

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20200916001

http://www.yykxjz.cn/

曾俊, 童立豪, 吴翔宇, 黄敏, 唐贤明. 不同营养盐条件对琼枝生长的影响. 渔业科学进展, 2021, 42(4): 168–176  
ZENG J, TONG L H, WU X Y, HUANG M, TANG X M. Effects of different nutrient conditions on the growth of *Betaphycus gelatinae*. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(4): 168–176

## 不同营养盐条件对琼枝生长的影响\*

曾俊<sup>1</sup> 童立豪<sup>2,3</sup> 吴翔宇<sup>1</sup> 黄敏<sup>1</sup> 唐贤明<sup>1①</sup>

1. 海南省海洋与渔业科学院 海南省热带海水养殖技术重点实验室 海南 海口 571126;
2. 广西科学院广西红树林研究中心 广西红树林保护和利用重点实验室 广西 北海 536007;
3. 海南大学海洋学院 海南 海口 570228)

**摘要** 本研究分别测定了不同无机氮浓度(50、100、200、400 和 800  $\mu\text{mol/L}$ )、不同无机磷浓度(2.5、5、10、20、40 和 80  $\mu\text{mol/L}$ )和不同氨氮( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ )、硝酸盐氮( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ )浓度比(0/100、25/75、50/50、75/25 和 100/0)培养条件下,琼枝(*Betaphycus gelatinae*)生长及色素含量的变化,评估适合其生长的营养盐条件。结果显示,适合琼枝生长的无机氮浓度为 0~200  $\mu\text{mol/L}$ ,无机磷浓度为 2.5~10  $\mu\text{mol/L}$ , $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比为 25/75。在适宜的营养盐条件范围内,琼枝生长状态较好,具有较高的增重率;而当无机氮浓度超过 200  $\mu\text{mol/L}$ 、无机磷浓度超过 10  $\mu\text{mol/L}$  或  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比高于 50/50 时,培养初期,琼枝生长缓慢,具有一定的耐受能力,但培养时间过长,不利于琼枝正常生长,引起藻体白烂严重、增重率急剧下降。本研究表明,琼枝适合在低营养盐环境下生长,结果可为琼枝规模化增殖栽培提供理论基础。

**关键词** 琼枝; 营养盐; 生长; 色素

**中图分类号** S917.3 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2021)04-0168-09

琼枝 (*Betaphycus gelatinae*) 隶属于红藻门 (Rhodophyta)、真红藻纲 (Florideae)、杉藻目 (Gigartinales)、红翎菜科 (Solieriaceae)、琼枝藻属 (*Betaphycus*), 是中国南海特有的土著品种, 是麒麟菜族 (Eucheumatoidae) 的重要栽培海藻之一, 主要分布在热带和亚热带海区 (邢诒炫等, 2019)。藻体多呈紫红色或黄绿色, 由扁平分枝组成, 分枝上有疣状突起 (何培民等, 2018)。琼枝具有较高的经济价值, 可以直接食用。李继伟等 (2020) 研究发现, 琼枝是一种低脂肪、高纤维、不饱和脂肪酸和矿物元素丰富的天

然保健食品, 具有较高的营养保健价值。琼枝也是提取卡拉胶的重要原料之一, 卡拉胶可用做胶凝剂、增稠剂、保鲜剂等, 广泛应用于食品、医学科研和化学工业等领域 (Hou *et al*, 2015; 邓春梅等, 2017)。琼枝可用作养殖生物的优质饵料, 南方紫海胆 (*Anthocidaris crassispina*) 对其嗜食性较高 (聂永康等, 2016)。此外, 琼枝还可药用, 有报道称琼枝富含的海藻多糖类活性物质具有抗肿瘤、抗病毒、抗氧化、抗辐射以及降血脂等功效 (Damonte *et al*, 2004; 于娟等, 2017; Chew *et al*, 2008)。

\* 海南省重点研发计划 (ZDYF2020176)、现代农业产业技术体系专项资金 (CARS-50)、海洋公益性行业科研专项经费项目 (201405020) 和海南省科研院所技术研发专项 (Q63699) 共同资助 [This work was supported by Hainan Provincial Key Research and Development Program (ZDYF2020176), China Agriculture Research System (CARS-50), Public Science and Technology Research Funds Projects of Ocean (201405020), and Technical Research and Development Projects of Research Institutions in Hainan Province (Q63699)]. 曾俊, E-mail: 1207615382@qq.com

① 通讯作者: 唐贤明, 研究员, E-mail: hn.tangxm@aliyun.com

收稿日期: 2020-09-16, 收修改稿日期: 2020-10-10

近年来,麒麟菜成为全球养殖产量第一的藻类,年产量高达1000万t以上(联合国粮食及农业组织,2020)。而中国栽培的麒麟菜产量仍然较低,琼枝产量更是少之又少,涉及的因素主要是养殖模式落后、海域限制以及海洋环境的变化等(邢诒炫等,2019)。多年以来,前人在琼枝养殖模式上进行了大量栽培实验,郑冠雄(2008)独创了采用水泥框网片养殖技术栽培琼枝。此外,还有鱼排浮筏式挂养技术以及西沙礁盘海区底播养殖技术等(杨湘勤等,2015;陈攀等,2018)。尽管琼枝在养殖模式上取得了一定的成功,但依旧因产量低而难以满足市场需求。环境因子是藻类产量的决定因素之一,梁磊等(2014)和方哲等(2012a、b)研究发现,琼枝能够在实验室小水体环境中,在海水温度为21℃~36℃、光照强度为500~11000 lx、海水相对密度为1.014~1.030的条件下正常生长,环境因子超过或低于上述范围均不利于琼枝健康生长,为琼枝环境适应性研究提供了一定的理论基础。营养盐也是影响藻类生长的重要环境因子,葛红星等(2019)研究表明,在温度一定时,氮源对浒苔(*Ulva prolifera*)的生长速率有显著影响。韩婷婷等(2018)研究发现,不同氮源和氮浓度对半叶马尾藻(*Sargassum hemiphyllum*)幼苗的生长和部分生化组成有显著影响。黄中坚等(2014)研究发现,芋根江蓠(*Gracilaria blodgettii*)在适宜的营养盐条件下生长速率和生化组分表现较好。此外,营养盐含量的升高也是造成海水富营养化的原因,研究发现,极北海带(*Laminaria hyperborea*)在适宜温度对氮

