

固定化菱形藻(*Nitzschia* sp.)的生长及营养成分变化

邢荣莲, 苏杭, 苏群, 王长海

(烟台大学 海洋学院, 山东 烟台 264005)

摘要: 选用底栖硅藻菱形藻(*Nitzschia* sp.)为实验对象,分别研究了CaCl₂浓度、胶珠直径、接种密度及胶珠密度对其生长的影响及后两因素对其主要营养成分含量变化的影响。结果表明:(1)随培养时间的延长,CaCl₂浓度对菱形藻生长有极显著影响,在2% CaCl₂溶液中形成的胶珠里菱形藻比生长速率最高;(2)胶珠直径对菱形藻在初期和指数期的生长影响显著,且较小直径(2.5~3.0 mm)的胶珠较适宜菱形藻生长;(3)随接种密度和胶珠密度的提高,菱形藻的比生长速率都有先增高后下降的变化趋势,接种密度较高($2.50 \times 10^4 \sim 5.50 \times 10^4$ mL⁻¹)时,固定化组的比生长速率是对照组的2倍左右。胶珠密度为220粒/(100 mL培养液)左右较适宜(胶珠直径3.0 mm);(4)初始接种密度和胶珠密度试验中,蛋白质、总糖及粗脂肪的含量固定化组低于或相当于对照组,而叶绿素的含量固定化组高于对照组。[中国水产科学,2010,17(2):274-280]

关键词: 底栖硅藻;菱形藻;固定化;比生长速率;营养成分

中图分类号: S97

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)02-0274-07

海产底栖硅藻是匍匐型贝类鲍、棘皮动物海胆等许多名贵海珍品苗种生产中必不可少的鲜活饵料,其培养的成败与否、质量的好坏,都直接影响到这些水产动物的苗种生产的成败^[1-3]。同浮游藻类一样,底栖硅藻的大量培养中,其生长同样要受到环境因素和营养元素的限制;另外底栖硅藻营底栖生活,不像浮游微藻那样能立体地利用水体及高效利用营养物质,因此它们的生长还要受到附着面积的制约,使其扩种培养受到极大的限制,故生产性大规模培养十分困难,致使底栖硅藻人工控制单种培养技术未能在育苗生产中推广应用。许多育苗场往往因底栖硅藻的供饵不足或是培养失败,使上述水产动物苗种生产受到重大损失^[1,4-5]。

由于底栖硅藻附着生长的特性,因此不能采用适用于大多数浮游微藻的悬浮培养技术来进行培养生产。固定化(Immobilization)是构建生物反应器的一

项重要的生物工程技术,已涉及到代谢产物生产、污水处理、生物传感器、种质保存以及模拟生物反应等领域^[6-9]。微藻固定化技术的研究主要是对浮游微藻进行固定化的初步研究,侧重生理特性、有用物质的生产及水质调控等方面研究^[10-12]。然而,对于附着性的微藻,如底栖硅藻等的固定化研究的意义更大,但有关报道甚少,仅见马志珍等^[13]、邹宁等^[14]研究了不同固定化载体对底栖硅藻生长的影响。然而培养条件的变化也会直接影响底栖硅藻主要营养成分含量的变化,这也直接影响其作为鲜活饵料的质量,而相关方面的研究尚未见报道。因此底栖硅藻的固定化技术,对构建适合于底栖硅藻生长的光生物反应器、进行大规模生产培养,进一步开发利用藻类资源等都具有十分重要的意义。本实验选用底栖硅藻中的菱形藻(*Nitzschia* sp.)作为研究对象,通过控制主要固定化培养技术参数进行培养,考察其生长和主要营养成

收稿日期: 2009-04-28; 修订日期: 2009-10-20.

基金项目: 国家科技支撑计划(2008BAD94B04); 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(2008BS06012); 山东省黄河三角洲生态环境重点实验室开放基金资助项目(2009KFJJ02)。

作者简介: 邢荣莲(1977-),女,博士,讲师,研究方向: 海洋生化工程. E-mail: xingronglian@163.com

通讯作者: 王长海(1962-),男,教授,研究方向: 海洋生化工程. E-mail: chwang2001@sina.com

含量的变化,探讨固定化底栖硅藻的生长和营养成分的变化,为相关方面的研究提供一些有益的参考,同时也为提高底栖硅藻的培养效率,构建底栖硅藻光生物反应器提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 藻种

