

混合氮源对扁藻与金藻共培养和单种培养生长的影响

朱芝峰, 林霞, 朱鹏, 李洋

(宁波大学 生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211)

摘要:采用均匀设计,研究了硝酸钠($\text{NO}_3\text{-N}$)、尿素($\text{NH}_2\text{-N}$)和硫酸铵($\text{NH}_4\text{-N}$) 3种氮源对亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*)与球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)共培养和单种培养生长的影响。结果表明,不同氮源对扁藻与金藻在不同培养方式下的生长均存在显著差异($P < 0.05$)。共培养时,硝酸钠质量浓度对扁藻和金藻的总细胞密度(Y_t)和最终细胞密度的体积比(Y_r)没有影响,尿素质量浓度对 Y_t 有正调节作用,而硫酸铵质量浓度对 Y_t 有负调节作用、对 Y_r 有正调节作用。当培养液中 $\text{NH}_2\text{-N}$ 质量浓度为21.01 mg/L,扁藻和金藻接种体积比(X_t)为14.15时, Y_t 最大($1\ 508.9 \times 10^4$ 个/mL);当 $\text{NH}_4\text{-N}$ 质量浓度、 X_t 分别为21.00 mg/L和14.15时, Y_r 最大,为87.46。单种培养金藻时,硝酸钠略优于尿素,2种氮源对其生长均有正调节作用,而硫酸铵起负调节作用。当培养液中加入21.01 mg/L的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{NH}_2\text{-N}$ 时,金藻的细胞密度达到最大值(862.6×10^4 个/mL);不同氮源对扁藻生长的调节作用与金藻相反,当扁藻接种密度为 4.6×10^4 个/mL,培养液中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 质量浓度为21.00 mg/L时,扁藻细胞密度达到 102.2×10^4 个/mL,其值最大。

关键词:氮源;亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*);球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*);共培养;单种培养;生长

中图分类号:S963.14

文献标识码:A

文章编号:1000-3096(2006)08-0034-07

在水产动物苗种培育过程中,由于经营品种的多样性及对营养的平衡需要,经常对不同动物或不同生长阶段的相同动物同时投喂不同微藻,而生产上是分别以单一品种培养后再加以混合的投喂方式进行^[1],这对维持不同微藻的单种培养及其最佳数量比例的提供是一个难题。解决该难题的有效方法之一是开发高效的共培养体系。然而,共培养并非单种培养下的简单组合,其生长特性和生化成份与单种培养相比存在较大的差异^[2,3]。已有研究显示,影响共培养生长的因子较多,如温度、盐度、光照、营养盐以及接种密度等,其中,以单种氮源下限制性竞争研究的最多^[4-7],对不同氮源和非限制性营养条件下各种藻的调控技术研究却很少。由于不同藻类对不同氮源的利用率和优先性存在差异^[8,9],这就对共培养模式下各种藻的定量调控带来了可能性。为此,作者以水产贝类苗种生产中主要饵料微藻亚心形扁藻与球等鞭金藻为对象进行共培养与单种培养的比较实验,研究了不同培养方式、不同氮源影响其生长的模式,为今后开发高效的微藻共培养体系及自动化定量施肥技术提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*)与球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)由全国科技兴海技术转移宁波中心提供。实验海水经脱脂棉过滤、煮沸消毒,盐度23.0,pH 8.2, $\text{NO}_3\text{-N}$ 的质量浓度为0.32 mg/L, $\text{NH}_4\text{-N}$ 质量浓度为0.02 mg/L。

1.2 方法

1.2.1 试验设计

由于2种微藻细胞大小差异较大,共培养时会影响各种藻的增长速率,产生的体积效应也会影响分析结果^[6],从而低估了细胞体积大的种类^[10]。因此,试验设计与结果分析以藻类体积作为主要因素之一而

收稿日期:2003-08-05;修回日期:2004-04-20

基金项目:浙江省教育厅资助项目(20010233);宁波市重点博士基金资助项目(02J20101-16);宁波市科技局资助项目(01N40100-58)

