

南极冰藻绿藻 B-7 的异养培养

李 灏^{1,2}, 缪锦来², 崔凤霞³, 李光友²

(1. 中国海洋大学 生命学院, 山东 青岛 266003; 2. 国家海洋局 海洋生物活性物质重点实验室, 山东 青岛 266061; 3. 中国海洋大学 水产学院, 山东 青岛 266003)

摘要:2001年10月至2002年4月在中国第18次南极科学考察时采得南极海水水样和海冰样品,从中分离纯化出南极冰藻绿藻 B-7,通过单因子试验及 L₂₅(5⁴) 正交试验表对其进行异养培养条件研究,并采用全量凯氏定氮法及气相色谱法测定该藻在异养培养条件下生化组成的变化。结果表明,在异养培养条件下,绿藻 B-7 的生长速率约为自养条件下的2倍。绿藻 B-7 异养培养最适有机碳、氮源分别为葡萄糖、蛋白胨;绿藻 B-7 的最佳异养培养条件为:培养温度 4℃,培养液起始 pH 值 6~8,250 mL 三角瓶装液量 50 mL,接种量 20%。与自养条件相比,异养绿藻 B-7 细胞内生化组成有所变化:蛋白质含量升高,饱和脂肪酸及多不饱和脂肪酸占总脂肪酸的含量下降,单不饱和脂肪酸含量基本维持不变或有所上升。研究说明,通过异养培养可有效地提高绿藻 B-7 的藻体最终收获量,且异养条件下绿藻 B-7 的营养价值不低于自养绿藻 B-7。在我国北方寒冷季节,可以利用异养培养方式大规模培养南极绿藻 B-7,为育苗提供充足的饵料。

关键词:自养;异养;南极冰藻;绿藻;生化组成

中图分类号:Q94 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2004)05-0456-06

冰藻是南极地区重要的初级生产力。冰藻具有较高的营养价值,Myklesstad^[1]报道有9种冰藻的蛋白质含量占干重的30%~50%。南极独特的地理及气候特征形成了低温、低光照、强辐射的环境,冰藻为适应这一生存环境,可产生多不饱和脂肪酸、抗冷冻物质、紫外吸收色素、低温酶等多种活性物质^[2-4],使其成为新型活性物质的潜在来源。

海洋微藻等饵料生物的培养成功与否,是限制养殖业发展的主要因素之一^[5]。中国北方海区冬末春初时的海水温度较低,为了维持目前使用的常温饵料的生存,需对培养饵料的海水加温,这极大地增加了育苗的成本。南极冰藻可在0~10℃的温度范围内生长繁殖,具有低温生活习性和较高营养价值,适于在中国北方冬末春初季节进行大规模培养,可为水产动物的育苗提供经济饵料,并将极大地促进海水养殖业的发展。

传统的微藻大规模培养主要是在开放池中进行自养,但在此条件下微藻生长速率慢、生物量低,且易被杂藻或原生动物污染^[6]。利用封闭式的光反应器培养微藻可以减少污染发生的可能性,提高产量。但光反应器也存在一些限制因素:水压增大损

伤细胞;藻体细胞浓度较高时,光线不易穿透,内部细胞得不到充足光照;温度控制较困难^[7]。研究表明^[8],一些藻类可利用有机物作为唯一的碳源和能源进行异养生长。异养培养可通过添加有机碳、氮源,使培养液中的藻体密度大大提高,同时更便于控制生产过程。Chen 和 Gong^[9]对可产生虾青素的 *Haematococcus lacustris* 的兼养及异养方式进行了研究。Ogbonna^[10]利用异养法培养 *Euglena Gracilis* Z 获得了 39 g/L(干重)的高产量。刘世名^[11]通过添加植物激素 IBA,利用异养培养促进了小球藻的生长。对于可产 EPA 的微藻的异养培养,人们也进行了大量的研究^[12]。目前,关于南极冰藻异养培养的研究很少,国内尚未见有这方面的报道。在中国北方寒冷季节,利用异养培养方式大规模培养南极绿藻,可为育苗提供充足的饵料。

本研究对南极绿藻 B-7 异养培养条件和异养时的营养成分进行了研究,以为南极冰藻作为低温饵料的大规模培养提供科学依据。

收稿日期:2003-10-23;修订日期:2004-03-31。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(40206022)。