菱形藻(*Nitzschia* sp.)由大连理工大学提供,烟台大学藻类生物技术研究室纯化保种。采用加硅 f/2 灭菌海水培养基进行保种。

1.2 培养条件

实验采用加硅 f/2 培养基。培养条件为温度(20±1)℃,盐度31±1,光照(375±2.5)μmol·m⁻²·s⁻¹,光照周期为24 h 光照。

1.3 载体的制备

称取海藻酸钠2.5 g,在开水浴中慢慢搅动(约1 h)溶入100 mL 蒸馏水中,配成2.5% (W/V)的凝胶溶液,加入2 g NaCl,煮沸消毒备用。以凝胶溶液与鲜藻体积比为4:1的比例接种藻种,充分搅匀后制成胶-藻混悬液,用移液器吸取混悬液,滴入2%的CaCl₂溶液中,约30 min后形成固化的海藻酸钙胶珠。用消毒海水洗涤2遍后,按各试验的要求培养于150 mL的三角烧瓶(100 mL培养液)中^[15]。

1.4 实验设计

1.4.1 CaCl₂ 浓度试验 分别配制1%、2%、3%、4% CaCl₂ 溶液,灭菌备用。在无菌条件下,将密度为2.5×10⁴ mL⁻¹的菱形藻与海藻酸钠混合,分别滴入不同浓度的CaCl₂ 溶液中形成胶珠,胶珠直径3 mm,胶珠个数为300个,每组设3个平行。

1.4.2 胶珠直径试验 用不同型号的移液枪头分别制备直径为2.5 mm、3 mm、3.5 mm、4 mm的胶珠。藻接种密度为1.5×10⁴~2.5×10⁴ mL⁻¹,胶珠粒数为300粒,培养液体积为100 mL。每组设3个平行。

1.4.3 接种密度试验 在实验室无菌条件下,分别将密度为0.75×10⁴ mL⁻¹、1.50×10⁴ mL⁻¹、2.50×10⁴ mL⁻¹、5.50×10⁴ mL⁻¹的藻细胞与海藻酸钠混合,在2%CaCl₂ 溶液中制备成胶珠,粒径为4 mm,粒数为220个,培养液体积为100 mL。相应接种密度的未

固定化组为对照,每组设3个平行进行培养。

1.4.4 胶珠密度试验 胶珠密度定义为相同的藻初始接种总密度,相同培养液(体积100 mL)中,三角瓶中胶珠的数量。将海藻酸钠-菱形藻混合液滴于2%的CaCl₂ 溶液制备成胶珠,分别设有数量为84粒、150粒、225粒、300粒的固定化组,每组藻最终接种密度为1.5×10⁴~2.5×10⁴ mL⁻¹,相同接种量未固定化组为对照,每组设3个平行进行培养。

1.5 测定方法

1.5.1 藻体生物量的测定 定期取5~10粒胶珠,在2%的柠檬酸钠溶液中溶解,收集藻液并在超声波仪器中处理30~60 min,采用血球计数板计数。

根据公式 $K = \frac{3.322 \times (\lg N_1 - \lg N_0)}{t_1 - t_0}$ 计算比生长速率。

式中, N_0 为 t_0 天时藻细胞数, N_1 为 t_1 天时藻细胞数^[12]。

1.5.2 理化成分含量测定^[16] 总糖采用硫酸-蒽酮比色法测定;蛋白质采用考马氏亮蓝染色法测定;粗脂肪用乙醚采用索氏提取法测定;叶绿素采用丙酮提取和比色法测定。

1.6 数据统计分析

实验数据采用SPSS11.5软件进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 CaCl₂ 浓度试验中菱形藻的生长

培养过程中观察发现,固定化藻落在胶珠中分布较均匀,第1天就观察到各组胶珠内均有气泡产生,说明藻进行光合作用,已经开始生长。第3~4天颜色明显变深,呈黄褐色,在三角瓶底部胶珠中的气泡明显增多,胶珠开始自动上浮,立体分布于培养体系中。第8天胶珠颜色开始逐渐变深,第10天胶珠呈深褐色,开始下沉,有少量藻细胞外溢的现象,同时在三角瓶底部也出现了少量淡黄褐色的藻落斑点。光学显微镜检查并未发现藻细胞外部形态有大的变化,细胞顶面观及大小等均与未固定化组相似。

