

紫外线照射对金鱼孵化率的影响

戴桂馥¹, 吴 健¹, 张凤秋², 石永辉³, 徐文举³

(1. 郑州大学生物工程系, 河南 郑州 450052; 2. 郑州大学 离子束生物工程省重点实验室, 河南 郑州 450052; 3. 郑州大学物理工程学院, 河南 郑州 450052)

摘要:以黑龙睛金鱼(*Carassius auratus*)受精卵和处于4~8细胞期、多细胞期、原肠期、心脏搏动期的胚胎为对象, 研究不同剂量紫外线(UV)照射对金鱼胚胎发育的影响。发现用低剂量的UV照射可以提高金鱼受精卵或发育早期胚胎的孵化率。对发育到原肠期以后的胚胎UV照射无上述刺激作用, 而是随着照射剂量的升高, 孵化率急剧下降。另外, 实验结果显示, UV并未加速胚胎发育的进程。当UV照射时间小于180 s时, 受精卵或发育早期胚胎的畸形率没有明显增加。对出现上述结果的可能机理做了探讨并对UV用于育苗孵化和育种两方面的应用提出了建议。

关键词:紫外线; 金鱼; 受精卵; 胚胎发育

中图分类号: Q691 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2005)05-0657-04

紫外线(UV)对生物进化、个体发育和生态系统有重要的影响。近年来随着臭氧层破坏的加剧, 使地球表面UV辐射强度明显增加。因而短波段紫外线(UV-B)对生物个体发育及生态系统的影响引起了人们极大的关注。在水生生物方面, Kieser 等^[1]、Tietge 等^[2]和 Blaustein 等^[3]的研究证明, 环境中的UV-B可以导致两栖类胚胎死亡率和畸形率增高。Hakkinen 等^[4]的研究认为, 不同种的北方无尾(两栖)类胚胎对UV辐射的敏感性不同。Amemiya 等^[5]研究结果表明, UV辐射可抑制海胆胚胎的原肠形成。Charon^[6]发现UV-B降低斑马鱼(*Brachydanio rerio*)的孵化率。而 Volz^[7]报道UV辐射显著增加 grass shrimp(*Palaemonetes pugio*)的产卵量。可见, 短波紫外线对水生生物的影响是复杂的。本研究利用杀菌紫外灯照射处于不同发育时期的金鱼胚胎, 发现用低剂量的UV照射发育到原肠期以前的胚胎可以提高金鱼的孵化率。而畸形率没有明显提高。这对于研究UV对鱼类胚胎发育和生态系统的影响, 以及渔业生产有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 亲鱼

近2龄、性成熟的、体型良好的黑龙睛金鱼(*Carassius auratus*)选自郑州郊区某金鱼孵化场。

1.2 受精卵

在经高锰酸钾消毒的磁盘底铺上尼龙网, 通过湿法授精

将受精卵均匀散布于网上^[8]。

1.3 UV辐射处理

照射实验5组, 分别于受精后约40 min、1.5 h、3 h、12 h和28 h进行。接受照射时胚胎发育分别处于受精卵、4~8细胞期、多细胞期、原肠期和心脏搏动期。每组实验所用受精卵或胚胎来自于同一对亲鱼, 包括一个对照组(照射时间为0 s)和7~8个处理组。受精卵组的对照和每个处理的样本数量为200~300枚, 其余各组300~400枚。对照组和处理组的受精卵都连同尼龙网平铺于直径为18 cm的培养皿底部, 受精卵朝上, 每皿加水3 mL。每组实验的照射时间为: 0(CK)、15 s、30 s、60 s、90 s、180 s、300 s、600 s和1200 s, 紫外灯功率为20 W, 照射距离为30 cm。

1.4 孵化

照射后加水避光孵化5 h, 然后于(20±2)℃正常光照下孵化。

1.5 计算方法

实验中各参数按下式计算:

$$R_H = A/B \cdot 100\%$$

$$R_D = C/A \cdot 100\%$$

$$R_{75h} = R_{120h}/R_H \cdot 100\%$$

式中, R_H 为孵化率, R_D 为畸形率, R_{75h} 为75 h相对孵化率, R_{120h} 为120 h孵化率, A 为仔鱼数, B 为对照或处理受精卵或胚胎数, C 为畸形鱼数。

收稿日期: 2004-11-08; 修订日期: 2005-02-01。

基金项目: 河南省重大科技攻关项目(9810500240)。

作者简介: 戴桂馥(1963-), 女, 博士生, 研究方向为生物技术。

2 结果与分析

2.1 低剂量 UV 照射发育到多细胞期以前胚胎对金鱼孵化率的影响

图1显示UV照射金鱼受精卵、4~8细胞期和多细胞期的胚胎产生的剂量与孵化率的关系。从孵化率的变化趋势看,处于上述3个发育时期的胚胎经UV处理后,均在较低剂量处(15s或30s)出现孵化率高峰。孵化率分别比对照组提高26.9%、5.7%和14.7%。并且,对照组孵化率越低,低剂量UV照射对其孵化率提高的幅度越大。

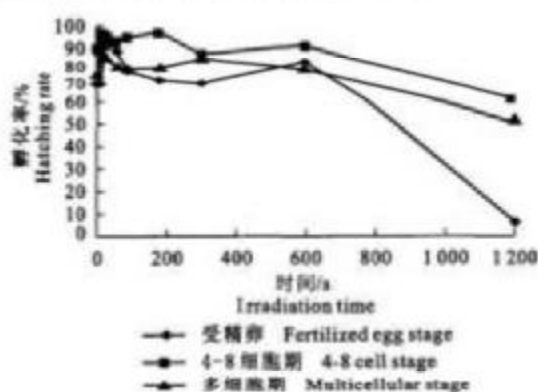


图1 UV照射金鱼受精卵、4~8细胞期和多细胞期胚胎对金鱼孵化率的影响

注:紫外灯功率20 W,照射距离30 cm

Fig.1 Effects of UV irradiation on hatching rate of *C. auratus* eggs and embryos at 4-8 cell stage and multicellular stage