作者简介:朱芝峰(1964-),男,浙江玉环人,副教授,研究方向:营养与生态学,E-mail:yfzhu@163.com

加以考虑。金藻体积按球形计算^[10],扁藻体积按圆柱形计算^[11],扁藻与金藻的体积比换算系数 R 为 7.35。

以 NaNO_3 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 作为氮源^[8, 12]。单种培养时, $\text{NO}_3\text{-N}$ (X_1 , mg/L)、 $\text{NH}_2\text{-N}$ (X_2 , mg/L)、 $\text{NH}_4\text{-N}$ (X_3 , mg/L) 和金藻接种密度 (X_i) 的水平设置参考文献^[12~14],见表 1。扁藻接种密度 (X_p) 的确定主要根据在共培养各处理中,2 种藻接种体积和相同及体积比梯度需要而设置。单种培养扁藻和金藻接种密度各水平换算成扁藻体积 (X_{pv}) 和金藻体积 (X_{iv}) 作为试验分析因素。共培养时,以 2 种藻单种培养接种密度和作为共培养的接种密度,其它条件与单种培养相同;以扁藻与金藻接种密度的换算体积比 [$X_v = (X_p / X_i) \times R$] 作为共培养的试验分析因素(表 1)。实验采用均匀设计 $U_8^*(8^5)$,

按使用表取 1,2,3,5 列,偏差 $D=0.2709^{[15]}$,实验方案见表 2。

1.2.2 接种培养

扁藻与金藻经用相同培养液预培养($\text{NO}_3\text{-N}$ 质量浓度为 13.9 mg/L),处于指数生长期时进行离心,离心与洗涤参照文献^[3]。分别稳定培养 2 d,并各取上层藻液接种培养,接种时金藻与扁藻细胞密度分别为 350.0×10^4 个/mL 和 46.0×10^4 个/mL。采用 300 mL 三角烧瓶(培养体积 250 mL),通过稀释法加入相应的培养液(3 种不同 N 源、N 质量浓度相同的 f/2 培养基)和藻液,以达到各处理不同接种密度的要求,每处理设 3 个重复。温度 25 ± 2 ,日光灯光源,光强 $4200 \text{ lx} \pm 100 \text{ lx}$,光暗周期 12 h:12 h^[11, 13, 14]。

表 1 实验因素与水平

Tab. 1 Experimental factors and their levels

因素	水平							
	1	2	3	4	5	6	7	8
X_1 (mg/L)	0	2.98	6.01	8.99	12.02	15.00	17.99	21.01
X_2 (mg/L)	0	2.98	6.01	8.99	12.02	15.00	17.98	21.01
X_3 (mg/L)	0	2.98	6.01	8.99	12.01	14.99	17.97	21.00
X_i ($\times 10^4$ 个/mL)	36.0	31.2	26.4	21.6	16.8	12.0	7.2	2.4
X_p ($\times 10^4$ 个/mL)	0.2	0.8	1.5	2.1	2.7	3.3	4.0	4.6
X_v	0.04	0.20	0.41	0.71	1.19	2.05	4.05	14.15

注: X_1, X_2, X_3 为 $\text{NaNO}_3, \text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 称量转换值; X_i, X_p 为稀释后全藻、扁藻实测平均值; X_v 为扁藻与金藻接种密度的换算体积比(下同)

表 2 实验方案

Tab. 2 Experimental plans

处理	水平					
	X_1	X_2	X_3	X_{iv}	X_{pv}	X_v
1 (T_1)	1	2	4	8	8	8
2 (T_2)	2	4	8	7	7	7
3 (T_3)	3	6	3	6	6	6
4 (T_4)	4	8	7	5	5	5
5 (T_5)	5	1	2	4	4	4
6 (T_6)	6	3	6	3	3	3
7 (T_7)	7	5	1	2	2	2
8 (T_8)	8	7	5	1	1	1

注: X_{iv}, X_{pv} 和 X_v 各水平分别安排于金藻、扁藻单种培养和共培养

1.2.3 细胞计数

50%福尔马林固定^[2],血球计数板显微镜目视计数。至第 6 天(接种培养日为第 1 天),于相同时间

(930 h)隔天测定藻细胞密度,第 7 天开始每日测定一次。共培养时分别计数扁藻与金藻细胞密度。

1.2.4 数据处理

以单种培养生长为考察标准,当其中一处理组连续 3d 藻细胞密度增长 5%时^[3],实验结束,并取第 13 天细胞密度值作为处理数据。单种培养时考察最终金藻细胞密度 Y_i 和扁藻细胞密度 Y_p ($Y_p = \text{实测扁藻细胞密度} \times R$,转化为金藻细胞密度以利于结果比较)。考虑到共培养的目的—是获得最大的生物量,二是 2 种微藻在数量比例上可进行调控,因此,共培养时考察扁藻与金藻总细胞密度 Y_r ($Y_r = Y_p + Y_i$) 和最终细胞密度体积比 Y_r ($Y_r = Y_p / Y_i$)。

