

DOI: 10.3724/SP.J.1035.2010.00517

N、P 营养盐胁迫对两株布朗葡萄藻生长的影响

孙凯峰 胡章喜 段舜山

(暨南大学水生生物研究中心, 广东省教育厅水体富营养化与赤潮防治重点实验室, 广州 510632)

摘要: 采用批次培养方法, 在光照强度 60、110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 下分别设置了 7 个不同的氮、磷浓度(N: 0—3500 $\mu\text{g}/\text{L}$, P: 15—775 $\mu\text{g}/\text{L}$), 研究两株布朗葡萄藻(*Botryococcus braunii*)对氮、磷胁迫的敏感性差异, 筛选高营养利用效率的优良藻株。结果表明: 两株藻对氮磷营养胁迫的耐受性存在差异, *B. braunii* 764 株对氮胁迫具有较高耐受性, 而 *B. braunii* 765 株对磷胁迫具有较高耐受性。光照强度 110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, 不同氮浓度下 *B. braunii* 764 株其平均生长速率均显著高于其他各处理组; 不同磷浓度下 *B. braunii* 765 株其平均生长速率显著高于 *B. braunii* 764 株。在试验设定的光照强度条件下, 适当增加光照强度能够显著降低氮胁迫对布朗葡萄藻生长的抑制效应。在光照强度 110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 下, 氮浓度 3500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时两株布朗葡萄藻平均生长速率与在正常 Chu-10 培养基条件下无显著差异。磷浓度 775 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时两株布朗葡萄藻的平均生长速率均显著低于正常 Chu-10 培养基条件, 增加光照强度对磷胁迫下藻细胞的生长无显著作用。两株布朗葡萄藻在第 2 天时磷吸收与初始磷浓度呈正相关关系, 氮吸收在 3500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时出现饱和现象。布朗葡萄藻的生长更容易受到培养基中磷营养胁迫的影响。

关键词: 布朗葡萄藻; 光照; 氮; 磷

中图分类号: Q142 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2010)03-0517-08

布朗葡萄藻又被称为“油藻”, 因其富含与石油结构相似的烃类而成为关注焦点^[1]。目前对布朗葡萄藻研究主要集中在优化培养条件, 筛选适宜培养基种类及氮、磷等元素浓度并最终实现高密度化培养上^[2-4]。实验室内研究适宜其生长和烃合成的 N、P 浓度在不同株系间差异较大^[5], Dayananda, *et al.* 研究表明, 布朗葡萄藻最佳产烃的营养盐条件为 0.16 g/L 磷酸盐、0.05 g/L 硝酸盐、0.10 g/L 硫酸盐和 0.025 g/L 柠檬酸盐, 此时烃含量可以达到干重的 50%^[6]。*B. braunii* 764、765 株对 4 种形态氮源的适宜范围不同, 其中对 NO_3^- 适宜浓度范围分别为 2—10 mmol/L、1—8 mmol/L^[7]。1980 年澳大利亚 Darwin 水库中布朗葡萄藻“水华”时不同层面上 NH_4^+ 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 、TP 的含量情况是, 表层 0.1、1.2、nd、0.45 $\mu\text{g}/\text{L}$; 底层 4.5、0.5、nd、0.4 $\mu\text{g}/\text{L}$; 沉积层 0.35、3.35、nd、0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ ^[8]。澳大利亚皮尔河流域的 Chaffey 大坝监测到 *B. braunii* 水华, 可溶性磷酸盐含量显示并不存在 P 限制^[9]。雨生红球藻在营养盐胁迫下的

研究表明: 氮营养减半时藻细胞增殖和色素积累都表现出促进现象, 高光强对氮胁迫下藻细胞分裂具有显著抑制效应但色素积累却显著提高^[10]。Zhila, *et al.* 研究证实氮缺乏对 *B. braunii* Kütz IPPASH-252 株藻细胞内脂类组成、含量具有显著影响, 藻细胞主要积累甘油, 胞内油酸和饱和酸类含量增加显著。同时, 氮胁迫时间不同, 胞内脂类各组分在不同时间出现最大值^[11]。N、P 营养盐是微藻生长、繁殖过程中重要的环境因子, 且布朗葡萄藻在 N、P 营养缺乏的自然水体中即可发生“水华”。本文以两株布朗葡萄藻为研究对象, 试图通过研究其在低氮、低磷胁迫下的生长及 N、P 吸收, 揭示布朗葡萄藻株间生态位差异, 寻找高耐受性、高营养盐利用效率的优良藻株, 为进一步开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验藻种及培养基

布朗葡萄藻 764 株和 765 株均由中国科学院水

收稿日期: 2009-02-16; 修订日期: 2009-12-02

基金项目: 国家自然科学基金(40876074, 30770336, 30370231); 珠海市科技计划重点项目(PC20061045)资助

作者简介: 孙凯峰(1983—), 男, 汉族, 山东人; 硕士研究生; 主要从事微藻生理生态学研究。E-mail: kfsun110@126.com

通讯作者: 段舜山, E-mail: tssduan@jnu.edu.cn

生生物研究所淡水藻种库提供, 采用 Chu-10 培养基为基础培养基。

1.2 实验设计

鉴于两株布朗葡萄藻对光照需求存在一定差异, 光照强度分别设置 60 和 110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 。分别研究布朗葡萄藻 764 和 765 在 7 个不同氮或磷单因子胁迫下的响应及对氮磷的吸收。氮浓度分别为 0、140、350、700、1050、1400、3500 $\mu\text{g}/\text{L}$ (正常 Chu-10 培养基中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量 14000 $\mu\text{g}/\text{L}$); 磷浓度分别为 15.5、38.75、77.5、116.25、155、387.5、775 $\mu\text{g}/\text{L}$ (正常 Chu-10 培养基中 $\text{PO}_4\text{-P}$ 含量 1550 $\mu\text{g}/\text{L}$), 其他成分和含量同 Chu-10。

