

文章编号:1005-8737(2001)01-0037-04

NaHCO₃ 浓度对等鞭藻 3011、 等鞭藻塔溪堤品系和绿色巴夫藻生长的影响

梁英, 麦康森, 孙世春, 梁广尧

(教育部水产养殖重点实验室 青岛海洋大学, 山东 青岛 266003)

摘要:对等鞭藻 3011 (*Isochrysis galbana* 3011)、等鞭藻塔溪堤品系 (*Tahitian Isochrysis galbana*) 和绿色巴夫藻 (*Pavlova viridis*) 3 株微藻种进行培养。NaHCO₃ 的质量浓度分别为 0, 200, 400, 800, 1 200 和 1 600 mg/L, 培养温度 (22±1)℃, 盐度 28, 光照强度 5 000 lx。结果表明, NaHCO₃ 的浓度对 3 株微藻生长的影响差异显著, 经过 6 d 的培养, 培养液中不加 NaHCO₃, 但连续充气组中 3 株微藻的细胞浓度都达到最大值; 除充气不加 NaHCO₃ 组外, 3 株微藻的细胞浓度都在 NaHCO₃ 1 600 mg/L 组中达到最大值。

关键词:等鞭藻 3011; 等鞭藻塔溪堤品系; 绿色巴夫藻; 微藻培养; 生长; NaHCO₃

中图分类号:Q949.2

文献标识码:A

微藻是贝类、鱼虾类人工育苗的饵料基础, 微藻培养的好坏直接关系到育苗的成败^[1], 为加速藻种生产, 有些生产单位采取充气培养法, 往往引起藻种污染。在藻种培养液中加入适量的 NaHCO₃, 为微藻提供光合作用所需要的碳源, 同样可加速藻种生长。NaHCO₃ 对海洋微藻生长的影响, 国内研究得较少, 目前仅见戴玉蓉^[2]研究 1 种浓度的 NaHCO₃ 对 5 种海洋微藻生长影响的报道。本文用不同浓度的 NaHCO₃ 对 3 株海洋微藻进行培养研究, 以确定 NaHCO₃ 的最佳促生长浓度。

1 材料与方法

1.1 材料

微藻藻种均取自青岛海洋大学微藻种质库。即等鞭藻 3011 (*Isochrysis galbana* 3011), 等鞭藻塔溪堤品系 (*Tahitian Isochrysis galbana*, 下称塔溪堤), 绿色巴夫藻 (*Pavlova viridis*)。

收稿日期:2000-07-17

基金项目:国家八六三高新技术研究计划项目(863-819-02-01)

作者简介:梁英(1967-), 女, 青岛海洋大学讲师, 从事生物饵料研究。

1.2 微藻的培养

NaHCO₃ 设 7 个水平, 编号 A0~A6, 质量浓度分别为 0, 100, 200, 400, 800, 1 200 和 1 600 mg/L, 每个水平设 2 个平行组。另外设 2 个充气组 A0' (不加 NaHCO₃ 但连续充气)。实验在 3 L 的细口瓶中进行, 每个瓶中培养液 2 000 ml, 藻种 50 ml。均采用 F/2 培养基^[1]。连续光照(日光灯强度为 5 000 lx), 温度 (22±1)℃, 盐度 28。非充气组瓶子每天定时摇动 3 次, 并随机调换瓶子位置 1 次。

1.3 微藻生长情况的测量

每日取样计数, 用 721 型分光光度计, 在 630 nm 处, 用 1 cm 比色皿以蒸馏水为参比测量吸光值, 每个样品测 4 次。

1.4 数据处理

平均值与标准差由 Excel 软件求得。

方差分析由 STATISTIC 软件求得。

2 结果

2.1 生长情况

不同 NaHCO₃ 质量浓度下 3 株微藻的生长情况见表 1 和图 1~3。表 1 为第 6 天的生长结果。

从表 1 可以看出,在第 6 天,等鞭藻 3011、塔溪堤和绿色巴夫藻都在 A0' 组生长最好,细胞浓度分别比对照组(A0)增加了 316.67%、340.42% 和 98.48%。除此之外,3 株微藻的细胞浓度都随着 NaH-

