 会导致水体中氮形态出现差异。因此, 研究不同的氮形态和浓度对浮游植物生长、繁殖的影响, 对于明确水体中浮游植物优势种和进一步探讨富营养化水体中藻类暴发的机理具有重要意义。

其中, 四尾栅藻是绿藻水华的常见种类。目前对栅藻在相关方面的研究往往只涉及它与其他藻类特别是蓝藻水华的最常见种——微囊藻的竞争机制, 并有报道指出, 在较低氮磷浓度的水体中, 微囊藻容易成为优势种, 而在较高的氮磷浓度的水体中, 四尾栅藻更容易成为优势种^[3-5]。也有实验研究和探讨不同藻类对不同氮源的吸收和利用情况^[6-8], 但目前, 单独研究探讨氮形态和浓度对四尾栅藻生长影响的报道尚少。因此, 本实验在不同的氮形态和浓度下分批培养四尾栅藻, 通过分析和比较不同氮

源对其生长过程和生长速率变化的影响, 探讨和总结四尾栅藻生长所需的最适初始氮形态和浓度的情况, 以期对富营养化水体中绿藻的生长繁殖与氮源的关系以及为绿藻水华的暴发机理提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用四尾栅藻购自中科院武汉水生生物研究所, 经室内扩大培养后用于实验。培养基采用 BG11 培养基^[9]。磷、铵态氮、硝态氮和有机氮分别由磷酸氢二钾、硫酸铵、硝酸钠和尿素代替。在配制 3 种氮源不同浓度的培养液时, 以 BG11 培养基为基础, 改变氮磷的浓度。

1.2 方法

a. 培养方法。 培养采用国际标准的“瓶法”, 即使用 250 mL 锥形瓶, 每瓶加入 100 mL 培养液, 实验所用藻液经 15 mg/L 的 NaHCO₃ 离心洗涤^[10]。起始的藻密度为 10 万个/mL 左右。在光照培养箱 (GZP-300A) 中进行分批培养, 培养温度 24 ± 1℃, 光暗比 12 h: 12 h, 光照度 2500 lx, 每隔 4 h 人工摇晃一次, 并随机更换锥形瓶的位置。每个实验设置 3 个平行样。

b. 现存量的计数。 现存量的计数是从接种的次日起, 每天或隔天相同时间在显微镜下采用

基金项目: 国家高技术(863 计划) 专题项目(2007AA10Z231)

作者简介: 李慧明(1983—), 女, 河北承德人, 硕士研究生, 研究方向为水污染控制以及污染水体水华暴发机理。E-mail: valen222@126.com

通讯作者: 李建龙, 教授, E-mail: jll2008@nju.edu.cn

0.1 mL 的生物计数框用视野法^[11]计数,并按下式计算细胞数量:

$$N = \left[\frac{A}{A_c} \times \frac{1}{V_a} \right] n \tag{1}$$

式中: N 为单位水样中的藻类数量,个/mL; A 为计数框面积,mm²; A_c 为计数面积,mm²; V_a 为计数框的体积,mL; n 为计数所得藻类的数目。

c. 比增长速率的计算。比增长速率的计算方法如下:

$$\mu = \ln \frac{X_{t_2}/X_{t_1}}{t_2 - t_1} \tag{2}$$

式中: X_{t_2} 为细胞生长对数期某一时间间隔终时的藻类现存量(数量、重量等); X_{t_1} 为细胞生长对数期某一时间开始时的藻类现存量(数量、重量等); $t_2 - t_1$ 为细胞生长对数期某一时间间隔的天数。

1.3 栅藻生长最适氮磷比的确定

一般来说,藻类健康生长及生理平衡所需的氮磷比率(原子比)为 16:1^[12],但不同藻类对各类营养物质的需求也不尽相同。对于四尾栅藻,实验固定 BG11 培养基中磷的质量浓度(TP≈5.0 mg/L),改变氮的质量浓度,设置 N/P = 2、6、15、30、45 共 5 个梯度,经培养实测栅藻生物量随初始 N/P 值的变化。通过分析比较其生长曲线和最大比增长速率来确定栅藻最适生长的 N/P。栅藻初始密度为 20 万个/mL 左右,培养条件同 1.2 a)。

