

光、氮和半连续培养更新率对微绿球藻生长与采收量的影响

朱艺峰, 林霞, 徐同成, 虞小花, 高成勉, 张仕坚

(宁波大学 生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211)

摘要:对水产养殖中的主要饵料微绿球藻(*Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd)进行了 $5 \times 3 \times 2$ 析因试验,培养液 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平分别设置为0.3、6、12、24 mg/L,光照强度分别为 $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、 $43.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、 $80.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,更新率分别为10%和25%,研究了光、氮和半连续培养更新率对微绿球藻生长、采收量的影响。协方差分析结果显示, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平、光照强度、更新率及其交互作用对细胞密度、生长率和采收量的影响均存在显著差异($P < 0.001$),以更新率影响最大,其次是光照强度,影响最弱为 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平。更新率25%时,平均细胞密度($753.2 \times 10^4/\text{mL}$)显著低于10%更新率下的细胞密度($1\,737.5 \times 10^4/\text{mL}$),但平均生长率和采收量都显著高于更新率10%时的生长率和采收量,分别为 $0.349/\text{d}$ 和 $4.69 \times 10^8/\text{d}$ 。在光照强度 $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下,细胞密度、生长率和采收量都显著低于其他组,其最大值均在 $80.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光照强度组,该组细胞密度、生长率和采收量分别为 $1\,721.1 \times 10^4/\text{mL}$ 、 $0.283/\text{d}$ 和 $6.51 \times 10^8/\text{d}$ 。在不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平处理下,不添加 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 时的细胞密度、生长率和采收量都最低,3 mg/L时次之,6 mg/L以上组(包括6 mg/L组)最高。研究结果还表明,更新率增加时,不仅光衰减变小,生长率随之变大,而且培养液中 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度也随之增加,从而促进了光、氮间的平衡利用,使采收量相应增加;但更新率增加细胞密度下降。显然,更新率是影响采收量的最主要因素,且存在一个最适更新率使采收量最大,这些结果对微藻半连续培养的合理更新与科学施肥有一定的应用价值。

关键词:微绿球藻;半连续培养;更新率;光照强度;氮;生长;采收量

中图分类号:Q949.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2004)02-0159-07

微绿球藻(*Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd)富含EPA,是贝类育苗中主要饵料之一,也是鱼类开口饵料——轮虫的优良营养强化饵料^[1]。由于该藻生长速度较快,在实际生产中经常采用半连续培养的方式,但目前生产中,无论每日更新率为多少、光照强度高低为何,大多数生产者仍采用与f/2培养基相似的营养盐浓度进行培养。由于大水泥池培养时的生长率比三角烧瓶或光生物反应器中培养时的生长率要低得多^[2],同时培养时间也相对较短,因此,仍采用相应f/2培养基的N浓度会导致大量N不能被藻类及时利用,从而增加了N开支,同时也把大量的N通过换水排到临近的海区,对海洋造成污染。本研究从水产养殖的应用角度着手,探讨了光、氮和半连续培养更新率对微绿球藻生长、采收量的影响,旨在藻类的动态施肥和生态施肥提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

微绿球藻由全国科技兴海技术转移宁波中心提供(编号QW)。实验海水经脱脂棉过滤,煮沸消毒。盐度21.3, pH 7.8, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 0.55 mg/L, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 0.01 mg/L, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 0.04 mg/L。

1.2 方法

1.2.1 实验设计 对 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平(N)、光照强度(L)、更新率(R)3个因素采用 $5 \times 3 \times 2$ 析因试验^[3]。 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平(称量换算值)分别设置为0、3、6、12、24 mg/L,表面光照强度分别为 $(22.9 \pm 2) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、 $(43.2 \pm 2) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、 $(80.4 \pm 2) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,更新率分别为10%和25%^[4-5]。

1.2.2 更新培养液配制 按实验处理分别配制不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度的更新营养盐。培养液中其他成