作者简介:李 灏(1978-),男,中国海洋大学在读博士,从事海洋微藻研究。E-mail: lihaoh@163.com

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 藻种 本实验室纯化保存的南极绿藻 (Chlorophyceae) B-7^[1]。

1.1.2 培养基 采用 f/2 培养基。

1.2 实验方法

1.2.1 自养及异养培养方式 将对数生长期的绿藻 B-7 接种于 f/2 培养液中,培养温度为 0~6℃,培养光强为 35~45 $\mu \cdot \text{Em}^{-2} \cdot \text{S}^{-1}$,光暗比为 12:12,每日摇动 3 次。异养培养时将绿藻 B-7 接种于 f/2 的异养培养液中,完全避光培养,其余条件同自养。每个实验组均进行 3 次重复实验,实验结果取 3 次的平均值。

1.2.2 异养培养条件下碳、氮源的优化 取 5 个 250 mL 三角瓶²⁾,在 f/2 培养液的基础上,每个三角瓶中均加入 1% 蛋白胨,再分别加入葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖和乙酸钠共 5 种碳源,质量浓度均为 2 g/L,研究不同碳源对绿藻 B-7 生长的影响。取 5 个三角瓶,在 f/2 培养液的基础上,每个三角瓶中均加入 2 g/L 葡萄糖,再分别加入蛋白胨、酵母粉、尿素、硝酸钠和氯化铵共 5 种氮源,质量分数分别为 1%,研究不同氮源对绿藻 B-7 生长的影响。每个实验组均进行 3 次重复实验,实验结果取 3 次的平均值。

1.2.3 生长测定 接种后每隔 48 h 定时取样,利用血球计数器测定培养液的绿藻细胞浓度,绘制生长曲线,并计算生长速率 $\mu(\text{h}^{-1})$ 及代时 T_g 。

$$\mu = (\ln X_2 - \ln X_1) / (t_2 - t_1)$$

$$T_g = 0.693 / \mu$$

式中, X_1 ; t_1 时的细胞浓度 (cell/mL); X_2 ; t_2 时的细胞浓度 (cell/mL); t : 培养时间 (h)。

1.2.4 叶绿素含量测定 参照 Jeffrey 的方法^[13]。

绿藻 B-7 叶绿素含量 (mg/L) 计算公式:

$$C_{\text{Chla}} = 11.98E_{664} - 1.93E_{647}$$

$$C_{\text{Chlb}} = 20.36E_{647} - 5.50E_{664}$$

式中, E 表示 OD 值,下标数值为测定波长。

1.2.5 正交表设计 采用 $L_{25}(5^6)$ 正交试验表,研究不同异养培养条件对绿藻 B-7 生长的影响,确定的主要因素有: A(温度)、B(pH 值)、C(装液量)、D(接种量),以培养液中绿藻 B-7 的细胞浓度为考核指标。因素水平如表 1 所示。

1) 鉴于分类的困难,南极冰藻仅分类至绿藻纲。

2) 本文中以下未加说明处所用三角瓶皆为 250 mL。

1.2.6 蛋白质含量测定 全量凯式定氮法测定^[14]。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels for study of heterotrophic cultivation of Chlorophyceae B-7

| 水平 Level | 温度/℃ Temperature(A) | pH pH(B) | 装液量/mL Loading volume(C) | 接种量/% Seed volume(D) |
|-------------|------------------------|-------------|-----------------------------|-------------------------|
| 1 | 0 | 4 | 50 | 5 |
| 2 | 2 | 5 | 75 | 10 |
| 3 | 4 | 6 | 100 | 15 |
| 4 | 6 | 7 | 125 | 20 |
| 5 | 8 | 8 | 150 | 40 |

1.2.7 脂肪酸组成 用 GC112 型气相色谱仪上样分析^[15]。

2 结果

2.1 自养与异养培养条件下绿藻 B-7 的生长对比

光合自养与异养培养条件下绿藻 B-7 的生长状况见表 2。由表 2 可见,在异养培养条件下,绿藻 B-7 的生长速率约为自养条件下的 2 倍。通过异养,可有效提高绿藻 B-7 藻体的最终收获量。

