

温度、氮浓度和氮磷比对长心卡帕藻 (*Kappaphycus alvarezii*)吸收氮速率的影响*

刘建国¹ 路克国^{1,2} 林伟¹ 庞通^{1,2} 王莉¹

(1. 中国科学院海洋研究所海洋生物技术研究与发展中心 青岛 266071;

2. 中国科学院研究生院 北京 100049)

提要 分别在室内培养箱、海滨室外跑道池和不同自然海区,通过一次性和半连续添加营养、以及检测海区水质和藻体生长的方法,研究了不同氮浓度、温度和氮磷比条件下,长心卡帕藻氮吸收速率的变化和氮吸收速率随时间变化,以及栽培该藻的环境生态贡献。小型实验、中试放大和海区规模栽培结果表明:(1)在 10—50 $\mu\text{mol/L}$ 范围内,该藻吸收氮速率随氮浓度增加而增大;(2)当氮浓度一定时,氮磷比在 1—50 范围内对该藻吸收氮速率没有产生显著影响($P>0.05$);(3)温度对该藻吸收氮速率有显著影响($P<0.05$),其中温度在 28 $^{\circ}\text{C}$ 时氮的吸收速率最高;(4)尽管一次性添加营养实验中长心卡帕藻吸收氮速率随时间变化表现出先快后慢的趋势,但是进一步的半连续添加营养实验证实,导致吸收速率下降系底物氮浓度限制,而不是藻本身吸收能力下降,结果还显示卡帕藻具有连续吸收同化无机氮能力;在自然光温度变化和不受底物浓度限制条件下,该藻藻体去除无机氮效率最大维持在 0.3 $\mu\text{mol}/(\text{gFW}\cdot\text{h})$;(5)海南陵水黎安海湾水质数据显示,栽培该藻去除海水富营养化和净化水质作用显著,其去除海水富营养化的年贡献为 33t 氮素。

关键词 长心卡帕藻,氮吸收速率,温度,氮浓度,栽培

中图分类号 X55

赤潮是当前海洋环境面临的严重问题之一,影响海洋水产养殖业的发展,对海洋生态环境造成很大危害(齐雨藻,1999)。海水富营养化是赤潮发生的基础条件之一,而引起海水富营养化的最主要原因是溶解在海水中的无机氮(DIN)含量过高,其次为过量的磷。因此,减少海水氮磷富营养化程度无疑会将降低赤潮发生几率。大型藻类个体大,生长快,可以大量吸收富营养化海水中的氮、磷等物质,与引发赤潮的微型浮游藻类竞争营养、光照及生存空间等,不仅去除海水富营养化,而且减少赤潮发生,保护海洋生态环境,确保海水养殖可持续健康发展。近年来,利用大型海藻防治海水富营养化的研究已经受到藻类界学者关注(Gao *et al.*, 1994; Troell *et al.*, 1999; Neori *et al.*, 1996)。

长心卡帕藻(*Kappaphycus alvarezii*)(曾用名异枝麒麟菜,俗称麒麟菜),属红藻门、真红藻纲、杉藻目、红翎菜科、卡帕藻属,是热带、亚热带多年生海藻(夏邦美等,1999;蔡玉婷,2004)。长心卡帕藻生长速度快,生物量大。据 Doty(1975)报道,一棵重 50g 的长心卡帕藻生长三个月后,重量可达 5kg,增长了 99 倍。吴超元等(1988)在我国海南岛进行的长心卡帕藻栽培试验表明,藻体在 6—7 月生长速度最快,平均日增重达 10%左右,即每 7 天左右可增加一倍。它是提取卡拉胶的重要原料,同时又是鲍鱼等海珍品优质新鲜饵料,具有较高的经济价值。国内外曾研究过长心卡帕藻的养殖条件和藻体成分(戚勃等,2005; Doty, 1973),也有该藻同珍珠贝混养方面的报道(吴汪黔生等,1997; Qian *et al.*, 1996)。但关于长心卡帕藻对海水

* 国家海洋公益项目资助, 200705010 号; 中国科学院方向性创新项目资助, L48032409D 号; 国家自然科学基金项目资助, 30771639 号。刘建国, 博士, 研究员, E-mail: jgliu@ms.qdio.ac.cn

收稿日期: 2007-06-12, 收修改稿日期: 2007-08-25

中 DIN 吸收速率及去除能力等尚不清楚。本文选择与海水富营养化和赤潮发生密切相关的温度、氮浓度和氮磷比,研究了上述因子变化对长心卡帕藻吸收 DIN 速率的影响,并结合室外半连续实验和自然海区检测数据,评估了栽培长心卡帕藻去除水体 DIN 的生态贡献。