收稿日期:2003-10-23; 修订日期:2003-12-11。

基金项目:宁波市科技局资助项目(01N40100-58);浙江省教育厅资助项目(20010233)。

作者简介:朱艺峰(1964-),男,副教授,研究方向为营养与生态学。E-mail: yfzhu@163.com

份按 1/2 培养基 (不加生物素和硅酸钠), 含量相同^[8]。更新营养盐每天配制 1 次, 每次称量 (天平感量 0.1 mg) 所引起 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度误差 $< 0.05 \text{ mg/L}$ 。

1.2.3 接种培养 微绿球藻经预培养 (宁波大学 MAV 3⁺, 原子比 $\text{N}:\text{P} = 13.9:2.3$) 至指数生长期后, 离心、过滤, 再稳定培养 2 d, 取上层藻液做更新实验。用 300 mL 三角烧瓶 (培养体积 $V = 250 \text{ mL}$) 为培养容器, 加入相应的培养液和藻液 (稀释法), 以达到不同处理要求, 每处理设 3 个重复。水温 (25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 日光灯光源, 光暗周期 12 h:12 h, 启动更新时各处理组的平均细胞密度为 $(1\ 082.4 \pm 20.6) \times 10^4/\text{mL}$ 。

1.2.4 细胞密度测定 每日定时更新并从更新液中取样, 用 721 型分光光度计, 以消毒海水为参比液, 测定波长 706 nm, 测定更新前藻吸光度值 (光程 1 cm), 每瓶测定 1 次, 3 个重复取平均。更新后藻细胞密度按更新前藻细胞密度 (B) 及更新率折算。藻细胞密度 (C) 与吸光度值 (A) 转换公式经实测细胞密度并拟合获得 ($C = 12\ 349.8A^{0.976}$, $n = 29$, $R^2 = 0.997$, $P < 0.001$)。日采收量 (Y) 按 $Y = V \cdot R \cdot B$ 计算。生长率^[7] $K = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t \ln 2}$, 式中: N_t 为最终细胞密度, N_0 为初始细胞密度, t 为培养时间 (本研

究计算时 $t = 1 \text{ d}$)。记实验开始日为第 1 天, 共进行 25 d。

1.2.5 统计分析 统计分析在 SAS 软件包 (Ver. 6.12) 下进行^[8]。由于不同处理组稀释法所得的初始接种细胞密度间存在显著差异 (Kruskal-Wallis 检验 $\chi^2 = 74.121$, $df = 29$, $P < 0.001$), 故采用 $5 \times 3 \times 2$ 协方差分析以校正结果均值 (PROC GLM), 各均值比较经最小误差平方方法测试 (LSMEANS), 显著性水平 $\alpha = 0.05$ 。采收量回归方程采用趋势面分析 (PROC GLM), 再按回归系数显著性反复筛选回归变量 (筛选变量概率阈值 $P = 0.15$); 回归方程非线性规划寻优计算采用 SAS/OR 模块 (PROC NLP, NRR 牛顿法)^[9]。结果数值为平均值 $\pm$ 标准误差。

2 结果与分析

2.1 不同处理下的细胞密度变化

经 25 d 更新, 微绿球藻随不同处理的细胞密度变化见图 1。从直观上看, 在更新率 10% 下 (图 1a, c, e) 的平均细胞密度高于 25% 下 (图 1b, d, f) 的细胞密度, 随着光照强度的增强, 细胞密度也呈上升趋势, 但不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平的差异较明显, 0 mg/L 水平低于其他 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平下的细胞密度。

表 1 不同处理下细胞密度、生长率与采收量的均值比较

Table 1 Multiple mean comparisons of different treatments for cell densities, growth rates and recovery yields