CaCl₂ 与胶珠中菱形藻的比生长速率关系见图1。图中所示的是不同处理培养时间相对初始时间的藻细胞比生长速率。从图1可以看出,在2% CaCl₂ 溶液与海藻酸钠形成的胶珠中,藻细胞各时期的比生长

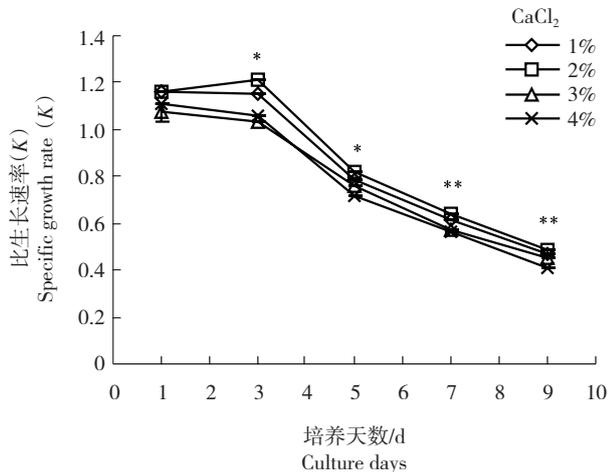


图1 不同 CaCl_2 浓度条件下菱形藻的比生长速率
相同培养天数组间比生长速率的差异:“*”—差异显著($P<0.05$);
“**”—差异极显著($P<0.01$)

Fig. 1 Specific growth rate of *Nitzschia* sp. in alginate beads with CaCl_2

‘*’ and ‘**’ in the figure indicate significant differences (1-way ANOVA $\alpha=0.05$) of specific growth rates in the same culture days: ‘*’— $P<0.05$, ‘**’— $P<0.01$

速率均为最快的。培养了1 d 各组比生长速率差异不明显($P>0.05$),培养3 d 和5 d 组的组间比生长速率差异显著($P<0.05$),而培养7 d 和9 d 组的比生长速率差异极显著($P<0.01$),说明随着培养天数的延长, CaCl_2 浓度对胶珠中菱形藻生长的影响越明显。

2.2 胶珠直径试验中菱形藻的生长

不同直径胶珠中,菱形藻培养日期相对初始日期的比生长速率如图2所示。从曲线中可以看出培养初期1 d 和培养3 d 各组的比生长速率差异极显著($P<0.01$),直径为3.5 mm、4.0 mm 的胶珠中藻比生长速率明显低于直径为2.5 mm 和3 mm 的胶珠。随着培养日期的延长,各组比生长速率差异也逐渐消减。培养5 d,直径为2.5 mm 和3 mm 的胶珠中藻的比生长速率明显高于对照组。

2.3 接种密度试验中菱形藻的生长代谢

通过前述试验结果判断,指数生长末期第6天(培养了5 d)是一个关键点,图3只列出不同接种密度的菱形藻培养5 d 的比生长速率。从图3可以看出,各接种密度固定化组藻比生长速率均高于对照组。方差分析表明,在接种量较低($0.75 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 和 $1.20 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$)时,固定化组与对照组的生长差

异不明显($P>0.05$);而接种量达 $2.50 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 和 $5.50 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 时,固定化组与对照组比生长速率差异分别为显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)。

培养结束时,各组藻细胞主要生理特征如表1所示。胶粒密度为300粒/(100 mL)除了叶绿素含量外,其他成分蛋白质、总糖和粗脂肪含量基本是固定化组低于或等于对照组。各成分基本在接种密度较低时含量较高,其中蛋白质在接种密度为 $0.75 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 和 $1.20 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 时含量较高,总糖在接种密度为 $1.20 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 时含量较高,粗脂肪在接种密度为 $1.20 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 和 $2.50 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 时含量较高,叶绿素在接种密度为 $0.75 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 时含量较高。

2.4 胶珠密度试验中菱形藻的生长代谢

图4列出了不同胶珠密度条件下,培养5 d 菱形藻的比生长速率。从图中可以明显看出,固定化组菱形藻比生长速率高于对照组,随胶珠密度的增加,先升高后降低,方差分析表明,菱形藻生长差异不显著($P>0.05$),其中225粒/(100 mL)胶珠组菱形藻生长最快。