1 材料与方法

1.1 材料及其培养

长心卡帕藻采自海南省陵水县黎安海湾,经清洗、去除藻体上杂物后,选取生长良好、部位一致的长心卡帕藻,用纱布或滤纸将藻体表面水分吸干。

1.1.1 室内实验 称 10g 长心卡帕藻放入装 1000ml 海水的三角瓶中(对照组无长心卡帕藻)。海水取自海南省三亚湾,盐度为 35, pH 为 8.2, 海水本底中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 为 $1.18 \mu\text{mol/L}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ 为 $1.37 \mu\text{mol/L}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ 为 $0.12 \mu\text{mol/L}$, $\text{PO}_4\text{-P}$ 为 $0.25 \mu\text{mol/L}$ 。

以 NH_4Cl 、 NaNO_3 、 NaNO_2 、 KH_2PO_4 制作不同营养盐浓度的培养液,其中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的比例为 10 : 10 : 1。在氮浓度和氮磷比影响实验中,总无机氮浓度设 10、20、 $30 \mu\text{mol/L}$ 三个梯度,氮磷比设 1、10、20、50 四个梯度,共 12 个氮浓度和氮磷比组合,实验时间为 4h,4h 后取水样分析氮含量;氮浓度和温度实验中,设 10、20、30、50、 $100 \mu\text{mol/L}$ 共 5 个氮浓度梯度,氮磷比为 10 : 1;在吸收动力学实验中,氮浓度设 10、20、30、50、 $100 \mu\text{mol/L}$,氮磷比为 10 : 1,实验时间 4h,每隔 1h 取水样测定氮浓度。

将三角瓶放入光照培养箱内培养,培养光强为 $(1000 \pm 50) \mu\text{E}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光周期为 12L : 12D,培养温度为 28 $^\circ\text{C}$,而温度实验中培养温度分别为 24 $^\circ\text{C}$ 、28 $^\circ\text{C}$ 、32 $^\circ\text{C}$ 。

1.1.2 室外半连续性实验 在海边人工修建露天跑道水池,水池面积 100m^2 ,每天更换海水 1 次,潜水泵取海水 50t 放入培养池中,保持水深 50cm。水体由水池内搅拌机搅拌,养殖藻密度为 10g/L 。每天添加氮磷 1 次,氮磷比保持在 10 : 1,实验期间氮浓度依次从 10 上升到 20、30、50 和 $100 \mu\text{mol/L}$,每 1 浓度实验重复 2 天。每天添加营养盐确定在 7 : 30,搅拌均匀后立即取样检测氮初始浓度。下午 17 : 30 取水样检测氮终浓度,计算 10h 内藻体吸收氮变化。每天日落之后换水 1 次。所用实验材料、海水及营养盐配制同室内实验。日水温在 24—29 $^\circ\text{C}$ 之间变化。太

阳光作为光源,光照时间为 $(13 \pm 1)\text{h}$ 。

1.1.3 海湾实验 海上工作在海南省陵水县黎安海湾进行。该海湾非常有特色,湾口狭窄,湾内水阔平静。该湾目前是典型大型海藻栽培区,只有长心卡帕藻一个养殖藻种,其他野生海藻基本没有发现。共选择 6 个站位,依次为居民活动频繁的湾底、海藻栽培的湾中部、虾塘、码头以及水交换的湾口和外海。每月固定在 20 日采水样分析无机氮含量变化。同时,在个体海藻栽培区中心和周边水域采集水样,分析其无机氮浓度的差异。另外,选择 8 株长心卡帕藻,定位标记后悬挂在海区藻类栽培软筏上,每月测定其在自然状况下的鲜重变化。

1.2 海水氮含量测定和吸收速率的计算

氨氮测定采用次溴酸钠氧化法,硝态氮测定采用铜-镉柱还原法,亚硝态氮测定采用 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法,上述测定方法参照《海洋监测规范》(国家质量技术监督局,1998)。无机氮含量为氨氮、硝态氮和亚硝态氮含量总和。

按下式计算无机氮吸收速率:

$$V = (C_1 - C_2) \times S \times (t_2 - t_1)^{-1} \times W^{-1}$$

式中, V 为吸收速率, C_1 为 t_1 时处理组培养液营养盐含量, C_2 为 t_2 时处理组培养液营养盐含量, S 为培养液体积, W 为实验所用长心卡帕藻鲜重。