表 2 光合自养与异养培养条件下 B-7 藻的生长对比结果
Table 2 Growth comparison of Chlorophyceae B-7 under photoautotrophic and heterotrophic cultivation

| 项目 Item | 光合自养 Photoautotrophic | 异养 Heterotrophic |
|--|--------------------------|---------------------|
| 生长速率/(cells · h ⁻¹) Growth rate | 0.0048 | 0.0098 |
| 代时/h Generation time | 144.4 | 70.7 |
| 叶绿素含量/(mg · L ⁻¹) Chlorophyll | 0.83 | 0.32 |

2.2 不同碳源对绿藻 B-7 生长的影响

不同碳源对绿藻 B-7 生长的影响结果见图 1,绿藻 B-7 在 5 种不同碳源下的生长差异并不显著,在 5 种碳源中绿藻 B-7 均能生长,但在葡萄糖中生长略快,以下异养试验中均以葡萄糖作为碳源。

2.3 不同氮源对绿藻 B-7 生长的影响

不同氮源对绿藻 B-7 生长的影响结果如图 2 所示。由图 2 可见 B-7 藻以蛋白胨作为氮源时生长最好,以酵母粉作为氮源时也可获得较好的生长,以下异养试验中均以蛋白胨作为氮源。

2.4 不同异养培养条件对绿藻 B-7 生长的影响

不同异养培养条件对绿藻 B-7 生长影响的正交试验结果见表 3;方差分析结果见表 4。由表中可以

看出,各因素对绿藻 B-7 异养生长影响的大小顺序依次为: B > A > C > D。不同温度对绿藻 B-7 生长的影响差异显著, 4~6 °C 时绿藻 B-7 生长较好, 4 °C 时生物量最高。不同 pH 对绿藻 B-7 生长的影响差异极显著, 绿藻 B-7 适宜生长的 pH 值为 6~8, pH 值为 7 时可获得最高生物量, 当初始 pH 值偏低(低于 6)时, 藻细胞生长速率迅速降低。不同装液量及不同接种量对 B-7 藻生长的影响差异并不显著, 250 mL 三角瓶中装入 50 mL 培养液时藻细胞浓度最大, 当接种量为 20% 时细胞终浓度最大, 大于或低于 20% 时, 藻细胞终浓度均下降。

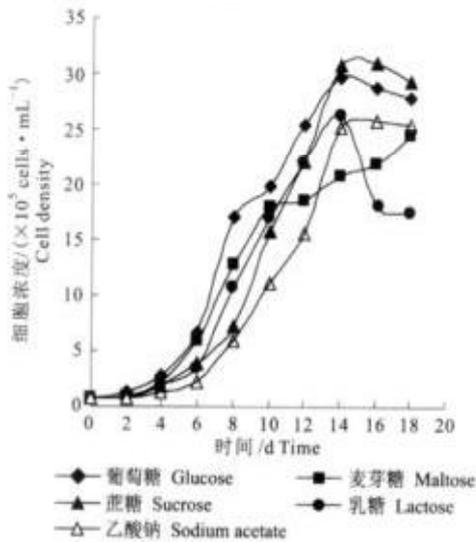


图1 不同碳源对绿藻 B-7 生长的影响

Fig.1 Effects of on growth of Chlorophyceae B-7

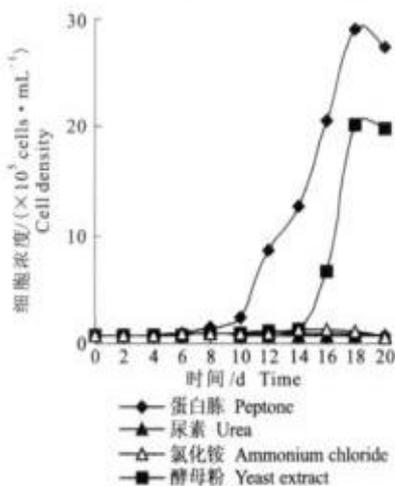


图2 不同氮源对绿藻 B-7 生长的影响

Fig.2 Effects of on growth of Chlorophyceae B-7 different nitrogen resources

2.5 自养与异养条件下绿藻 B-7 主要营养成分分析

对绿藻 B-7 在自养与异养条件下的蛋白质含量及脂肪酸成分进行了分析。光合自养条件下绿藻 B-7 细胞的蛋白质含量为藻体干重的 26.88%, 异养培养条件下为 50.63%, 后者蛋白质含量比前者增长近 1 倍。自养与异养条件下绿藻 B-7 细胞的脂肪酸组成见表 5。由表 5 可见, 异养藻细胞与自养藻细胞相比, 饱和脂肪酸及多不饱和脂肪酸占总脂肪酸的含量下降, 单不饱和脂肪酸含量基本维持不变或有所上升, 其中 $C_{18:1}$ 的含量增长 1 倍多。