氮或磷饥饿培养的布朗葡萄藻 764 和 765, 经两个周期共 7d 的预培养后离心收集。离心(3500 r/min, 10min, 20 $^{\circ}\text{C}$)后去上清液, 再用不添加 N、P 的培养基清洗 3 次, 准备接种。培养基中氮或磷的添加采用稀释法, 分装后培养液体积为 200 mL (250 mL 三角瓶), 低氮处理组接种后 A_{680} 为 0.085, 低磷处理组 A_{680} 为 0.045。试验藻种放置于 CC275TL2H 型人工气候培养箱中进行批次培养。光照强度为 60、

110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, 分别用 L 和 H 表示。光暗周期为 12:12, 温度为(24 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$, 通过测定藻液的吸光值和培养液中氮磷变化观察其生长情况。每个实验设置 3 个平行, 每天摇瓶至少 3 次。

1.3 生长指标测定

细胞生长的测定 采用 UV-2450 型紫外-可见分光光度计测定藻液在 680 nm 波长处的吸光值, 用 A_{680} 表征细胞生长情况。平均生长速率=($A_t - A_0$)/ t , 单位为 OD/d。

培养液中氮($\text{NO}_3\text{-N}$)、磷($\text{PO}_4\text{-P}$)浓度测定 采用连续流动化学分析仪 AutoAnalyzer3 (德国 BRAN+LUEBBE)测定。

1.4 数据统计

采用 EXCEL2003, 分析采用 SPSS13.0 (General Linear Model)。

2 结 果

2.1 低磷胁迫下布朗葡萄藻 764、765 的生长

低磷胁迫下, 布朗葡萄藻 764、765 在两种光照强度下的生长曲线(图 1)。在磷浓度 15.5—775 $\mu\text{g}/\text{L}$

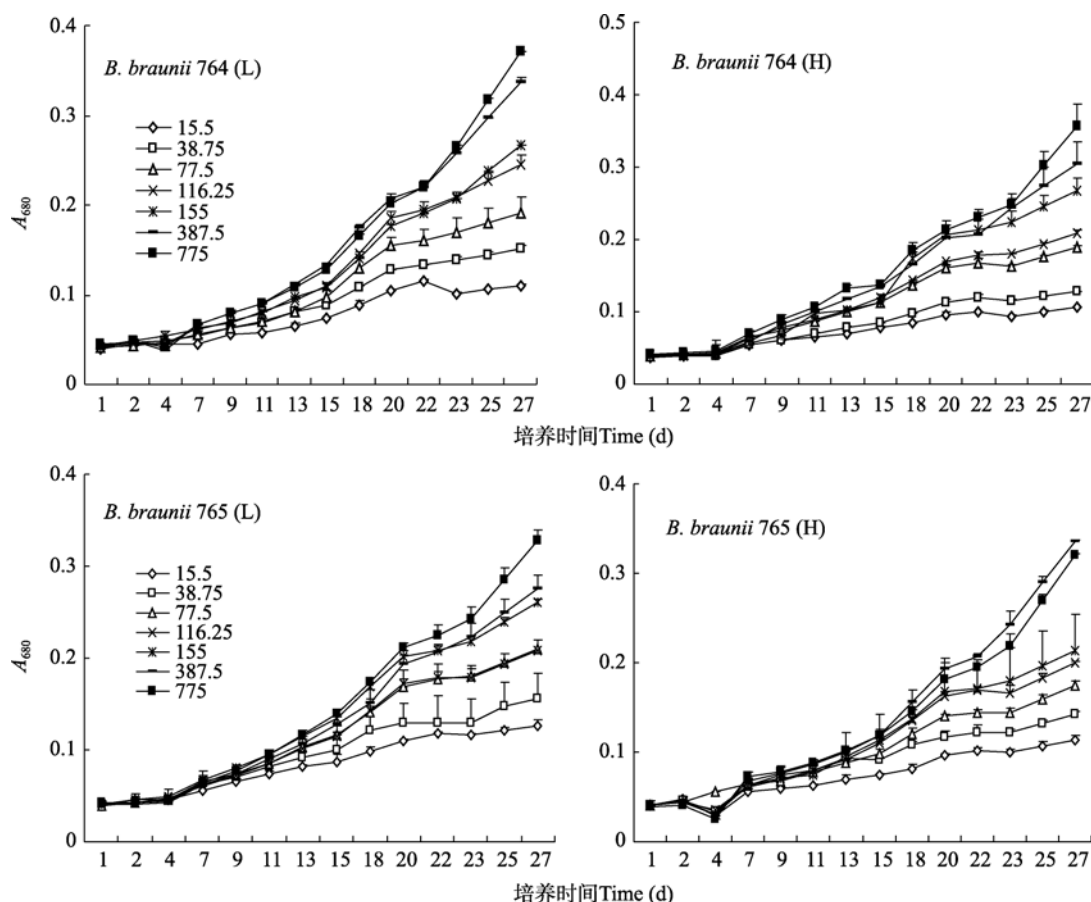


图 1 在光照强度 60(L)、110(H) $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 下布朗葡萄藻在低磷($\mu\text{g}/\text{L}$)胁迫下的 A_{680}
Fig. 1 A_{680} of *B. braunii* 764 and 765 under P ($\mu\text{g}/\text{L}$) stress and two light intensities (L, H)