1.3 数理统计

采用双因素方差分析法,开展氮浓度-氮磷比、氮浓度-温度实验结果统计分析。

2 结果与分析

2.1 氮磷比和氮浓度对长心卡帕藻氮吸收速率的影响

从表 1 可以看出,氮磷比值一定情况下,长心卡帕藻对氮的吸收速率随氮浓度升高而增大,从氮浓度 $10 \mu\text{mol/L}$ 时的 $0.18\text{—}0.19 \mu\text{mol}/(\text{gFW} \cdot \text{h})$ 上升至氮浓度 $30 \mu\text{mol/L}$ 时的 $0.48\text{—}0.52 \mu\text{mol}/(\text{gFW} \cdot \text{h})$;氮浓度一定,而氮磷比不同情况下,长心卡帕藻吸收氮速率基本没有明显变化,氮磷比值对长心卡帕藻吸收氮的影响不显著($P > 0.05$)。上述结果说明:影响长心卡帕藻氮吸收速率的是氮浓度,而不是氮磷比率。

另外需要指出,没有加入长心卡帕藻的对照组中,营养盐含量在实验过程中基本没有变化(总无机氮含量小于 $3 \mu\text{mol/L}$),反过来说明水体中氮浓度变化主要是长心卡帕藻作用的结果,而水体中存在的微生物作用比较微弱。

表 1 不同氮浓度下, 磷比对长心卡帕藻氮吸收速率的影响
Tab.1 Effects of N/P ratio on N uptake rates of *K. alvarezii* at different nitrogen concentrations

氮浓度($\mu\text{mol/L}$)	氮磷比			
	1 : 1	10 : 1	20 : 1	50 : 1
10	0.181 \pm 0.040	0.196 \pm 0.029	0.191 \pm 0.020	0.180 \pm 0.021
20	0.384 \pm 0.042	0.400 \pm 0.031	0.420 \pm 0.027	0.361 \pm 0.025
30	0.494 \pm 0.049	0.520 \pm 0.042	0.504 \pm 0.022	0.484 \pm 0.031

2.2 温度和氮浓度对长心卡帕藻氮吸收速率的影响

温度和氮浓度对长心卡帕藻吸收氮速率的影响如表 2。方差分析显示:(1) 温度对氮吸收速率有显著影响($P < 0.05$), 实验温度范围内, 28 时心卡帕藻的氮吸收速率最大, 24 时次之, 温度在 32 时氮吸收速率最低。(2) 氮浓度对长心卡帕藻吸收氮的速率有极显著的影响($P < 0.01$)。在不同温度条件下和 10—50 $\mu\text{mol/L}$ 氮浓度范围内, 长心卡帕藻对氮的吸收速率均随氮浓度升高而增大, 其中氮浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 时, 吸收速率最大为 0.69—0.93 $\mu\text{mol}/(\text{gFW} \cdot \text{h})$ 。但是氮浓度过高(100 $\mu\text{mol/L}$)情况下, 长心卡帕藻对氮的吸收速率明显下降, 只有 0.23—0.31 $\mu\text{mol}/(\text{gFW} \cdot \text{h})$, 过高浓度的无机氮对该藻吸收氮存在抑制现象。(3) 温度和氮浓度两者之间存在交互作用也非常显著($P < 0.05$)。长心卡帕藻对氮的吸收速率随温度变化的趋势因氮浓度不同而有差异, 氮浓度在 10—30 $\mu\text{mol/L}$ 内温度对该藻氮吸收影响差异不明显; 而在 50 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 的较高浓度下, 温度对该藻吸收氮速率影响比较明显。

表 2 不同氮浓度下, 温度对长心卡帕藻氮吸收速率的影响
Tab.2 Impact of temperature on N uptake rates of *K. alvarezii* exposed to different nitrogen concentrations

氮浓度($\mu\text{mol/L}$)	温度		
	24	28	32
10	0.181 \pm 0.022	0.195 \pm 0.024*	0.171 \pm 0.026
20	0.355 \pm 0.028	0.370 \pm 0.031**	0.305 \pm 0.032
30	0.535 \pm 0.039	0.562 \pm 0.041*	0.535 \pm 0.044
50	0.852 \pm 0.052**	0.927 \pm 0.049**	0.692 \pm 0.048
100	0.295 \pm 0.032	0.31 \pm 0.037*	0.233 \pm 0.026

*差异显著($P < 0.05$), **差异极显著($P < 0.01$)

2.3 长心卡帕藻氮吸收速率随时间的变化

长心卡帕藻对氮吸收速率随时间的变化如表 3。结果表明在 10—50 $\mu\text{mol/L}$ 氮浓度范围和同一时间段内, 长心卡帕藻对氮的吸收速率随氮浓度升高而增大, 这也进一步证实了表 1 结果。当氮浓度为