项目 Item	更新率 Renewal rate		光照强度/ $(\mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1})^*$ Light intensity			氮水平/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ Nitrogen level				
	10%	25%	L_1	L_2	L_3	0	3	6	12	24
	$\bar{X} \pm \text{SD}$									
细胞密度/ $(10^4 \cdot \text{mL}^{-1})$ Cell density	1737.5 $\pm 14.7^a$	753.2 $\pm 14.7^b$	750.5 $\pm 20.2^c$	1264.5 $\pm 19.5^b$	1721.1 $\pm 27.1^a$	945.9 $\pm 21.8^c$	1219.9 $\pm 21.6^b$	1343.2 $\pm 23.3^a$	1365.7 $\pm 21.7^a$	1352.1 $\pm 22.1^a$
生长率/ (d^{-1}) Growth rate	0.178 $\pm 0.006^b$	0.349 $\pm 0.006^a$	0.231 $\pm 0.008^b$	0.277 $\pm 0.008^a$	0.283 $\pm 0.011^a$	0.182 $\pm 0.009^b$	0.268 $\pm 0.009^a$	0.287 $\pm 0.010^a$	0.293 $\pm 0.009^a$	0.289 $\pm 0.009^a$
采收量/ $(10^8 \cdot \text{d}^{-1})$ Recovery yield	4.32 $\pm 0.07^b$	4.69 $\pm 0.07^a$	2.57 $\pm 0.10^c$	4.44 $\pm 0.10^b$	6.51 $\pm 0.13^a$	3.24 $\pm 0.10^c$	4.51 $\pm 0.10^b$	4.90 $\pm 0.11^a$	4.98 $\pm 0.10^a$	4.91 $\pm 0.10^a$

注: 1) 各行相同因素不同上标 a, b, c 代表差异显著 (GLM, 协方差分析, $P < 0.05$)。2) L_1 , L_2 , L_3 分别为光强 $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, $43.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, $80.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 组。

Note: 1) In each factor of the same row, means with different letters in the superscript are significantly different (GLM, ANCOVA, $P < 0.05$). 2) L_1 , L_2 , L_3 are groups with light intensities of $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, $43.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ and $80.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, respectively.

协方差分析显示, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平 (N)、光照强度 (L)、更新率 (R)、 $N \times L$ 、 $N \times R$ 、 $R \times L$ 、 $R \times N \times L$ 对细胞密度的影响均存在显著差异 (GLM ANCOVA 分

析, $P < 0.001$, $R^2 = 0.988$, $n = 90$, $F = 167.6$)。更新率、光照强度及 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 不同水平对细胞密度结果的均值比较见表 1。明显地, 更新率 10% 时的日平

均细胞密度($1.737.5 \times 10^4/\text{mL}$)比起始接种细胞密度($1.082.4 \times 10^4/\text{mL}$)高,即细胞密度随着10%的更新而增加(图1a,c,e);但在25%更新率下,细胞密度除光照强度 $80.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 外随着更新而减少(图1b,d,f),其总平均细胞密度为 $753.2 \times 10^4/\text{mL}$,且显著低于更新率为10%时的日平均细胞密度。不同光照强度对细胞密度的影响都存在显著

差异,其中光照强度高于 $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 组时的细胞密度都比起始接种细胞密度高,而在 $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光照强度下低于起始接种细胞密度。不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平对细胞密度的影响显著不同,以 0 mg/L 组最低, 3 mg/L 组次之, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度 $\geq 6 \text{ mg/L}$ 时对细胞密度的影响无显著差异。