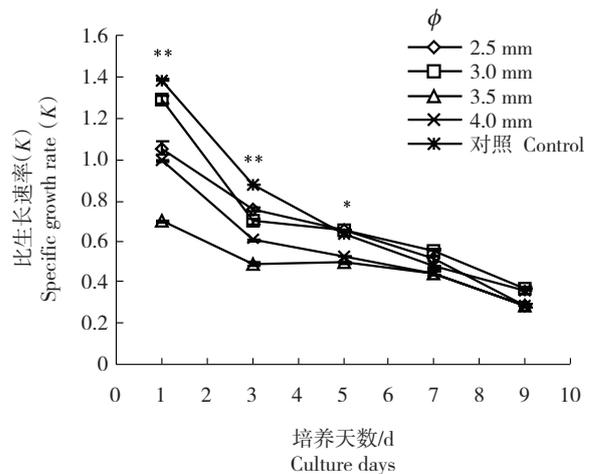


图2 不同胶珠直径条件下菱形藻的比生长速率
相同培养天数各实验组比生长速率间的差异:“*”—差异显著($P<0.05$);“**”—差异极显著($P<0.01$);胶粒密度为300粒/(100 mL 培养液)

Fig. 2 Specific growth rate of *Nitzschia* sp. cultured with different diameter of alginate bead
‘*’ and ‘**’ in the figure indicate significant differences (1-way ANOVA $\alpha=0.05$) of specific growth rates between experimental groups in the same culture days: ‘*’— $P<0.05$, ‘**’— $P<0.01$; the density of alginate bead is 300 per 100 mL

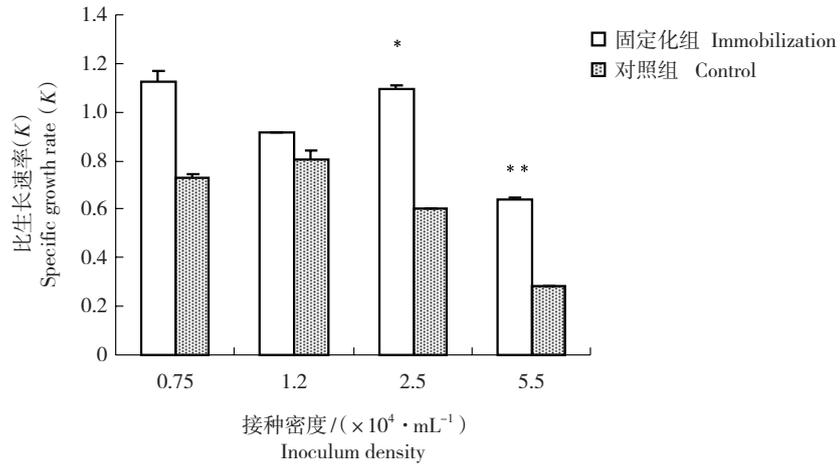


图3 不同接种密度条件下培养5 d 菱形藻比生长速率
培养5 d 固定组与对照组比生长速率间的差异: “*”—差异显著($P < 0.05$); “***”—差异极显著($P < 0.01$)

Fig. 3 Specific growth rate of *Nitzschia* sp. at different inoculum density after 5 days' culture
“*” and “***” in the figure indicate significant differences (1-way ANOVA $\alpha = 0.05$) of specific growth rates between immobilization groups and control groups: “*” — $P < 0.05$, “***” — $P < 0.01$

表1 不同接种密度条件下菱形藻的主要营养成分
Tab. 1 Nutritional ingredient of *Nitzschia* sp. of different inoculum density

成分 Ingredient	$0.75 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$		$1.20 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$		$2.50 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$		$5.5 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$	
	固定化组 Immobilization	对照组 Control	固定化组 Immobilization	对照组 Control	固定化组 Immobilization	对照组 Control	固定化组 Immobilization	对照组 Control
蛋白质 Protein	17.54	16.72	11.71	14.14	8.61	10.50	6.56	8.16
总糖 Total sugar	1.68	3.87	17.89	17.23	10.56	12.96	9.67	15.79
粗脂肪 Crude fat	12.39	18.01	19.96	17.78	20.15	19.48	10.59	16.54
叶绿素 Chlorophyll	4.76	3.83	3.84	3.08	4.06	3.07	4.32	3.95