不同初始 N/P 条件下,栅藻的生长曲线和最大比增长速率的变化分别见图 1、图 2。细胞生长前期,各组细胞数量无明显差别。初始 N/P = 2 组的栅藻的生长情况最差,从第 10 天开始细胞数量明显小于其他组。初始 N/P = 6 组从第 22 天以后,细胞数量开始小于 N/P = 45 组,N/P = 15、30、45 组的栅藻生长情况较为接近。N/P 从 2 增加到 45,栅藻的最大比增长速率呈先增加后减小趋势,N/P = 30 组的栅藻的最大比增长速率最大。由此得出栅藻适宜生长的氮磷比范围在 15 ~ 30 之间。这与 Bulgakov N G 等^[13]在用 4 种绿球藻目(*Chlorococcales*)种类进行的实验中得出四尾栅藻是 N/P = 20 培养中的优势种的结论相一致。

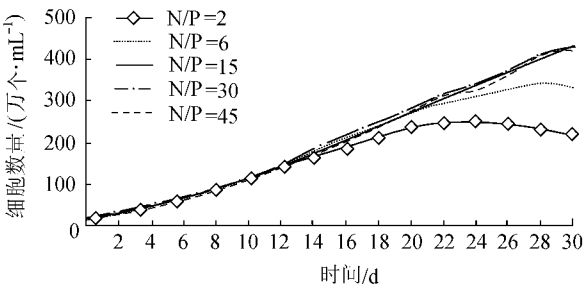


图 1 不同初始氮磷比下四尾栅藻生长曲线

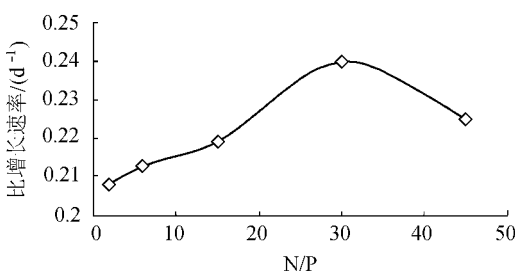


图 2 不同初始氮磷比下四尾栅藻最大比增长速率

1.4 氮形态和浓度的设定

进行不同氮源对四尾栅藻生长影响的实验时,最终固定 N/P = 20。进行铵态氮和硝态氮实验时,磷初始质量浓度设 0.5、1、2、3、4 mg/L 5 个梯度,相应的氮初始质量浓度分别为 10、20、40、60、80 mg/L;进行有机氮实验时,磷初始质量浓度设为 0.5、1、2、3、4、5 mg/L 6 个梯度,相应的氮初始质量浓度分别为 10、20、40、60、80、100 mg/L。

2 结果与分析

2.1 不同初始铵态氮质量浓度下栅藻的生长曲线和最大比增长速率

不同初始氮磷质量浓度条件下,栅藻的生长曲线见图 3,初始氮质量浓度为 10 mg/L 组的栅藻长势最好,指数生长期也较长,从第 8 天开始,细胞数量明显大于其他组。初始氮质量浓度为 20 mg/L 组的栅藻生长情况次之。初始氮浓度为 40 mg/L 组、60 mg/L 组、80 mg/L 组的栅藻生长状况较为接近。总体上可以说,在实验设定的范围内,随着铵氮质量浓度的升高,栅藻的长势反而越来越弱。不同初始氮磷质量浓度条件下,栅藻的最大比增长速率的变化见图 4,最大比增长速率变化在 0.4 d⁻¹ ~ 1.8 d⁻¹。初始氮质量浓度从 10 mg/L 增加到 60 mg/L 时,栅藻的最大比增长速率氮质量浓度在 40 mg/L 时最高。当初始氮质量浓度为 80 mg/L 时,最大比增长速率突然增大,是 40 mg/L 组的 2.2 倍,而由图 3,此时栅藻的最大生物量仍相对较小,说明植物的最大比增长速率作为接近内禀生长率的生物指标,是植物在最理想的环境条件下的增长速率^[14],而实际的增长的