磷有显著的去除作用(袁艳敏等,2020),在日照海域养殖紫菜(*Pyropia*)有利于降低该海域的氮磷水平(梁洲瑞等,2019),琼枝也可有效去除富营养化海水中的氮磷,起到净化水质的作用(李春强等,2015)。因此,研究琼枝生长的营养盐水平具有十分重要的现实意义。本研究通过模拟工厂化养殖模式,在大水体环境下设置不同的营养盐浓度培养琼枝,探究营养盐对琼枝的影响,不仅为琼枝规模化增殖栽培奠定基础,同时可为利用海藻进行生态环境治理提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验琼枝于2019年取自海南省海洋与渔业科学院琼海科研基地养殖池,养殖池长×宽×高为10.0 m×1.0 m×1.5 m。琼枝于养殖池暂养6个月,与海区养殖的琼枝外观形态有少许差异(图1)。海区琼枝分枝紧密,芽尖较多,藻体正面和背面因光照影响颜色区分明显,而养殖池暂养的琼枝分枝疏松光滑,芽尖较少,藻体正面及背面颜色基本相同且难以区分。暂养期培养液为过滤自然海水,经不间断化学分析仪(CleverChem 200, DeChemTech, 德国)检测,海水无机氮本底浓度为28.29 μmol/L,无机磷本底浓度为0.65 μmol/L,海水温度为23℃~28℃,盐度为30。挑选颜色正常、大小均一和生长旺盛的藻体,清洗表面附着生物与杂藻后直接用于实验。



图1 海区琼枝和实验琼枝的外观形态

Fig.1 Appearance morphology of *B. gelatinae* cultured in sea area and used in this experiment

A: 海区琼枝正面; B: 海区琼枝背面; C: 实验琼枝

A: Front view of *B. gelatinae* from the sea area; B: Rear view of *B. gelatinae* from the sea area; C: *B. gelatinae* used in this experiment

### 1.2 实验设计

研究在琼海基地养殖车间的大水体环境下进行,为保留琼枝藻体完整枝芽,藻体初始鲜重控制在2.5 g左右。将琼枝藻体固定于上口口径为36 cm、高为13 cm的红色塑料筐中,然后将红色塑料筐分别悬浮于容量

为100 L水体的白色塑料桶中,进行营养盐梯度实验,每个白色塑料桶内壁固定一个小水泵保持水体循环流动。无机氮浓度实验共设置50、100、200、400和800 μmol/L五个梯度,此时, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N浓度比和无机磷浓度分别设定为1:1和10 μmol/L;无机磷浓度实验共设置2.5、5、10、20、40和80 μmol/L六

个梯度,此时无机氮浓度和  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比分别设定为 100  $\mu\text{mol/L}$  和 1:1;不同  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比实验共设置 0/100、25/75、50/50、75/25 和 100/0 五个梯度,此时无机氮浓度和无机磷浓度分别设定为 100 和 10  $\mu\text{mol/L}$ 。实验所用培养水体均为在过滤后的自然海水营养盐本底浓度基础上再人工添加不同梯度的  $\text{NaNO}_3$ 、 $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  和  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,以满足实验营养盐浓度要求,对照组以本底浓度的自然海水作为培养水体,每个处理设置 3 个重复。培养水体温度约为 26°C~28°C,盐度为 30,光照强度约为 80~100  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ,光照周期为 12:12 (L:D),每隔 1 周更换 1 次培养水体并称量琼枝鲜重,实验持续 5 周后取样测定琼枝光合色素含量。

### 1.3 实验方法

琼枝的生长通过测定增重率(weight gain rate, WGR, %)来表示,即藻体鲜重的变化,利用下列公式求得(Lideman *et al.*, 2011):

$$\text{WGR}(\%) = [(M_1 - M_0) / M_0] \times 100\%$$

式中,  $M_0$  为藻体初始鲜重(g),  $M_1$  为 5 周后的藻体鲜重(g),称量前用吸水纸快速吸干藻体表层水。

采用甲醇提取法测定藻体叶绿素 *a* (Chl.*a*)和类胡萝卜素(Car),采用磷酸缓冲液(pH 6.8)提取法测定藻体藻红蛋白(PE)和藻蓝蛋白(PC)。Chl.*a* 的含量参考 Porra (2002)的公式计算; Car 的含量参考 Parsons 等 (1963)的公式计算; PE 和 PC 的含量参考 Beer 等(1985)的公式计算,具体公式如下:

$$C_{\text{Chl.a}}(\mu\text{g/mL}) = 16.29 \times (A_{665} - A_{750}) - 8.54 \times (A_{652} - A_{750})$$

$$C_{\text{Car}}(\mu\text{g/mL}) = 7.6 \times [(A_{480} - A_{750}) - 1.49 \times (A_{510} - A_{750})]$$

样品 Chl.*a* 或 Car 含量( $\mu\text{g/g}$  FW) =  $[(C_{\text{Chl.a}}$  或  $C_{\text{Car}}) \times V] / W_F$

$$C_{\text{R-PE}}(\mu\text{g/mL}) = [(A_{564} - A_{592}) - (A_{455} - A_{592}) \times 0.2] \times 0.12$$

$$C_{\text{R-PC}}(\mu\text{g/mL}) = [(A_{618} - A_{645}) - (A_{595} - A_{645}) \times 0.51] \times 0.15$$

样品 R-PE 或 R-PC 含量( $\mu\text{g/g}$  FW) =  $[(C_{\text{R-PE}}$  或  $C_{\text{R-PC}}) \times V] / W_F$

式中,  $C_{\text{Chl.a}}$  为提取液叶绿素的浓度( $\mu\text{g/mL}$ );  $C_{\text{Car}}$  为提取液类胡萝卜素的浓度( $\mu\text{g/mL}$ );  $C_{\text{R-PE}}$  为提取液藻

红蛋白的浓度( $\mu\text{g/mL}$ );  $C_{\text{R-PC}}$  为提取液藻蓝蛋白的浓度( $\mu\text{g/mL}$ );  $V$  为样品提取液总体积(mL),实验研究中为 5 mL;  $W_F$  为样品鲜重(g),以实际称取为准;  $A$  为提取液在相应波长下的吸光值。

### 1.4 数据处理

应用 Excel 和 SPSS 17.0 统计软件对所得数据进行处理与统计分析,并采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和最小显著差异法(LSD)比较不同数据组间的差异,以  $P < 0.05$  表示差异显著水平。