范围内, 布朗葡萄藻的生长与磷浓度呈正相关关系。在磷浓度 15.5 和 38.75 $\mu\text{g/L}$ 条件下藻细胞始终呈淡黄色, 其他处理组接种后第 7 天细胞颜色变绿, 第 11 天藻细胞颜色再次转变为淡黄色。在光照强度 60 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ 下, 布朗葡萄藻 764、765 最大 OD 值分别为 0.370、0.328; 在光照强度 110 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ 下, 布朗葡萄藻 764、765 最大 OD 值分别为 0.336、0.360。

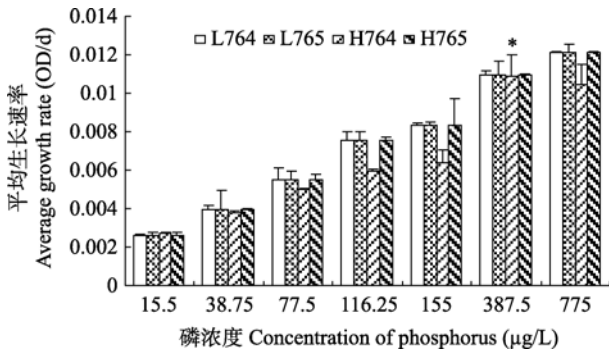


图 2 光照 60 (L)、110 (H) $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ 布朗葡萄藻 764、765 在低磷胁迫下的平均生长速率(OD/d)

Fig. 2 The average growth rate (OD/d) of *B. braunii* 764 and 765 under P ($\mu\text{g/L}$) stress at two light intensities

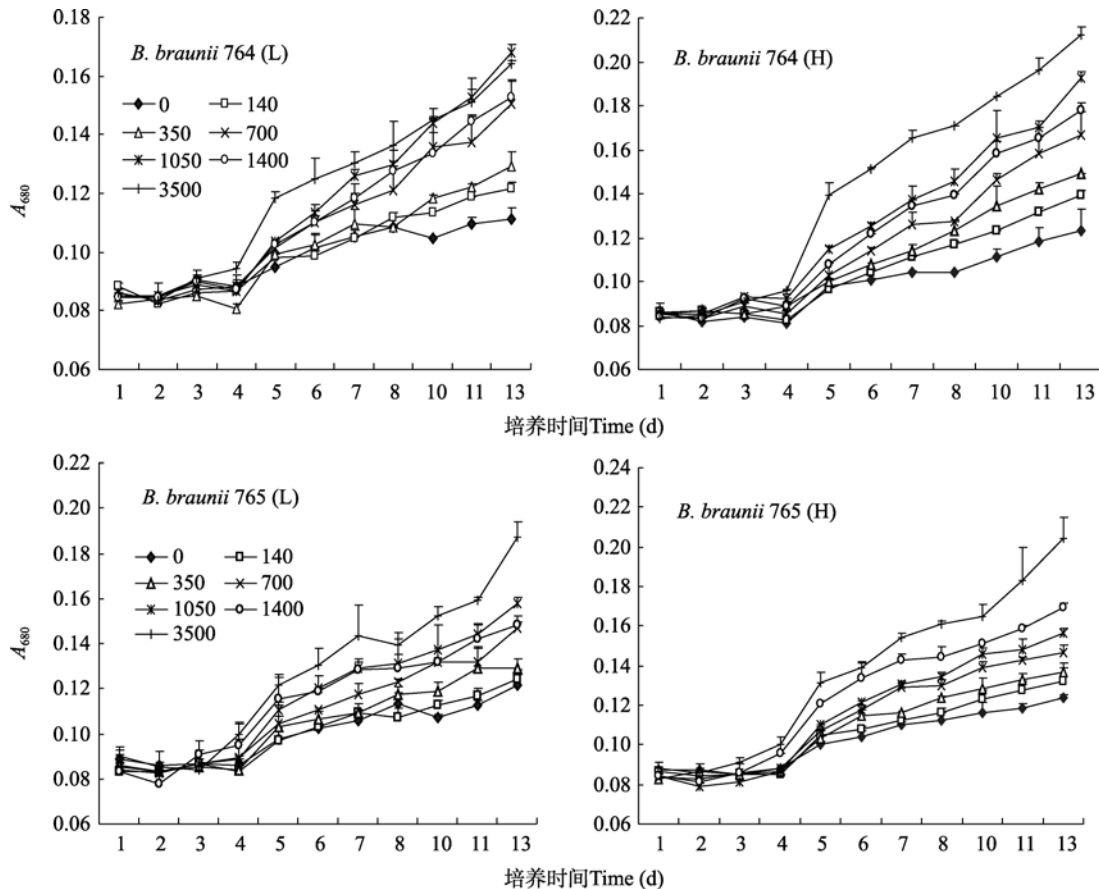


图 3 在光照强度 60 (L)、110 (H) $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ 下, 布朗葡萄藻在低氮($\mu\text{g/L}$)胁迫下的 A_{680}