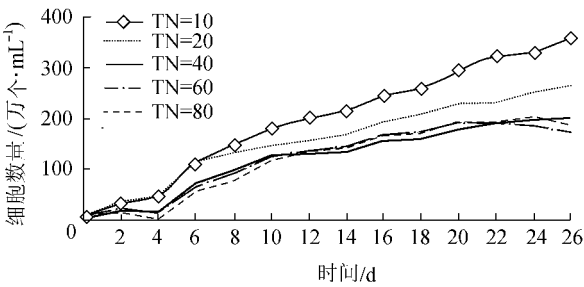


图 3 不同初始铵态氮质量浓度下栅藻生长曲线

速率和内禀增长速率是有一定偏差的。

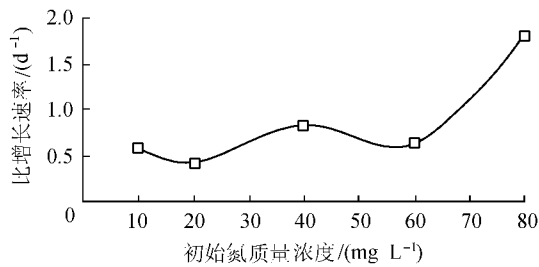


图 4 不同初始铵态氮浓度下栅藻最大比增长速率

有文献报道,由于藻类在利用氮源合成氨基酸时硝酸盐必须先转换成氨,所以一般认为藻类倾向于优先利用铵态氮,它是藻类吸收的直接形式^[1]。如 陈贞奋^[15]报道,牟氏角毛藻在铵盐中培养比在硝酸盐中培养繁殖得快,吴长斌等^[16]报道铵氮对雨生红球藻的增殖效应显著高于 NaNO_3 ($P < 0.01$)。而也有报道认为藻类对不同的铵盐中铵态氮的利用效果也不相同,如叶林超等^[7]研究不同氮源对小球藻生长的影响时,认为硫酸铵对小球藻的生长效果好于氯化铵和磷酸二氢铵。本实验中,四尾栅藻生长所需的最适铵态氮质量浓度较低,但较高浓度的铵态氮对其生长有较明显的抑制作用,这可能是因为随着铵态氮的消耗,培养基的 pH 值逐渐下降,抑制了藻的生长。

2.2 不同初始硝态氮质量浓度下栅藻的生长曲线和最大比增长速率

不同初始氮磷质量浓度条件下,栅藻的生长曲线见图 5,初始氮质量浓度为 10 mg/L 组栅藻的生长情况明显劣于其他组,同时期生物量最小。初始氮质量浓度从 10 mg/L 增加到 20 mg/L 时,栅藻的生物量开始明显增大,氮质量浓度继续增加时,栅藻的生物量变化不大。初始氮质量浓度为 10 mg/L 组的栅藻在第 16 天时达到最大生物量,初始氮质量浓度大于 10 mg/L 的组栅藻基本均在第 22 天时达到最大生物量。从第 10 天开始,初始氮质量浓度为 40 mg/L 组的栅藻的生物量开始大于其他组,一直持续到实验结束。不同初始氮磷质量浓度条件下,栅藻最大比增长速率的变化见图 6,最大比增长速率的变化

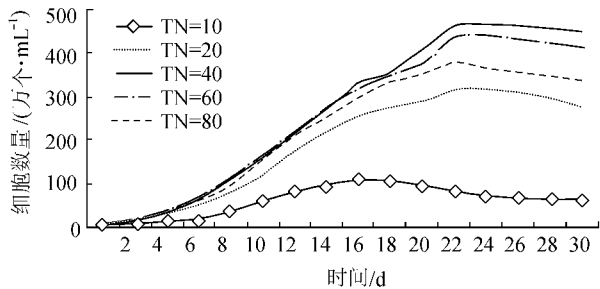


图 5 不同初始硝态氮质量浓度下栅藻生长曲线

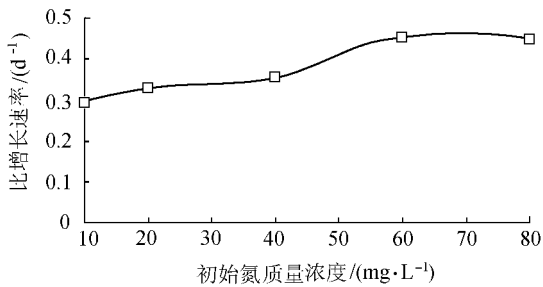


图 6 不同初始硝态氮浓度下栅藻比增长速率

在 $0.29 \text{ d}^{-1} \sim 0.46 \text{ d}^{-1}$ 之间。随氮磷质量浓度的升高,栅藻的最大比增长速率呈缓慢增加后下降的趋势,初始氮质量浓度为 80 mg/L 组略小于 60 mg/L 组。

