

海水单胞藻培养液中微量元素的最佳浓度*

袁有宪 曲克明 辛福言

(中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘 要 本文通过正交试验, 研究确定了铜、锌、锰、钼、钴、镍为牟氏角毛藻(*Chaetoceros mulleri*)和金藻(*Isochrysis galhana*)培养的必需元素, 并确定了最佳浓度, 依次为 $(1\sim5)\times 10^{-8}$ 、 10^{-9} 、 $(5\sim10)\times 10^{-8}$ 、 $(1\sim5)\times 10^{-8}$ 、 $10^{-7}\sim 10^{-9}$ 、 10^{-9} mol/L。它们应用于牟氏角毛藻和金藻的培养, 可使细胞浓度和叶绿素浓度分别提高 20.4%~43.2% 和 19.7%~25.6%。本文的研究结果较著名的 M-f/2 配方增加了镍, 并对其他的五种元素的浓度进行了修订。铜、钼、钴的浓度和 M-f/2 配方基本相同; 锰的浓度低约 1 个数量级; 锌的浓度低约 2 个数量级。

关键词 微量元素, 单胞藻, 海水养殖

海水育苗过程中, 植物饵料特别是单细胞藻类的培养繁殖是育苗成功与否的关键环节之一。在单胞藻培养体系中, 施用氮磷等常量元素提供了必要的营养来源, 但随水体中原有的必需微量元素的消耗, 微量元素将成为浮游植物生长繁殖的限制因素。在对虾养殖生产中, 大多数放养者放苗前进行了施肥肥水, 但所施的主要为氮肥和少量磷肥; 另一方面, 倘若缺少某些微量元素, 不仅会导致浮游植物数量减少, 也会造成浮游植物种群组成发生变化。一旦有益种群受到抑制, 非有益种繁殖起来, 将会导致养殖动物的营养不良或病害发生。

在农业、林业生产中, 为补充土壤、水中微量元素的不足, 从 70 年代开始就进行了微量元素肥料的研究, 先后出现了种类繁多的微量元素肥料及多种施肥方式^[1,2,4]。对海洋浮游植物而言, 一般认为铁、铜、锌、锰、钼、钴、镍是必需微量元素^[7,11]; 尽管人们认识微量元素对浮游植物的重要性已有较久的历史^[3,9,10], 但是作为养殖生产用的微量元素商品肥料尚未出现; 另一方面, 随海洋环境的变迁和养殖新品种的开发利用, 对这些微量元素所需的浓度也在发生变化。所以, 本文从海水中微量元素对海水育苗常用的两种单胞藻牟氏角毛藻(*Chaetoceros mulleri*)和金藻(*Isochrysis galhana*)的必需性入手, 研究了铜、锌、锰、钼、钴、镍在海水单胞藻培养液中的最佳浓度。

1 材料与方 法

收稿日期: 1996-04-22

* 中国水产科学研究院科研基金项目。

1.1 主要材料及试剂

牟氏角毛藻和金藻藻种为本所环境保护研究室保存。实验用水取自青岛麦岛近海,盐度 30~31, pH 8.1。海水经沉淀、沙滤,装入聚乙烯塑料桶中备用。

硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)、硫酸锌($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)、硫酸锰($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、氯化钴($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、硫酸镍($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、钼酸钠($\text{NaMoO}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、乙二胺四乙酸二钠(EDTA)。硝酸钠、磷酸二氢钾、柠檬酸铁、硅酸钠。所用试剂为分析纯或化学纯。

1.2 实验方法

在 250 ml 三角烧瓶中,加适量海水,加入量根据藻种密度而定,使最终体积为 200ml。营养盐浓度 N:P:Fe(:Si) 为 30:2:0.5(:1)mg/L 加一定量混合微量元素试验液,每组平行 3 个样。温度保持(24 ± 1)℃。用 4 只并列 40W 日光灯为光源,光照为 4 000lx(用江苏沛县测光仪器厂产 ZD-Ⅲ型照度计测量)。光照时间昼:夜为 10:14。每日随机调换三角瓶并摇动 2~3 次。每日取样计数,用 UV-365 自计分光光度计(日本岛津),在 530nm 或 550nm 处,用 1cm 比色皿以海水为参比测量吸光值,通过校正曲线换算出细胞浓度。叶绿素的测定用 UV-365 自计分光光度计,按文献[8]进行。用正交试验法安排并设计铜、锌、锰、钼、钴、镍的试验浓度,根据试验因子和水平选用了 $L_{25}(5^6)$ 正交表,并用方差分析评估实验结果。试验因子及水平设计见表 1。