Note: 20 W of UV light, 30 cm of irradiation distance

当照射剂量小于600 s或在600~900 s间的某个剂量点时,无论受精卵,还是上述两个时期的幼胚为被照射材料,孵化率基本上都比相应的对照组高。显然,低剂量的UV处理受精卵或发育早期的金鱼胚胎均可提高其孵化率。

此外,图1的3条曲线变化规律显示,在孵化率显著降低以前(受精卵组和4~8细胞期组:600 s;多细胞组:300 s)均出现一个孵化率回调的现象。

2.2 照射剂量对金鱼发育后期胚胎的影响

图2关于UV处理原肠期和心脏搏动期的胚胎对孵化率影响的结果显示,当胚胎发育进入原肠期和心脏搏动期后再接受UV照射,即使是很低的剂量,也会导致孵化率的降低,而不表现出孵化率提高的刺激效应。并且随着UV照射剂量的升高,孵化率急剧下降,说明处于原肠期和心脏搏动期的胚胎对UV照射的耐受性不如早期胚胎好。而且,胚胎发育较晚一些的心脏搏动期比早期一些的原肠期对UV更敏感。这与图1结果不同。

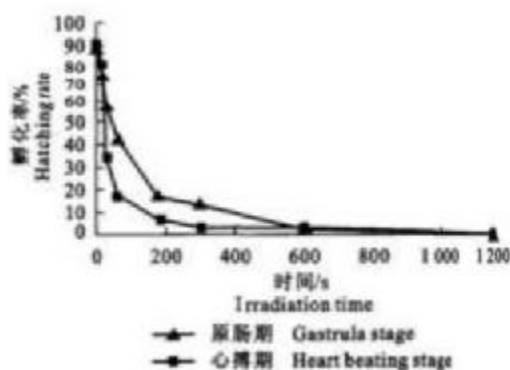


图2 UV照射金鱼原肠期和心脏搏动期胚胎对孵化率的影响

注:紫外灯功率20 W,照射距离30 cm

Fig.2 Effects of UV irradiation on hatching rate of *C. auratus* embryos at gastrula stage and heart beating stage

Note: 20 W of UV light, 30 cm of irradiation distance

2.3 UV处理对金鱼受精卵孵化时间的影响

表1显示照射时间为15~60 s能不同程度地增加受精卵的孵化率,但是,依据75 h统计结果,UV照射并没有提高金鱼胚胎的孵化速度。相反,除了照射时间60 s处理的结果比对照组略高外,其余在75 h的孵化率均低于对照组。这一孵化的延迟可能反映了UV引起作用的过程,这一过程可能是一种UV诱发的DNA修复过程。

表1 UV照射金鱼受精卵对孵化速度的影响

Tab.1 Effects of UV irradiation on hatching speed of fertilized eggs of *C. auratus*

项目 Item	照射时间/s Irradiation time								
	0(CK)	15	30	60	90	180	300	600	1200
孵化率/% Hatching rate	69.8	69.6	96.7	89.0	77.5	72.6	70.0	82.3	6.8
75 h 相对孵化率/% 75 h Relative hatching rate	23.2	12.9	6.0	25.7	8.0	18.9	8.5	0.5	20.1

2.4 UV 对金鱼早期胚胎的致畸作用

图3至图5分别表示UV处理受精卵和处于4~8细胞期及多细胞期胚胎产生的致畸率与孵化率的比较曲线。结果表明,低于180 s的照射剂量对处于上述3个发育时期的胚胎均不会引起畸形率的显著提高,当照射时间大于5 min所达的UV剂量时,畸形率开始上升,并且随着剂量的升高,特别当照射时间大于600 s时,畸形率显著提高。对于上述3个不同的发育时期,从致畸影响的角度看,对UV最敏感的是受精卵。