统计分析在 SAS 软件包 (Ver. 6.12) 下编程运算^[16]。共培养与单种培养的比较采用配对 t 测试 (PROC MEANS 程序),逐步回归变量筛选按缺省概率 ($P=0.15$ 引入,PROC REG 程序),回归方程的非线性寻优计算经 SAS/OR (PROC NLP 程序)编程^[17]。

2 结果

2.1 扁藻与金藻在不同处理下的生长

扁藻和金藻在不同处理下的生长见图 1 ($T_1 \sim T_8$)。经配对 t 测试结果,金藻和扁藻在单种和共培养模式下生长存在显著差异 ($P < 0.05$)。单种培养时,金藻生长以 T_2 (102.3×10^4 个/mL $\pm 12.5 \times 10^4$ 个/mL, 平均值 \pm 标准误差) 最差,以 T_7 (700.4×10^4 个/mL $\pm 33.4 \times 10^4$ 个/mL) 最好;扁藻以 T_8 (23.3×10^4 个/mL $\pm 0.9 \times 10^4$ 个/mL) 最差,以 T_2 (80.6×10^4 个/mL $\pm 6.3 \times 10^4$ 个/mL) 最好。在共培养模式下,金藻最优和最劣生长的处理分别是 T_7 ($734.6 \times$

10^4 个/mL $\pm 41.8 \times 10^4$ 个/mL) 和 T_2 (14.1×10^4 个/mL $\pm 3.0 \times 10^4$ 个/mL), 而扁藻分别是 T_1 (80.8×10^4 个/mL $\pm 6.7 \times 10^4$ 个/mL) 和 T_8 (7.6×10^4 个/mL $\pm 0.2 \times 10^4$ 个/mL), 且从 T_1 至 T_8 扁藻的细胞密度基本呈下降趋势。结合表 1、表 2 的氮源水平设置可以初步得出,营养盐中 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 质量浓度越高(如 T_2, T_4),对单种培养和共培养下金藻的生长都有抑制作用;随着扁藻与金藻体积比 (X_v) 的减少,共培养时的扁藻细胞密度减少;其它不同氮源对不同培养方式下扁藻与金藻的生长作用难以直观判断。