Fig. 3 A_{680} of *B. braunii* 764 and 765 under different concentration of N ($\mu\text{g/L}$) and two light intensities (L, H)

在两种光照强度下布朗葡萄藻在不同磷浓度处理中的平均生长速率(图 2)。两株布朗葡萄藻平均生长速率随磷浓度增加而增加。光照强度为 60 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$, *B. braunii* 764、765 在磷浓度 775 $\mu\text{g/L}$ 下的平均生长速率均为 15.5 $\mu\text{g/L}$ 下的 4.7 倍。光照强度为 110 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$, *B. braunii* 764、765 在磷浓度 775 $\mu\text{g/L}$ 下平均生长速率分别为 15.5 $\mu\text{g/L}$ 下的 3.9 倍和 4.7 倍。在磷胁迫下布朗葡萄藻各处理组中, 仅 *B. braunii* 764 在光照强度 110 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ 下的平均生长速率显著低于其他磷胁迫处理组($P < 0.05$), 其他磷胁迫处理组无显著差异。

2.2 在低氮胁迫下布朗葡萄藻 764、765 的生长

低氮胁迫对布朗葡萄藻藻细胞颜色影响更明显。在氮浓度低于 500 $\mu\text{g/L}$ 处理组中, 经氮饥饿处理的淡黄色藻细胞颜色无显著变化, 其他处理组颜色变化持续时间较短。藻细胞从第 2 天开始变绿, 第 5 天又逐渐变为淡黄色。低氮处理组布朗葡萄藻的生长与氮浓度呈正相关关系。在光照强度 110 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ 下, 布朗葡萄藻 764、765 的最大 A_{680} 分别为 0.213 和 0.204; 而在 60 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ 下, 最大 A_{680}

分别为 0.164 和 0.187, 光照强度增加在一定程度上促进了低氮条件下布朗葡萄藻的生长。光照强度 110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, 氮浓度 3500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 处理组布朗葡萄藻 764 生长最佳(图 3)。

B. braunii 764、765 平均生长速率在不同氮浓度处理下具有显著差异(图 4)。光照强度为 60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, *B. braunii* 764、765 最大平均生长速率分别是在光照强度 110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 下的 60% 和 84%。在不同氮胁迫强度下, 两株布朗葡萄藻在光照强度 60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 时的平均生长速率无显著差异; *B. braunii* 764 在光照 110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 时的平均生长速率均显著高于其他各处理组($P<0.05$)。

2.3 布朗葡萄藻 764、765 在低磷胁迫下的磷吸收

经过饥饿培养后的布朗葡萄藻对磷的吸收速率随着培养基中磷浓度增加而增加, 未表现出磷饱和和吸收现象(图 5)。光照强度为 60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, *B. braunii* 764、765 第 2 天磷的吸收速率(Y)与起始磷浓度(X , $\mu\text{g}/\text{L}$)的回归方程分别为: $Y_{764}=0.8825X_p-23.6994$ ($R^2=0.9989$), $Y_{765}=0.8598X_p-11.4226$ ($R^2=0.9997$); 光

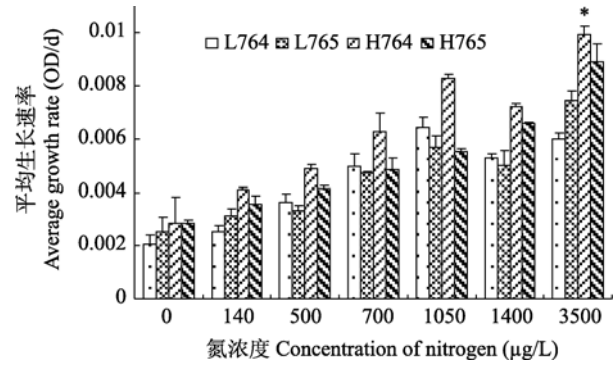


图 4 光照 60 (L)、110 (H) $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, 布朗葡萄藻 764、765 在低氮胁迫下的平均生长速率(OD/d)

Fig. 4 The average growth rate (OD/d) of *B. braunii* 764 and 765 under N ($\mu\text{g}/\text{L}$) stress at two light intensities

照强度为 110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, *B. braunii* 764、765 在 24h 对磷的吸收(Y)与起始磷浓度(X , $\mu\text{g}/\text{L}$)的回归方程分别为: $Y_{764}=0.9540X_p-19.6799$ ($R^2=0.9999$), $Y_{765}=0.7934X_p-3.6523$ ($R^2=0.9983$)。光照强度 110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 增加, 布朗葡萄藻 764 对磷的吸收速率最大, 为 719.59 $\mu\text{g}/\text{L}$ (表 1)。各低磷处理组磷含量在第 4 至第 23 天中稳定不变或略有增加。