## 2 结果

### 2.1 不同营养盐水平对琼枝生长的影响

**2.1.1 无机氮对琼枝生长的影响** 在不同无机氮浓度培养条件下,琼枝每周鲜重变化和最终增重率见表1和图2A。结果显示,在无机磷浓度为10  $\mu\text{mol/L}$  时,不同的无机氮浓度对琼枝生长具有显著影响。琼枝在对照组和氮浓度为50~200  $\mu\text{mol/L}$  范围内能持续增长,藻体状态正常,养殖5周后琼枝的增重率无显著差异( $P > 0.05$ ),藻体增重率最高,达(38.08±12.35)%;氮浓度为400  $\mu\text{mol/L}$  时,琼枝在前3周保持轻微增长,第4周藻体出现白烂现象,鲜重开始下滑,最终藻体增重率显著低于对照组和氮浓度为50~200  $\mu\text{mol/L}$  ( $P < 0.05$ )的组;氮浓度为800  $\mu\text{mol/L}$  时,第1周藻体出现少量白烂,第2周藻体腐烂严重,藻体鲜重急剧下降,后续周期无法测量。

**2.1.2 无机磷对琼枝生长的影响** 在不同无机磷浓度培养条件下,琼枝每周鲜重变化和最终增重率见表2和图2B。结果显示,无机氮浓度为100  $\mu\text{mol/L}$  时,不同无机磷浓度对琼枝生长具有显著影响。琼枝在对照组和磷浓度为2.5~20  $\mu\text{mol/L}$  范围内能持续增长;磷浓度在40~80  $\mu\text{mol/L}$  范围时,琼枝前4周保持缓慢增长,第5周藻体鲜重有下降趋势,藻体微烂

表1 不同无机氮浓度条件下琼枝的鲜重( $n=3$ )

Tab.1 Fresh weight of *B. gelatinae* at different conditions of inorganic nitrogen concentration ( $n=3$ )

无机氮浓度 Inorganic nitrogen concentration/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	初始鲜重 Initial fresh weight/g	鲜重 Fresh weight/g				
		第1周 Week 1	第2周 Week 2	第3周 Week 3	第4周 Week 4	第5周 Week 5
0	2.68±0.74	2.74±0.72	3.03±0.83	3.19±0.83	3.47±0.79	3.55±0.89
50	3.00±0.61	3.03±0.61	3.14±0.60	3.25±0.56	3.53±0.67	3.92±0.49
100	2.79±1.02	2.87±1.01	2.99±1.01	3.17±1.08	3.55±1.10	3.77±1.15
200	3.32±0.84	3.38±0.87	3.55±0.96	3.65±0.83	3.93±0.94	4.24±0.94
400	3.27±0.07	3.38±0.07	3.54±0.07	3.64±0.19	3.40±0.30	3.31±0.04
800	2.78±0.78	2.71±0.73	1.88±1.03	-	-	-

并出现断裂现象。结果显示, 琼枝在对照组和低磷浓度(2.5~10  $\mu\text{mol/L}$ )条件下增重率均高于高磷浓度(20~80  $\mu\text{mol/L}$ )条件下的增重率, 其中, 琼枝在磷浓度为 2.5~5  $\mu\text{mol/L}$  条件下的增重率显著高于磷浓度为 20~80  $\mu\text{mol/L}$  条件下的增重率( $P<0.05$ ), 2.5  $\mu\text{mol/L}$  的磷浓度培养条件下, 琼枝增重率最高, 达(52.06 $\pm$ 5.04)%。

**2.1.3  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比对琼枝生长的影响**

在不同  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比培养条件下, 琼枝每周的鲜重变化和最终增重率见表 3 和图 2C。结果显示, 在无机氮浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$ 、无机磷浓度为 10  $\mu\text{mol/L}$  时, 不同处理组的琼枝在 5 周培养周期里均保持稳定增长。结果显示, 琼枝增重率随  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度

表 2 不同无机磷浓度条件下琼枝的鲜重( $n=3$ )

Tab.2 Fresh weight of *B. gelatinae* at different conditions of inorganic phosphorus concentration ( $n=3$ )

无机磷浓度 Inorganic phosphorus concentration/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	初始鲜重 Initial fresh weight/g	鲜重 Fresh weight/g				
		第 1 周 Week 1	第 2 周 Week 2	第 3 周 Week 3	第 4 周 Week 4	第 5 周 Week 5
0	2.68 $\pm$ 0.74	2.74 $\pm$ 0.72	3.03 $\pm$ 0.83	3.19 $\pm$ 0.83	3.47 $\pm$ 0.79	3.55 $\pm$ 0.89
2.5	2.34 $\pm$ 0.24	2.49 $\pm$ 0.25	2.69 $\pm$ 0.25	2.77 $\pm$ 0.26	3.24 $\pm$ 0.29	3.55 $\pm$ 0.33
5	2.79 $\pm$ 0.51	2.94 $\pm$ 0.53	3.18 $\pm$ 0.56	3.26 $\pm$ 0.59	3.66 $\pm$ 0.65	3.94 $\pm$ 0.71
10	2.79 $\pm$ 1.02	2.87 $\pm$ 1.01	2.99 $\pm$ 1.01	3.17 $\pm$ 1.08	3.55 $\pm$ 1.10	3.77 $\pm$ 1.15
20	2.89 $\pm$ 0.90	3.07 $\pm$ 0.94	3.12 $\pm$ 0.99	3.19 $\pm$ 1.02	3.33 $\pm$ 1.03	3.44 $\pm$ 1.14
40	2.26 $\pm$ 0.84	2.45 $\pm$ 0.95	2.51 $\pm$ 0.96	2.56 $\pm$ 1.08	2.84 $\pm$ 1.18	2.80 $\pm$ 1.46
80	3.18 $\pm$ 0.66	3.24 $\pm$ 0.72	3.36 $\pm$ 0.82	3.44 $\pm$ 0.88	3.60 $\pm$ 0.91	3.29 $\pm$ 0.65

表 3 不同  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比条件下琼枝的鲜重( $n=3$ )

Tab.3 Fresh weight of *B. gelatinae* at different conditions of ratio of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  and  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  ( $n=3$ )