100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 氮吸收速率较 50 $\mu\text{mol/L}$ 时低, 前 3h 随时间延长而逐渐降低; 在第 4 小时氮吸收速率突然升高, 为 0.59 $\mu\text{mol}/(\text{gFW} \cdot \text{h})$, 比第 1 小时的吸收速率高出 34%, 对此目前尚不能解释其原因。

长心卡帕藻的氮吸收速率与时间因素有一定关系, 在第 1 个小时内, 氮吸收速率最大随后逐渐降低; 以 50 $\mu\text{mol/L}$ 氮浓度为例, 第 1 小时的吸收速率为 1.46 $\mu\text{mol}/(\text{gFW} \cdot \text{h})$, 分别是第 2、第 3、第 4 小时的 1.7 倍、1.9 倍、2.1 倍。该变化究竟是该藻同化氮能力下降造成的, 还是底物浓度下降导致的尚不肯定。如上结果(表 1、表 2 和表 3)所示, 底物浓度直接影响长心卡帕藻的氮吸收速率, 而实验过程中随时间延长底物浓度呈不断下降趋势。以 50 $\mu\text{mol/L}$ 氮浓度处理组为例, 第 1 小时中初始浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$, 第 2 小时内由于藻吸收起始浓度只有 35.4 $\mu\text{mol/L}$, 到第 4 小时浓度仅为 19.2 $\mu\text{mol/L}$ 。因此, 有必要开展添加实验, 以确定长心卡帕藻氮吸收速率随时间变化出现差异的原因。

表 3 不同氮浓度条件下, 长心卡帕藻的氮吸收速率随时间变化

Tab.3 Changes in nitrogen uptake rate of *K. alvarezii* along the time course exposed to gradient DIN

氮浓度($\mu\text{mol/L}$)	时间(h)			
	1	2	3	4
10	0.49 \pm 0.035	0.14 \pm 0.019	0.07 \pm 0.015	0.08 \pm 0.019
20	0.70 \pm 0.030	0.40 \pm 0.032	0.14 \pm 0.018	0.23 \pm 0.022
30	0.94 \pm 0.055	0.63 \pm 0.027	0.28 \pm 0.020	0.40 \pm 0.038
50	1.46 \pm 0.071	0.86 \pm 0.052	0.76 \pm 0.044	0.63 \pm 0.046
100	0.44 \pm 0.028	0.13 \pm 0.017	0.08 \pm 0.014	0.59 \pm 0.045

2.4 长心卡帕藻吸收无机氮的半连续性实验

在露天自然条件下, 通过扩大实验规模、延长时间和不断添加补充水体中的无机氮, 比较客观地反映了长心卡帕藻对氮的吸收情况(图 1)。结果首先表明, 就氮吸收速率而言, 随着底物浓度上升, 长心卡帕藻同化氮能力没有出现下降, 相反从 1—8 天始终

呈不断上升趋势。该结果证实表3长心卡帕藻的氮吸收速率下降的原因不是时间因素，也不是藻体本身同化氮能力下降，而是底物浓度低限制了该藻吸收氮速率的正常表达。

前6天的初始氮浓度逐步从10 $\mu\text{mol/L}$ 提高到20和30 $\mu\text{mol/L}$ ，经过10h吸收后，水体中剩余的无机氮分别只有0.8、1.9和5.2 $\mu\text{mol/L}$ ，也就是说藻对氮的去除率都在80%以上，氮浓度均降到6 $\mu\text{mol/L}$ 以下，海水氮指标达到国家一级水质标准。从7天开始，初始氮浓度上升到50和100 $\mu\text{mol/L}$ ，10h内藻体不受氮底物限制，藻体去除无机氮效率基本上维持在0.28 $\mu\text{mol}/(\text{gFW}\cdot\text{h})$ 左右[最大为0.30 $\mu\text{mol}/(\text{gFW}\cdot\text{h})$]，这基本上反映出长心卡帕藻在自然状态下的最大同化氮能力(图1)。长心卡帕藻在自然状态下的实际同化氮能力主要取决于水体中的氮浓度，从图1可以看出起始氮浓度在10、20和30 $\mu\text{mol/L}$ 时，该藻实际同化氮能力受底物限制而达不到最大同化氮能力，分别只有0.1、0.2和0.25 $\mu\text{mol}/(\text{gFW}\cdot\text{h})$ 。