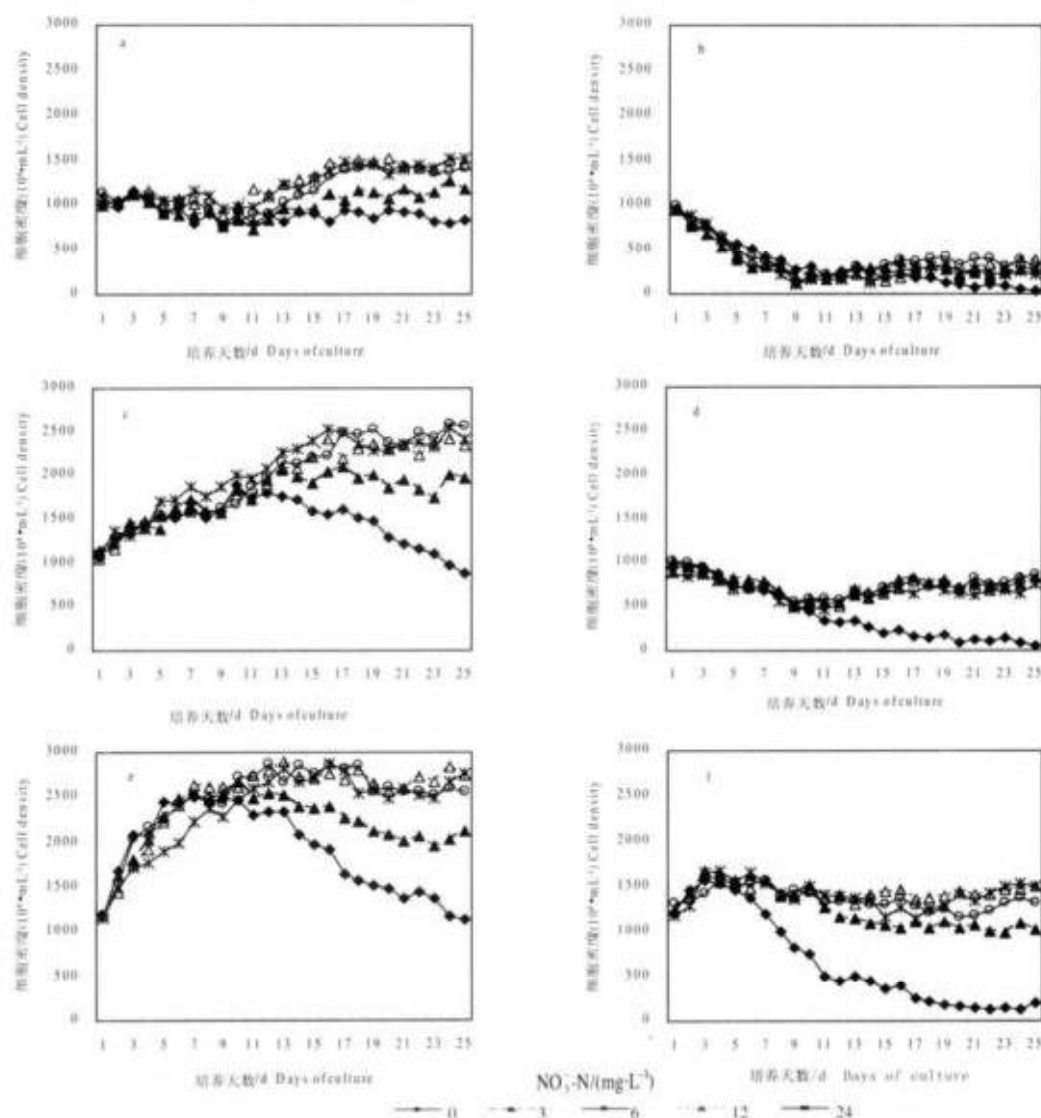


图1 不同处理下微绿球藻的细胞密度曲线

Fig. 1 Cell density curves in different treatments for *Nannochloropsis oculata*

a. 更新率10%, 光强 $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; b. 更新率25%, 光强 $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; c. 更新率10%, 光强 $43.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; d. 更新率25%, 光强 $43.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; e. 更新率10%, 光强 $80.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; f. 更新率25%, 光强 $80.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$.
a. Renewal rate 10%, light intensity $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; b. Renewal rate 25%, light intensity $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; c. Renewal rate 10%, light intensity $43.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; d. Renewal rate 25%, light intensity $43.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; e. Renewal rate 10%, light intensity $80.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; f. Renewal rate 25%, light intensity $80.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$.