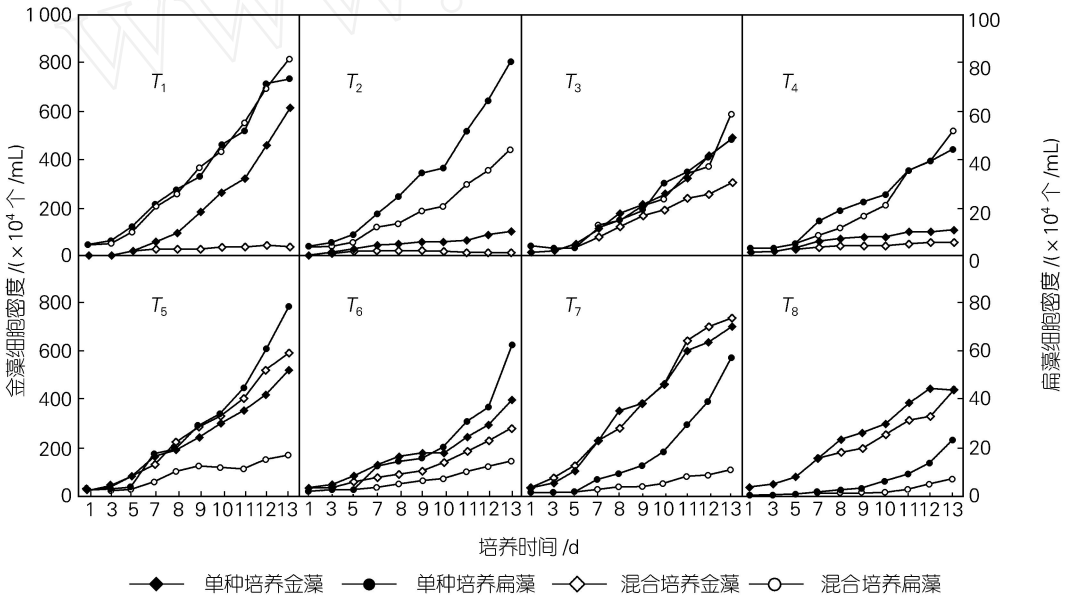


图 1 金藻与扁藻在不同处理下的生长

Fig. 1 Growths of *I. galbana* and *P. subcordiformis* in different treatments

2.2 不同因素对生长的调节模式

2.2.1 对单种培养的调节

经回归分析,不同氮源对扁藻和金藻细胞密度的调节模式见方程(1),(2),非线性寻优结果见表 3。

表 3 方程寻优结果

Tab. 3 Optimum results for equations

方程	寻优值								
	X_1 (mg/L)	X_2 (mg/L)	X_3 (mg/L)	X_{pv} ($\times 10^2 \mu\text{m}^3$)	X_v	Y_i ($\times 10^4$ 个/mL)	Y_p ($\times 10^4$ 个/mL)	Y_t ($\times 10^4$ 个/mL)	Y_r
1	0	0	21.00	16.12	-	-	750.9	-	-
2	21.01	21.01	0	-	-	862.6	-	-	-
3	-	21.01	0	-	14.15	-	-	1508.9	-
4	-	-	21.00	-	14.15	-	-	-	87.46

$$Y_p = 573.128 - 14.201 X_2 + 0.025 X_3^2 X_{pv} - 0.025 X_1^2 X_3, R^2 = 0.8655, P < 0.01, n = 24 \quad (1)$$

$$Y_i = 639.631 - 7.710 X_1 - 0.620 X_3^2 + 0.872 X_1 X_2 - 1.195 X_2 X_3, R^2 = 0.9002, P < 0.01, n = 24 \quad (2)$$

根据数学方法,当方程其中几个因素各取表 3 寻优值时,可获得其中一个因素对扁藻和金藻的最佳调节效应方程,并作出图 2,图 3。显然,当培养液中添加 21.00 mg/L 的 $\text{NH}_4\text{-N}$ 时,随着 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NH}_2\text{-N}$ 质量浓度的增加,扁藻细胞密度呈下降趋势;同理, $\text{NH}_4\text{-N}$ 和扁藻接种密度增加时,扁藻细胞密度随之增加。当培养液中只添加 21.00 mg/L 的 $\text{NH}_4\text{-N}$,扁藻接种密度为 4.6×10^4 个/mL 时,扁藻细胞密度达到 102.2×10^4 个/mL (相当于金藻细胞密度值为 750.9×10^4 个/mL),其值最大(表 3)。

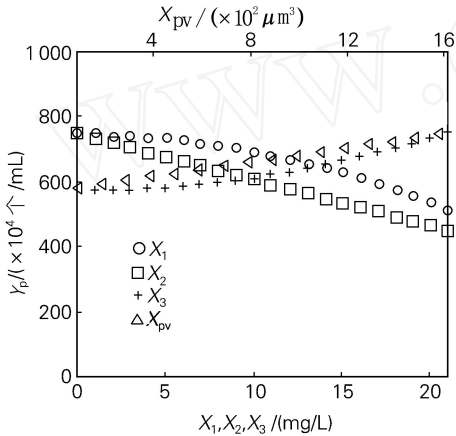


图 2 不同因素对扁藻生长的调节效应

Fig. 2 Regulating effects of different factors on growth of the *P. subcordiformis*

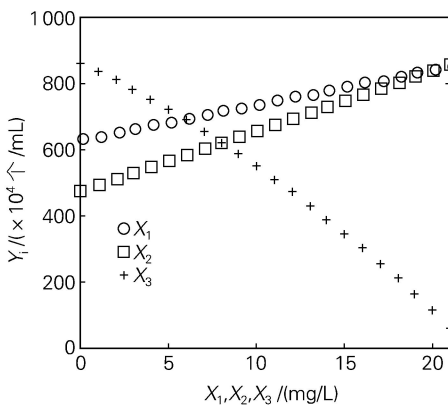


图 3 不同因素对金藻生长的调节效应

Fig. 3 Regulating effects of different factors on growth of the *I. galbana*

不同氮源对金藻生长的调节作用显示,试验范围的金藻接种密度 ($2.4 \times 10^4 \sim 36.0 \times 10^4$ 个/mL) 对最终细胞密度无明显影响。不同氮源中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 起