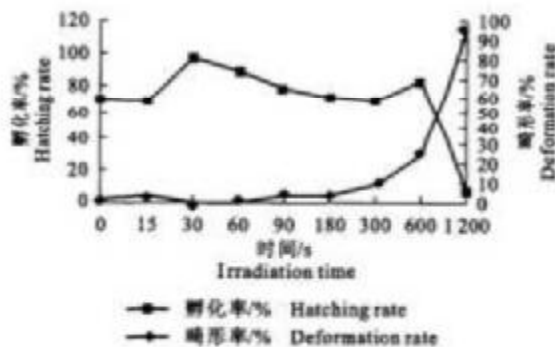


图3 UV照射金鱼受精卵产生的致畸效应

注:紫外灯功率20 W,照射距离30 cm

Fig.3 Deformation effect of fertilized eggs by UV irradiation

Note: 20 W of UV light, 30 cm of irradiation distance

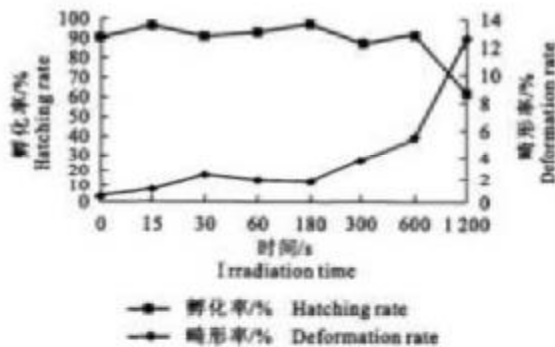


图4 UV照射金鱼4~8细胞期胚胎产生的致畸效应

注:紫外灯功率20 W,照射距离30 cm

Fig.4 Deformation effect of embryos at 4~8 cell stage by UV irradiation

Note: 20 W of UV light, 30 cm of irradiation distance

3 讨论

3.1 低剂量的UV显著提高发育早期胚胎的孵化率

从受精卵到多细胞期的金鱼胚胎以小于600 s UV的剂

量照射时,孵化率和对照组的结果相当或比对照组高。特别当以15 s或30 s所达剂量照射时,能显著提高孵化率。同时综合低剂量的UV不能加速孵化的结果,说明低剂量的UV能启动某种应激修复系统,使原本不能发育或停滞于某一发育时期的部分胚胎顺利完成胚胎发育。关于低剂量电离辐射在细胞水平或个体水平引起刺激作用已经有很多报道^[9-12]。非电离辐射的UV也可以刺激蓝藻细胞的生长^[13]。低剂量的UV-C还能减轻红薯和水果采收后的腐烂^[14-15]。

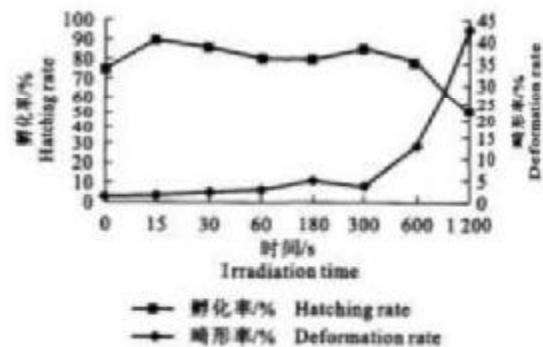


图5 UV照射金鱼多细胞期胚胎产生的致畸效应

注:紫外灯功率20 W,照射距离30 cm

Fig.5 Deformation effect of embryos at multi-cellular stage by UV irradiation

Note: 20 W of UV light, 30 cm of irradiation distance

3.2 UV仅对发育早期的胚胎存在刺激作用

当胚胎发育处于多细胞期以前,低剂量UV能提高孵化率,即存在刺激效应。当处于原肠期时,在本研究的实验剂量范围内,显示单方向致死损伤效应。说明处于原肠期和心脏搏动期的胚胎对UV辐射非常敏感。此结果与Amemiya等^[12]在海胆上所得的结果一致。

3.3 UV照射发育早期胚胎也存在致畸效应

当照射大于300 s所达UV时,即使是发育早期的胚胎畸形率也开始上升,特别当大于600 s所达UV剂量时,虽然孵化率出现第二个高峰,但是畸形率显著提高。说明此时修复系统的作用已经不能完全修复UV造成的损伤。

综上所述,低剂量UV照射对金鱼的胚胎发育产生刺激效应的原因可能是由于在其进化过程中鱼类形成了紫外线应激防护系统。

另外,如果将UV辐射用于渔业生产,则可以提高鱼苗的孵化率。为避免畸形鱼的产生,应选择小于180 s UV照射所达的剂量,最好小于30 s,而且接受UV照射的胚胎应处于多细胞期以前。如果UV用于选育新品种,应当适当提高辐射时间到300~600 s,并且用发育早期的胚胎为材料。这样既可以利用修复机制增大获得变异的可能性,同时又不会产生大量畸形胚胎。

参考文献:

- [1] Kiesecker J M, Blaustein A R, Belden L K. Complex causes of amphibian population declines[J]. *Nature*, 2001, 410(6829): 639-640.
- [2] Tietze J E, Diamond S A, Ankley G T, et al. Ambient solar UV radiation causes mortality in larvae of three species of *Rana* under controlled exposure conditions[J]. *Photochem Photobiol*, 2001, 74(2): 261-268.
- [3] Blaustein A R, Belden L K. Amphibian defenses against ultraviolet-B radiation[J]. *Evol Dev*, 2003, 5(1): 89-97.
- [4] Hakkinen J, Pasanen S, Kukkonen J V. The effects of solar UV-B radiation on embryonic mortality and development in three boreal anurans (*Rana temporaria*, *Rana arvalis* and *Bufo bufo*)[J]. *Chemosphere*, 2001, 44(3): 441-446.
- [5] Aramitsu S, Yonemura S, Kinoshita S. Biphasic stage sensitivity to UV suppression of gastrulation in sea urchin embryos[J]. *Cell Differ*, 1986, 18(1): 45-49.
- [6] Charron R A, Fenwick J C, Lean D R, et al. Ultraviolet-B radiation effects on antioxidant status and survival in the zebrafish, *Brachydanio rerio* [J]. *Photochem Photobiol*, 2000, 72(3): 327-333.
- [7] Vola D C, Wirth E F, Fulton M H et al. Endocrine-mediated effects of UV-A irradiation on grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) reproduction[J]. *Com Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2002, 133(3): 419-434.
- [8] 王楚松. 金鱼的养殖技术—金鱼的繁殖方法[J]. *水产养殖*, 1995(2): 19-21.
- [9] Olivieri G, Bodyncote J, Wolf S. Adaptive response of human lymphocytes to low concentration of radioactive thymidine[J]. *Science*, 1984(23): 594-595.
- [10] Liu S Z, Cai L, Sun S Q. Induction of a cytogenetic adaptive response by exposure of rabbits to very low dose rate radiation [J]. *Int J Radiat Bio*, 1992(62): 187-190.
- [11] Calabrese E J, Baldwin L A. Radiation hormesis: its historical foundations as a biological hypothesis[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2000, 19(1): 32-40.
- [12] Calabrese E J, Baldwin L A. The scientific foundations of hormesis[J]. *Crit Rev Toxicol*, 2001, 31(4,5): 351-694.
- [13] 徐达, 唐学玺, 张培玉. UV-B辐射对2种海洋微藻的生理效应[J]. *青岛海洋大学学报*, 2003, 33(2): 240-244.
- [14] Stevens C, Wilson C L, Lu J Y, et al. Plant hormesis induced by ultraviolet light-C for controlling postharvest diseases of tree fruits[J]. *Crop Protection*, 1996, 15(2): 129-134.
- [15] Stevens C, Khan V A, Lu J Y et al. Induced resistance of sweet potato to Fusarium root rot by UV-C hormesis[J]. *Crop Protect*, 1999, 18(7): 463-470.