2.2 不同处理对生长率的影响

不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平、光照强度和更新率对微绿球藻生长率的影响如图2。显然,更新率对生长率的影响最明显,更新率25%时的平均生长率显著高于更新率10%时的生长率,其平均值高出约1倍(表1)。对不同更新率分别进行协方差分析显示,在10%更新率时,不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平差异显著,以0 mg/L 组最低,为 $(0.142 \pm 0.003)/\text{d}$; 3 mg/L 组次之,为 $(0.178 \pm 0.003)/\text{d}$; 高于3 mg/L 水平时, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平对生长率的影响不显著 $(0.189 \sim 0.192)/\text{d}$,说明更新率低时,由于细胞密度相对较大,对 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 的需求增加。但在25%更新率时,3 mg/L 与3 mg/L 以上组间对生长率的影响在光照强度较强的 $80.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 水平存在显著差异外,在较低的光照强度 $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和 $43.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下无显著差异 $(P > 0.05)$,这意味着光照强度增加时,对 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 的需求也趋于增加。结合总模型分析结果来看,0 mg/L 水平和 $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 水平的生长率显著低于其他 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 和光照强度组的生长率,见表1。

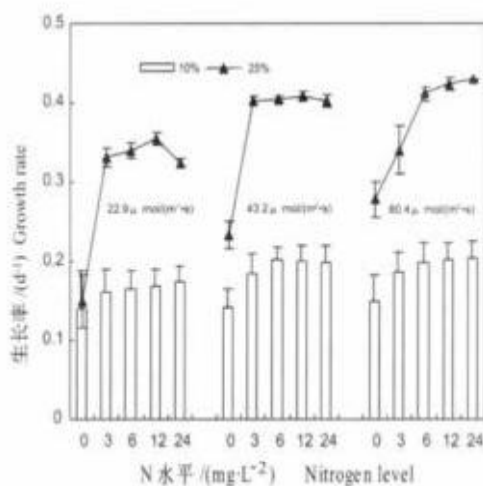


图2 不同处理对微绿球藻生长率的影响

Fig. 2 Effects of different treatments on growth rates of *M. aeruginosa*

2.3 不同处理对采收量的影响

$\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、光照强度对采收量的影响与对细胞密度影响相似,但更新率的影响相反(表1)。3个因素不同水平下对采收量的影响结果见图3,可以看出,在光照强度 $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 水平下,不同

更新率、不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平间的采收量相差幅度较小,而且25%更新率的采收量都小于10%更新率下的采收量;在 $43.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 水平下,不同更新率间的采收量无显著差异,不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平间的采收量除0 mg/L 水平外,相差幅度也不大,但 $43.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下采收量均大于 $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下相应处理的采收量;而在光照强度 $80.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 水平下,除0 mg/L 水平外,更新率25%时的采收量显著高于10%下的采收量。从这一结果可以看出,采收量与细胞密度和更新率间存在一个动态平衡关系 $(Y = V \cdot R \cdot B)$,这一平衡受到光照强度的调节,由于光照强度的增强,使得更新率25%的采收量从低于、相同到高于更新率10%时的采收量。从总的平均采收量看,在25%更新率下的日平均采收量显著高于10%时的采收量(见表1)。

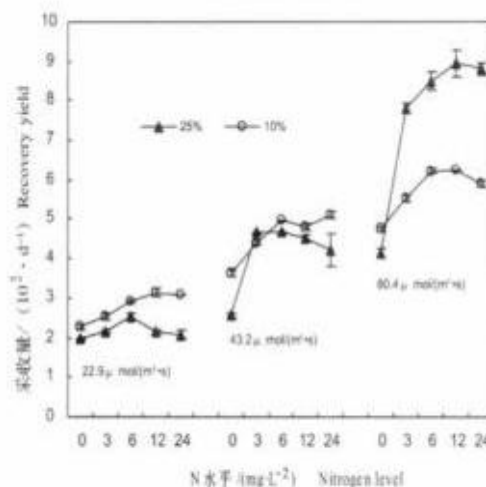


图3 不同处理对采收量的影响

Fig. 3 Effects of different treatments on recovery yields

2.4 光、氮关系及对采收量影响

为分析光、氮关系及对采收量的影响,对更新率10%和25%下的采收量进行回归分析,分别得方程(1)和(2),其相应等高线图(表达为等采收量)见图4(a,b):