主导作用,随着 $\text{NH}_4\text{-N}$ 增加,金藻细胞密度急剧下降,而 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NH}_2\text{-N}$ 对金藻的生长有促进作用, $\text{NO}_3\text{-N}$ 略优于 $\text{NH}_2\text{-N}$ (图 3)。寻优结果显示,当培养液中不添加 $\text{NH}_4\text{-N}$,而各添加 21.01 mg/L 的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{NH}_2\text{-N}$ 时,金藻最终的细胞密度达到最大值 862.6×10^4 个/mL (表 3)。

2.2.2 对共培养的调节

不同氮源对共培养的总细胞密度 Y_t 及对扁藻与金藻最终细胞密度体积比 Y_r 的调控如方程 (3)、(4) 所示,相应调节作用见图 4、图 5:

$$Y_t = 799.545 + 2.386 X_2 X_v - 26.147 X_3 - 1.194 X_2 X_3, R^2 = 0.8100, P < 0.01, n = 24 \quad (3)$$

$$Y_r = 0.094 + 0.014 X_v X_3^2, R^2 = 0.9133, P < 0.01, n = 24 \quad (4)$$

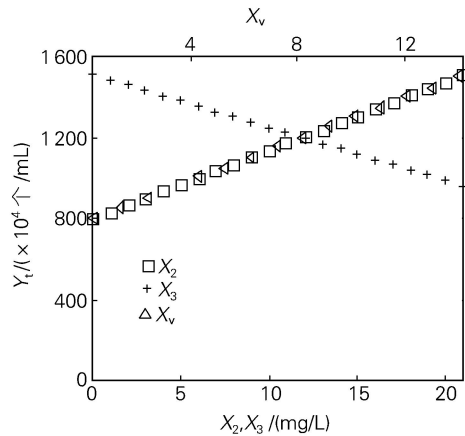


图 4 不同因素对总细胞密度的调节效应

Fig. 4 Regulating effects of different factors on Y_t

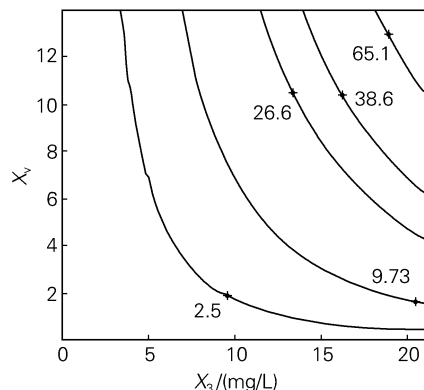


图 5 不同因素对细胞密度体积比的调节效应

Fig. 5 Regulating effects of different factors on Y_r

根据方程(3)和图4可以看出, $\text{NO}_3\text{-N}$ 对共培养的总细胞密度无影响, 培养液中添加 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的质量浓度越高, 总细胞密度越低, 在试验设计范围内, $\text{NH}_2\text{-N}$ 与接种体积比对总细胞密度具有正调节的作用, 当培养液中 $\text{NH}_2\text{-N}$ 质量浓度为 21.01 mg/L, 扁藻和金藻所接种的体积比为 14.15 时, 共培养的总细胞密度达到最大值 $1\ 508.9 \times 10^4$ 个/mL。

方程(4)和等高线图(图5)显示, 扁藻与金藻接种时的体积比和培养液中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的质量浓度控制着共培养的两者最终体积比。在固定接种体积比下, 随着 $\text{NH}_4\text{-N}$ 质量浓度增加, 最终体积比快速增加(平方); 在固定 $\text{NH}_4\text{-N}$ 质量浓度下, 体积比增加与接种体积比呈线性增加关系。当 $\text{NH}_4\text{-N}$ 质量浓度与扁藻和金藻接种的体积比分别为 21.00 mg/L 和 14.15 时, 扁藻与金藻最终体积比最大, 为 87.46 倍(表3)。