表 1 试验因子及水平

Table 1 Experimental factors and their levels

元素	水平/(mol·L ⁻¹) Level					元素	水平/(mol·L ⁻¹) Level				
Element	1	2	3	4	5	Element	1	2	3	4	5
Cu	10^{-9}	10^{-8}	5×10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	Mo	10^{-9}	10^{-8}	5×10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}
Zn	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	Co	10^{-10}	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}
Mn	10^{-9}	10^{-8}	5×10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	Ni	10^{-10}	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}

2 实验结果

2.1 正交试验结果

试验结果见表 2、表 3。以吸光度为评估指标,对所得的试验数据进行了直观分析。对角毛藻,各个因子水平 $\text{Cu}_{(2)}$ 、 $\text{Zn}_{(1)}$ 、 $\text{Mn}_{(3)}$ 、 $\text{Mo}_{(3)}$ 、 $\text{Co}_{(2)}$ 、 $\text{Ni}_{(2)}$ 最好;对金藻 $\text{Cu}_{(3)}$ 、 $\text{Zn}_{(1)}$ 、 $\text{Mn}_{(4)}$ 、 $\text{Mo}_{(2)}$ 、 $\text{Co}_{(4)}$ 、 $\text{Ni}_{(2)}$ 最好。F 检验结果见表 4、表 5。结果表明,6 种微量元素对角毛藻影响作用的大小顺序为 $\text{Cu} > \text{Mn} > \text{Zn} > \text{Ni} > \text{Co} > \text{Mo}$;对金藻为 $\text{Cu} > \text{Mn} > \text{Ni} > \text{Mo} > \text{Zn} > \text{Co}$ 。

2.2 验证结果

为得到一种能够通用的微量元素配方并验证其正确性,本研究将角毛藻和金藻得到的最好水平分别配成配方 1 和配方 2,并取得两组最好水平平均值配制成配方 3(表 6),分别用于角毛藻和金藻的培养实验。结果表明(表 7、表 8),对角毛藻,配方 3 明显好于配方 1 和 2,生长至第 4d 时,细胞浓度提高 8.8%;第 8d 时,提高 19.4%;第 9d 时,提高 20.4%。对金藻,配方 1 和 3 好于配方 2,生长至第 7d 时,使用配方 3,细胞浓度提高 11.5%;第 8d 时,提高 29.2%;第 10d 时,提高 43.2%。但是使用配方 1 第 10d 提高了 52.8%。可以看出,使用配方 1 和使用配方 3,在第 8d 前基本无差别。故配方 3 可以作为通用型配方使用。

表 2 微量元素在角毛藻培养中的作用正交试验结果及直观分析

Table 2 Results of orthogonal test of microelement for *C. mulleri* culture and direct analysis