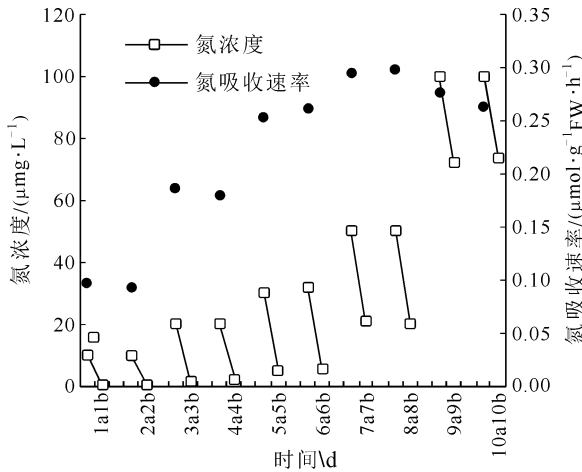


图1 室外半连续实验，氮浓度和吸收速率随氮浓度变化
Fig.1 N concentration variation and N uptake rates of *K. alvarezii* in outdoor semicontinuous experiments
图中横坐标数字代表天数，a表示初始浓度，b表示吸收后的浓度

2.5 海湾检测实验

海南省黎安海湾周年海水无机氮监测数据变化(图2)。结果表明：(1) 受到季节性降雨、海藻栽培面积、潮汐和水流变化、人为活动和人工栽培施肥等系列因素综合影响，该海域DIN含量呈现出不断变化。在DIN中NH₃-N、NO₃-N、NO₂-N的比例基本上维持在9:11:0.5(比较接近于室内实验和半连续实验中人工配比10:10:1)。(2) 从总体上讲，无机氮在居民生活和农业活动的海湾湾底部最多，经过海藻

栽培的湾中部、虾塘到码头、以及水交换的湾口和湾外，海水中无机氮含量呈逐级下降的趋势。(3) 各位点DIN含量年际变化呈先降低后升高。3月—8月DIN含量下降，该期水温从23左右上升到28左右，为长心卡帕藻最适宜生长的温度，8月份DIN含量降到最低，然后DIN含量伴随着水温下降和藻体生长变慢而呈上升趋势，到2月DIN达到一个较高点。(4) 占海湾面积最大的中部地区全年栽培长心卡帕藻，其无机总氮含量维持在(19±2) $\mu\text{mol/L}$ ，水质完全达到国家2级海水标准；海水流过一片养殖海藻区后无机氮含量也有明显下降。总之海藻栽培量(或者生长速率)与DIN含量间存在明显反比关系，说明长心卡帕藻从海水中大量吸收无机氮，可降低海域富营养化程度。

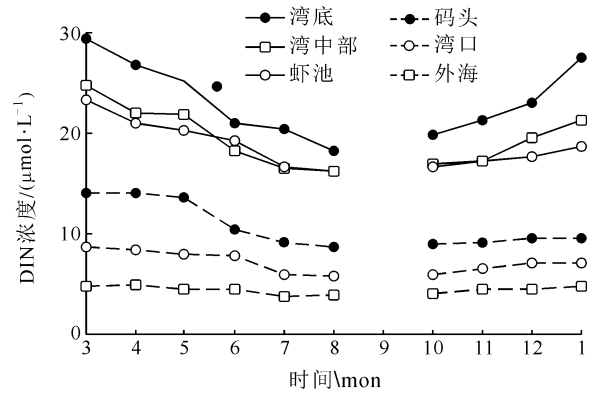


图2 海南省黎安海湾不同站位水质无机氮含量变化
Fig.2 DIN variation of the natural seawater at different stations in Li'an Bay, Hainan

最近7年来，黎安海湾水域实行规划管理，栽培长心卡帕藻和水道等面积基本没有变化，有3000亩海藻栽培水面，年收获干藻产量维持在3000多t左右。按照6kg鲜藻晒干获得1kg干藻折算，3000t干藻产量相当于18000t鲜藻。也就是平均日产50多t左右的鲜藻量，才能维持全年3000多t干藻产量。

在黎安海湾水域，长心卡帕藻生长速率受到季节、温度、光照和海区中DIN变化影响而有很大的变化。其中，春夏季比生长速率比较快，日生长速率可达到6%左右；而在秋末和冬季生长较慢，日生长速率降到3.8%左右。通过对标记的长心卡帕藻生长连续跟踪，海区藻体在主要栽培季节的平均日生长速率约为5%，全年(包括冬季)平均日生长速率基本在4.5%左右。