$\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$	初始鲜重 Initial fresh weight/g	鲜重 Fresh weight/g				
		第 1 周 Week 1	第 2 周 Week 2	第 3 周 Week 3	第 4 周 Week 4	第 5 周 Week 5
0/0	2.68 $\pm$ 0.74	2.74 $\pm$ 0.72	3.03 $\pm$ 0.83	3.19 $\pm$ 0.83	3.47 $\pm$ 0.79	3.55 $\pm$ 0.89
0/100	2.30 $\pm$ 0.19	2.41 $\pm$ 0.18	2.47 $\pm$ 0.22	2.63 $\pm$ 0.21	2.89 $\pm$ 0.28	3.09 $\pm$ 0.29
25/75	2.10 $\pm$ 0.41	2.30 $\pm$ 0.45	2.40 $\pm$ 0.45	2.56 $\pm$ 0.40	2.96 $\pm$ 0.40	3.13 $\pm$ 0.33
50/50	2.79 $\pm$ 1.02	2.87 $\pm$ 1.01	2.99 $\pm$ 1.01	3.17 $\pm$ 1.08	3.55 $\pm$ 1.10	3.77 $\pm$ 1.15
75/25	2.48 $\pm$ 0.35	2.60 $\pm$ 0.38	2.70 $\pm$ 0.31	2.73 $\pm$ 0.32	3.03 $\pm$ 0.37	3.13 $\pm$ 0.54
100/0	1.88 $\pm$ 0.08	2.00 $\pm$ 0.03	2.07 $\pm$ 0.06	2.14 $\pm$ 0.06	2.26 $\pm$ 0.18	2.29 $\pm$ 0.04

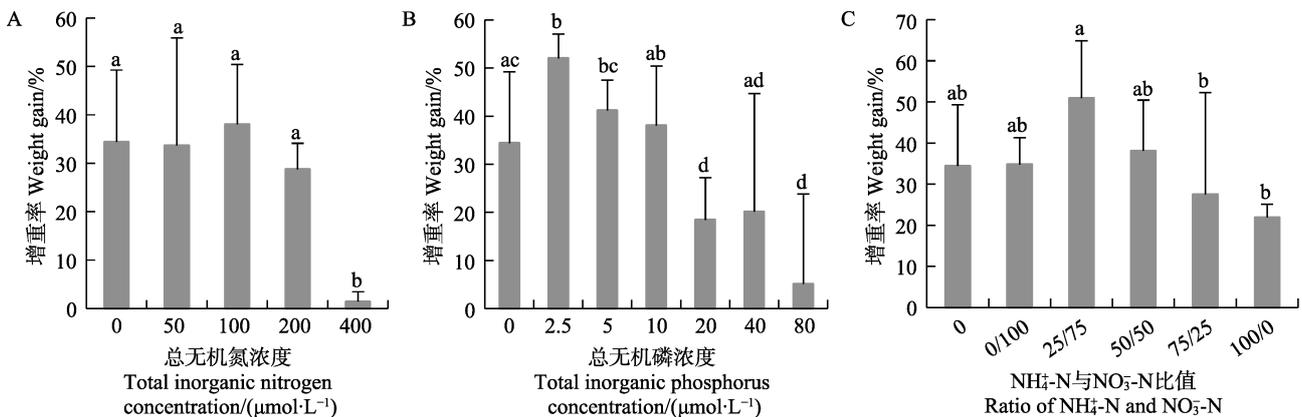


图 2 在不同总无机氮浓度(A)、总无机磷浓度(B)和  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比(C)的培养条件下琼枝的增重率( $n=3$ )

Fig.2 Weight gain rate of *B. gelatinae* at different conditions of total inorganic nitrogen concentration (A), total inorganic phosphorus concentration (B) and ratio of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  and  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  (C) after 5 weeks ( $n=3$ )

不同小写字母代表不同处理间有显著性差异( $P<0.05$ ), 下同

Different lowercase letters indicate significance level at  $P<0.05$  among different treatments. The same as below

比的递增呈现先增高后降低的趋势,其中,  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  为 25/75 时,琼枝的增重率达到最高,为  $(50.91 \pm 13.97)\%$ , 显著高于  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  为 75/25 和 100/0 时 ( $P < 0.05$ ), 与  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  为 0/100 和 50/50 时以及对照组差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

## 2.2 不同营养盐水平对琼枝光合色素(Chl.a、Car、PE 和 PC)含量的影响

### 2.2.1 无机氮对琼枝光合色素含量的影响

不同无机氮浓度对琼枝光合色素含量的影响见图 3A 和图 3B。结果显示,琼枝在对照组的 Chl.a 和 Car 含量均低于实验组,但随着氮浓度的改变,Chl.a 和 Car 含量总体变化不大。藻体在氮浓度为  $400 \mu\text{mol/L}$  时,Chl.a 和 Car 的含量最高,分别为  $(100.78 \pm 18.29)$  和  $(28.29 \pm 4.19) \mu\text{g/g}$ ; PE 和 PC 含量随着氮浓度的升高均逐渐递增,在氮浓度为  $400 \mu\text{mol/L}$  时,PE 和 PC 含量最高,分别为  $(737.71 \pm 63.27)$  和  $(89.30 \pm 9.04) \mu\text{g/g}$ , 显著高于其他氮浓度组 ( $P < 0.05$ )。

### 2.2.2 无机磷对琼枝光合色素含量的影响

不同无机磷浓度对琼枝光合色素含量的影响见图 3C 和图 3D。结果显示,实验设置的磷浓度梯度对琼枝光合色素含量影响均不明显。藻体 Chl.a 和 Car 含量在低磷浓度组 ( $0 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ ) 总体上低于高磷浓度组 ( $20 \sim 80 \mu\text{mol/L}$ )。在磷浓度为  $40 \mu\text{mol/L}$  时,Chl.a 和 Car 含量最高,分别为  $(102.66 \pm 12.10)$  和  $(35.01 \pm 6.27) \mu\text{g/g}$ , 而磷浓度为  $10 \mu\text{mol/L}$  时,PE 和 PC 含量最高,分别为  $(599.22 \pm 90.26)$  和  $(70.98 \pm 10.22) \mu\text{g/g}$ 。

### 2.2.3 $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度比对琼枝光合色素含量的影响

不同  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比对琼枝光合色素的影响见图 3E 和图 3F, 结果显示,不同  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比对琼枝光合色素含量影响同样不明显。但藻体 Chl.a 和 Car 的含量在  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比较高组 (75/25 和 100/0) 略高于  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比较低组 (0/100、25/75 和 50/50)。  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比为 75/25 时,Chl.a 含量达到最高,为  $(97.92 \pm 7.96) \mu\text{g/g}$ ,  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比为 100/0 时,Car 含量达到最高,为  $(30.10 \pm 5.77) \mu\text{g/g}$ 。