试验号 No.	水平 Levels						吸光度 A						
	Cu	Zn	Mn	Mo	Co	Ni	角毛藻(第 5d) <i>C. mulleri</i>			(A - 0.490) × 100 0			合计
1	1	1	1	1	1	1	0.479	0.482	0.476	-11	-8	-14	-33
2	1	2	2	2	2	2	0.536	0.504	0.520	46	14	30	90
3	1	3	3	3	3	3	0.488	0.490	0.476	-2	0	-14	-16
4	1	4	4	4	4	4	0.480	0.469	0.481	-10	-21	-9	-40
5	1	5	5	5	5	5	0.502	0.506	0.483	12	16	-7	21
6	2	1	2	3	4	5	0.497	0.528	0.502	7	38	12	57
7	2	2	3	4	5	1	0.520	0.520	0.502	30	30	12	72
8	2	3	4	5	1	2	0.485	0.486	0.497	-5	-4	7	-2
9	2	4	5	1	2	3	0.486	0.499	0.494	-4	9	4	9
10	2	5	1	2	3	4	0.480	0.465	0.451	-10	-25	-39	-74
11	3	1	3	5	2	4	0.510	0.542	0.526	20	52	36	108
12	3	2	4	1	3	5	0.510	0.487	0.491	20	-3	1	18
13	3	3	5	2	4	1	0.503	0.500	0.489	13	10	-1	22
14	3	4	1	3	5	2	0.490	0.513	0.509	0	23	9	32
15	3	5	2	4	1	3	0.441	0.427	0.434	-49	-63	-56	-168
16	4	1	4	2	5	3	0.498	0.522	0.513	8	32	23	63
17	4	2	5	3	1	4	0.497	0.490	0.500	7	0	10	17
18	4	3	1	4	2	5	0.472	0.471	0.455	-18	-19	-35	-72
19	4	4	2	5	3	1	0.488	0.490	0.490	-2	0	0	-2
20	4	5	3	1	4	2	0.479	0.493	0.478	-11	3	-12	-20
21	5	1	5	4	3	2	0.454	0.451	0.475	-36	-39	-15	-90
22	5	2	1	5	4	3	0.403	0.400	0.408	-87	-90	-82	-259
23	5	3	2	1	5	4	0.445	0.408	0.428	-45	-82	-62	-189
24	5	4	3	2	1	5	0.472	0.436	0.459	-18	-54	-31	-103
25	5	5	4	3	2	1	0.455	0.450	0.472	-35	-40	-18	-93
I/5	4.4	21.0	-81.2	-43.0	-57.8	-6.8	$T = -652$						
II/5	12.4	-12.4	-42.4	-0.4	8.4	2.0	$\mu = T/75 = -8.7$						
III/5	2.4	-51.4	8.2	-0.6	-32.8	-74.2							
IV/5	-2.0	-20.8	-10.8	-59.6	-48.0	-35.6							
V/5	-146.8	-66.8	-4.2	-26.8	-0.2	-15.8							

2.3 对叶绿素合成的影响

表 9 是微量元素 3 种配方在室内生产规模培养单胞藻对叶绿素合成的影响的实验结果。可以看出,3 种配方均不同程度地提高了牟氏角毛藻和金藻的叶绿素浓度。通用型配方(配方 3)的使用效果与配方 1 和 2 基本无差别。

对表 9 中第 6d 的结果分析,用角毛藻筛选出的配方 1 提高角毛藻叶绿素浓度 25.6%,用金藻筛选出的配方(配方 2)提高金藻叶绿素浓度 21.6%,通用型配方(配方 3)对这两种藻的叶绿素分别提高 19.7% 和 24.0%。

表 3 微量元素在金藻培养中的作用正交试验结果及直观分析

Table 3 Results of orthogonal test of microelement for *I. galbana* culture and direct analysis

试验号 No.	水平 Levels						吸光度 A						
	Cu	Zn	Mn	Mo	Co	Ni	金 藻(第6d) <i>I. galbana</i>			(A - 0.370) × 1000			合计
1	1	1	1	1	1	1	0.372	0.369	0.369	2	-1	-1	0
2	1	2	2	2	2	2	0.374	0.375	0.373	4	5	3	12
3	1	3	3	3	3	3	0.373	0.374	0.362	3	4	-8	-1
4	1	4	4	4	4	4	0.366	0.374	0.376	-4	4	6	6
5	1	5	5	5	5	5	0.372	0.367	0.365	2	-3	-5	-6
6	2	1	2	3	4	5	0.374	0.362	0.365	4	-8	-5	-9
7	2	2	3	4	5	1	0.369	0.363	0.362	-1	-7	-8	-16
8	2	3	4	5	1	2	0.372	0.373	0.370	2	3	0	5
9	2	4	5	1	2	3	0.369	0.370	0.370	-1	0	0	-1
10	2	5	1	2	3	4	0.364	0.361	0.370	-6	-9	0	-15
11	3	1	3	5	2	4	0.371	0.371	0.374	1	1	4	6
12	3	2	4	1	3	5	0.367	0.374	0.371	-3	4	1	2
13	3	3	5	2	4	1	0.379	0.376	0.375	9	6	5	20
14	3	4	1	3	5	2	0.370	0.372	0.370	0	3	0	3
15	3	5	2	4	1	3	0.372	0.372	0.369	2	2	-1	3
16	4	1	4	2	5	3	0.365	0.376	0.365	5	6	-5	6
17	4	2	5	3	1	4	0.364	0.366	0.364	-6	-4	-6	-16
18	4	3	1	4	2	5	0.352	0.355	0.360	-18	-15	-10	-43
19	4	4	2	5	3	1	0.353	0.354	0.352	-17	-16	-18	-51
20	4	5	3	1	4	2	0.371	0.374	0.368	1	4	-2	3
21	5	1	5	4	3	2	0.358	0.362	0.366	-12	-8	-4	-24
22	5	2	1	5	4	3	0.350	0.353	0.353	-20	-17	-17	-54
23	5	3	2	1	5	4	0.363	0.361	0.360	-7	-9	-10	-26
24	5	4	3	2	1	5	0.356	0.353	0.356	-14	-17	-14	-45
25	5	5	4	3	2	1	0.356	0.359	0.365	-14	-11	-5	-30
I/5	2.2	-4.2	-21.8	-4.4	-11.2	-15.4	T = -271						
II/5	-7.2	-14.4	-14.2	-4.4	-11.2	-0.2							
III/5	6.8	-9.0	-10.6	-10.6	-17.8	-9.4	$\mu = T/75 = -3.6$						
IV/5	-20.2	-17.6	-2.2	-14.0	-6.8	-9.0							
V/5	-35.8	-9.0	-5.4	-20.2	-7.8	-20.2							