钟远等(2004 年中国水环境污染控制与生态修复技术高级研讨会)在太湖围隔试验的研究中发现,随着时间的推移,微囊藻生物量上升,围隔中铵态氮含量前后波动较大,后期上升,而硝态氮则表现出不断下降的趋势,由此认为藻类主要利用硝态氮^[2]。那么,藻类在铵盐和硝酸盐的吸收利用上也可能与氮质量浓度的高低有关。实际上,每种能引起水华的藻类都有其特定的合适营养盐浓度范围^[17],如微囊藻水华的出现常伴有营养物的充盈,但其绝对需要量并不比其他藻类高,有时它经常是氮和磷质量浓度处在低谷时的优势种^[18]。同时,也不能简单地判定哪种形态好或是不好,因为营养元素的利用情况还与许多因素有关。

2.3 不同初始有机氮质量浓度下栅藻的生长曲线和最大比增长速率

不同初始氮磷质量浓度条件下,栅藻的生长曲线见图 7,初始氮质量浓度为 80 mg/L 组的栅藻的生长情况最好,在实验末期生物量高于其他组,且指数生长期最长。初始氮质量浓度为 40 mg/L 组的长势稍次之。初始氮质量浓度为 10 mg/L 组的生长情况最差,栅藻的生物量从第 20 天开始明显小于其他组。另外 20 mg/L 组、60 mg/L 组、100 mg/L 组 3 组的生长情况比较接近。不同初始氮磷质量浓度条件下,栅藻的最大比增长速率的变化见图 8,最大比增长速率变化在 $0.51 \text{ d}^{-1} \sim 0.95 \text{ d}^{-1}$ 之间。初始氮质量浓度为 80 mg/L 时,栅藻的最大比增长速率最大,是 10 mg/L 组的 1.4 倍。

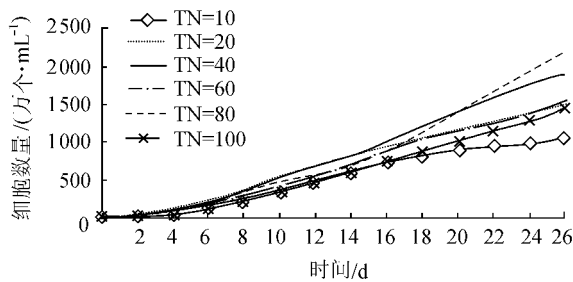


图 7 不同初始有机氮质量浓度下栅藻生长曲线

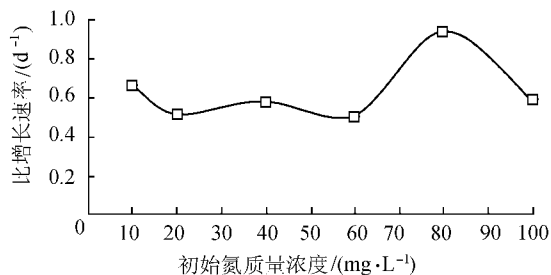


图8 不同初始有机氮浓度下栅藻比增长速率

以尿素为氮源时,四尾栅藻生长所需的最适质量浓度有2个,较低的在40 mg/L左右,较高的在80 mg/L左右,而在这两个浓度的中间浓度60 mg/L时藻的长势却相对较差,这正如许多研究所表明的,有机污染物对藻类生长的作用表现为:较低浓度的有机污染物对藻类的生长有刺激和促进作用;而较高的浓度对藻类一般都有毒害作用,但也有随着时间延长,毒性降低,甚至对藻类有刺激作用^[19]。另外,由图3、5、7,以有机氮为氮源时四尾栅藻的最大生物量远远大于其他两种无机氮源,在最适氮质量浓度下相应的最大比增长速率亦大于其他两种氮源,这可能与植物对无机氮和有机氮不同的摄取方式和同化作用有关,如有些有机物能增加藻体内某些酶的活性,从而能更好地促进藻类的生长^[19]。

马志珍^[20]曾报道,三角褐指藻的氮源以尿素最好,其次为硝酸铵和氯化铵,而硝酸钠较差。张青田等^[21]研究了无机氮和有机氮对不同微藻增殖的影响情况,实验结果表明在相应的浓度水平下,3种海洋微藻在氯化铵环境中的增殖速率高于在尿素中的,而隐藻利用尿素比利用氯化铵作为氮源更有利于其增殖,尿素对不同微藻生长影响的情况较无机氮的复杂。不同氮形态和浓度的藻类生长繁殖的影响还和藻的种类有关,目前,关于这个方面的研究还需要进一步探讨。