表3 正交试验结果

Table 3 Result of orthogonal design for heterotrophic cultivation of Chlorophyceae B-7

| 试验号 Experiment number | A | B | C | D | E | F | 细胞浓度/(10^5 cells · mL ⁻¹) Cell density |
|-----------------------------|------------|-------------|-------|-------|-------|-------|---|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0.58 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0.68 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 0.70 |
| 4 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 8.56 |
| 5 | 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 7.10 |
| 6 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 0.70 |
| 7 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 0.93 |
| 8 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 7.32 |
| 9 | 2 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 14.36 |
| 10 | 2 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 4.02 |
| 11 | 3 | 1 | 3 | 5 | 2 | 4 | 1.55 |
| 12 | 3 | 2 | 4 | 1 | 3 | 5 | 0.68 |
| 13 | 3 | 3 | 5 | 2 | 4 | 1 | 21.13 |
| 14 | 3 | 4 | 1 | 3 | 5 | 2 | 33.36 |
| 15 | 3 | 5 | 2 | 4 | 1 | 5 | 26.10 |
| 16 | 4 | 1 | 4 | 2 | 5 | 3 | 0.65 |
| 17 | 4 | 2 | 5 | 3 | 1 | 4 | 0.65 |
| 18 | 4 | 3 | 1 | 4 | 2 | 5 | 32.50 |
| 19 | 4 | 4 | 2 | 5 | 3 | 1 | 19.40 |
| 20 | 4 | 5 | 3 | 1 | 4 | 2 | 16.20 |
| 21 | 5 | 1 | 5 | 4 | 3 | 2 | 0.70 |
| 22 | 5 | 2 | 1 | 5 | 4 | 3 | 1.88 |
| 23 | 5 | 3 | 2 | 1 | 5 | 4 | 7.23 |
| 24 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | 5 | 8.43 |
| 25 | 5 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | 8.20 |
| I | 17.62 | 4.18 | 72.33 | 39.05 | 43.08 | 50.24 | |
| II | 27.33 | 4.82 | 54.11 | 34.91 | 57.29 | 58.26 | |
| III | 82.82 | 68.88 | 27.81 | 43.61 | 25.50 | 43.69 | |
| IV | 69.40 | 84.11 | 25.41 | 68.79 | 48.47 | 22.01 | |
| V | 26.44 | 61.62 | 43.94 | 37.25 | 49.27 | 49.41 | |
| S | 686.411131 | 60302.00153 | 01112 | 97150 | 52 | | |

注: A - 温度(°C); B - pH; C - 装液量(mL); D - 接种量(%)。

Note: A - Temperature (°C); B - pH; C - Loading volume (mL);

D - Seed volume(%).

表4 方差分析表

Table 4 Analysis of Anova SS for the heterotrophic cultivation of Chlorophyceae B-7

| 方差来源 Variance source | 离差平方和 Sum of dispersion squares | 自由度 Degree of freedom | 均方 Mean square | F | P |
|-------------------------|------------------------------------|--------------------------|-------------------|------|-------|
| A | 686.41 | 4 | 171.60 | 5.21 | <0.05 |
| B | 1131.60 | 4 | 282.90 | 8.59 | <0.01 |
| C | 302.00 | 4 | 75.50 | 2.29 | >0.05 |
| D | 153.01 | 4 | 38.25 | 1.16 | >0.05 |

注:A-温度(°C);B-pH;C-装液量(mL);D-接种量(%).

Note: A-Temperature (°C); B-pH; C-Loading volume (mL); D-Seed volume(%).