3 讨论

3.1 不同氮源与微藻生长

3.1.1 单种培养

有关不同氮源及其质量浓度对微藻单种培养的研究已有不少报道, 但不同种甚至不同品系之间对不同氮源的利用率相差较远。Turner 等^[8]对 33 个不同种(品系)微藻进行 30 余天试验后列出了对不同氮源的利用率, 对 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的利用率为 32% ~ 66%; 对 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 的利用率变化最大, 从低于 10% 到 100%; 对 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的利用率则为 32% ~ 100%。马志珍等^[9]对三角褐指藻的研究中也证实了不同氮源对细胞密度的影响达极显著, 氮源优先利用顺序为 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2 > \text{NH}_4\text{NO}_3$ (或 NH_4Cl) $> \text{NaNO}_3$ 。而 Fabregas 等^[12]认为不同铵盐在 0.25 ~ 16 mg/L (以 N 计) 范围内对盐藻 (*Dunaliella tertiolecta*) 的稳定期细胞密度无关。本研究结果显示, 扁藻和金藻对 3 种氮源的利用也存在优先性, 金藻的优先利用顺序是 $\text{NO}_3\text{-N} > \text{NH}_2\text{-N} > \text{NH}_4\text{-N}$, 扁藻优先利用顺序为 $\text{NH}_4\text{-N} > \text{NO}_3\text{-N} > \text{NH}_2\text{-N}$ (图2, 图3)。这种利用率的差异除与微藻的硝酸还原酶和尿素酶活力有关外^[9, 18], 还与 N 源的元素组成^[12]、微藻释放的胞外营养盐有关^[19, 20]。

3.1.2 共培养

氮源对微藻共培养的影响研究大多基于同一氮源(f/2 配方, $\text{NO}_3\text{-N}$), 而且基本属于营养性竞争研究, 按 Monod 方程, 由于营养物浓度的不断减少, 最终导致了对低浓度营养物亲和性好的微藻为主要的控制种, 而另一种微藻的数量则明显下降, 出现了竞

争排斥现象^[6]。如三角褐指藻与其它硅藻 (*Thalassiosira pseudonana*) 以三角褐指藻为主^[4]; Regan 等^[5]详细地描述了在不同营养限制条件下, 微藻主导种与其它因子的关系; 扁藻竞争能力明显强于眼点微绿球藻^[7]; 微囊藻对栅藻的抑制能力是栅藻对微囊藻抑制能力的 7 倍^[3]; 角毛藻与金藻以角毛藻为控制种^[2]等都说明这一事实。在这种单一氮源培养模式下, 共培养的总细胞密度大多低于或接近于单种培养时其中一种微藻的细胞密度^[2, 3, 7], 但也有明显高于单种培养时 2 种微藻总细胞密度的现象^[4]。

根据本研究混合 N 源下的结果显示, 共培养下的总细胞密度低于单种培养扁藻与金藻细胞密度总和, 但明显比任一种单种培养高(表3), 这种比单种培养效率高的现象很可能是: (1) 扁藻和金藻各自优先利用不同 N 源, 这有利于共存^[6], 使各自取得较高的生长比速度; (2) 类似于高等植物中增铵营养 (Enhanced ammonium nutrition, 混合形态 N 营养) 作用, 促进了不同 N 源的 N 吸收, 提高了光合作用, 从而促进了生长^[21]; (3) 微藻在吸收不同 N 源的同时, 也释放出不同的胞外营养盐, 如 $\text{NO}_3\text{-N}$ 或 $\text{NH}_4\text{-N}$ 等^[19, 20], 这也可能改善了不同 N 源的合理利用; (4) 在单一 N 源下, 总细胞密度出现拐点(开始出现排斥现象)大约需 8 ~ 9 d^[2, 3], 但在 2 种微藻所需不同 N 源充足下(本试验不同处理总 N 质量浓度为 11.97 ~ 51.00 mg/L, 表2), 2 种微藻短期内就不会因营养的限制而产生竞争的情况^[6]。