综上所述，在海南省陵水县黎安海湾海区始终

保持有 1100t 鲜重左右藻体, 在日均生长速率平均 4.5% 的情况下, 全年每天可生产出鲜藻 50 多 t, 全年 18000 多 t 鲜品(或 3000 多 t 干品)。卡帕藻栽培主要集中在海湾中部, 无机氮始终维持在 $19\mu\text{mol/L}$ 左右(图 2), 卡帕藻吸收无机氮并没有受到底物浓度的限制而全年可始终维持最大同化氮能力 $0.3\text{mol}/(\text{tFW} \cdot \text{h})$ 。因此, 栽培的长心卡帕藻每小时从海区总共吸收 330mol 的 N(约合 4.6kg 氮)。

刘建国等(2006)研究数据显示, 藻体在黑暗中也有很高的吸收 DIN 能力, 黑暗对 DIN 吸收速率只有微弱的降低作用。因此即使相对保守地按照每天吸收时间 20h 计算, 1 年内栽培该藻可从该海区 DIN 中吸收约 33t 的纯氮素(相当于 72t 尿素中的氮量)。

在海南省陵水县黎安海湾相对封闭, 湾内风平浪静, 历史上曾经是非常好的水产养殖生产海水珍珠的地区。由于忽视海藻生态作用、加上水交换差, 海水富营养化一度非常严重, 赤潮频繁发生, 病害连连并最终导致整个珍珠养殖产业彻底溃败。近年来该海区非常重视长心卡帕藻栽培产业, 形成家家户户栽培长心卡帕藻的新局面, 在不用施肥不打虫药的情况下, 以很少的投资获得客观的经济效益, 同时海水质量已经明显好转, 基本上不存在赤潮危害, 全年水质保持在 1—2 级国家海水质量标准, 产生了明显的生态效益。

3 讨论

研究发现, 藻类对氮的吸收速率与多种因素有关, 其中环境氮磷比值对藻类吸收氮速率有重要影响, 江篱(*Gracilaria tikvahiae*)和海带(*Laminaria longicruris*)同化氮磷的比例为 $N:P=30:1$ (Gao *et al.*, 1994)。Reynolds(1984)认为适宜于藻类生长的氮磷比为 7—15, 而当氮磷比小于 5 时, 就会引起氮限制。本实验结果显示, 氮浓度一定时, 氮磷比对长心卡帕藻吸收氮的速率影响不显著($P>0.05$)。长心卡帕藻吸收无机氮并非氮磷比固定在 30:1 时最高, 该藻吸收无机氮速率在氮磷比 1 到 50 范围内基本一致, 主要取决因素是无机氮浓度。

在氮浓度 $10\text{—}50\mu\text{mol/L}$ 范围内, 长心卡帕藻对氮的吸收速率随氮浓度的升高(或藻体同化吸收利用氮底物增加)而增加。硝酸还原酶是一种底物诱导酶, 广泛存在于光合自养生物中, 可将 NO_3^- 还原成 NO_2^- , 温度和无机氮盐对其活性具有重要的调节作用(Solomonson *et al.*, 1990)。硝态氮作为底物对 NR 有诱

导作用, 一定浓度的 NO_3^- 可以提高 NR 活性, 但是 NO_3^- 浓度过高反而抑制 NR 活性。关于该藻硝酸还原酶活性随底物浓度、温度和时间变化状况, 将另文予以介绍。

至于 $100\mu\text{mol/L}$ 时, 长心卡帕藻吸收氮速率有所下降(表 3、图 1), 可能与底物浓度过高开始产生抑制, 特别是在室外高光强下过高的氨氮(大于 $50\mu\text{mol/L}$)引起氨毒害。因此, 初步判断氮浓度 $100\mu\text{mol/L}$ 为藻吸收速率的一个限点, 氮底物浓度超过 $100\mu\text{mol/L}$ 对藻吸收氮产生的抑制作用将更严重。

温度影响藻类的光合作用及生长活动, 进而影响藻类对营养盐的吸收。当温度从 12°C 上升到 22°C 时, 海带(*Laminaria saccharina*)的最大光合速率明显下降(Gerard, 1997)。本实验所设的温度下, 长心卡帕藻对海水氮的吸收速率随温度变化有较大差异。温度影响长心卡帕藻的生长状况, 进而影响藻对营养盐的吸收。吴超元等(1988)研究发现, 自然条件下, 适合长心卡帕藻生长的水温为 $25\text{—}30^\circ\text{C}$, 如果在 24°C 以下, 则生长速度减慢; 室内恒温培养实验也获得类似结果, 26°C 培养的长心卡帕藻生长最快, 22°C 和 30°C 次之。本实验和海区状况检测结果也证实, 长心卡帕藻对氮的吸收速率与这种红藻的生长适宜条件有关, 28°C 条件下的氮吸收速率比 24°C 和 32°C 下的吸收速率高, 说明温度过低、过高都不利于藻对无机氮的吸收。长心卡帕藻对氮最适吸收温度与该藻适宜生长温度基本一致。