Effects of UV on hatching rate of goldfish

DAI Gui-fu¹, WU Jian¹, ZHANG Feng-qiu², SHI Yong-hui³, XU Wen-ju³

(1. Department of Biotechnology, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. Key Laboratory of Ion Beam Biotechnology, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 3. College of Physics, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: Goldfish fertilized eggs and embryos at 4-8 cell stage, multicellular stage, gastrula stage and heart beating stage, respectively, were treated by a 30 W of UV light at 30 cm distance. Irradiation doses were changed according to treatment time from 15 s to 1 200 s. The result proved that the hatching rate of fertilized eggs or embryos at early stages irradiated by low dose of UV was increased. Whereas this stimulation effect was not found in the embryos at gastrula stage and heart beating stage in which the hatching rate sharply decreased along with the increasing of UV doses. It was also showed that UV radiation did not shorten the hatching period and the abnormal embryo rate did not increase when the radiation time was less than 3 min. The probable mechanism and suggestion about the potential applying of UV in fish production and breeding were also discussed.

Key words: UV; goldfish; fertilized egg; embryonic development

·综述·

微藻营养盐限制的检测方法

梁英¹, 尹翠玲¹, 冯力霞¹, 曹春晖²

(1. 中国海洋大学 海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003; 2. 天津科技大学 海洋科学与工程学院, 天津 300222)

摘要:对检测微藻营养盐限制的几种主要方法进行综述和比较, 结果认为: 1) 细胞内各营养盐的比值法虽然比较简便, 但所得值不稳定, 容易受光照、CO₂浓度、营养盐状况等因子影响; 2) 营养盐强化法是检测微藻营养盐限制最常用的一种方法, 但易受微藻种类组成的影响, 而且添加一种营养盐后可能导致其他营养盐的缺乏; 3) 营养盐吸收动力学法可应用于N、P限制的快速检测, 但微藻对营养盐的吸收速率因微藻的种类、营养盐的初始浓度和营养盐状况的不同而异; 4) 生化法曾被广泛地用于N、P、Fe等营养盐限制的研究, 但测量过程较复杂, 需要时间较长, 且不同种间存在差异; 5) 傅立叶变换红外光谱法可通过限制性营养盐添加前后微藻细胞红外光谱的变化来检测营养盐状况, 能快速准确地反映检测结果, 但仪器占地面积较大, 且价格昂贵; 6) 叶绿素荧光技术具有快速、灵敏、对细胞无损伤、需要样品量少的优点, 是检测微藻营养盐限制最有发展前景的方法。

关键词:微藻; 营养盐限制; 叶绿素荧光

中图分类号: S963.21 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2005)05-0661-07

水域初级生产力的大小受到水体中N、P、Fe等营养元素的限制, 这些营养元素是浮游植物进行光合作用、合成有机物的物质基础。在大多数海区中, 特别是当海水因温差而分层时, 恰恰是营养盐浓度限制了光合作用^[1]。一般来说, 在海水中N是主要的限制因子, 而在淡水中P是主要的限制因子^[2-3]。但具体来说, 各海区营养盐限制的地域差别十分明显。研究结果表明, 在北太平洋亚热带海域^[4]和地中海区^[5]P为限制因子。在富营养、低叶绿素的区域, 例如靠近赤道的太平洋海域和南部海域Fe为限制因子^[6-7]。微量元素Zn在某些情况下也可能成为限制因子^[8]。因此, 能否检测出何种营养盐是限制因子, 对认识微藻的生态环境及水质监控起着重要作用^[9]。本研究对检测微藻营养盐限制的几种主要方法及其应用过程中的优缺点进行了阐述和比较, 并重点阐述了叶绿素荧光技术在检测营养盐限制过程中的应用现状和发展前景, 旨在推进营养盐限制检测方法的进一步发展和完善, 这对浮游植物的资源利用、水产养殖和生态系统的可持续发展, 具有重要意义。

1 检测方法

1.1 细胞内各营养元素的比值判断法

利用浮游植物中营养元素的原子比是否偏离Redfield比值来判断限制因子, 即在正常的情况下, C:N:P比值约为106:16:1, 若N:P比值为30左右, 则P为限制性元素; N:P比值为5左右, 则N为限制性元素^[10]。据报道, 在栅藻(*Scenedesmus* sp.)中, N:P比值约为30时, 由P限制转为N限制^[11]。Clark等^[12-13]的研究结果表明, 培养液中N限制可导致等鞭藻(*Isochrysis galbana*)和两种海链藻(*Talassiosira weissflogii*, *T. pseudomana*)细胞中C:N比值上升, 但Davey和Geider^[14]的结果表明, Fe限制对牟氏角毛藻(*Chaetoceros muelleri*)细胞C:N比值没有显著影响。这种差异可能是由于限制性营养盐种类以及微藻种类的不同造成的。

1.2 营养盐强化法

一般用待测水域中的水样进行营养盐强化实验。分别向水样中添加不同种类的营养盐进行强化, 并在原位或实验室进行培养, 培养时间从几小时到几周不等, 定时测量细胞生长率、¹⁴C吸收率、光

收稿日期: 2004-11-30; 修订日期: 2005-03-18.