3.2 共培养的调控

多种氮源下对共培养微藻的生长尚未有很好研究。根据本研究结果分析, $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NH}_2\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4\text{-N}$ 对金藻与扁藻的调节作用相反, 但效应大小不同(图2, 图3), 以 $\text{NH}_4\text{-N}$ 影响最大。寻优结果(表3)均为最大值说明高浓度下对维持扁藻和金藻较高的细胞密度有促进作用, 也可有效地延长培养时间^[9]。结合图2、图3不难分析, $\text{NO}_3\text{-N}$ 在共培养中对总细胞密度的作用出现抵消现象, 对最终体积比也无明显影响(方程3, 方程4); 而培养液中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 越高, 导致了金藻细胞密度越低, 总细胞密度也降低, 使得扁藻与金藻的体积比增加; $\text{NH}_2\text{-N}$ 在金藻中的效应差比在扁藻中的效应差大, 该效应差可明显增加总细胞密度, 但仍不足以显著改变最终的体积比(方程4)。

值得注意的是, 方程(3)与方程(4)存在相互约束的关系, 即 Y_r 和 Y_t 必须满足如下条件: 当 $Y_r = 0.094 + 0.014 X_v X_3^2$ 为特定值时, 总细胞密度 $Y_t = 799.545 + 2.386 X_2 X_v - 26.147 X_3 - 1.194 X_2 X_3$ 达到最大值。经优化计算, 当 2 种藻最终体积比 Y_r 固定时, 要得到

最大的 Y_r 主要通过 X_3 ($\text{NH}_4\text{-N}$) 进行调节, 而 X_3 越大时 Y_r 又越小。任取几个 Y_r 比值, 并约束寻优作出图 6, 可见, 随着 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的增加, 体积比增大而总细胞密度呈下降趋势。

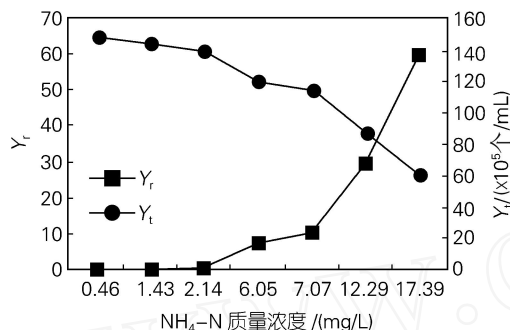


图 6 $\text{NH}_4\text{-N}$ 对 Y_r 和 Y_t 的调节作用

Fig. 6 Regulating effect of $\text{NH}_4\text{-N}$ on Y_r and Y_t

参考文献:

[1] Whyte J N C, Bourne N, Hodgson C A. Nutritional condition of rock scallop, *Crassadoma gigantea* (Gray), larvae fed mixed algal diets[J]. *Aquaculture*, 1990, 86:25-40.

[2] Phatarpekar P V, Sreepada R A, Pednekar C, et al. A comparative study on growth performance and biochemical composition of mixed culture of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans* with monocultures [J]. *Aquaculture*, 2000, 181:141-155.

[3] 陈德辉, 刘永定, 袁峻峰, 等. 微囊藻和栅藻共培养实验及其竞争参数的计算[J]. *生态学报*, 1999, 19(6):908-913.

[4] D'Elia C F, Guillard R R L, Nelson D M. Growth and competition of the marine diatoms *Phaeodactylum tricorutum* and *Thalassiosira pseudonana*. I. Nutrient effects[J]. *Marine Biology*, 1979, 50:305-312.

[5] Regan D L, Ivancic N. Mixed populations of marine microalgae in continuous culture: Factors affecting species dominance and biomass productivity[J]. *Bio-technology and Bioengineering*, 1984, 25:1 265-1 271.

[6] 崔启武, 刘家冈. 生物种群增长的营养动力学[M]. 北京:科学出版社, 1991. 107-113, 229-232.

[7] 陈洁, 段舜山, 李爱芬, 等. 眼点拟微绿球藻与扁藻在不同接种比例下的竞争[J]. *海洋科学*, 2003, 27(5):73-76.

[8] Turner M F. Nutrition of some marine microalgae with special reference to vitamin requirements and utilization of nitrogen and carbon sources[J]. *J Mar Biol Ass U K*, 1979, 59:535-552.

[9] 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.

[10] 孙军, 刘东艳, 钱树本. 浮游植物生物量研究 I. 浮游植物生物量细胞体积转化法[J]. *海洋学报*, 1999, 21(2):75-85.

[11] 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.