$$Y = -0.8345 + 0.2135N - 0.0191N^2 + 0.0005N^3 + 0.0018NL - 0.0001N^2L + 0.1500L - 0.0010L^2 \quad (1)$$

$$(R^2 = 0.9718, P < 0.0001, n = 45)$$

$$Y = 1.0171 - 0.0305N^2 + 0.0012N^3 + 0.0123NL - 0.0004N^2L + 0.0443L \quad (2)$$

$(R^2=0.945\ 3,\ P<0.000\ 1,\ n=45)$

据图 4a,在更新率 10% 下,光照强度曲线变化比不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平的曲线变化陡,即光照强度对采收量影响比 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平影响大。在相同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平下,采收量都随着光照强度的增强而增加;而在不同光照强度下,不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平的影响极为不同。光照强度低时,不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平的影响相对较小,而光照强度越强,不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平的影响就越大。在 25% 的更新率下(图 4b),光照强

度与 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平对采收量的影响与 10% 更新率下的影响趋势较一致,但光照强度在低 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平下对采收量的影响比 10% 下相应 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平的影响更大(曲线更陡)。结合图 4(a,b) 分析,当光照强度最弱时,即使 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度最高,其采收量仍较低;反之,当光照强度最强时,低 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平也不能获得最高的采收量,经寻优计算,结果列于表 2。

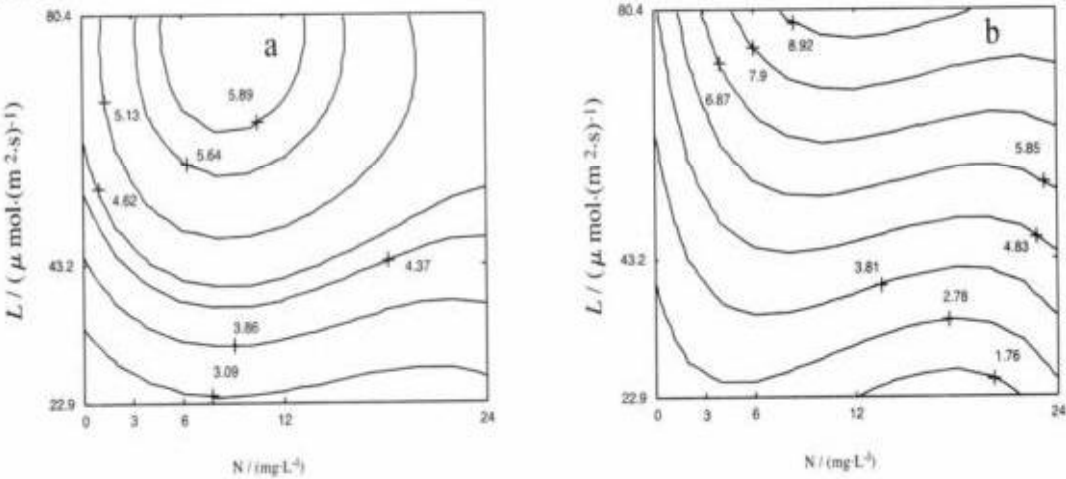


图 4 不同更新率下光、氮关系及采收量效应
Fig. 4 Interrelation of light and nitrogen in different renewal rates and its effects on recovery yields
a. 更新率为 10%; b. 更新率为 25% a. Renewal rate 10%; b. Renewal rate 25%

表 2 方程寻优结果
Table 2 Calculated optimal results of different equations

方程 Equation	N	L	$Y_{\max}$	$Y_{\min}$
1	10.6	80.0	6.3	—
	0	22.9	—	2.1
2	12.1	80.4	9.5	—
	0	22.9	—	2.0

