

培养小形舟形藻的氮、磷肥料量

王渊源 姜庆国 江航宇

(厦门水产学院)

小形舟形藻 *Navicula parva* (Men.) Cleve-Euler 是一种底栖性半咸水或海水生活的硅藻。金德祥等 (1979, 1982) 在硅藻分类研究中作过记述。陈世杰等 (1977) 培养大量混合种类的底栖硅藻作为杂色鲍 (*Haliotis diversicolor*) 苗的饵料中也有舟形藻 (*Navicula*) 的未定种类。显然, 小形舟形藻单种的大量培养, 既可供某些匍匐生活贝类幼体的饵料, 还可供作硅藻实验生态的研究材料。

一、材料与方 法

1. 基础培养液

硝酸钠	74毫克/升
磷酸二氢钾	4.9毫克/升
硫酸锌	23微克/升
氯化锰	178微克/升
钼酸钠	7微克/升
氯化钴	12微克/升
硫酸铜	10微克/升
乙二胺四乙酸钠	4.3毫克/升
柠檬酸铁	3.9毫克/升
维生素 B ₁₂	0.5微克/升
维生素 B ₁	100微克/升

把过滤海水加至 1 升煮沸冷却。

2. 藻种分离

1982年7月间在厦门集美码头, 用500毫升玻璃广口瓶采水带回实验室, 分装入预先准备的无杂质、无离子、无菌的4个500毫升锥形瓶, 再加入基础培养液至400毫升, 室温28—33°C, 光照度为200—750勒克斯, 静置。两周后, 在锥形瓶底聚生一层黄褐色胶被, 倾去

上层液, 摇动底层胶被液后接种入新的锥形瓶培养液, 待再聚生黄褐色胶被后, 重复以上接种, 直至在显微镜下检查纯为小形舟形藻, 作为培养实验的藻种。

培养是在直径15厘米的结晶皿中进行。培养皿需严格进行清洗和灭菌, 各放进1升基础培养液为对照组, 其他氮磷浓度系列组按拟定的氮、磷用量追放(或减放)氮源与磷源, 对照组和氮、磷的浓度系列组皆由两个培养皿同时进行, 以后在各培养皿中放进浮游植物计数框, 再在各培养皿中接种10毫升的小形舟形藻藻种, 并立即移入黑暗培养箱24小时, 最后移出黑暗培养箱进行同步培养。培养时, 每隔两天取出浮游植物计数框在高倍显微镜下计数细胞数量, 每片随机计数10个视野, 每个视野以计数框的十字交叉为圆心, 计数其中1/4视野的量, 把所得数量乘4除以视野面积, 折合单位平方厘米面积上的细胞数量。10个视野的平均数量为1个培养皿单位面积细胞数量, 同组的两个培养皿的单位面积细胞数量平均值为—氮、磷浓度组的单位面积的细胞数量。

二、结 果

1. 氮源需要量

本实验的氮源来自NO₃-N、过滤海水中含有的溶解有机氮和无机氮, 当氮源的浓度系列都用同一过滤海水时, 影响小形舟形藻的氮源即是NO₃-N不同的浓度。把基础培养液的其他营养元素恒定, 而将其中含氮的浓度依±0.5倍递增(或递减)所配成浓度系列时, 小形舟形藻在不同的氮源浓度中的生长数量列于

表1 小形舟形藻在氮源不同浓度中的生长数量¹⁾

时间 (天)	氮浓度 (毫克/升)	0	6.094	12.190	18.285	24.380	30.475	36.570	42.665
	生长数量								
0		2.31	2.17	2.22	2.10	2.78	2.52	1.86	2.52
2		2.53	7.64	9.72	10.52	10.37	7.37	7.78	5.88
4		2.44	9.48	10.93	11.81	12.60	9.25	7.33	7.65
6		2.41	9.19	9.36	8.91	9.51	3.79	5.39	4.15
培养高峰细胞增加的倍数		1.09	4.36	4.92	5.62	4.53	3.67	4.18	3.04

1) 单位: $\times 10^8$ 个细胞/平方厘米; 培养水温: 24—27℃; 光照时间: 14小时/天; 光照强度: 1800—2000lux。

表1。

从表1可以看出, 各浓度组在培养至第4天时, 普遍出现高峰, 其中数量最多的是当氮源浓度在12.190毫克/升、18.285毫克/升和24.380毫克/升时, 而且其他浓度组的细胞所增加的倍数都比对照组的数量少, 只有当浓度为18.285毫克/升时的细胞数量才比对照组(含 $\text{NO}_3\text{-N}$ 为12.190毫克/升)的细胞数量增加5.62倍。因此, 培养小形舟形藻的氮源浓度范围是12—24毫克/升, 尤其是18.285毫克/升为最合适的含氮浓度。

2. 磷源需要量

本实验的磷源为 $\text{PO}_4\text{-P}$ 。根据氮源研究的最佳含氮浓度, 把基础培养液的氮源浓度调升至18.285毫克/升后, 再把磷源配成不同浓度系列组, 其他营养元素保持基础培养液的原来含量。小形舟形藻在不同的磷源浓度中的细胞数量列于表2。