2.4 三种不同氮形态和浓度对四尾栅藻生长影响的比较

三种不同氮形态下四尾栅藻生长所需的两种最适浓度以及相应最大比增长速率的比较见图9和图10。对于两种无机氮源,四尾栅藻生长所需的最适铵态氮质量浓度在10 mg/L左右,最适硝态氮质量浓度为40~60 mg/L,即其生长所需的最适铵态氮质量浓度相对较低。在最适铵态氮质量浓度下藻的最大比增长速率相应地又大于硝态氮,由此可以推测,四尾栅藻对于铵态氮的利用效率较硝态氮的稍高。四尾栅藻生长所需的最适有机氮质量浓度有较低和较高两个范围,较低的在40 mg/L左右,较高的在80 mg/L左右,在适合其生长的浓度范围内,四尾栅藻可以较好地利用尿素作为有机氮源,其最大生物量

远远大于另外两种无机氮源,在最适氮质量浓度下相应的最大比增长速率亦大于另外两种氮源。四尾栅藻能够较好地利用尿素作为有机氮源,可以推测在其藻细胞中可能存在尿素酶,因为尿素是有机物,不能被藻类直接利用,需在尿素酶的作用下被分解为 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的形式才可被吸收。

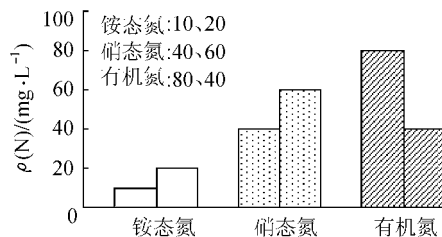


图9 三种氮形态下栅藻生长所需的最适质量浓度

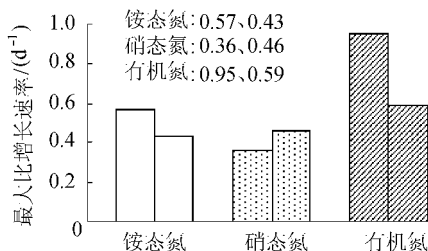


图10 最适氮质量浓度下栅藻的最大比增长速率

3 结 论

a. 四尾栅藻生长所需最适初始铵态氮质量浓度在10 mg/L左右,高于这个浓度,其长势越来越差,但其最大比增长速率在初始铵态氮质量浓度为80 mg/L时达到最大;初始硝态氮质量浓度为40~60 mg/L时,栅藻的生长状况较好,在硝态氮质量浓度为40 mg/L时达到最大生物量,60 mg/L时最大比增长速率最大;初始有机氮质量浓度为40~80 mg/L时,栅藻的生长状况较好,有机氮质量浓度为80 mg/L时,最大现存量和最大比增长速率都最大。

b. 对于这三种氮源,栅藻生长所需的最适浓度大小为:有机氮>硝态氮>铵态氮,最大比增长速率的情况有:有机氮>铵态氮>硝态氮。

c. 对于两种无机氮源,四尾栅藻对铵态氮的利用效率较硝态氮的高;对于有机氮源,在合适的浓度范围内,四尾栅藻可以较好地利用尿素作为氮源,其最大生物量远远大于另外两种无机氮源,相应的最大比增长速率亦大于两种无机氮源。

参考文献:

- [1] 陈琼. 氮、磷对水华发生的影响[J]. 生物学通报, 2006, 41(5): 12-14.
- [2] 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]. 环境科学报, 2001, 21(4): 400-404.