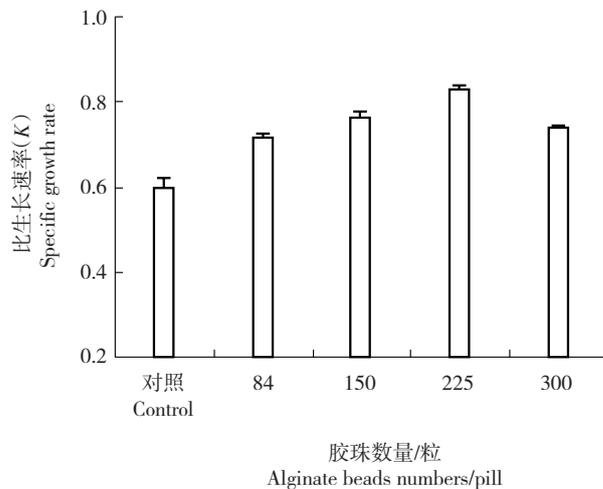


图4 不同胶珠密度条件下菱形藻的比生长速率
培养液体积为 100 mL.

Fig. 4 Specific growth rate of *Nitzschia* sp. cultured with different density of alginate beads
Volume of culture solution is 100 mL.

表 2 显示,蛋白质、总糖、粗脂肪的含量都是对照组比固定化组高,在胶珠密度较低时 [84 粒 / (100 mL)

和 180 粒 / (100 mL)] 含量较高,叶绿素含量对照组比固定化组低。

表 2 不同胶珠密度条件下菱形藻的主要营养成分
Tab. 2 Nutritional ingredient of *Nitzschia* sp. under different density of alginate beads %

成分 Ingredient	胶粒数量 / 粒 Alginate bead numbers / pill				
	对照 Control	84	180	225	300
蛋白质 Protein	19.02	14.63	18.21	9.97	12.05
总糖 Total sugar	26.42	10.60	8.21	4.51	5.65
粗脂肪 Crude fat	33.78	22.72	12.90	9.14	11.63
叶绿素 Chlorophyll	1.32	2.07	2.24	2.54	1.94

注: 培养液体积为 100 mL.

Note: Culture solution is 100 mL.

3 讨论

3.1 CaCl_2 浓度对菱形藻生长的影响

由于在不同浓度 Ca^{2+} 的作用下,褐藻胶中不同糖醛酸发生交联,形成具有不同强度的不溶性凝胶珠,其内具有不同程度的孔隙,正是这些孔隙才能使营养物质进入胶珠内,是为藻良好生长和代谢提供必须营养物质的主要渠道^[15]。韩丽君等^[17]考察了不同浓度 CaCl_2 溶液与不同形式糖醛酸形成凝胶珠后,其强度的变化规律,也证实了这一点。2% CaCl_2 溶液所形成的凝胶珠的强度和孔隙度适合于其生长,当 CaCl_2 浓度低时,形成的凝胶珠的强度差,藻细胞向培养液中分散,而当 CaCl_2 含量高时,形成的凝胶珠的强度大,增加了底物和产物进出胶珠的扩散阻力,影响细胞正常生长。

Smidsrød 等^[18]认为, CaCl_2 浓度直接影响微藻细胞的生长。李超敏等^[19]认为, CaCl_2 浓度影响细胞活性。王建龙等^[19]进行了 CaCl_2 浓度对海藻酸钙凝胶小球中微生物细胞活性的影响试验,表明随着 CaCl_2 浓度的增加,细胞的活性减弱。可能是由于渗透压的改变,致使细胞结构变化,活性部分丧失。

另外本实验培养过程中,还发现 CaCl_2 浓度为 2% 制备的胶珠,培养时溶液澄清、透明度最好,这

也可能影响藻生长所需要的光照强度,进而影响底栖硅藻的生长。

3.2 胶珠直径对菱形藻生长的影响

实验结果说明胶珠直径对底栖硅藻的生长初期到指数期存在一定影响,且较小的胶珠更利于底栖硅藻的生长。其原因可能是胶珠直径长短直接影响物质扩散的距离,从而影响了物质扩散的速度,同时影响透入胶珠内部的光强。因此,直径较小胶珠中藻的营养和光照条件都要优于直径较大胶珠中的藻,因此,有利于藻细胞分裂和生长。固定化组藻经历了生长初期对环境的适应期,且附着面积增加,到了指数生长末期生长明显加快,高于对照组。到生长后期,藻的生长停滞,因而差异不显著。由此可见,第 6 天指数生长末期是一个关键期,应作为研究和应用的主要依据。从第 6 天比生长速率来看,胶珠直径为 2.5 mm 和 3.0 mm 的较高。