一般而言, 外界氮等营养盐丰富时, 海藻吸收的无机氮超过了维持最大生长速率所需要的氮, 能先把它们积累在体内。当受到外界营养亏缺胁迫时, 海藻则利用积累的氮来维持生长(Mcglathery *et al.*, 1996)。Pedersen(1994)把野外生长的石莼(*Ulva lactuca*)置于高浓度氨氮介质中, 起始 15min 内对氨氮的吸收超过其对氮需求量的 20 倍。Harrison 等(1989)研究测定吸收动力学, 认为吸收过程是由藻体内氮水平所调节, 开始阶段吸收较快, 随后几个小时(大约 4—8h)氮吸收速率下降并维持在相对恒定水平。本实验长心卡帕藻在天然海水中预培养了一段时间, 其中氮含量较低(无机氮在 $2.7\mu\text{mol/L}$ 左右), 相当于对藻进行了氮饥饿处理, 因此, 尽管表面上长心卡帕藻在最初时间内对氮吸收速率很快, 在补偿藻体内氮库亏空现象后随后降低。但是半连续实验并不支持短期快吸收之后出现相对稳定的慢吸收阶段, 相反只要底物量充足, 该藻仍然维持很高的吸收 DIN 速率。

室外实验和室内实验相比,氮吸收速率有所降低,主要原因是藻的培养条件发生改变,光照和温度都不一样。室内实验的光照和温度比较稳定,并且适合藻类生长,而在室外,光照和温度存在一定范围内的波动,进而影响藻类生长和导致氮吸收速率下降。

4 结论

(1) 长心卡帕藻吸收无机氮功能,在低氮浓度范围内(10—50 $\mu\text{mol/L}$)氮浓度增加,吸收速率增大;氮浓度一定时,氮磷比对长心卡帕藻氮吸收速率影响不显著;

(2) 温度对长心卡帕藻吸收氮营养速率有较大影响,28℃条件下,吸收速率最大;

(3) 长心卡帕藻具有连续吸收无机氮能力,在一次添加营养实验中,吸收速率随时间延长而变慢是由于氮浓度下降导致的假象。如果始终保持足够底物浓度,该藻氮吸收速率可长期保持。在海南自然海区和光温条件下,该藻去除 DIN 效率维持在 0.3 $\mu\text{mol}/(\text{gFW} \cdot \text{h})$ 。

(4) 海南陵水黎安海湾水质数据显示,长心卡帕藻栽培区无机氮明显下降,具有去除海水富营养化和净化水质功能。栽培该藻每年可生产 3000t 干藻产品,从海湾中去除 33t 氮素,在净化水质方面发挥出重要的生态作用。