表5 光合自养与异养培养条件下绿藻 B-7 脂肪酸组成比较

Table 5 Fatty acid composition comparison of Chlorophyceae B-7 under photoautotrophic and heterotrophic cultivation %

| 培养条件 Condition | 脂肪酸组成 Fatty acid component | | | | | | |
|---------------------|----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | C _{16:0} | C _{18:1} | C _{18:0} | C _{18:1} | C _{18:2} | C _{18:3} | C _{20:5} |
| 自养 Photoautotrophic | 12.14 | 12.28 | 1.37 | 8.52 | 5.48 | 17.29 | 10.52 |
| 异养 Heterotrophic | 6.99 | 10.8 | 1.28 | 20.05 | 3.93 | 16.29 | 6.01 |

3 讨论

3.1 绿藻 B-7 的异养培养方式

南极独特的地理及气候特征造就了南极冰藻特殊的生物学特征。对有机物的异养性吸收在冰藻的生长代谢中发挥着重要的作用。首先,在漫长的黑暗冬季,冰藻细胞能够通过呼吸途径和生物合成途径利用有机物作为碳源和能源,维持细胞的代谢和生长。胞内贮存的糖和脂肪,可以为冰藻细胞在冬季的生存提供所需的碳源和能源。其次,在春季光线由于受到冰层和雪层的阻碍而衰减,异养方式可以为冰藻细胞的光合作用提供额外的碳源和能源。Bunt^[16]认为,异养对于冰藻在黑暗中的生存是重要的。Palmisano 等^[17]发现,3种南极硅藻对葡萄糖的吸收在黑暗条件下显著提高。

南极绿藻 B-7 在含有机碳、氮源的 1/2 培养液中的营养方式,属异养方式,有机物的存在极大地促进了藻细胞的增殖,缩短了培养时间,生长速率约为自养条件下的 2 倍,短时间内可获得较高的生物量,使大量培养时的效率得以成倍增长。在异养培养过程中,氧化磷酸化是藻细胞获取能量的主要方式,基本不依靠光合磷酸化作用,叶绿素含量会有所下降(表2)。南极绿藻 B-7 异养培养过程中,培养液没有明显的黄化现象,但培养终止时,叶绿素含量较之自养条件下明显下降。

异养和光合自养的条件不同,可使微藻的化学组成发生较明显的变化。针对此问题,可以把微藻在异养培养的后期进行一段时间的光合自养培养。值得注意的是,在从异养转到自养培养时,培养液中葡萄糖浓度必须为零。因为此时细胞密度大,光线穿透力低,如仍有葡萄糖存在,则藻细胞仍将主要通过异养代谢生长。此外,从经济角度考虑,在自养阶段利用开放池系统将大大节约成本,此时若有葡萄糖存在,将导致开放池培养液的严重污染。

3.2 绿藻 B-7 的异养培养条件

本研究表明,绿藻 B-7 在所试验的 5 种碳源中均能生长,说明其利用碳源的范围较广,这有利于进行绿藻 B-7 的大规模培养。比较发现,在分别以葡萄糖、蛋白胨作为有机碳、氮源时,绿藻 B-7 生长最快。因此,选择葡萄糖、蛋白胨作为培养液的有机碳、氮源,进行绿藻 B-7 的异养培养。本研究中碳源添加浓度为 2 g/L,氮源质量分数为 1%。Chen 等^[18]报道,与细菌、酵母菌相比,微藻不能耐受较高浓度的有机物。绿藻 B-7 对有机物的耐受度,有待于进一步研究。本研究表明,绿藻 B-7 在所测试的 0~8 °C 均可生长,其最适生长温度为 4 °C,这与我国北方地区冬末春初时的温度相近。目前,在北方地区,育苗厂在初春培养幼苗所用的饵料为常温藻类,由于此时海水温度较低,需对培养饵料的海水加温才能满足其生长的需要,这极大地增加了育苗的成本。利用绿藻 B-7 的低温生活习性,可在温度较低的情况下予以大规模培养,进而为养殖动物的幼苗提供经济饵料。当异养培养液呈中性时,绿藻 B-7 可获得较高的生物量。此外,较低的三角瓶装液量及适中的接种量都适宜于绿藻 B-7 的生长,这说明保持适当的溶氧量对绿藻 B-7 的异养培养也是重要的。经过培养条件优化,绿藻 B-7 异养培养的最适温度为 4 °C,最适 pH 值 7,最佳装液量 50 mL/