## 3 讨论

营养盐是限制藻类生长的主要环境因子之一,主要包括氮和磷等营养元素,适量浓度的氮、磷能够促进藻类快速生长。目前,已有大量文献报道营养盐与藻类生长的关系(Karina *et al.*, 2017; 韩汶均等, 2019)。杨湘勤(2017)研究发现,琼枝对水体无机氮、

磷的吸收速率随氮、磷浓度的增加呈递增趋势,当氮、磷达到一定浓度,氮、磷吸收速率呈下降趋势,过高浓度的氮、磷对海藻有一定毒害作用。在本研究中,琼枝的增重率在低氮实验组 ( $50 \sim 200 \mu\text{mol/L}$ ) 显著高于高氮实验组 ( $400 \sim 800 \mu\text{mol/L}$ ), 琼枝的增重率在低磷实验组 ( $0 \sim 10 \mu\text{mol/L}$ ) 同样高于高磷实验组 ( $20 \sim 80 \mu\text{mol/L}$ )。李俊等(2013)研究同样发现,海区氮、磷含量的降低有利于琼枝的生长,低潮带上部到低潮带下部氮、磷含量逐渐减小,琼枝生长效果越来越好。这与本研究的结果基本一致,故可以表明琼枝是一种适合低营养盐环境的热带海藻。当营养盐浓度恒定时,不同形态的营养盐比例是决定海藻生长状态的重要因素。黄鹤忠等(2006)研究发现,将不同形态的无机氮按适合细基江蓠繁枝变型(*Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* Zhang *et* Xia)生活习性的配比混合,细基江蓠繁枝变型的生长更好。本研究发现,将氮、磷固定在适合琼枝生长的浓度时,琼枝增重率随  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比的递增呈先增高后降低的趋势,其中,  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比为 25/75 时,琼枝的增重率达到最高值,为  $(50.91 \pm 13.97)\%$ , 说明不同氮源比例有效影响着琼枝的生长,在氮浓度一定的情况下,琼枝相对更容易吸收  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , 在  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  与  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  以 1/3 配比的环境中琼枝生长更加旺盛。黄鹤忠等(2006)研究发现,不同的  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比对细基江蓠繁枝变型的生长速率影响显著,过高或过低的  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比均不利于江蓠生长,这与本研究结果一致。但李洋等(2016)和李春强等(2015)研究发现,琼枝优先吸收  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , 其次才吸收  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , 这与本研究结果相反。作者认为,造成研究结果不同可能是由于本研究实验周期较长,每周分别补充恒定浓度 ( $100 \mu\text{mol/L}$ ) 和比例的氮源,以琼枝的生长为依据,并且本研究在只有  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  时 ( $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度比为 100/0) 琼枝的增重率达到最低为  $(21.88 \pm 3.24)\%$ 。而李洋等(2016)和李春强等(2015)的实验周期较短,氮浓度维持在  $50 \mu\text{mol/L}$  以下且没有补充,都是以琼枝对氮的吸收速率为依据。此外,乔倩等(2016)研究发现,在  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  和尿素按一定比例混合条件下,中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 的生长状况比单一氮源时更好,最佳生长出现在尿素/ $\text{NO}_3^-\text{-N}$  为 3/1 的实验组中。说明,氮源的不同及配比不仅影响大藻生长,对微藻同样产生明显影响。而另有文献报道表明,不同氮源对龙须菜 (*Gracilaria lemaneiformis*) (徐永健等, 2006) 和隅江蓠 (*Gracilaria cornea*) (Navarro-Angulo *et al.*, 1999) 的生长影响差异不显著。唐贤明等(2015)研究