CO₃ 浓度的增加而增加,在 1 600 mg/L 时达到最大值,分别比对照组增加了 127.08%、179.79% 和 67.17%。

表 1 3 株海洋微藻第 6 天生长结果

Table 1 Growth results of the 3 marine microalgal strains on the 6th day of test

NaHCO ₃ /(mg·L ⁻¹) Concentration	等鞭藻 3011 <i>I. galbana</i> 3011		塔溪堤 Tahitian <i>I. galbana</i>		绿色巴夫藻 <i>P. viridis</i>	
	光密度值 Optical density	增长率/% Increasing rate	光密度值 Optical density	增长率/% Increasing rate	光密度值 Optical density	增长率/% Increasing rate
A0(0)	0.096±0.003	—	0.094±0.001	—	0.198±0.012	—
A1(100)	0.105±0.001	9.38	0.098±0.017	4.26	0.231±0.001	16.67
A2(200)	0.125±0.004	30.21	0.102±0.002	8.25	0.235±0.001	18.69
A3(400)	0.179±0.002	89.46	0.155±0.018	64.89	0.246±0.004	24.24
A4(800)	0.201±0.022	109.38	0.222±0.011	136.17	0.285±0.016	43.94
A5(1200)	0.196±0.007	104.17	0.243±0.003	158.51	0.306±0.021	54.55
A6(1600)	0.218±0.002	127.08	0.263±0.002	179.79	0.331±0.001	67.17
A0'(0)	0.400±0.025	316.67	0.414±0.025	340.42	0.393±0.011	98.48

注:增长率=[实验组光密度值-对照组(A0)光密度值]/对照组光密度值×100%。Increasing rate=(the optical density of experimental group-the optical density of control group)/the optical density of control×100%。

由图 1 可见,从第 3 天开始直到实验结束,A0' 组的细胞浓度极显著地高于其它各组($P<0.01$)。从第 3 天到第 5 天,A4 组的细胞浓度显著地高于除 A0' 以外的其它各组($P<0.05$)。从第 6 天到实验结束,A6 组的细胞浓度显著地高于除 A0' 以外的其它各组($P<0.05$)。

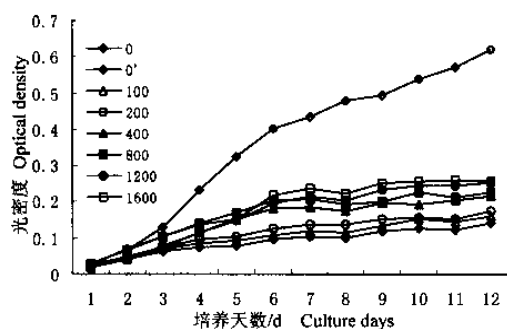


图 1 碳酸氢钠的不同浓度对等鞭藻 3011 生长的影响

Fig.1 Effect of NaHCO₃ concentration on growth of *I. galbana* 3011

由图 2 可见,从第 3 天开始一直到实验结束,A0' 组的细胞浓度极显著地高于其它各组($P<0.01$)。从第 3 天到第 10 天,A6 组的细胞浓度显著地高于除 A0' 以外的其它各组($P<0.05$)。

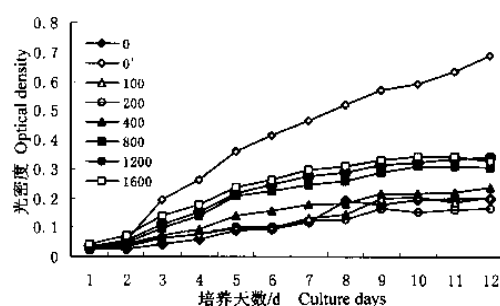


图 2 碳酸氢钠的不同浓度对塔溪堤生长的影响

Fig.2 Effect of NaHCO₃ concentration on growth of Tahitian *I. galbana*

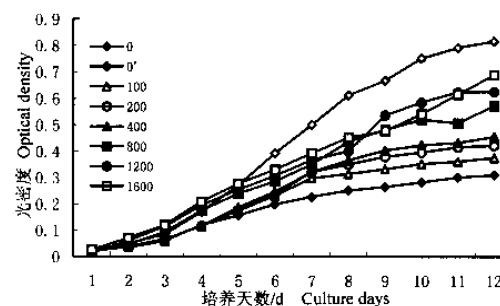


图 3 碳酸氢钠的不同浓度对绿色巴夫藻生长的影响

Fig.3 Effect of NaHCO₃ concentration on growth of *P. viridis*

由图 3 可见,从第 6 天开始一直到实验结束,A0'组的细胞浓度极显著地高于其它各组($P < 0.01$)。第 3 天到第 8 天,A6 组的细胞浓度显著地高于除 A0'以外的其它各组($P < 0.05$)。第 9 天到第 10 天,A5 组的细胞浓度显著地高于除 A0'以外的其它各组($P < 0.05$)。