250 mL三角瓶,最佳接种量20%。

3.3 绿藻 B-7 的营养成分

有资料表明^[19],在不同的生长条件下,如光照、温度和营养盐限制,冰藻的蛋白质含量会相对地发生变化。这是因为细胞内的功能蛋白质要维持正常的细胞功能。绿藻 B-7 单细胞蛋白含量较高,异养培养下的蛋白质含量可达50%,较之光合自养条件下增长近1倍,在相同培养时间内,单位体积内异养绿藻 B-7 的藻体收获量约为自养绿藻 B-7 的2倍。因此,异养培养条件下单位体积内绿藻 B-7 单细胞蛋白的产量约为自养条件下的4倍,提高了绿藻 B-7 作为饲料的营养价值。

南极冰藻的总脂含量通常高于常温藻^[20],这说明南极冰藻比常温藻更易在胞内积累脂肪。脂肪通常作为冰藻细胞内的储存物质,为冰藻在冬季黑暗生存提供碳源及能源。这也是南极冰藻比常温藻更能抗冻的原因之一。不同的生长环境也影响了脂肪的代谢。研究表明,在异养条件下,绿藻 B-7 的饱和脂肪酸及多不饱和脂肪酸较之自养条件下含量下降,单不饱和脂肪酸含量基本维持不变或有所上升,绿藻 B-7 的营养价值不低於自养绿藻 B-7。

综上所述,通过异养培养可有效地提高绿藻 B-7 的藻体最终收获量,且异养条件下绿藻 B-7 的营养价值不低於自养绿藻 B-7。因此,在我国北方寒冷季节,可以利用异养培养方式大规模培养南极绿藻 B-7,为育苗提供充足的饲料。

参考文献:

- [1] Myklesstad S. Production of carbohydrates by marine planktonic diatoms I. Composition of nine different species in culture[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1974, 15:261-264.
- [2] Smith R E H, Clement P, Head E. Biosynthesis and photosynthate allocation patterns of Arctic ice algae[J]. Limnol Oceanogr, 1989, 34:591-605.
- [3] Raymond J A, Sullivan C W. Release of an ice-active substance by Antarctic sea ice diatoms[J]. Polar Biol, 1994, 14:71-75.
- [4] Karentz D, McEuen F S, Land M C et al. Survey of mycosporine-like amino acid compounds in Antarctic marine organisms: potential protection from ultraviolet exposure[J]. Mar Biol, 1991, 108:157-166.
- [5] 于瑞海,王加海. 海产贝类的苗种生产[M]. 青岛:青岛海洋大学出版社,1993,211-228.
- [6] Feng Chen, Michael R. Heterotrophic growth of *Chlamydomonas reinhardtii* on acetate in chemostat culture[J]. Process Biochemistry, 1996, 31(6):601-604.
- [7] Day J. G, Travalos A. J. An investigation of the heterotrophic culture of the green alga *Tetraselmis*[J]. J Appl Phycol, 1996, 8:73-77.
- [8] 张海滨,孙世春,麦康森,等. 微藻异养培养技术的研究进展[J]. 海洋湖沼通报, 2000, 3:51-59.
- [9] Chen F, Chen H, Gong X D. Mixotrophic and heterotrophic growth of *Haematococcus lacustris* and rheological behaviour of the cell suspensions[J]. Bioresource Technology, 1997, 62:19-24.
- [10] Ogbonna J C, Tomiyama S, Tanaka H. Heterotrophic cultivation of *Euglena Gracilis* Z for efficient production of α -tocopherol[J]. J Appl Phycol, 1998, 10:67-74.
- [11] 刘世名,陈靠山,梁世中. 植物激素 IBA 与 6-BA 对插瓶分批流加异养培养小球藻的生长及化学组成的影响[J]. 西北植物学报, 2004, 24(1):65-69.
- [12] Wen Z Y, Chen F. Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by micromalage[J]. Biotechnology Advances, 2003, 21(4):273-294.
- [13] Jeffrey S W, Humphrey F G. New spectrophotometric equations for determining a, b, c1 and c2 in higher plants algal and natural phytoplankton[J]. Biochem Physiol, 1975, 167:191-194.
- [14] 黄伟坤. 食品检验与分析[M]. 北京:轻工业出版社, 1989, 49-53.
- [15] 林学政,李光友. 11种微藻脂类和 EPA/DHA 组成的研究[J]. 黄渤海海洋, 2000, 18(2):36-40.
- [16] Bunt J S, Lee C C. Data on the composition and dark survival of four sea-ice microalgae[J]. Limnol Oceanogr, 1972, 17:458-461.
- [17] Palmisano A C, Soohoo J B, Sullivan C W. Physiology of sea ice diatoms[J]. J Phycol, 1982, 18:489-498.
- [18] Chen F, Johns M R. Substrate inhibition of *Chlamydomonas reinhardtii* by acetate in heterotrophic culture[J]. Process Biochem, 1994, 29:245-252.
- [19] Smith R E H, Herman A W. In situ patterns of intracellular photosynthate allocation by sea ice algae in the Canadian High Arctic[J]. Polar Biol, 1992, 12:545-551.
- [20] 缪锦来,石红旗,姜英辉,等. 南极冰藻生化组成及其与低温适应性关系的研究[J]. 海洋科学进展, 2002, 20(4):43-50.