表 4 角毛藻-微量元素正交试验方差分析

Table 4 Variant analysis of orthogonal test for *C. mulleri*

变异来源	离均差平方和	自由度	均方	F	显著性
Variant source	SS	Freedom	MS		Significance
总变异(SS总)	69 754	74			
S_{Cu}	30 560	4	7 640	60.16	**
S_{Zn}	7 885	4	1 971	15.52	**
S_{Mn}	8 653	4	2 163	17.03	**
S_{Mo}	4 532	4	1 133	8.92	**
S_{Co}	5 651	4	1 413	11.13	**
S_{Ni}	6 120	4	1 530	12.05	**
$SD_{总}$	6 353	50	127		

$$F_{0.01}(4, 50) = 3.72, F_{0.05}(4, 50) = 2.55$$

表 5 金藻-微量元素正交试验方差分析

Table 5 Variant analysis of orthogonal test for *I. galbana*

变异来源 Variant source	离均差平方和 SS	自由度 Freedom	均方 MS	F	显著性 Significance
总变异(SS 总)	3 994	74			
S_{Cu}	2 009	4	502	41.83	**
S_{Zn}	182	4	46	3.83	**
S_{Mn}	393	4	98	8.17	**
S_{Mo}	305	4	76	6.33	**
S_{Co}	124	4	31	2.58	*
S_{Ni}	379	4	95	7.92	**
$SD_{残}$	602	50	12		

 $F_{0.01}(4, 50) = 3.72, F_{0.05}(4, 50) = 2.55$

表 6 微量元素初选配方

Table 6 Primary choiced concentration of microelements

元 素 Microelement	Cu	Zn	Mn	Mo	Co	Ni	EDTA
配方 1(角毛藻) Formula 1(<i>C. mulleri</i>)	10^{-8}	10^{-9}	5×10^{-8}	5×10^{-8}	10^{-9}	10^{-9}	11.3×10^{-8}
配方 2(金藻) Formula 2(<i>I. galbana</i>)	5×10^{-8}	10^{-9}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-9}	26.2×10^{-8}
配方 3(通用型) Formula 3(all)	3×10^{-8}	10^{-9}	7.5×10^{-8}	2.5×10^{-8}	5×10^{-8}	10^{-9}	18.1×10^{-8}

表 7 微量元素配方对角毛藻生长实验结果

Table 7 Effects of microelement on growth of *C. mulleri*

配方 Formula	生长天数/d Growth days					
	1	2	4	6	8	9
	细胞浓度/ ml^{-1} Cell concentration					
1	86.9 ± 0.0	166.6 ± 0.7	239.8 ± 3.2	306.5 ± 5.6	389.4 ± 10.5	443.1 ± 29.2
2	86.1 ± 0.0	173.9 ± 1.5	256.0 ± 0.7	331.7 ± 5.6	422.7 ± 7.2	455.3 ± 3.2
3	90.2 ± 0.0	178.8 ± 0.0	270.7 ± 0.0	352.8 ± 3.2	445.5 ± 13.7	479.6 ± 7.2
对 照 Control	86.9 ± 0.0	173.9 ± 0.0	248.7 ± 0.0	305.6 ± 15.4	373.1 ± 40.6	389.3 ± 45.4
	提高率/% Raise rate					
1	0.0	-4.2	3.6	-0.3	4.4	11.2
2	-0.9	0.0	2.9	8.5	13.3	14.3
3	3.8	2.8	8.8	15.4	19.4	20.4