2.2 方差分析与多重比较

根据 4 个平行组数据,对 3 株海洋微藻第 6 天生长结果进行方差分析和多重比较。方差分析结果表明,等鞭藻 3011、塔溪堤和绿色巴夫藻的 P 值分别为 3.44×10^{-22} 、 4.68×10^{-22} 和 1.47×10^{-17} ,均小于 0.01,表明 NaHCO₃ 浓度对 3 株海洋微藻第 6

天生长结果的影响均差异极显著($P < 0.01$)。本文采用 LSD 法进行多重比较,表 2 列出 3 株海洋微藻第 6 天生长结果的 LSD 值,表 3 列出 NaHCO₃ 浓度对 3 株海洋微藻第 6 天生长效果多重比较(LSD 检验)。

表 2 3 株海洋微藻的 LSD 值

Table 2 LSD values of the 3 marine microalgal strains

藻种名称 Microalgal strains	LSD _{0.05}	LSD _{0.01}
等鞭藻 3011 <i>I. galbana</i> 3011	0.016 2	0.022 0
塔溪堤 Tahitian <i>I. galbana</i>	0.018 1	0.024 5
绿色巴夫藻 <i>P. viridis</i>	0.016 2	0.022 0

表 3 NaHCO₃ 对 3 株海洋微藻第 6 天生长效果多重比较(LSD 检验)

Table 3 Multivariate analysis of growth results of the 3 marine microalgal strains on the 6th day (LSD test)

藻种名称 Microalgal strains	NaHCO ₃ /(mg·L ⁻¹)	平均数 Mean	差数阵 Margin arrange						
等鞭藻 3011 <i>I. galbana</i> 3011	A0'(0)	0.400	0.304**	0.295**	0.275**	0.221**	0.204**	0.199**	0.182**
	A6(1 600)	0.218	0.122**	0.113**	0.093**	0.039**	0.022*	0.017*	
	A4(400)	0.201	0.105**	0.096**	0.076**	0.022*	0.005		
	A5(1 200)	0.196	0.100**	0.091**	0.071**	0.017*			
	A3(400)	0.179	0.083**	0.074**	0.054**				
	A2(200)	0.125	0.029**	0.020*					
	A1(100)	0.105	0.009						
	A0(0)	0.096							
塔溪堤 Tahitian <i>I. galbana</i>	A0'(0)	0.414	0.320**	0.316**	0.312**	0.259**	0.192**	0.171**	0.151**
	A6(1 600)	0.263	0.169**	0.165**	0.161**	0.108**	0.041**	0.020*	
	A5(1 200)	0.243	0.149**	0.145**	0.141**	0.088**	0.021*		
	A4(400)	0.222	0.128**	0.124**	0.120**	0.067**			
	A3(400)	0.155	0.061**	0.057**	0.053*				
	A2(200)	0.102	0.008	0.004					
	A1(100)	0.098	0.004						
	A0(0)	0.094							
绿色巴夫藻 <i>P. viridis</i>	A0'(0)	0.393	0.195**	0.162**	0.158**	0.147**	0.108**	0.087**	0.062**
	A6(1 600)	0.331	0.133**	0.100**	0.096**	0.085**	0.046**	0.025**	
	A5(1 200)	0.306	0.108**	0.075**	0.071**	0.060**	0.021*		
	A4(400)	0.285	0.087**	0.054**	0.050**	0.039**			
	A3(400)	0.246	0.048**	0.015	0.011				
	A2(200)	0.235	0.037**	0.004					
	A1(100)	0.231	0.033**						
	A0(0)	0.198							

注: * 表示差异显著($P < 0.05$) Significant difference; ** 表示差异极显著($P < 0.01$) Extremely significant difference.

由表 3 可以看出,除了 A4 和 A5、A1 和 A0 之间对等鞭藻 3011 的生长效果差异不显著外,其余各浓度之间均差异显著或极显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。对塔溪堤的多重比较结果表明,除了 A2 和 A0、A1 和 A0、A1 和 A2 之间对塔溪堤的生长效果

差异不显著外,其余各浓度之间均差异显著或极显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。对绿色巴夫藻而言,除了 A1 和 A3、A2 和 A3、A1 和 A2 之间对其生长效果差异不显著外,其余各浓度之间均差异显著或极显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3 讨论