致谢 本实验工作获得中国科学院南海海洋研究所三亚热带海洋生物实验站和海南省陵水县黎安海天实业有限公司大力支持,谨致谢忱。

参 考 文 献

- 刘建国,王增福,路克国等,2006. 4种大型海藻去除海水无机氮能力的比较. 海洋与湖沼, 37(增刊): 254—262
- 齐雨藻,1999. 赤潮. 广州: 广东科技出版社, 54—55
- 吴汪黔生,高洪峰,丁美丽等,1997. 合浦珠目贝代谢产物对异枝麒麟菜生长的促进作用. 海洋与湖沼, 28(5): 453—457
- 吴超元,李家俊,夏恩湛等,1998. 异枝长心卡帕藻的移植和人工栽培. 海洋与湖沼, 19(5): 410—418
- 国家质量技术监督局,1998. 中华人民共和国国家标准 (GB17378.4-1998). 海洋监测规范. 第四部分 海水分析. 北京: 中国标准出版社, 152—159
- 夏邦美,张峻甫,1999. 中国海藻志,第二卷,第五册. 北京: 科学出版社, 126—128
- 戚 勃,李来好,章超桦,2005. 长心卡帕藻的营养成分分析及评价. 现代食品科技, 21(1): 115—117
- Doty M S, 1973. Farming the red seaweed, *Euclima*, for carrageenans. *Micronesica*, 9(1): 59—73
- Doty M S, 1975. Status, problem, advances and economics of *Euclima* farms. *Mar Tech Soc J*, 9(4): 30—35
- Gao K, Mckinley K R, 1994. Use of macroalgae for marine biomass production and CO₂ remediation: a review. *J Appl Phycol*, 1: 45—60
- Gerard V A, 1997. The role of nitrogen in high-temperature tolerance of the kelp *Laminaria saccharina*. *Journal of Phycology*, 33(5): 800—810
- Harrison P J, Parslow J S, Conway H L *et al*, 1989. Determination of nutrient uptake kinetic parameters: a comparison of methods. *Mar Ecol Prog Ser*, 52: 301—312
- Mcglathery K J, Pedersen M F, Borum J, 1996. Changes in intracellular nitrogen pools and feedback controls on nitrogen uptake in *Chaetomorpha linum* (chlorophyta). *J Phycol*, 32(3): 393—401
- Neori A, Krom M D, Ellner S P *et al*, 1996. Seaweed biofilters as regulators of water quality in integrated fish-seaweed culture units. *Aquaculture*, 141: 183—199
- Pedersen M F, 1994. Transient ammonium uptake in the macroalgae *Ulva lactuca* (chlorophyta) — nature, regulation, and the consequences for choice of measuring technique. *J Phycol*, 30(6): 980—986
- Qian P Y, Wu C Y, Wu M *et al*, 1996. Integrated cultivation of the red alga *Kappaphycus alvarezii* and the pearl oyster *Pinctada martensi*. *Aquaculture*, 147: 21—35
- Reynolds C S, 1984. The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge: Cambridge University Press, 151
- Solomonson L P, Barber M J, 1990. Assimilatory nitrate reductase: Functional properties and regulation. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 41: 225—253
- Troell M, Ronnback P, Halling C *et al*, 1999. Ecological engineering in aquaculture: use of seaweeds for removing nutrients from intensive mariculture. *J Appl Phycol*, 11: 89—97

EFFECTS OF TEMPERATURE, NITROGEN CONCENTRATION AND N/P RATIO ON N UPTAKE RATES OF *KAPPAPHYCUS ALVAREZII*

LIU Jian-Guo¹, LU Ke-Guo^{1,2}, LIN Wei¹, PANG Tong^{1,2}, WANG Li¹

(1. R & D Center of Marine Biotech, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071;

2. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049)

Abstract *Kappaphycus alvarezii*, a kappa-carrageenan enriched red marine alga, were cultivated indoor in flask bottles and outdoor in open runway ponds in Sanya, and Li'an Bay in Lingshui, Hainan. The effects of temperature, nitrogen concentration and N/P ratio on N uptake rates of *K. alvarezii* and temporal variation of the rate were studied in batch with semi-continuous adding of different concentrations of nutrients (the proportion of NH₃-N : NO₃-N : NO₂-N was 10 : 10 : 1 quite close to that of local natural seawater), and the environmental remediation to large scale cultivation of *K. alvarezii* in tropic marine was estimated. The results showed that the N uptake rates of *K. alvarezii* improved with the increase in initial dissolved inorganic nitrogen (DIN) in range of 10—50 μmol/L. However, 100 μmol/L DIN inhibited the N uptake rates due probably to ammonia toxicity, especially when this seaweed incubated at high temperature and strong natural sunshine. The DIN uptake rates were independent on N/P ratio in range of 1—50 ($P > 0.05$). Temperature influenced significantly the N uptake rates ($P < 0.05$), and the highest DIN uptake rate occurred at 28 °C with high growth rate. The DIN uptake surged in the first hour and then slowed down in batch culture due to substrate deficiency instead of the gradual weakening uptake ability of the algae. In fact, the DIN uptake ability was well maintained without DIN limitation for a long period, as shown clearly in our experiment. The maxima DIN uptake ability exposed to natural tropic sunshine and temperature was about 0.3 μmol/(gFW · h) with enough DIN supply. DIN concentration obviously decreased once eutrophicated seawater flowed through the cultivation area in Li'an Bay, demonstrating that the algae were able to absorb N for purifying marine seawater. By calculation, in Li'an Bay, at least 50t of fresh *K. alvarezii* could be harvested daily, and about 1100t of fresh *K. alvarezii* biomass could be raft cultivated annually, which would be about 33t of nitrogen or equally 72t urea removal from the bay. Therefore, cultivation of *K. alvarezii* was not only feasible for carrageenan production, but also eco-friendly to the environment to ease eutrophication.

Key words *Kappaphycus alvarezii*, Nitrogen uptake rate, Temperature, Nitrogen concentration, Cultivation