基金项目: 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室开放课题资助(200419).

作者简介: 梁英(1967-), 女, 副教授, 博士, 主要从事微藻生理生化研究. E-mail: yiliang@mail.ccit.edu.cn

合作用速率的变化等^[15-18]。如果添加某种营养盐后,上述指标明显增加,则说明此种营养盐限制了浮游植物的生长。营养盐强化法主要有小规模营养强化法^[15-17]、原位大规模营养强化法等^[18]。

1.3 营养盐吸收动力学法

营养盐进入藻细胞后,首先要同化成有机物,这一同化吸收的过程即为动力学过程。研究表明,微藻对营养盐限制的反应是增加其对该营养盐的吸收能力和(或)效率^[19-21]。N或P缺乏的细胞在所缺乏的营养盐重新添加后,其吸收速率立即快速上升。在这种状况下的最大吸收速率要远大于维持生长所需的最大吸收速率^[20-22],即细胞呈现奢侈性吸收。一些学者曾研究过在N缺乏时微藻对 NO_3^- 和 NH_4^+ 吸收的差异,以及两者之间的相互作用。结果表明, NH_4^+ 的存在可能降低 NO_3^- 的吸收和(或)同化能力^[23-24]。

1.4 生化法

生化法包括很多检测途径,许多学者通过研究营养盐限制前后微藻细胞蛋白质、脂类、碳水化合物等主要生化组成含量的变化,细胞内各色素之间的比例变化以及细胞中碱性磷酸酶的活性等来检测微藻营养盐的状况^[25-28]。

Kilham等^[25]对绿藻(*Ankistrodesmus falcatus*)的研究表明,与正常细胞相比,N限制的细胞蛋白质含量明显下降,而P限制的细胞碳水化合物和脂类含量明显升高,而且N、P限制细胞中蛋白质与脂类之间的比值也明显低于正常细胞。Young和Beardall^[26]测定了限制性营养盐N添加前后,盐藻(*D. tertiolecta*)细胞蛋白质、叶绿素/胡萝卜素比值,Chl *a*/Chl *b*比值的变化,结果表明,将 NO_3^- 添加到N限制的盐藻培养液中,蛋白质含量及色素水平在24小时内都有显著提高,其中蛋白质的增长最高可达350%。

Clark等^[12-13]的研究结果表明,培养液中N限制可导致等鞭藻和两种海链藻细胞中谷氨酰胺(Gln)/谷氨酸盐(Glu)比值以及Chl *a*/C比值下降。Devey和Geider^[14]研究了Fe限制对牟氏角毛藻光合系统的影响,结果表明,Fe限制导致黄素氧化还原蛋白含量显著增加,但将Fe添加到Fe限制的培养液后,黄素氧化还原蛋白含量没有明显减少。因此,限制性Fe添加前后黄素氧化还原蛋白含量的变化不能作为检测微藻营养盐限制的指标。

研究结果表明,P限制可导致甲藻(*Prorocentrum minimum*)^[27]和盐藻^[20]产生细胞表面蛋白—碱性磷酸酶,但在N限制的细胞中则检测不到这种碱性磷酸酶。Rose等^[28]利用限制性P盐添加前后碱性磷酸酶活性(APA)的变化来检测浮游植物P限制情况,结果表明,添加P后,APA活性降低,而添加其他营养盐则导致APA活性升高。

1.5 傅立叶变换红外光谱法

微藻受到营养盐限制时,其细胞内的C将重新分配,从而导致蛋白质、脂类、碳水化合物等相对含量发生变化,这一系列指标的变化可以通过傅立叶变换红外光谱反映出来^[29-30]。Beardall等^[29]运用傅立叶变换红外光谱法,测定了栅藻(*Scenedesmus quadricauda*)、球囊藻(*Sphaerocystis Schroeteri*)、席藻(*Phormidium luridum*)和菱形藻(*Nitzschia* sp.)等4种微藻在P限制前后细胞红外光谱的变化,结果表明,P限制前后,细胞内的贮藏C会发生变化。将 PO_4^{3-} 添加到P限制的4种微藻中后,除栅藻外,其他3种微藻的脂类、碳水化合物相对含量明显下降,而栅藻碳水化合物的相对含量则在添加 PO_4^{3-} 1小时后上升。这一结果与运用其他方法得出的结果一致。Giordano等^[30]分别用傅立叶变换红外光谱法及传统的化学方法研究了将牟氏角毛藻从N培养液中转移到N充足培养液,以及从N充足培养液转移到无N培养液中时,微藻细胞主要生化组成的变化,两种方法的结果都表明,培养液中N浓度发生改变时,牟氏角毛藻细胞内的C将重新分配,使蛋白质、脂类、碳水化合物等主要生化组成的相对含量发生变化。

1.6 叶绿素荧光法

叶绿素在光能的吸收、传递和转换过程中起着重要作用,在光合作用动力学中,被叶绿素吸收的光能主要分为3部分:(1)大部分以热的形式散发掉;(2)一部分进行光化学活动,如ATP的合成,NADP⁺还原等;(3)还有一部分以荧光的形式散发^[31-33]。在总能量一定的情况下,进行光化学的能量与荧光散发的能量密切相关。微藻受到营养盐限制时,其生理状态会发生变化从而导致叶绿素荧光散发的改变。因此可以通过叶绿素荧光的变化来检测微藻营养盐限制状况,主要方法有3种。

1.6.1 通过 F_v/F_m 比值的变化检测 利用限制性营养盐添加前后 F_v/F_m 比值(PSⅡ反应中心的最大光化学量子产量)的变化来检测微藻营养盐状况,一