3.3 接种密度对菱形藻的生长及其生理特征变化的影响

Chevalier 等^[20]研究认为,固定化藻类细胞的比生长速率通常比自由细胞略低,但固定化底栖硅藻细胞的比生长速率却略高于自由细胞。本实验也发现高密度接种量固定化组底栖硅藻比生长速率明显高于对照组,是对照组的 2 倍左右,这一结果与马志珍等^[13]结果一致。但随着接种密度的提高,分析发

现,比生长速率却都有明显的下降,说明固定化培养过程中接种密度并不是越高越好,只有适宜的接种密度才会促进底栖硅藻的生长。从藻的生物量和经济成本考虑,接种密度为 $2.50 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 较适宜固定化培养,接种量较低、较高都不利于藻细胞的生长和繁殖。

固定化底栖硅藻的接种密度也会影响藻的生理生化成分含量的变化。对于底栖硅藻的生长而言,受到营养物质、环境因素和附着基质的三重限制,而生长的改变与生理生化变化有直接关系。相对对照组,固定化组除了附着面积增加外,其他条件都受到制约,这可能是造成其主要成分含量较低的原因之一。藻类细胞在快速的生长时期,其有机物主要用于生长而消耗,含量相对较低,但随着培养时期延长,有机物主要用于合成产物而积累,含量相对较高^[21],因而,获得其较高生物量与较高成分含量的条件并不一致,从这一方面考虑,针对不同的使用目的应采用不同的接种密度进行固定化培养。

3.4 胶珠密度对菱形藻的生长及其生理特征变化的影响

在菱形藻密度相同情况下,胶珠的数量多,藻细胞的生长出现了先增加后降低的变化趋势,分析其原因可能是胶珠数量增加为底栖硅藻提供的附着面积就越大,生长空间也越大,然而过高密度胶珠,一方面减少了单个胶珠中藻的数量,致使不利于藻的生长;另一方面会造成培养体系中光的遮挡和衰减,导致正常光照范围内光合作用减弱,限制藻的生长。因此,胶珠数量影响底栖硅藻的比生长速率,在一定范围内与比生长速率成正相关。

4 结论

(1) CaCl_2 浓度影响胶珠中的菱形藻的比生长速率,并且随着培养时间的延长对生长有极显著影响。 $2\% \text{CaCl}_2$ 溶液与海藻酸钠形成的胶珠,形态维持良好中、孔隙合适,菱形藻比生长速率最快,并且培养体系溶液澄清、透明度最好,降低光衰减。

(2) 胶珠直径分别对菱形藻的生长初期(培养 1 d 和 3 d)和指数期(培养 5 d)影响极显著和显著,

且较小的胶珠更利于菱形藻的生长,胶珠直径为 2.5 mm 和 3.0 mm 时较适宜菱形藻固定化培养。

(3) 初始接种密度和胶珠密度都对固定化菱形藻的生长影响显著。但随着接种密度和胶珠密度的提高,比生长速率都有先增高后下降的变化趋势。接种密度较高($2.50 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 、 $5.50 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$)时,固定化组的比生长速率是对照组的 2 倍左右。选择适宜的接种密度和胶珠密度是提高底栖硅藻生长速度和生物量的关键。每 100 mL 培养液中,接种密度为 $2.50 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$,胶珠数量度为 220 粒左右较适宜。

(4) 初始接种密度和胶珠密度对菱形藻主要营养成分的含量都有明显影响。蛋白质、总糖及粗脂肪的含量固定化组低于或相当于对照组,而叶绿素含量固定化组高于对照组。初始接种密度和胶珠密度提高生物量与成分含量的条件不一致,因此,针对不同的使用目的应采用不同的接种密度和胶珠密度进行固定化培养。

参考文献:

- [1] 隋锡林. 海参增殖 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1990: 107-153.
- [2] Xing R L, Wang C H, Cao X B, et al. The potential value of different species of benthic diatoms as food for newly metamorphosed sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* [J]. *Aquaculture*, 2007, 263: 142-149.
- [3] Xing R L, Wang C H, Cao X B, et al. Settlement, growth and survival of abalone, *Haliotis discus hannai*, in response to 8 monospecific benthic diatoms [J]. *J Appl Phycol*, 2008, 20: 47-53.
- [4] 湛江水产专科学校主编. 海洋饵料生物培养 [M]. 北京: 农业出版社, 1980: 83-92, 127-134.
- [5] 常亚青. 贝类增殖学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 119.
- [6] Chen Y C. Immobilized microalga *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyta, Chlorococcales) for long-term storage and for application for water quality control in fish culture [J]. *Aquaculture*, 2001, 195 (1/2): 71-80.
- [7] Chen Y C. Immobilized *Isochrysis galbana* (Haptophyta) for long-term storage and applications for feed and water quality control in clam (*Meretrix lusoria*) cultures [J]. *J Appl Phycol*, 2003 (15): 439-444.
- [8] Lebeau T, Gaudin P, Moan R, et al. A new photobioreactor for