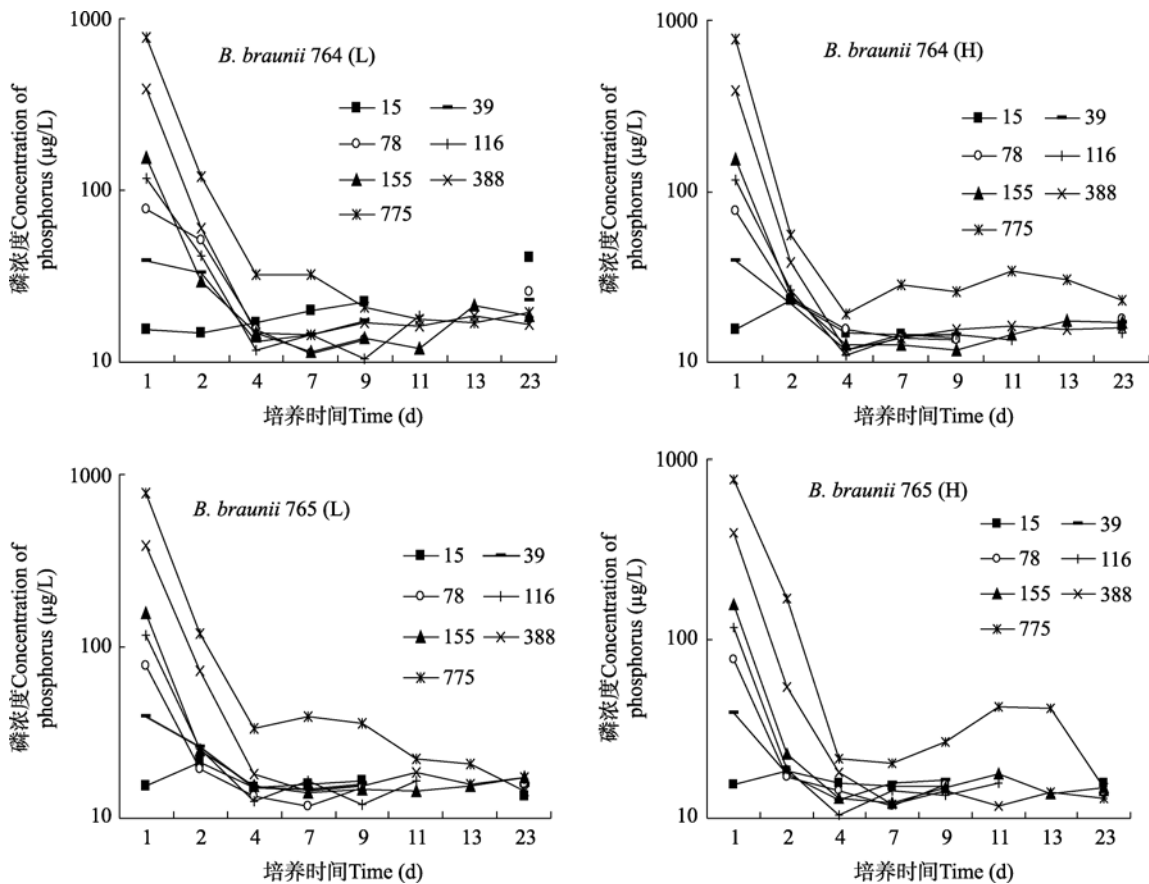


图 5 光照强度 60 (L)、110 (H) $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, 布朗葡萄藻 764、765 培养液中磷浓度($\mu\text{g}/\text{L}$)

Fig. 5 Variation of phosphorus concentration in culture of *B. braunii* 764 and 765 under two light intensities (L, H)

表 1 光照 60 (L)、110 (H) $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, *B. braunii* 764、765 在低磷胁迫下第 2 天的磷吸收速率($\mu\text{g}/\text{L}$)
Tab. 1 The velocity of P uptake under P ($\mu\text{g}/\text{L}$) stress at 24h in *B. braunii* 764 and 765 at two light intensities (L, H)

磷浓度 Phosphorus concentration ($\mu\text{g}/\text{L}$)	<i>B. braunii</i> 764 (L)	<i>B. braunii</i> 765 (L)	<i>B. braunii</i> 764 (H)	<i>B. braunii</i> 765 (H)
15.5	nd	nd	nd	nd
38.75	5.59	12.69	16.66	21.01
77.5	26.53	58.36	54.17	60.43
116.25	74.33	90.77	90.08	97.4
155	125.63	130.25	130.45	132.41
387.5	327.12	316.26	349.66	333.22
775	655.8	655.74	719.59	607.26

2.4 布朗葡萄藻 764、765 在低氮胁迫下氮的吸收
经过饥饿处理的布朗葡萄藻对氮的吸收与氮浓度呈正相关关系。氮浓度低于 $700\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$ 的处理组在第 2 天培养液中已检测不到氮。第 2 天测定的硝态氮吸收表明, 在实验设定的氮浓度范围内 *B. braunii* 764、765 株对硝态氮的吸收出现饱和现象。最大吸收值出现在氮浓度为 $3500\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$ 时, 光照强度为 $60\text{ }\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, *B. braunii* 764、765 对硝态氮的最大吸收

值分别为: 1474.25 和 $1395.85\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$; 光照强度为 $110\text{ }\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, *B. braunii* 764、765 对硝态氮的最大吸收值分别为 1419.47 和 $1492.48\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$ 。第 3 天则为 1083 、 $880\text{ }\mu\text{g}/\text{L}\cdot\text{d}$; 1211 、 $891\text{ }\mu\text{g}/\text{L}\cdot\text{d}$ 。第 5 天时布朗葡萄藻 764 培养液中已检测不到硝态氮, 而布朗葡萄藻 765 培养液中硝态氮含量在两种光照下分别为 258 和 $629\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$ (图 6)。