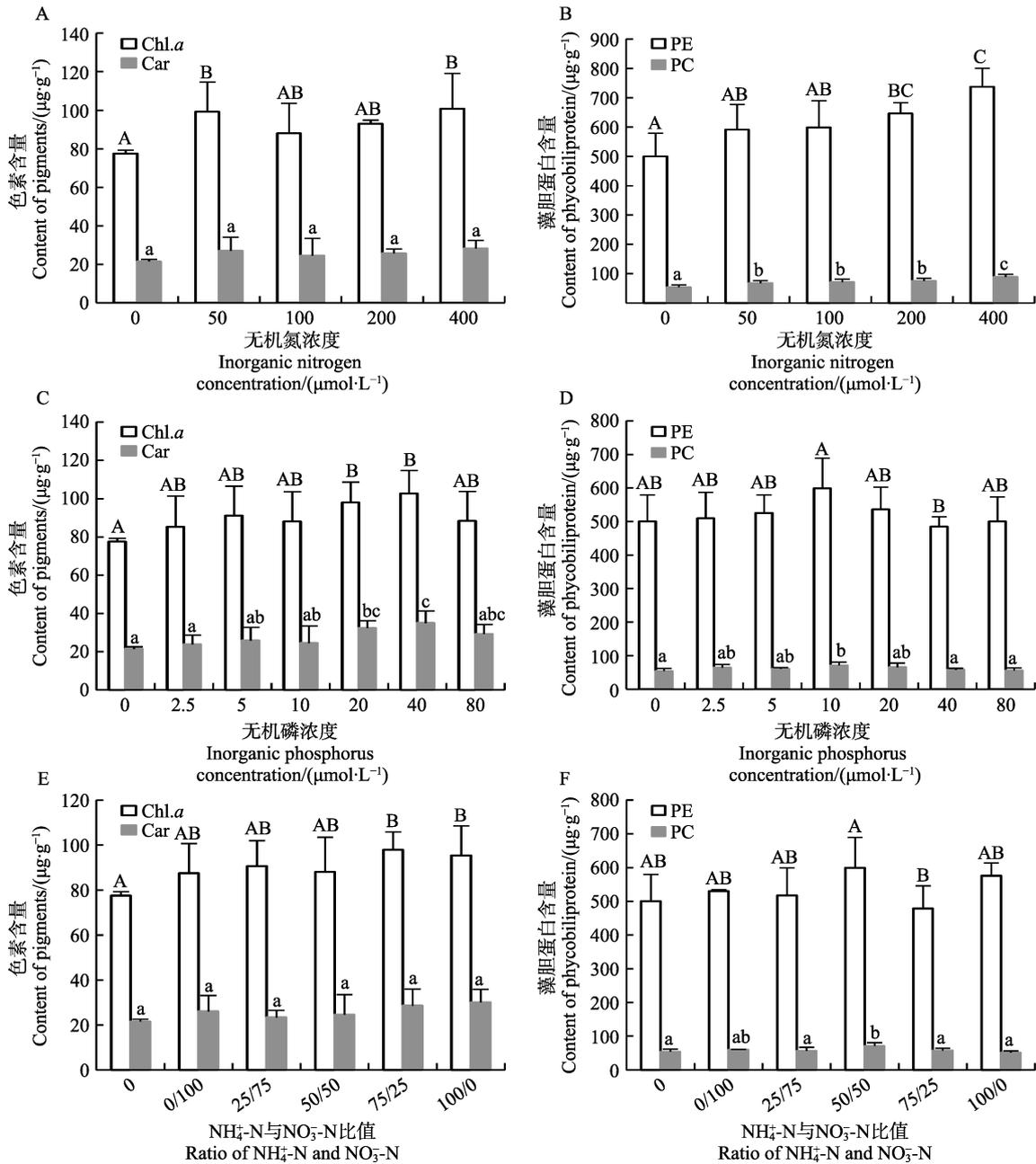


图 3 不同无机氮浓度、无机磷浓度和  $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{NO}_3^-\text{-N}$  比值对琼枝光合色素含量的影响( $n=3$ )

Fig.3 Effects of different inorganic nitrogen concentration, inorganic phosphorus concentration and ratio of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  and  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  on photosynthetic pigments contents of *B. gelatinae* ( $n=3$ )

发现, 10 mg/L 的  $\text{NH}_4\text{CO}_3$  虽能显著促进芋根江蓠 (*Gracilaria blodgettii*) 生长, 但  $\text{NaNO}_3$ 、 $\text{NH}_4\text{NO}_3$  和尿素对芋根江蓠的相对生长率并无显著的差异, 这种现象表明, 不同氮源对不同海藻生长的影响程度有一定差异。

光合色素包含叶绿素 *a* (Chl.*a*)、类胡萝卜素(Car)和藻胆素等, 其中, Chl.*a* 是光合作用的主要色素, 能够有效吸收光能、保护光合机构免于光破坏、稳定捕光复合体的结构; Car 主要作为辅助色素, 还有防

御光氧化破坏以及抗氧化剂的作用; 藻胆素与脱辅基蛋白结合成藻胆蛋白, 在光能吸收上同样发挥重要作用(Ke, 2001; 许大全, 2013)。植物生存依赖于光合色素, 其含量的高低是反应植物生理活性变化的重要指标。本研究发现, 琼枝的 PE 和 PC 含量除了随无机氮浓度的升高而显著上升外, 在不同磷浓度和氮源配比实验中均无明显差异; 不同氮、磷浓度和氮源配比对琼枝的 Chl.*a* 和 Car 含量均无明显影响。黄中坚等 (2014) 同样发现, 随着无机氮浓度的升高, 芋根江蓠

的 PE 和 PC 含量也明显升高, Chl.a 和 Car 含量则无明显变化; 不同氮源配比实验中芋根江蓠光合色素含量均无明显差异, 这与本研究结果基本一致。而王艳平(2017)研究发现, 不同氮浓度和氮源比对缢江蓠 (*Gracilaria salicornia*) 光合色素含量均有影响。造成实验结果的差异可能是受养殖环境、养殖品种以及设置的营养盐水平等因素的影响。因此, 作者推测在其他环境条件相同的情况下, 在本研究设定的营养盐条件范围内养殖琼枝, 营养盐不是决定琼枝光合色素含量最主要的环境因素, 需要开展进一步研究。此外, 本研究在养殖车间大水体的环境中利用水泵促进流水的方式, 可以建立琼枝工厂化养殖模式, 尽可能将培养条件与海区环境的差异降到最低, 旨在突破养殖海域的限制, 为实现琼枝工厂化养殖奠定前提条件与理论基础。