注: N - 氮水平, mg/L ; L - 光照强度, $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; $Y_{\max}$ - 采收量最大值, $10^8/\text{d}$; $Y_{\min}$ - 采收量最小值, $10^8/\text{d}$
Note: N - Nitrogen level, mg/L ; L - Light intensity, $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; $Y_{\max}$ - Maximum yield, $\times 10^8/\text{d}$; $Y_{\min}$ - Minimum yield, $\times 10^8/\text{d}$

3 讨论

3.1 更新率与光、氮关系

更新率、光照强度和氮浓度及其交互作用对半连续培养微绿球藻的生长与采收量均有显著的影响(表 1)。其中,以更新率影响最为明显,它可改变培

养液中的光照强度和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度。首先,更新率越大,采收后的细胞密度就越低,由于在特定容器培养时的光衰减主要取决于藻的生物量浓度^[10],故培养液中光衰减变小,导致了藻生长率增大(图 2),反之亦然。这种更新率越大,生长率也随之变大的现象在三角褐指藻的研究中也有类似情况^[5]。其次,更新率越大,意味着向培养液中添加的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度比更新率低时的浓度大。可见,更新率大时,光照强度和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度得到共同提高,促进了光、氮间的利用关系(见下文),使生长率和采收量增加。

3.2 更新率对采收量的影响

在半连续培养下,不同更新率影响藻的细胞密度,从而影响采收量。10% 更新下,细胞密度呈增加趋势,其平均细胞密度高于起始接种细胞密度;而在 25% 更新下,平均细胞密度呈下降趋势,平均细胞密度低于起始接种细胞密度(表 1,图 1)。即细胞密度随着更新率的增加而降低,这与其他藻类的研究

相类似,而且两者间存在显著的负线性关系^[4~5]。根据采收量的计算公式 $Y = V \cdot R \cdot B$ 分析,由于 R 和 B 为负相关,因此,在半连续培养时均存在一个最适的更新率 R 值,使日平均细胞密度 B 最大,从而获得最大的采收量。当更新率低于最适更新率时,细胞增长数量比更新掉的细胞数量多,使细胞密度呈增加态势,反之细胞密度下降。但值得注意的是,半连续培养时的不同培养容器和不同微藻最适更新率差异较大,如在光生物反应器中培养小球藻,最适更新率约为33%,日采收量达 $6.8 \times 10^7 \text{ mL}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ^[2];杜氏藻(*Dunaliella tertiolecta*)最适更新率为20%~30%,日采收量为 $3 \times 10^6 \text{ mL}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ^[4]。而在三角烧瓶中培养的三角褐指藻,最适更新率约为18.2%,日采收量达 $6.67 \times 10^5 \text{ mL}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ^[5]。

3.3 光氮关系及其采收量效应

采收量的等高线图显示,光对采收量的影响比 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 重要,而且在低 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 水平时,光的影响更大(图4a,b)。由于在特定的更新率下,获得特定采收量的光照强度与 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度值并不唯一,说明光照强度和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度对采收量具有相互调节的作用。光照强度越低,不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度下的采收量间相差不大,相似地, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度越低,光照强度最高也不能获得较大的采收量。这在陆地植物光、氮关系研究中有类似的效应——光肥效应,即光照强度与肥料($\text{NO}_3^- - \text{N}$)对生长起相互调节作用,光照不足时,无法用施肥来弥补,反之亦然。即施肥所起的作用,只能是调节在既定的光照条件下的光与肥的平衡状态^[11]。

参考文献:

- [1] Sukeik A, Zmora O, Carmeli Y. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. II. *Nannochloropsis* sp. [J]. *Aquaculture*, 1993, 117:313-326.
- [2] 张登强,何培民,周拱琪. 不同方法培养小球藻的试验[J]. 上海水产大学学报, 1999, 8(1):1-5.
- [3] Snedecor G W, Cochran W G. Statistical Methods[M]. Iowa: Iowa State University Press, 1980. 298-333.
- [4] Fabregas J, Patiño M, Arredondo-Vega B O, et al. Renewal rate and nutrient concentration as tools to modify productivity and biochemical composition of cyclostat cultures of the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1995, 44:287-292.
- [5] 朱艺峰,吴松杰,郭小强. 半连续培养氮磷浓度、更新率对三角褐指藻采收量的影响[J]. 海洋科学, 2000, 24(11):35-38.
- [6] 陈明耀. 生物饵料培养[M]. 北京:农业出版社, 1995. 25-71.
- [7] Fabregas J, Herrero C, Cabezas B, et al. Mass culture and biochemical variability of the marine microalga *Tetraselmis suecica* Kylin (Butch) with high nutrient concentrations [J]. *Aquaculture*, 1985, 49:231-244.
- [8] 洪南,侯军. SAS for Windows 统计分析系统教程[M]. 北京:电子工业出版社, 2001. 178-183, 193-202, 338-340.
- [9] 倪勤. SAS 最优化软件速成[M]. 北京:科学出版社, 1998. 104-110.
- [10] 徐明芳,周远志,区德洪. 光生物反应器中光衰减特征与螺旋藻生长动力学研究[J]. 海洋科学, 2001, 25(11):32-37.
- [11] 曾希柏,侯光炯,青长乐,等. 土壤-植物系统中光照与氮素的相互关系研究[J]. 生态学报, 2000, 20(1):103-108.

Effects of light intensity, concentration of nitrogen and renewal rate in semicontinuous cultures on growth and recovery yield of *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd

ZHU Yi-feng, LIN Xia, XU Tong-cheng, YU Xiao-hua, GAO Cheng-mian, ZHANG Shi-jian

(Department of Fisheries, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: A $5 \times 3 \times 2$ factorial experiment was designed with five concentrations of nitrogen (0, 3, 6, 12 and 24 mg/L in the form of $\text{NO}_3^- - \text{N}$), three light intensities [$22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, $43.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ and $80.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] and two renewal rates (10% and 25%) to determine the effects of light intensity, concentration of nitrogen and renewal rate in semicontinuous cultures on the growth and recovery yield of *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd. *N. oculata*, rich in EPA, is one of the main feed source of aquatic animals in aquaculture. The results of GLM ANCOVA show that concentration of nitrogen, light intensity, renewal rate and their interactions have significant effects on cell density, growth rate and recovery yield ($P < 0.001$) of *N. oculata*, and the most affecting factor is renewal rate, and follows the light intensity and concentration of nitrogen. With the renewal rate of 25%, the average cell density ($753.2 \times 10^4/\text{mL}$) was lower than that with renewal rate of 10%, which was $1\,737.5 \times 10^4/\text{mL}$, but mean growth rate and recovery yield were greater than the latter's, which were 0.349/d and $4.69 \times 10^8/\text{d}$, respectively. Under the light intensity of $22.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, cell density, growth rate and recovery yield were significantly lower than any other group of light intensity, and their maxima values, which were $1\,721.1 \times 10^4/\text{mL}$, 0.283/d and $6.51 \times 10^8/\text{d}$, respectively, were obtained only with light intensity of $80.4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$. In different treatments of nitrogen concentrations, the significantly different contributions of nitrogen concentration to cell density, growth rate and recovery yield from low to high were 0 mg/L, 3 mg/L and 6 mg/L. The results also indicate that increasing renewal rate not only promotes growth rate because of light attenuation reduction, but also enhances recovery yield because of increasing the concentration of nitrogen, and meanwhile, improving the balanced utilization between light and nitrogen. But it is noted that cell density decreases with increasing renewal rate. Obviously, the renewal rate was major factor influencing recovery yield, and furthermore, an optimal renewal rate causing maximum recovery yield was also existence. Thus, these results have interesting applications for the management of reasonable renewal and scientific nitrogen application in semicontinuous cultures.

Key words: *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd; semicontinuous culture; renewal rate; light intensity; nitrogen; growth; recovery yield

* This study is supported by a local program of Ningbo City (No. 01N40100 - 58) and a program of the Education Department of Zhejiang Province (No. 20010233).