- continuous marenin production with a marine diatom: influence of the light intensity and the immobilised-cell matrix (alginate beads or agar layer) [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, 59: 153–159.
- [9] Trevan M D, Mak A L. Immobilized algae and their potential for use as biocatalysts [J]. *Trends Biotechnol*, 1988, 6 (3): 68–73.
- [10] 黄国兰, 孙红文, 宋志慧, 等. 固定化藻类的生理特征和对染料的脱色能力研究 [J]. *环境科学学报*, 2000, 20 (4): 445–449.
- [11] 黄翔鹤, 李长玲, 郑莲, 等. 固定化微藻对虾池弧菌数量动态的影响 [J]. *水生生物学报*, 2005, 29 (6): 684–688.
- [12] Ruben E, Riquelme C E. Production of a diatom–bacteria biofilm in a photobioreactor for aquaculture applications [J]. *Aqu Eng*, 2007, 36: 97–105.
- [13] 马志珍, 张继红. 海产底栖硅藻的固定化培养研究 [J]. *中国水产科学*, 1996, 3 (2): 13–19.
- [14] 邹宁, 郭晓燕, 赵东红, 等. 固定化培养底栖硅藻研究 [J]. *中国水产*, 2005, 6: 72–73.
- [15] 何培民. 海藻生物技术及其应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 68–69.
- [16] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 130–138, 184–185, 195–197.
- [17] 韩丽君, 范晓, 郑乃余. 用于固定化载体的海藻酸钙凝胶条件的研究 [J]. *海洋科学*, 1992 (3): 56–59.
- [18] Smidsrød O, Gudmund S K. Alginate as immobilization matrix for cells [J]. *Trends Biotechnol*, 1990, 8 (3): 71–78.
- [19] 李超敏, 韩梅, 张良, 等. 细胞固定化技术——海藻酸钠包埋法的研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2006, 34 (7): 1281–1282, 1284.
- [20] Chevalier P, De La Noue J. Wastewater nutrient removal with microalgae immobilized in carrageenarn [J]. *Enzym Microb Technol*, 1985, 7 (12): 621–624.
- [21] 陈峰, 姜悦. 微藻生物技术 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 44–47.

Growth and nutritional ingredient of immobilized marine benthic diatom, *Nitzschia* sp.

XING Ronglian, SU Hang, SU Qun, WANG Changhai

(Ocean School of Yantai University, Yantai 264005, China)

Abstract: The growth and nutritional ingredient of *Nitzschia* sp., a marine benthic diatom, in alginate beads were studied. The main factors during the immobilized culture including CaCl_2 concentration, the diameter of alginate bead, initial inoculum density and the density of alginate bead were investigated. The results indicated that: (1) With the culture days increasing, the specific growth rates were significantly affected by CaCl_2 concentration. The specific growth rate of *Nitzschia* sp. in beads with 2% CaCl_2 was the highest. (2) The diameter of alginate bead remarkably influenced the growth of benthic diatom in stationary phase and exponential phase. The suitable diameter of alginate beads for cell growth were 2.5–3.0 mm. (3) There was a tendency of increasing at first and then decreasing in growth rate of benthic diatom with the increasing of inoculum density and number of alginate beads. The specific growth rate of benthic diatom in the immobilization groups was about 2 times as much as that in the control groups as the inoculum densities were 2.50×10^4 – 5.50×10^4 mL^{-1} . The optimal density of alginate beads was 220 pills/100 mL. (4) In the experiment of initial inoculum density and the density of alginate bead, the contents of protein, total carbohydrate and crude fat in the control groups were more than that in the immobilization groups. The content result of chlorophyll compared with above result was opposite. [Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17 (2): 274–280]

Key words: benthic diatom; *Nitzschia* sp.; immobilization; specific growth rate; nutritional ingredient

Corresponding author: WANG Changhai. E-mail: chwang2001@sina.com