般是将限制性营养盐添加到微藻培养液中,在几小时到几天的时间内,定时取样测量 F_v/F_m 比值。如果添加某种营养盐后, F_v/F_m 比值显著增加,则说明此种营养盐为限制性营养盐^[29,34-35]。

许多学者曾采用这种方法来检测微藻营养盐(N、P、Fe、Si)限制情况,研究结果表明,N、P、Fe、Si等营养盐的缺乏会导致 F_v/F_m 比值下降,而将限制性营养盐重新添加到培养液中时, F_v/F_m 比值会显著增加^[6,29,34-35]。例如,Beardall等^[29]的实验结果表明,将 PO_4^{3-} 添加到受P限制的栅藻等4种微藻中,经过24 h后,4种微藻的 F_v/F_m 比值都显著增加(增加幅度为21%~114%)。Young等^[34]将 NO_3^- 添加到受N限制的盐藻培养液中, F_v/F_m 比值在24 h内完全恢复(从0.40增加到0.70)。Behrenfeld等^[6]的研究结果表明,向富营养、低叶绿素区域(Fe限制)的水样中添加Fe, F_v/F_m 比值在24 h内从0.25增加到0.55。因此,许多学者认为限制性营养盐添加前后 F_v/F_m 比值的变化是反映微藻营养盐状况的重要指标。但Parkhill等^[35]却提出了不同的观点,认为这种方法并不是在所有的培养条件下都适用。其实验结果表明,此法只适用于一次性培养的微藻,而在半连续培养、连续培养中,当微藻适应了营养盐限制的环境后, F_v/F_m 比值将保持恒定,对营养盐限制不再敏感,因此也就不能作为检测微藻营养盐限制的一个可靠指标。有关这方面的问题还需要进一步研究。

1.6.2 通过NIFT反应检测 直接将限制性营养盐添加到测量叶绿素荧光用的石英比色皿中,通过限制性营养盐添加前后叶绿素荧光的瞬时变化(NIFT反应)来检测微藻营养状况^[9,29,36]。这种方法常用的参数是用荧光分光光度计测得的荧光发射光谱,以及用叶绿素荧光仪(PAM)^[36]或植物效率分析仪(PEA)^[37]测得的荧光参数 qP (光化学淬灭)、NPQ(非光化学淬灭)、 F (任一时间荧光产量)和 F_m' (PS II反应中心处于完全开放时的荧光产量)等^[9,29,36]。这种方法具有快速、准确、需要样品量少的优点,一般在1~30 min内就可得到测量结果,且仅需几毫升样品即可。Young等^[36]用NIFT反应来检测微藻N限制状况,研究结果表明,将 NH_4^+ 和 NO_3^- 分别添加到以 NO_3^- 为惟一N源且受N限制的盐藻(*D. tertiolecta*)中时,在几分钟内会观察到NIFT反应,但添加两种N源观察到的结果不

同。添加 NH_4^+ 时,叶绿素荧光产量首先小幅升高,接着是一个明显的下降;而添加 NO_3^- 时,叶绿素荧光首先迅速上升,接着在大约10 min后回到最初水平。而将 NH_4^+ 和 NO_3^- 分别添加于N充足的盐藻中时,则观察不到荧光产量的变化。这种变化主要是由于非光化学淬灭(NPQ)的变化引起的,而且与N限制的程度有关,即在N“饥饿”的细胞中比在N限制的细胞中更明显。Young^[36]的研究结果还表明,将 NH_4^+ 添加到以 NH_4^+ 为惟一N源且受N限制的盐藻中时,会出现NIFT反应;而添加 NO_3^- 时则没有观察到NIFT反应。这种差异可能是因为在受N限制时,该盐藻对两种N源的吸收机制不同引起的。

NIFT反应也可用来检测微藻P限制情况。Beardall等^[38]将 PO_4^{3-} 添加到受P限制的盐藻中时,叶绿素荧光产量迅速下降了40%,然后在几分钟内恢复到原来水平。Beardall等^[29]的实验结果表明,将 PO_4^{3-} 添加到受P限制的栅藻、球囊藻、席藻和菱形藻中后,除菱形藻外,其他3种微藻都立即出现了NIFT反应,即在加入 PO_4^{3-} 的瞬间, F_m' 下降,但十几分钟后,这种反应变得不明显或消失。将 PO_4^{3-} 添加到受P限制的菱形藻中时,没有出现NIFT反应。是否所有的硅藻都有这个特点还需要进行进一步研究。Beardall等^[29]的结果还表明,将N盐(硝酸盐、铵盐、尿素)或蒸馏水添加到受P限制的4种微藻中,没有出现NIFT反应。以上结果表明,P限制的微藻是否出现NIFT反应,受微藻种类及所添加营养盐种类的影响。

1.6.3 通过在线叶绿素荧光的变化检测 目前,还有一些学者^[39-40]用在线叶绿素荧光参数的变化来检测微藻营养盐限制情况,方法是通过玻璃纤维电缆将微藻培养容器瓶壁与叶绿素荧光仪连接起来,进行在线叶绿素荧光的连续测量。既可测量营养盐添加后叶绿素荧光的瞬时变化,又可进行叶绿素荧光的长时间(几天到十几天)连续监测。

Lippemeier等^[39]用在线叶绿素荧光法研究了N、P、Si等限制性营养盐添加前后,盐藻(*D. salina*)和海链藻(*Thalassiosira weissflogii*)叶绿素荧光的瞬时变化及长期变化,实验所用的荧光参数是 $\Delta F/F_m'$ 值(光适应细胞PSII反应中心的光化学效率)。研究结果表明,分别向N、P、Si缺乏的盐藻和海链藻培养液中添加营养盐时, $\Delta F/F_m'$ 值在1~