(下转第67页)

境容量计算,计算的结果再返回地图上可视化表达。

5 结 语

基于 MapObjects GIS 组件的广西水环境管理信息系统的开发和按传统 GIS 二次开发方法开发的 GIS 应用系统相比,系统功能得到了较大的丰富和增强。使用 MapObjects 开发地理信息系统不仅具有灵活、快捷、高效、方便,大大减少了开发时间和开发难度的诸多优点,而且系统可维护性和可重用性上升,从而增强了系统的开放性、集成性和效率。MapObjects GIS 组件的使用充分发挥了地理信息系统强大的图形编辑、空间数据的处理功能,为环境管理建立一个综合的查询平台,为环境决策和管理提供一个模拟现实的空间环境。广西水环境管理信息系统采用专业的数据库软件 SQL Server 2000 管理庞大的水环境属性数据,提供分布式查询功能,克服了

MapObjects GIS 组件无法管理格式繁多的属性数据的缺点。系统利用 MapObjects 记录集的储存格式的特点为地图上的每一个地物编上唯一性编号,并与 SQL Server 2000 中的属性数据一一对应,通过 ADO 数据访问控件实现了 MapObjects GIS 组件与 SQL Server 2000 数据信息的无缝联接。这种既具有 GIS 功能又具有专业数据库功能的计算机建设模式具有较高推广价值。

参考文献：

[1] 薛伟. MapObjects-地理信息系统程序设计[M]. 北京 :国防工业出版社, 2004.
[2] 黄瑞, 徐学军. 基于 MapObjects 的流域 GIS 系统开发及应用[J]. 计算机工程, 2003, 29(13) : 5.
[3] 张宏林, 孔艳, 王哲. Visual Basic 6.0 开发数据库[M]. 北京 : 人民邮电出版社, 2001.

(收稿日期: 2008-05-16 编辑: 高渭文)

.....

(上接第 63 页)

[3] 万蕾, 朱伟, 赵联芳. 氮磷对微囊藻和栅藻生长及竞争的影响[J]. 环境科学, 2007, 28(6) : 1230-1235.
[4] 杨威, 孙凌, 袁有才, 等. 碱度水平对铜绿微囊藻和四尾栅藻生长和竞争的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(4) : 1264-1268.
[5] HYENSTRAND P, BURKERT U, PETTERSSON A, et al. Competition between the green alga Scenedesmus and the cyanobacterium Synechococcus under different modes of inorganic nitrogen supply[J]. Hydrobiologia, 2000, 435(9) : 91-98.
[6] 蔡卓平, 段舜山. 不同氮质量浓度下三角褐指藻生长特性和化学组成[J]. 生态环境, 2007, 16(6) : 1633-1636.
[7] 叶林超, 叶均安, 徐国忠, 等. 碳酸氢铵等不同氮源对小球藻生长的影响[J]. 水产科学, 2007, 26(6) : 319-322.
[8] 吕颂辉, 黄凯旋. 米氏凯伦藻在三种无机氮源的生长情况[J]. 生态环境, 2007, 16(5) : 1337-1341.
[9] 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(5) : 55-57.
[10] 金相灿, 屠清瑛. 湖泊富营养化调查规范[M]. 北京 : 中国环境科学出版社, 1990 : 239-285.
[11] 章宗涉, 黄祥飞. 淡水浮游生物研究方法[M]. 北京 : 科

学出版社, 1991 : 333-357.
[12] 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.
[13] BULGAKOV N G, LEVICH A P. The nitrogen/phosphorus ratio as a factor regulating phytoplankton community structure [J]. Archiv Fur Hydrobiologie, 1999, 146 : 3-22.
[14] 李博. 生态学[M]. 北京 : 高等教育出版社, 2000 : 49-50.
[15] 陈贞奋. 牟氏角毛藻培养研究 III [J]. 海洋学报, 1984, 6(2) : 253-259.
[16] 吴长斌, 张佳峰, 翟兴文. 氮源对雨生红球藻和扁藻生长的影响[J]. 河北渔业, 2003(2) : 24-27.
[17] STEINBERG C W, HARTMANN H. Planktonic bloom-forming Cyanobacteria and the eutrophication of lakes and rivers [J]. Freshwater Biology, 1988, 20 : 279-287.
[18] REYNOLDS C, WALSBY S. Water-blooms [J]. Boil Rev, 1975, 50 : 437-481.
[19] 沈宏, 周培疆. 环境有机污染物对藻类生长作用的研究进展[J]. 水生生物学报, 2002, 26(5) : 529-535.
[20] 马志珍. 氮源及其浓度对三角褐指藻生长的影响[J]. 海洋湖沼通报, 1983(2) : 45-50.
[21] 张青田, 董双林, 胡桂坤, 等. 不同氮源对微藻增殖的影响[J]. 海洋科学, 2005, 29(2) : 8-11.

(收稿日期: 2008-07-02 编辑: 徐娟)