(1)本实验中,充气组的生长效果极显著地高于其它各组,说明充气对补充微藻培养过程中二氧化碳的不足是很重要的。此外充气还具有防止培养液表面产生菌膜、使藻类细胞均匀受光照以及使藻类细胞均匀分布等作用。但我国目前充气都是空气而非纯二氧化碳,尚无有效的过滤空气方法,因此在藻种培养阶段充气容易引起藻种污染。但在生产性大池培养中,为加速微藻的生长,可采用充气的方法。

(2)除充气组外,3株海洋微藻都能吸收利用 NaHCO_3 作为光合作用的碳源。但培养效果因种而异。在培养液中添加不同浓度的 NaHCO_3 对等鞭藻3011和塔溪堤生长影响明显,对绿色巴夫藻的影响程度明显小于其它两种金藻。3株海洋微藻的细胞浓度在 NaHCO_3 浓度最大时(1 600 mg/L)达最大值,但通过显微镜观察可看出,随着培养天数的增加,A5和A6组细胞游动较慢,活力不如 NaHCO_3 浓度较低的各组。说明较大浓度的 NaHCO_3 可能会对细胞产生一定的毒害作用。虽然A6组生长最快,但综合考虑生长速度和细胞活力,生长速度较快、细胞活力较好的是A4组。

(3)戴玉蓉等^[2]的研究结果表明,在5种微藻的培养液中添加1 000 mg/L的 NaHCO_3 ,经6 d培养后,加 NaHCO_3 的实验组细胞浓度比不加 NaHCO_3

的对照组细胞浓度平均提高1.95倍(1.66~2.29)。梁英等¹⁾研究 NaHCO_3 对塔胞藻(*Pyramimonas* sp.)、小球藻(*Chlorella* spp.)和新月菱形藻(*Nitzschia closterium*)生长的影响表明,塔胞藻和小球藻的细胞浓度都在 NaHCO_3 质量浓度为1 200 mg/L时达到最大值;新月菱形藻的细胞浓度在 NaHCO_3 质量浓度为400 mg/L时达到最大值。说明不同藻种对 NaHCO_3 的需求不同。

(4)在微藻培养液中加入 NaHCO_3 补充了其溶解 CO_2 的不足,促进了微藻的生长繁殖。这一方法的优点是避免了因充气补充 CO_2 可能产生的污染,且操作简便、经济实用。但应注意的是,随着藻类的生长, NaHCO_3 在 CO_2 不断被吸收的同时,游离的 CO_3^{2-} 就会和海水大量存在的 Ca^{2+} 结合,形成 CaCO_3 沉淀,并沉附在藻液内和瓶壁四周,影响光照和藻类繁殖。因此,必须及时扩种,以免藻种老化。

关于在微藻培养液中添加 NaHCO_3 的效果,不同藻种对 NaHCO_3 的需求不同,且不同培养条件和生长阶段所需量也不相同,因此,尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] 陈明耀. 生物饵料培养[M]. 北京: 农业出版社, 1995.
- [2] 戴玉蓉, 卢敬让. NaHCO_3 在单胞藻种培养中的作用[J]. 齐鲁渔业, 1997, 14(5): 20-21.

Effect of NaHCO_3 concentration on growth of *Isochrysis galbana* 3011 strain, Tahitian *I. galbana* strain and *Pavlova viridis*

LIANG Ying, MAI Kang-sen, SUN Shi-chun, LIANG Guang-yao

(Aquaculture Research Laboratory, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China)

Abstract: NaHCO_3 concentrations were designed at 100, 200, 400, 800, 1 200 and 1 600 mg/L. Three marine microalgal strains (*Isochrysis galbana* 3011, Tahitian *Isochrysis galbana* and *Pavlova viridis*) were cultured at water temperature (22 ± 1) $^{\circ}\text{C}$; the salinity was adjusted to 28 by using distilled water, and the light intensity was 5 000 lx. The results showed that NaHCO_3 had significant influence on the growth of the 3 marine microalgal strains. After 6 days culture, the 3 marine microalgal strains all grew the best when NaHCO_3 concentration was 0 mg/L with continuously air-bubbling (aerating groups). Except that, the optimum NaHCO_3 concentration for the highest cell density of *I. galbana* 3011, Tahitian *I. galbana* and *P. viridis* were all at 1 600 mg/L.

Key words: *Isochrysis galbana* 3011; Tahitian *Isochrysis galbana*; *Pavlova viridis*; microalgal culture; growth; NaHCO_3

1) 梁英, 麦康森, 孙世春, 等. NaHCO_3 对塔胞藻、小球藻和新月菱形藻生长的影响. 黄渤海海洋(待刊).