30 min内都有所变化,但变化趋势不同,添加P和Si时, $\Delta F/F_m'$ 值迅速下降,而添加N后却导致 $\Delta F/F_m'$ 值强烈的、较迟的上升。所有实验中的荧光值都在大约48 h恢复到正常水平^[39]。Lippenmeier等^[40]的研究结果表明,将 PO_4^{3-} 添加到受P限制的甲藻(*Alexandrium minutum*)中2 min后, $\Delta F/F_m'$ 值显著增加,4 d后恢复到正常水平。限制性营养盐添加前后叶绿素荧光的瞬时及长期变化主要是由于营养盐吸收机制引起的,叶绿素荧光的变化与营养盐状况密切相关,而且因限制性营养盐种类的不同而异;另一方面,在线叶绿素荧光法不仅能检测限制性营养盐添加后,叶绿素荧光的瞬时变化,又可进行叶绿素荧光的长时间连续监测,了解荧光参数完全恢复需要的时间,因此在线叶绿素荧光法在检测微藻营养盐限制方面有很好的发展前景。

2 几种微藻营养盐限制检测方法的比较

细胞内各营养元素的比值判断法,虽然比较简便,但所得值不稳定,容易受光照、 CO_2 浓度以及营养盐状况等因子影响。虽然该方法目前仍被广泛应用,但其可靠性受到了一些学者的质疑^[41-42],例如,杨东方等^[41]认为,Redfield 比值判断法只能表明在当时调查情况下,某种营养盐有可能首先被消耗到低值,但并不一定说明该营养盐是限制性营养盐。因此该方法一般只用于粗略估计水体环境或浮游植物中何种营养盐为潜在的限制因子。

营养盐强化法是检测微藻营养盐限制最常用的一种方法,至今仍然被频繁使用^[15-18]。但检测结果易受微藻种类组成的影响,而且添加一种营养盐后可能导致其他营养盐的缺乏^[17-18]。目前国内主要采用小规模营养强化法,在培养瓶中进行营养强化实验,然后在实验室或在现场条件下进行培养^[16-17]。一些发达国家则主要采用原位大规模营养强化法,在聚乙烯围隔或开放水域中进行营养强化实验^[18]。小规模营养强化法的优点是简便易行,成本较低,但在培养瓶中得出的结果不一定能反映自然生态系统的情况。而原位大规模营养强化法虽然更接近自然状况,但存在耗资巨大、技术要求复杂(如利用惰性气体 SF_6 痕量检测技术等)的缺陷。根据中国目前的情况,培养瓶小规模营养强化法是一种比较实用的方法。

营养盐吸收动力学法可快速检测微藻对营养盐

的吸收和同化速率,但微藻对某种营养盐的瞬间吸收速率因藻的种类、该营养盐的起始浓度和营养盐状态的不同而异^[19-24]。

生化法曾被广泛地用于N、P、Fe等营养盐限制的研究^[25-28],但是该方法测量过程较复杂,需要时间较长,而且不同种间存在差异。主要用于实验室研究。

傅立叶变换红外光谱法是利用限制性营养盐添加前后,微藻样品红外光谱的变化来检测微藻营养盐状况,是生化法的一种,但与传统的生化法相比,具有以下优点:(1)具有快速、可靠、需要样品量少、样品处理简单、不破坏细胞等优点;(2)傅立叶变换红外光谱分辨率高,不仅能提供分子基团特征的振动吸收谱带,而且能敏锐地探测分子基团及其周围环境的变化,可通过测定完整组织细胞的傅立叶变换红外光谱获得组织细胞的全部生化组成;(3)傅立叶变换红外光谱可用来测定单个微藻细胞中蛋白质、脂类、碳水化合物、核酸等的相对含量,避免了传统化学方法测定生化组成过程中细菌或杂质的干扰,使测定结果更准确可靠。但是该方法也存在仪器占地面积较大且价格昂贵的缺陷^[29-30,42]。而且到目前为止,国内还未见相关报道,国外有关的报道也很少^[29-30],仅对少数微藻种类进行了初步的研究,一些实验方法和实验手段还需要进一步改进和验证。

与上述检测方法相比,叶绿素荧光法具有快速、灵敏、对细胞无损伤、需要样品量少的优点,是检测微藻营养盐限制最有发展前景的方法。目前,国外在这方面已做了很多工作,此项技术已广泛用于实验室及天然水域营养盐限制检测研究中^[29,34-36,38-40]。国内由于仪器设备的限制,还没有用叶绿素荧光技术检测营养盐限制的报道,因此需要加大这方面的研究力度。

总之,目前国内主要采用小规模营养强化法、营养盐吸收动力学法、细胞内各营养元素的比值判断法等方法研究水体环境或浮游植物营养盐限制情况,这些方法虽然比较成熟,应用也比较广泛,但普遍存在需要破坏细胞、测量方法较复杂、测量时间较长的缺陷。而叶绿素荧光法可以很好得解决以上问题。目前本实验室正利用德国Walz公司产叶绿素荧光仪(Water-PAM)开展这方面的研究工作,利用限制性营养盐添加前后 F_v/F_m 比值的变化以及NIFT反应来检测微藻营养盐状况,并针对不同的

微藻种类、营养盐限制程度、限制性营养盐种类、添加营养盐种类进行了一系列实验,取得了良好的结果。这项研究工作的开展有助于推进营养盐限制检测方法的进一步改进和完善,对于浮游植物的资源利用、水产养殖和生态系统的可持续发展,具有重要的意义。