### 参 考 文 献

- BEER S, ESHEL A. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extracts of red algae. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 1985, 36(6): 785–792
- CHEN P, CHEN Y, MA J, *et al.* Bottom sowing culture technology of *E. gelatiana* in Xisha reef area. *Journal of Hainan Tropical Ocean University*, 2018, 25(5): 13–17 [陈攀, 陈燕, 马军, 等. 西沙礁盘区琼枝麒麟菜底播养殖技术研究. 海南热带海洋学院学报, 2018, 25(5): 13–17]
- CHEW Y L, LIM Y Y, OMAR M, *et al.* Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT-Food Science and Technology*, 2008, 41(6): 1067–1072
- DAMONTE EB, MATULEWICZ MC, CEREZO AS. Sulfated seaweed polysaccharides as antiviral agents. *Current Medicinal Chemistry*, 2004, 11(18): 2399–2419
- DENG C M, WU Z J, HE L Z, *et al.* Technological optimization of alkali pretreatment in the carrageenan extraction from *Eucheuma gelatinae*. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(22): 178–183 [邓春梅, 吴祖件, 何兰珍, 等. 碱法预处理琼枝麒麟菜提取卡拉胶的工艺优化. 食品工业科技, 2017, 38(22): 178–183]
- FANG Z, LIU M, LIANG L, *et al.* The effect of different light intensity on the growth and pigment content of *Betaphycus gelatinum*. *Journal of Aquaculture*, 2012a, 33(10): 44–46 [方哲, 刘敏, 梁磊, 等. 光照强度对琼枝麒麟菜生长及色素含量的影响. 水产养殖, 2012a, 33(10): 44–46]
- FANG Z, LIU M, LIANG L, *et al.* The effect of seawater relative density on the growth and the carrageenan and pigment content of the agar *Eucheuma (Betaphycus gelatinum)*. *Journal of Tropical Organisms*, 2012b, 3(3): 204–207 [方哲, 刘敏, 梁磊, 等. 海水相对密度对琼枝麒麟菜的生长及其卡拉胶、色素含量的影响. 热带生物学报, 2012b, 3(3): 204–207]
- FAO. The state of world fisheries and aquaculture 2020. Sustainability in action. 2020, 31–32 [联合国粮食及农业组织. 2020 年世界渔业和水产养殖状况: 可持续发展在行动. 2020, 31–32]
- GE H X, CHEN Z, LI J, *et al.* Effects of temperature on the growth rate and nitrogen uptake of *Ulva prolifera*. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(6): 138–144 [葛红星, 陈钊, 李健, 等. 温度对浒苔生长及不同氮源吸收特性的影响. 渔业科学进展, 2019, 40(6): 138–144]
- HAN T T, QI Z H, HUANG H H, *et al.* Effects of enrichment with three nitrogen sources on growth and biochemical composition of *Sargassum hemiphyllum* seedlings. *Progress in Fishery Sciences*, 2018, 39(4): 159–166 [韩婷婷, 齐占会, 黄洪辉, 等. 3 种氮源加富对半叶马尾藻幼苗生长和生化组成的影响. 渔业科学进展, 2018, 39(4): 159–166]
- HAN W J, XU Y T, JIANG Y Y, *et al.* Effects of N/P ratio, salinity and pH on growth and photosynthesis of sea weed *Chaetomorpha valida*. *Journal of Dalian Ocean University*, 2019, 34(6): 776–784 [韩汶均, 许彦婷, 蒋阳杨, 等. 氮磷比、盐度、pH 对强壮硬毛藻生长和光合作用的影响. 大连海洋大学学报, 2019, 34(6): 776–784]
- HE P M, ZHANG Z Y, ZHANG X C, *et al.* Seaweed cultivation. Beijing: Science Press, 2018, 329–332 [何培民, 张泽宇, 张学成, 等. 海藻栽培学. 北京: 科学出版社, 2018, 329–332]
- HOU P, LI M, CHEN D M, *et al.* Morphological comparison and composition analysis of wild and farmed *Eucheuma gelatinae* in Hainan Province. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2015, 7(6): 370–371
- HUANG H Z, SUN J Y, SHEN H, *et al.* Effects of different inorganic nitrogen sources and concentrations on the growth and biochemical constituents of *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* Zhang *et Xia*. *Marine Sciences*, 2006, 30(9): 23–27 [黄鹤忠, 孙菊燕, 申华, 等. 无机氮浓度及其配比对细基江蓠繁枝变型生长及生化组成的影响. 海洋科学, 2006, 30(9): 23–27]
- HUANG Z J, ZHONG Z H, SONG Z M, *et al.* Effect of different nutrient salts on growth and chemical constituents of *Gracilaria blodgettii*. *South China Fisheries Science*, 2014, 10(5): 30–38 [黄中坚, 钟志海, 宋志民, 等. 不同营养盐水平对芋根江蓠的生长及生化组分的影响. 南方水产科学, 2014, 10(5): 30–38]
- KARINA B, AGIJA L, FRANCESCO R, *et al.* Seaweed cultivation laboratory testing: Effects of nutrients on growth rate of *Ulva intestinalis*. *Energy Procedia*, 2017, 113(1): 454–459
- KE B. Photosynthesis: Photobiochemistry and photobiophysics. Netherlands: Springer, 2001, 1187
- LI C Q, YU X L, WANG S C, *et al.* Purification of *Eucheuma gelatinae* on nitrogen and phosphorus and effect on the level