在氮浓度 $0\text{—}1400\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内, 光照强度为 60

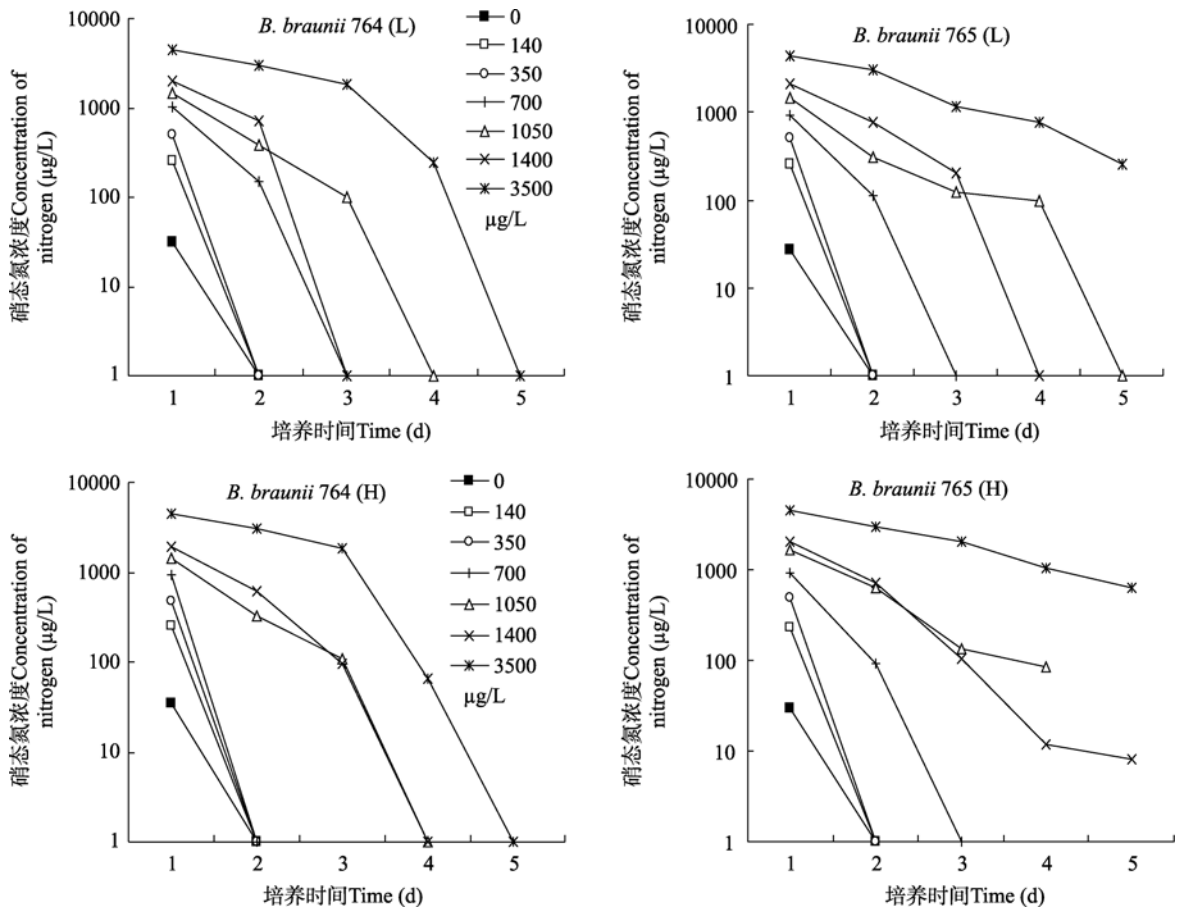


图 6 光照强度 60 (L)、110(H) $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 布朗葡萄藻 764、765 培养液中氮浓度($\mu\text{g}/\text{L}$)
Fig. 6 Variation of nitrogen concentration in culture of *B. braunii* 764 and 765 under two light intensities (L, H)

表 2 光照 60、110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, *B. braunii* 764、765 在低氮胁迫下第 2 天的氮吸收速率($\mu\text{g}/\text{L}$)
Tab. 2 The velocity of N uptake under N ($\mu\text{g}/\text{L}$) stress at 24h in *B. braunii* 764 and 765 at two light intensities (L, H)

氮浓度 Nitrogen concentration ($\mu\text{g}/\text{L}$)	<i>B. braunii</i> 764 (L)	<i>B. braunii</i> 765 (L)	<i>B. braunii</i> 764 (H)	<i>B. braunii</i> 765 (H)
0	31.36	26.8	34.59	29.95
140	252.67	251.34	251.89	234.03
350	508.64	504.39	485.2	500.83
700	870.21	821.23	934.24	810.22
1050	1095.67	1150.25	1128.32	1051.7
1400	1260.58	1276.86	1345.72	1307.75
3500	1474.25	1395.85	1419.47	1492.48