表 8 微量元素配方对金藻生长实验结果

Table 8 Effects of microelement on growth of *I. galbana*

配方 Formula	生长天数 Growth days					
	2	4	6	7	8	10
	细胞浓度/ml ⁻¹ Cell concentration					
1	313.8±4.8	520.0±9.8	592.9±10.5	659.6±11.3	746.0±2.5	854.0±14.9
2	314.6±5.2	511.7±7.9	591.8±7.8	653.9±8.4	659.7±9.0	667.8±16.7
3	318.0±7.7	513.1±9.0	589.1±3.3	659.2±10.4	742.9±14.6	800.0±30.7
对 照 Control	312.9±6.1	507.7±9.5	567.6±2.7	591.4±4.3	575.1±13.6	558.8±27.7
	提高率 Raise rate (%)					
	2	4	6	7	8	10
	细胞浓度/ml ⁻¹ Cell concentration					
1	0.3	2.4	4.5	11.5	29.7	52.8
2	1.6	0.8	4.3	11.5	14.7	19.5
3	3.8	1.1	3.8	7.5	29.2	43.2

表 9 微量元素对单胞藻培养叶绿素 a 浓度的影响

Table 9 Effects of microelement on concentration of algal chlorophyll - a

天数/d Days	1	2	3	4	5	6
配方 1-角毛藻 Formula 1- <i>C. muelleri</i>	0.230	0.320	0.579	0.744	0.885	1.207
配方 2-金藻 Formula 2- <i>I. galbana</i>	0.224	0.333	0.506	0.662	0.693	0.861
配方 3-角毛藻 Formula 3- <i>C. muelleri</i>	0.230	0.330	0.498	0.720	0.808	1.150
配方 3-金藻 Formula 3- <i>I. galbana</i>	0.224	0.322	0.471	0.628	0.684	0.878
对照-角毛藻 Control- <i>C. muelleri</i>	0.230	0.278	0.451	0.601	0.664	0.901
对照-金藻 Control- <i>I. galbana</i>	0.224	0.286	0.454	0.587	0.650	0.708

3 讨论

从实验结果可以看出,铜、锌、锰、钼、钴、镍等 6 种元素,对角毛藻和金藻都是必需的微量元素,这与文献[7, 11]报道是一致的。但是,Guillar 和 Ryther^[10]提出的著名的 M-f/2 配方(表 10)中没有镍,根据本文结果,镍对单胞藻的必需性是显著的。比较本研究的配方和 M-f/2 配方,钴的浓度完全相同;铜、钼的浓度基本相同。本配方锰的浓度比 M-f/2 配方低近 1 个数量级,锌低约 2 个数量级。分析存在差异的原因,一方面是由于试验所用的单胞藻种类不同,因为不同种类的藻类对水化学环境的需求是不尽相同的;另一方面,所用的海水取自不同海域和历史时期,海水中痕量元素的浓度会有很大差别。随海洋重金属污染的加剧,同一海域不同历史时期的海水亦存在差异。本文采用的是青岛麦岛近岸海水,锌的浓度为 $(1.4 \sim 19.2) \times 10^{-8} \text{ mol/L}$,铜为 $(0.5 \sim 3.5) \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ ^[6],钴为 $8.5 \times 10^{-9} \text{ mol/L}$ ^[5]。与本研究配方比较,海水中铜在同一数量级,某些区域的海水还要低,故需要添加。海水中钴的浓度较本配方低约一个数量级,也需要添加。海水中锌的浓度远高于配方,故需要量很低,但海水锌浓度与 M-f/2 配方的浓度一致,也就是说,并非本配方不需要锌或需要量很低,而是所用海水锌的量已经足够。关于锰的浓度,本配方比 M-f/2 配方低近 1 个数量级,分析原因,可能是由于 M-f/2 配方中铁的浓度较低($1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$),本配方铁浓度为 $8.9 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$,而铁在某些生化功能上与锰有相同作用^[11]。总之,除 M-f/2 没有涉及镍外,可以认为本研究的配方和 M-f/2 配方基本一致,即不同种类的单胞藻对微量元素的需求浓度大致是相同的。但随历史的变化,海洋化学环境也在发生变化,某一区域