Heterotrophic cultivation research of Antarctic ice algae Chlorophyceae B-7

LI Hao^{1,2}, MIAO Jin-lai², CUI Feng-xia³, LI Guang-you²

(1. Marine Life College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Key Laboratory of Marine Biological Active Substances, State Ocean Administration, Qingdao 266061, China; 3. Fishery College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The Antarctic water samples and sea ice samples from which Antarctic ice algae Chlorophyceae B-7 used in this research were collected during the 18th China Antarctic science review from October 2001 to April 2002. The studies on the heterotrophic culture condition of Chlorophyceae B-7 were carried out using the monofactorial experiment and $L_{25}(5^6)$ orthogonal design. The change of biochemical composition of Chlorophyceae B-7 under heterotrophic culture was determined by using Kjeldahl determination method and gas chromatograph method. The results showed that the growth rate of Chlorophyceae B-7 under heterotrophic culture (0.0098 h^{-1}) was about twice as that of Chlorophyceae B-7 under phototrophic culture. The optimal organic carbon and nitrogen source of Chlorophyceae B-7 under heterotrophic culture were glucose and peptone, respectively. The optimal heterotrophic culture condition of Chlorophyceae B-7 was: $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ cultivation temperature, initial pH value 6–8, 50 mL medium in 250 mL flask and seeding ratio 20% (V/V). Under this condition, Chlorophyceae B-7 got the highest biomass. The biochemical composition of Chlorophyceae B-7 got changes under heterotrophic culture. Compared with phototrophic, the protein content and monounsaturated fatty acid content increased, whereas the saturated and polyunsaturated fatty acid contents decreased. The protein content under heterotrophic culture reached about 50% of the algae dry weight, about twice as that of Chlorophyceae B-7 under phototrophic culture. Under heterotrophic culture, the biomass of Chlorophyceae B-7 could be improved effectively and the nutrition value was no less than that under phototrophic culture. It is suggested that during cold winter in the north of China, Chlorophyceae B-7 could be cultured extensively through heterotrophic culture and can be used as mariculture food in the process of breeding.

Key words: heterotrophic cultivation; photoautotrophic cultivation; Antarctic ice algae; chlorophyceae; biochemical composition

欢迎订阅 2005 年《水产学报》

《水产学报》是中国水产学会主办、上海水产大学承办的水产科学技术的学术性刊物,创刊于 1964 年。主要刊载渔业资源、水产养殖和增殖、水产捕捞、水产品保鲜与综合利用、渔业水域环境保护、渔船、渔业机械与仪器以及水产基础研究的论文、简报和综述,并酌登学术动态和重要书刊的评价等。

本刊为双月刊,大 16 开。国内外公开发行。每期单价 15 元,全年定价 90 元(含邮费)。国内统一刊号:CN31-1283/S;国际标准刊号:ISSN 1000-0615。国外发行代号:Q-387,国内邮发代号:4-297。读者可在当地邮局订阅,也可直接汇款至编辑部订阅。编辑部还有《水产学报》(1964-2001 年)全文检索光盘,定价 200 元(含邮费),欢迎订阅。

编辑部地址:上海市军工路 334 号,上海水产大学 48 信箱,邮编:200090

联系电话:021-65710232,传真:021-65680965。E-mail:jfc@shfu.edu.cn 或 scxuebao@online.sh.cn