从表2不难看出, 提供小形舟形藻培养液的磷源浓度范围为0.2—1.1毫克/升, 而且只有当磷的浓度为0.279毫克/升时, 其细胞数量增加的倍数才大于对照组(含 $\text{PO}_4\text{-P}$ 为1.117毫克/升)所增加的倍数, 其他各浓度组的细胞增加倍数都小于对照组。

综上所述, 小形舟形藻合适的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度范围是12—24毫克/升, $\text{PO}_4\text{-P}$ 的浓度范围是0.2—1.1毫克/升。最适的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度为18.285毫克/升, 最适的 $\text{PO}_4\text{-P}$ 浓度为0.279

毫克/升, $\text{N:P} = 65:1$ 。

三、讨论

氮源是培养单细胞藻类时提供构成蛋白质的重要元素, 因为碳、氢、氧、氮、硫、磷是构成蛋白质分子的诸元素。除此之外, 氮源也影响藻类细胞的成熟与分裂。Hase (1959) 根据椭圆小球藻的同步培养指出, 在光照条件下, 只有当提供氮源与硫源的情况, 藻类细胞才能进行正常的细胞分裂; 在缺氮条件下, 显然要少于正常条件下的细胞数量。磷在植物体的代谢中起着触媒和磷酸盐的缓冲作用。由此可以认为氮在培养单细胞藻类中的重要性, 尤其旨在获得大量培养过程中, 其用量也需要增加。

培养各种单细胞藻类所提供的氮、磷用量不同。本文所用的基础培养液即是作者(1984)所提出的仿f/2培养液, 其中氮浓度为12.190毫克/升; 磷浓度为1.117毫克/升; $\text{N:P} = 10:1$ 。陈世杰(1977)培养鲍苗饵料底栖硅藻时, 氮用10ppm, 磷用1ppm, $\text{N:P} = 10:1$ 。根据本文的结果, 当氮浓度由对照组增加至18.285毫克/升和磷浓度由对照组减少至0.279毫克/升, $\text{N:P} = 65:1$, 其细胞数量增加的倍数都高于基础培养液的对照组。

在室内培养单细胞藻类, 其形态学效果往往会有些变化, 如在实验室中常年保存的中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)的细胞变

表2 小形舟形藻在磷源不同浓度中的生长数量¹⁾

生长数量 时间(天)	磷浓度 (毫克/升)	0.279	0.559	1.117	2.234	4.900	6.702	8.930	11.170
0		0.14	0.09	0.10	0.15	0.18	0.09	0.16	0.15
2		1.25	0.61	0.97	0.51	0.42	0.28	0.40	0.24
4		1.58	0.52	1.10	0.31	0.54	0.30	0.57	0.33
6		1.84	1.03	0.42	0.55	0.77	0.28	0.66	0.40
8		1.33	0.61	0.28	0.51	0.63	0.24	0.74	0.70
10		—	—	—	0.27	0.38	0.13	0.62	0.51
培养高峰细胞增加的倍数		13.04	10.66	10.93	3.79	4.25	3.23	4.87	4.82

1) 单位: $\times 10^8$ 个细胞/平方厘米; 培养水温: 25—29℃; 光照时间: 14小时/天; 光照强度: 1000—10000lux。

表3 小形舟形藻的细胞大小(单位: 微米)

生长环境	长	宽	高	研究者
天然水域	18—27	4.5—7.0		金德祥, 1982
	15—25	4.6—6.0		Cleve-Euler, 1953 ¹⁾
室内培养	10.0—22.3	3.0—6.8	2.9—4.3	本文作者

1) 自金德祥(1982)。

小和牟勒氏角毛藻 (*Chaetoceros muelleri*) 多数细胞的角毛收缩现象, 在小形舟形藻的室内培养中也发现其细胞有变小现象(表3)。

分离小形舟形藻于室内培养器中培养, 其最合适的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度是18.285毫克/升, 最合

适的 $\text{PO}_4\text{-P}$ 浓度是0.279毫克/升, 而且其细胞的长 \times 宽 \times 高是10.0—22.3 \times 3.0—6.8 \times 2.9—4.3微米, 比在天然水域中所采集的细胞小。

THE AMOUNT OF PHOSPHATA-NITROGENOUS FERTILIZER REQUIRED
ON THE CULTIVATION OF *Navicula parva* (Men.)
CLEVE-EULER

Wang Yuanyuan, Jiang Qingguo and Jiang Hangyu
(Xiamen Fisheries College)

Abstract

The separation of *Navicula parva* was carried out in the indoor culture apparatus. The optimum consistency of $\text{NO}_3\text{-N}$ was 18.285 mg/l, that of $\text{PO}_4\text{-P}$ was 0.279 mg/l. The size of the cell was equal to 10.0—22.3 \times 3.0—6.8 \times 2.9—4.3 μm (length \times breadth \times depth). We found that the cells were smaller in size than ones from the nature waters.