[12] Fabregas J, Abalde J, Herrero C. Biochemical composition and growth of the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) with different ammonium nitrogen concentrations as chloride, sulphate, nitrate and carbonate[J]. *Aquaculture*, 1989, 83:289-304.

[13] Fabregas J, Herrero C, Abalde J, et al. Growth, chlorophyll a and protein of the marine microalga *Isochrysis galbana* in batch cultures with different salinities and high nutrient concentrations[J]. *Aquaculture*, 1985, 50:1-11.

[14] 李文权, 黄贤芒, 陈清花, 等. 4 种海洋单胞藻生化组成的环境因子效应研究[J]. *海洋学报*, 1999, 21(3):59-65.

[15] 方开泰. 均匀设计与均匀设计表[M]. 北京:科学出版社, 1994. 1-52, 70.

[16] 彭昭英. 世界统计与分析全才 SAS 系统应用指南 (上册) [M]. 北京:希望电子出版社, 2000. 6-12, 317-366.

[17] 倪勤. SAS 最优化软件速成[M]. 北京:科学出版社, 1998. 25-39, 104-110.

[18] 胡忻, 王伟, 林均民. 光和无机氮盐对高盒形藻硝酸还原酶活性的影响[J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2000, 39(4):516-520.

[19] 高亚辉, 荆红梅, 黄德强, 等. 海洋微藻胞外产物研究进展[J]. *海洋科学*, 2002, 26(3):35-38.

[20] 朱明远, 牟学延, 李瑞香, 等. 三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricorutum*) 的亚硝酸盐释放及其生态学意义[J]. *青岛海洋大学学报*, 1991, 21(2):83-89.

[21] 戴廷波, 曹卫星, 荆奇. 氮形态对不同小麦基因型氮素吸收和光合作用的影响[J]. *应用生态学报*, 2001, 12(6):849-852.

[22] Camacho F, Molina E, Martinez M E, et al. Continuous culture of the marine microalga *Tetraselmis* sp. Productivity analysis[J]. *Aquaculture*, 1990, 90:75-84.

Effects of mixed nitrogen sources on growth of mixed culture and monoculture of *Platymonas subcordiformis* and *Isochrysis galbana*

ZHU Yi-feng, LIN Xia, ZHU Peng, LI Yang

(Faculty of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Received: Aug. 5, 2003

Key words : nitrogen source; *Platymonas subcordiformis*; *Isochrysis galbana*; mixed culture; monoculture; growth

Abstract : Uniform design was performed to examine effects of 3 mixed nitrogen sources on growths of mixed cultures and monocultures of *Platymonas subcordiformis* and *Isochrysis galbana*. The results showed the growth performances of *P. subcordiformis* and *I. galbana* in different treatments were significantly different ($P < 0.05$). In mixed culture, the experimental concentration of NaNO_3 had no effects on total cell density (Y_t) and volumetric ratio (Y_r), and the concentration of $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ had a positive influence upon Y_t , but the concentration of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ resulted in a negative effect on Y_t compared to the Y_r , which was sharply increased. When the cell volumetric ratio (X_v) of inoculative *P. subcordiformis* to *I. galbana* was 14.15 and each concentration of $\text{NH}_2\text{-N}$ and $\text{NH}_4\text{-N}$ was 21.01 mg/L, the optimum Y_t and Y_r got to $1\,508.9 \times 10^4$ cell/mL and 87.46, respectively. In monoculture of *I. galbana*, the nitrogen source of NaNO_3 was slightly better than that of $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, and both all had positive effects on growth of *I. galbana*. On the contrary, nitrogen source of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ was of inverse influence on the algal growth. According to the optimum result, the maximal cell density of *I. galbana* was 862.6×10^4 cell/mL when concentrations of $\text{NO}_3\text{-N}$ and $\text{NH}_2\text{-N}$ were given at 21.01 mg/L each. Meanwhile, in monoculture of *P. subcordiformis*, the contrary conclusions were also drawn while enriched the same nitrogen sources and concentrations in the monoculture medium. If the inoculative cell density and concentration of $\text{NH}_4\text{-N}$ were 4.6×10^4 cell/mL and 21.01 mg/L, respectively, the top cell density of *P. subcordiformis* can be got theoretically, which was 102.2×10^4 cell/mL.

(本文编辑:张培新)