$\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, *B. braunii* 764、765 对硝态氮的吸收(Y)与起始浓度(X , $\mu\text{g}/\text{L}$)的线性关系为 $Y_{764}=0.8931X_N+105.7424$ ($R^2=0.9832$), $Y_{765}=0.9183X_N+91.7367$ ($R^2=0.9862$); 光照强度为 110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, *B. braunii* 764、765 对硝态氮的吸收(Y)与起始浓度(X , $\mu\text{g}/\text{L}$)的线性关系为: $Y_{764}=0.9525X_N+95.0038$ ($R^2=0.9815$), $Y_{765}=0.9104X_N+80.6502$ ($R^2=0.9935$)(表 2)。

3 讨 论

3.1 磷胁迫对微藻生长的作用效应

在自然条件下, 淡水水体中磷是微藻生长的主要限制因素。在营养盐胁迫条件下四尾栅藻和铜绿微囊藻间存在相互促进作用, 磷浓度较低水体中铜绿微囊藻易成为优势种; 在磷浓度较高条件下四尾栅藻占据优势^[12]。布朗葡萄藻在澳大利亚皮尔河流域的 Chaffey 大坝发生“水华”时, 水体中可溶性磷酸盐含量显示并不存在 P 限制^[9]。在试验设定的低磷胁迫条件(15.5—775 $\mu\text{g}/\text{L}$)下, 布朗葡萄藻 764、765 生长与正常 Chu-10 培养基中磷浓度 1550 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时生长相比表现出显著的抑制现象。在光照强度 60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 下, *B. braunii* 764、765 在磷浓度为 775 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时的平均生长速率分别是 0.0121、0.0121; 显著低于正常磷浓度下的 0.0170 和 0.0157。在光照强度 110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 下, *B. braunii* 764、765 在磷浓度为 775 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时的平均生长速率分别是 0.0104, 0.0121; 显著低于正常磷浓度下的 0.0145 和 0.0162。

3.2 氮胁迫对微藻生长的作用效应

在氮营养盐胁迫条件下海洋微藻的生长与种类相关性较高, 锥状斯氏藻、塔玛亚历山大藻对氮或磷胁迫的响应一致, 而海洋卡盾藻则对氮胁迫更为

敏感^[13-15]。光照强度增加和氮营养盐胁迫有利于杜氏盐藻积累 β -胡萝卜素, 却抑制了生长速率^[16]。在一定范围内增加氮起始浓度能够延长布朗葡萄藻的指数生长期, 提高生物量^[3]。与低氮处理组相比对照组布朗葡萄藻在指数生长末期的低氮诱导下, 胞内总脂含量也表现出显著增加趋势^[13]。本实验中光照强度 60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, *B. braunii* 764、765 在氮浓度 3500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时平均生长速率分别为 0.0060、0.0075, 均为氮浓度 0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 下的 3 倍。但与正常 Chu-10 培养基中氮浓度 14000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 相比表现出显著抑制效应, 正常 Chu-10 培养基条件下 *B. braunii* 764、765 的平均生长速率分别为 0.0089、0.0093。在光照强度 110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 下, *B. braunii* 764、765 在氮浓度 3500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时平均生长速率分别为 0.0099、0.0089, 分别是氮浓度 0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时的 5 倍和 3.6 倍, 且与在正常 Chu-10 培养基条件下 *B. braunii* 764、765 的平均生长速率 0.0095、0.0084 无显著差异。

4 结 论

两株布朗葡萄藻对氮磷胁迫耐受性存在差异, 适当增加光照强度能够减缓氮胁迫对布朗葡萄藻生长的抑制效应, 布朗葡萄藻 764、765 株在光照强度 110 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 、氮浓度 3500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时平均生长速率与正常 Chu-10 氮浓度下无显著差异。两株布朗葡萄藻生长更容易受磷限制的影响。

参考文献:

- [1] Banerjee A, Sharma R, Chisti Y, et al. *Botryococcus brounii*: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2002, 22(3): 245—279
- [2] Wang J, Yang S L, Cong W, et al. Effect of nutrient condi-