变化可能还是较大的,所以在藻类培养液中添加微量元素的浓度应视所用海水的背景值而定。当前易发生污染的元素主要有锌、铅、镉、铬、铜等,在研究微量元素的作用和单胞藻生产时需引起注意。

表 10 微量元素配方与 M-f/2 配方比较

Table 10 Comparison of microelement composition with and M-f/2

配方 Formula	元素及浓度/(mol·L ⁻¹) Element and concentration						
	Cu	Zn	Mn	Mo	Co	Ni	EDTA
通用型	3×10^{-8}	10^{-9}	7.5×10^{-8}	2.5×10^{-8}	5×10^{-8}	10^{-9}	18.1×10^{-8}
M-f/2	4×10^{-8}	8×10^{-8}	9×10^{-7}	3×10^{-8}	5×10^{-8}	—	10^{-6}

通过以上讨论可以认为,本配方研究的贡献在于定量确定了镍对单胞藻的作用,并根据目前海水环境条件修订了其他元素的浓度。

参 考 文 献

- [1] 王泽民. 微量元素肥料概述. 辽宁农业科学, 1982, 2: 34~36.
- [2] 邢恩荣等. 微量元素肥效试验报告. 辽宁农业科学, 1982, 2: 31~34
- [3] 朱树屏等. 土壤浸出液、维生素 B₁₂ 及钴对新月尼氏藻生长繁殖的影响. 水产学报, 1964, 1: 19~38
- [4] 陈铭, 尹崇仁. 锰、锌对冬小麦营养效应的研究. 中国农业科学, 1989, 22(4): 58~64
- [5] 袁有宪, 王跃军. 胶束增溶(增敏)络合体系的高效液相色谱研究Ⅶ. 用 Me-TAMB-Triton X-100 法测定天然水中的铜钴. 海洋与湖沼, 1991, 22(1): 63~68
- [6] 袁有宪等. 海水中锌、镉、铅、铜的微分电位溶出分析. 海洋与湖沼, 1993, 24(1): 45~50
- [7] 袁有宪, 曲克明. 海水中痕量元素对海洋生物作用的进展. 水产学报, 1995, 19(3): 250~257
- [8] 海洋调查规范编辑委员会. 海洋调查规范, 海洋出版社, 1991. 688~691
- [9] Chu S P. The utilization of organic phosphorous by phytoplankton. J Mar Biol Assoc U. K. 1946, 26: 285~295
- [10] Guillard, R R L., J H Ryther. Studies of marine planktonic diatom. I. *Cyclotella nana* hustedt and *detonula confervacea* (cleve) gran J Canad of Microbio. 1962, 8: 229~238
- [11] Sunda W G. Trace metal interactions with marine phytoplankton. Biol Oceanogr, 1990, 6: 411~442

Optimum concentration of microelements in seawater culture solution of marine algae culture

Yuan Youxian Qu Keming Xin Fuyan

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

Abstract Copper, zinc, manganese, molybdenum, cobalt and nickel were defined as essential elements in culture of diatom *Chaetoceros mulleri* and *Isochrysis galbana* and their optimum concentrations were defined as $(1 \sim 5) \times 10^{-8}$ mol/L Cu, 10^{-9} mol/L Zn, $(5 \sim 10) \times 10^{-8}$ mol/L Mn, $(1 \sim 5) \times 10^{-8}$ mol/L Mo, $10^{-7} \sim 10^{-9}$ mol/L Co and 10^{-9} mol/L Ni, when those microelements were added in the cultural solution, the concentrations of cell and chlorophyll of *Chaetoceros mulleri* and *Isochrysis galbana* were raised by 20.4%~43.2% and 19.7%~25.6%, respectively. Compared with the composition of seawater medium M-f/2, this culture solution contained a new additional element Ni and the concentrations of other five elements were revised. The concentrations of Co, Cu and Mo were the same level as M-f/2. The concentration of Mn was 10 times as low as that in M-f/2. The concentration of Zn was 100 times as low as that in M-f/2 approximately.

Key words Microelement, Marine unicellular algae, Marine culture