- of chlorophyll *a* in eutrophic seawater. *Marine Environmental Science*, 2015, 34(2): 190–193, 239 [李春强, 于晓玲, 王树昌, 等. 琼枝麒麟菜对富营养化海水氮磷的去除及对水体中 Chl *a* 含量的影响. *海洋环境科学*, 2015, 34(2): 190–193, 239]
- LI J W, YANG X Q, PAN C, *et al.* Nutritional analysis and evaluation of *Eucheuma gelatinae*. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(15): 265–269 [李继伟, 杨贤庆, 潘创, 等. 琼枝麒麟菜的营养成分分析与评价. *食品与发酵工业*, 2020, 46(15): 265–269]
- LI J, QIU Y, HUANG B, *et al.* Effect of marine environment factors on the morphological characteristics of *Betaphycus gelatinum*. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2013, 40(13): 127–128, 155 [李俊, 邱勇, 黄勃, 等. 海洋环境因子对琼枝麒麟菜形态特征的影响. *广东农业科学*, 2013, 40(13): 127–128, 155]
- LI Y, DUAN Z L, HUANG B, *et al.* The effects of N, P concentrations of sea water on the N, P absorption by *Betaphycus gelatinum*. *Journal of Tropical Biology*, 2016, 7(1): 30–35 [李洋, 段泽林, 黄勃, 等. 藻场海水氮磷含量对琼枝氮磷吸收的影响. *热带生物学报*, 2016, 7(1): 30–35]
- LIANG L, FANG Z, HUANG H Q, *et al.* The effect of temperature on the growth and pigment content of *Betaphycus gelatinum*. *Marine Sciences*, 2014, 38(3): 87–90 [梁磊, 方哲, 黄惠琴, 等. 温度对琼枝麒麟菜生长及色素含量的影响. *海洋科学*, 2014, 38(3): 87–90]
- LIANG Z R, SUN T Q, WANG W J, *et al.* The temporal and spatial distribution characteristics of the nutrient and community structures of phytoplankton and their relationships in the *Pyropia* culture areas in Rizhao, China. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(5): 78–88 [梁洲瑞, 孙藤芹, 汪文俊, 等. 日照紫菜养殖海域营养盐的时空分布特征及其与浮游植物群落结构的相关性分析. *渔业科学进展*, 2019, 40(5): 78–88]
- LIDEMAN, NISHIHARA G, NORO T, *et al.* *In vitro* growth and photosynthesis of three edible seaweeds, *Betaphycus gelatinus*, *Eucheuma serra* and *Meristotheca papulosa* (Solieriaceae, Rhodophyta). *Japanese Society for Aquaculture Science*, 2011, 59(4): 563–571
- NAVARRO-ANGULO L, ROBLEDO D. Effects of nitrogen source, N:P ratio and N-pulse concentration and frequency on the growth of *Gracilaria cornea* (Gracilariales, Rhodophyta) in culture. *Hydrobiologia*, 1999, 398: 315–320
- NIE Y K, CHEN P M, ZHOU Y B, *et al.* Preliminary study on feeding habits of *Anthocidaris crassispina*. *South China Fisheries Science*, 2016, 12(3): 1–8 [聂永康, 陈丕茂, 周艳波, 等. 南方紫海胆摄食习性的初步研究. *南方水产科学*, 2016, 12(3): 1–8]
- PARSONS T R, STRICKLAND J D H. Discussion of spectrophotometric determination of marine-plant pigments, with revised equations of ascertaining chlorophylls and carotenoids. *Journal of Marine Research*, 1963, 21(3): 155–163
- PORRA R J. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*. *Photosynthesis Research*, 2002, 73: 149–156
- QIAO Q, WANG Z H, GUO X. Effects of nitrogen sources on the growth of *Skeletonema costatum*. *Chinese Journal of Ecology*, 2016, 35(8): 2110–2116 [乔倩, 王朝晖, 郭鑫. 不同氮源对中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)生长的影响. *生态学杂志*, 2016, 35(8): 2110–2116]
- TANG X M, JIN Y M, LIU T, *et al.* Preliminary establishment of a rapid multiplication system for *Gracilaria blodgettii*. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2015(3): 39–45 [唐贤明, 金月梅, 刘涛, 等. 芋根江蓠快速生长条件的研究. *海洋湖沼通报*, 2015(3): 39–45]
- WANG Y P. Preliminary study on experimental ecology of *G. salicornia*. Master's Thesis of Guangdong Ocean University, 2017, 26–38 [王艳平. 缙江蓠实验生态学的初步研究. 广东海洋大学硕士研究生学位论文, 2017, 26–38]
- XING Y X, ZENG J, WU X Y, *et al.* Cultivation status and application prospect of three tropical economic seaweeds. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2019(6): 112–120 [邢诒炫, 曾俊, 吴翔宇, 等. 三种热带经济海藻养殖现状与应用前景. *海洋湖沼通报*, 2019(6): 112–120]
- XU D Q. Photosynthesis. Beijing: Science Press, 2013, 41–43, 106–112, 191–198 [许大全. 光合作用学. 北京: 科学出版社, 2013: 41–43, 106–112, 191–198]
- XU Y J, QIAN L M, WANG Y S. Effects of nitrogen nutrients on growth rate and pigment compositions of *Gracilaria lemaneiformis*. *Journal of Oceanography In Taiwan Strait*, 2006, 25(2): 222–228 [徐永健, 钱鲁闽, 王永胜. 氮素营养对龙须菜生长及色素组成的影响. *台湾海峡*, 2006, 25(2): 222–228]
- YANG X Q, DING J J, HUANG B, *et al.* The techniques of *Eucheuma gelatinae* culture model and economic benefit analysis. *Fishery Modernization*, 2015, 42(6): 16–19, 25 [杨湘勤, 丁敬敬, 黄勃, 等. 琼枝麒麟菜养殖方式及其效益分析. *渔业现代化*, 2015, 42(6): 16–19, 25]
- YANG X Q. Studies on the growth rate and absorption rate of nitrogen and phosphorus of three species of *Eucheuma*. Master's Thesis of Hainan University, 2017, 24–25 [杨湘勤. 三种麒麟菜对氮磷的吸收速率及在鱼排和深海网箱中生长速度的研究. 海南大学硕士研究生学位论文, 2017, 24–25]
- YU J, JI H Y, WANG Y F, *et al.* Study of the antitumor mechanism of *Eucheuma* polysaccharides *in vivo*. *Modern Food Science and Technology*, 2017, 33(5): 14–19 [于娟, 纪海玉, 王玉芳, 等. 麒麟菜多糖体内抗肿瘤机理研究. *现代食品科技*, 2017, 33(5): 14–19]
- YUAN Y M, LIU F L, DU X X, *et al.* Study on the assimilation

of nitrogen and phosphorus and on the sorption of heavy metals in *Laminaria hyperborea*. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(3): 25–31 [袁艳敏, 刘福利, 杜欣欣, 等. 极北海带对氮、磷吸收和砷、镉、铅吸附的研究. 渔业科学进展, 2020, 41(3): 25–31]

ZHENG G X. Culture technique of *Eucheuma gelatinae* with cement frame net and economic results analyses. Fisheries Science and Technology Information, 2008, 35(4): 190–193 [郑冠雄. 琼枝麒麟菜水泥框网片养殖技术与效益分析. 水产科技情报, 2008, 35(4): 190–193]

(编辑 马璀璨)

## Effects of Different Nutrient Conditions on the Growth of *Betaphycus gelatinae*

ZENG Jun<sup>1</sup>, TONG Lihao<sup>2,3</sup>, WU Xiangyu<sup>1</sup>, HUANG Min<sup>1</sup>, TANG Xianming<sup>1</sup>①

(1. Hainan Academy of Ocean and Fisheries Sciences, Hainan Provincial Key Laboratory of Tropical Maricultural Technologies, Haikou, Hainan 571126, China; 2. Guangxi Mangrove Research Center, Guangxi Academy of Sciences, Beihai, Guangxi 536000, China; 3. College of Marine Science, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

**Abstract** In this study, we measured the growth and pigment content of *Betaphycus gelatinae* under different inorganic nitrogen concentrations (50, 100, 200, 400, and 800  $\mu\text{mol/L}$ ), inorganic phosphorus concentrations (2.5, 5, 10, 20, 40, and 80  $\mu\text{mol/L}$ ), and different ratios of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  and  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  (0/100, 25/75, 50/50, 75/25, and 100/0). The best nutrient conditions for the growth of *B. gelatinae* were thus evaluated. The results showed that the optimum nutrient conditions for the growth of *B. gelatinae* were an inorganic nitrogen concentration of 0~200  $\mu\text{mol/L}$ , inorganic phosphorus concentration of 2.5~10  $\mu\text{mol/L}$ , and  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  to  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  ratio of 25/75. Within the range of suitable nutrient conditions, *B. gelatinae* achieved high weight gain. When the inorganic nitrogen concentration exceeded 200  $\mu\text{mol/L}$ , inorganic phosphorus concentration exceeded 10  $\mu\text{mol/L}$ , or the ratio of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  to  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  was higher than 50/50, the growth of *B. gelatinae* was slow but tolerance to adverse growth conditions was observed at the beginning of cultivation. However, with the extension of culture time, the growth of *B. gelatinae* became abnormal; severe white rot of algal bodies and a sharp decrease in weight gain was observed. Overall, our findings indicate that *B. gelatinae* grows faster under relatively low nutrient conditions and provide a theoretical basis for large-scale multiplication cultivation of *B. gelatinae*.

**Key words** *Betaphycus gelatinae*; Nutrient; Growth; Pigment

① Corresponding author: TANG Xianming, E-mail: hn.tangxm@aliyun.com