- tions on the growth of *Botryococcus braunii* [J]. *The Chinese Journal of Process Engineering*, 2003, 3(2): 141—145 [王军, 杨素玲, 丛威, 等. 营养条件对产烃葡萄藻生长的影响. 过程工程学报, 2003, 3(2): 141—145]
- [3] Wang J, Yang S L, Cong W, et al. Fed-batch cultivation of *Botryococcus braunii* in an air-lift photobioreactor [J]. *The Chinese Journal of Process Engineering*, 2003, 3(4): 366—370 [王军, 杨素玲, 丛威, 等. 产烃葡萄藻在气升式光生物反应器中的分批补料培养. 过程工程学报, 2003, 3(4): 366—370]
- [4] Hu Z X, Xu N, Li A F, et al. Effects of different culture medium on two *Botryococcus braunii* [J]. *Ecological Science*, 2007, 26(4): 332—336 [胡章喜, 徐宁, 李爱芬, 等. 布朗葡萄藻在不同培养基中的生长效应. 生态科学, 2007, 26(4): 332—336]
- [5] Dayananda C, Sarada R, Usha-Rani M, et al. Autotrophic cultivation of *Botryococcus braunii* for the production of hydrocarbons and exopolysaccharides in various media [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2007, 31: 87—93
- [6] Dayananda C, Sarada R, Bhattacharya S, et al. Effect of media and culture conditions on growth and hydrocarbon production by *Botryococcus braunii* [J]. *Process Biochemistry*, 2005, 40: 3125—3131
- [7] Hu Z X. Trophic Niche of Two Strains of *Botryococcus braunii* on Nitrogen [D]. Thesis for Master of Science. Research Center of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou. 2007 [胡章喜. 两株布朗葡萄藻的氮素营养生态位研究. 硕士学位论文, 暨南大学水生生物研究中心, 广州. 2007]
- [8] Wake L V, Hillen L W. Study of a “Bloom” of the oil-rich alga *Botryococcus braunii* in the Darwin River Reservoir [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1980, 22(8): 1637—1656
- [9] Baldwin D S, Whittington J and Oliver R. Temporal variability of dissolved P speciation in a eutrophic reservoir-implications for predicating algal growth [J]. *Water Research*, 2003, 37: 4595—4598
- [10] Zhuang H R, Shi Q Q, Lu H S, et al. The Effect of nutritional stresses on accumulation of astaxanthin in *Haematococcus pluvialis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2000, 24(3): 208—212 [庄惠如, 施巧琴, 卢海声, 等. 营养胁迫对雨生红球藻虾青素累积的影响. 水生生物学报, 2000, 24(3): 208—212]
- [11] Zhila N O, Kalacheva G S and Volova T G. Influence of nitrogen deficiency on biochemical composition of the green alga *Botryococcus* [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2005, 17(4): 309—315
- [12] Wan L, Zhu W, Zhao L F. Effect of nitrogen and phosphorus on growth and competition of *M. aeruginosa* and *S. quadricauda* [J]. *Environmental Science*, 2007, 28(6): 1230—1235 [万蕾, 朱伟, 赵联芳. 氮磷对微囊藻和栅藻生长及竞争的影响. 环境科学, 2007, 28(6): 1230—1235]
- [13] Zhang D P, Wu B G. Studies on response of red tide algae on temperature, nitrogen, phosphorus and the algal interactions [J]. *Journal of Jinan University (Natural Science)*, 2000, 21(5): 82—87 [张冬鹏, 武宝珏. 几种赤潮藻对温度、氮、磷的响应及藻间相互作用的研究. 暨南大学学报(自然科学版), 2000, 21(5): 82—87]
- [14] Shi Y J, Hu H H, Ma R Y, et al. Nitrogen and phosphorus absorption and growth characteristics of *Alexandrium tamarense* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(7): 1143—1146 [石岩峻, 胡晗华, 马润宇, 等. 塔玛亚历山大藻对氮和磷的吸收及其生长特性. 应用生态学报, 2003, 14(7): 1143—1146]
- [15] Yuan M L, Wang Z H, Li Y F. Effects of nitrogen and phosphorus limitation on the growth of *Chattonella marina* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(1): 133—138 [袁美玲, 王朝晖, 李友富. N、P 营养盐对海洋卡盾藻(*Chattonella marina*) 生长的影响. 生态学报, 2008, 28(1): 133—138]
- [16] Zhang X C, Meng Z, Shi Y X, et al. The effect of light, temperature and nutrition on growth and pigment accumulation of three strains of *Dunaliella salina* [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2006, 36(5): 754—762 [张学成, 孟振, 时艳侠, 等. 光照、温度和营养盐对三株盐生杜氏藻生长和色素积累的影响. 中国海洋大学学报, 2006, 36(5): 754—762]

EFFECTS OF NITROGEN AND PHOSPHORUS STRESS ON THE GROWTH OF *BOTRYOCOCCUS BRAUNII*

SUN Kai-Feng, HU Zhang-Xi and DUAN Shun-Shan

(Key Lab. of Water Eutrophication and Red-tide Control, Guangdong Province Department of Education, Research center of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632)

Abstract: The growth of two *Botryococcus braunii* strains were studied under seven nitrogen and phosphorus stress levels (N: 0—3500 $\mu\text{g/L}$, P: 15—775 $\mu\text{g/L}$) in batch culture at two light intensities of 60 and 110 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$. Results showed that the tolerance of *B. braunii* to N and P stress was different between strains, which was further affected by light intensity. *B. braunii* 764 grew better under N stress, while *B. braunii* 765 grew better under P stress. The average growth rates of *B. braunii* 764 with all N stress treatments were significantly higher at the light intensity of 110 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ than any other treatments. There was no significant difference among the average growth rates of *B. braunii* 764 and 765 at 60 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ and *B. braunii* 765 at 110 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ treated with N stress. The average growth rates of *B. braunii* 764 at 110 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ were significantly lower than other P stress treatments. There was no significant difference among the average growth rate S of *B. braunii* 764 and 765 at 60 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ and *B. braunii* 765 at 110 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ treated with P stress. Inhibitory effect of N stress on the growth of *B. braunii* strains was alleviated by the increase of light intensity from 60 to 110 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$. The growth rates of two *B. braunii* strains under 3500 $\mu\text{g/L}$ N treatment showed no notable difference compared with that under normal Chu-10 medium. The uptake rates of N and P exhibited linear dependence with the initial levels at the 2nd day. N uptake rate reached a saturation point at 3500 $\mu\text{g/L}$ N at the 2nd day.

Key words: *B. braunii*; Light intensity; Nitrogen; Phosphorus