3 叶绿素荧光技术的应用前景和展望

叶绿素荧光分析技术是一种以光合作用理论为基础,利用体内叶绿素作为天然探针、研究和探测植物光合生理状况及各种外界因子对其细微影响的新型植物活体测定和诊断技术,是研究植物光合作用的良好探针。可通过限制性营养盐添加前后 F_v/F_m 比值的变化以及 NIFT 反应来检测微藻营养盐状况,具有快速、准确、不破坏细胞、需要样品量少的优点。但该技术的应用还存在以下问题:

(1)利用限制性营养盐添加前后 F_v/F_m 比值的变化来检测微藻营养盐状况,不同学者得出了不同的结论,因此必须针对不同的微藻种类、不同的培养条件进行进一步研究,验证此法的可靠性,确定其应用范围。

(2)通过 NIFT 反应来检测微藻营养盐限制的方法,虽然具有快速、准确、需要样品量少的优点,但目前应用此法开展的研究工作还远远不够,已有文献^[9,26,33]仅对少数几种微藻进行了研究。今后还需增加这方面的研究力度,进一步研究微藻种类、营养盐限制程度、限制性营养盐种类、添加营养盐种类对 NIFT 反应的影响。验证此法的可靠性以及每种微藻在不同条件下出现 NIFT 反应的情况。

(3)如何用叶绿素荧光法检测混合样品(两种或两种以上微藻)营养盐限制情况,如何处理混合样品中不同微藻种类受到不同营养盐限制的情况,例如,硅藻可能是 Si 限制,而绿藻可能是 N 或 P 限制的情况,这些都是有待于进一步研究解决的问题。

(4)大型养殖池塘或天然水域中,浮游植物种类繁多,影响浮游植物生长的因子也众多,如何将实验室的研究成果应用到大型养殖池塘及天然水域中,为水产养殖及海区水质监控提供可靠的帮助等。

综上所述,检测微藻营养盐限制的方法较多,叶绿素荧光技术以其快速、准确、不破坏细胞、需要样品量少的优点受到广大科研工作者的关注,并已进行了大量实验研究工作,被认为是检测微藻营养盐限制最有发展前景的方法。但在实际应用中,因为

每种方法都有其优缺点,有时需要将几种方法结合起来使用,使微藻营养盐限制的检测结果更准确可靠。

参考文献:

- [1] 刘 慧,董双林,方建光. 全球海域营养盐研究进展[J]. 水产科学, 2002, 26(8): 47-53.
- [2] Eiler J J, Mørhoff E R, Goldman C R. Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton growth in freshwaters of North America: A review and critique of experimental enrichments [J]. Can J Fish Aquat Sci, 1990, 47: 1468-1477.
- [3] Dodds W K, Strauss E A, Lehmann R. Nutrient dilution and removal bioassays to estimate phytoplankton response to nutrient control [J]. Arch Hydrobiol, 1993, 128: 467-481.
- [4] Karl D M. A sea of change: Biogeochemical variability in the North Pacific subtropical gyre [J]. Ecosystems, 1999, 2:181-214.
- [5] Krom M D, Kress N, Brenner S. Phosphorus limitation of primary productivity in the eastern Mediterranean Sea [J]. Limnol Oceanogr, 1991, 36: 424-432.
- [6] Behrenfeld M J, Bale A J, Kolber Z S, et al. Conformation of iron limitation of phytoplankton photosynthesis in the equatorial Pacific Ocean [J]. Nature, 1996, 383 (6600): 508-511.
- [7] Timmermans K R, Van Leeuwe M A, DeJong J T M, et al. Iron stress in the Pacific region of the Southern Ocean: evidence from enrichment bioassays [J]. Mar Ecol Prog Ser, 1998, 166: 27-41.
- [8] Morel F M M, Reinfelder J R, Roberts S B, et al. Zinc and carbon co-limitation of marine phytoplankton [J]. Nature, 1994, 369:740-742.
- [9] Beardall J, Yong E, Roberts S. Approaches for determining phytoplankton nutrient limitation [J]. Aquat Sci, 2001, 63: 44-59.
- [10] Redfield A C. The biological control of chemical factors in the environment [J]. Am Sci, 1958, 46 (216): 1345-1347.
- [11] Rhee G Y. Phosphate uptake under nitrate limitation by *Scenedesmus* sp. and its ecological implications [J]. Phycol, 1974, 10: 470-475.
- [12] Clark D R, Merrett M J, Flynn K J. Utilisation of dissolved inorganic carbon (DIC) and the response of the marine flagellate *Ischrysis galbana* to carbon or nitrogen stress [J]. New Phytol, 1999, 144 (3): 463-470.
- [13] Clark D R. Growth rate relationships to physiological indices of nutrient status in marine diatoms [J]. J Phycol, 2001, 37(2): 249-256.
- [14] Davey M, Geider R J. Impact of iron limitation on the photosynthetic apparatus of the diatom *Chaetoceros muelleri* (Bacillariophyceae) [J]. J Phycol, 2001, 37(5): 987-1000.
- [15] 王 勇,赵 蕾,单宝田. 胶州湾营养盐限制浮游植物生长的初步模拟现场实验研究[J]. 海洋科学, 2002, 26 (10): 55-

- 58.
- [16] 邹立, 张经. 渤海春季营养盐限制的现场实验[J]. 海洋与湖泊, 2001, 32(6): 673-678.
- [17] Cullen J J, Yang X, MacIntyre H L. Nutrient limitation of marine photosynthesis [A]. Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea [M]. New York: Plenum Press, 1992. 69-88.
- [18] Cade K H, Johnson K S, Fitzwater S E, et al. IronEx-I, an in situ iron-enrichment experiment: Experimental design, implementation and results [J]. Deep-Sea Res II, 1998, 45: 919-945.
- [19] Butler A. Acquisition and utilization metal ions by marine organisms[J]. Science, 1998, 281: 207-210.
- [20] Genotano L M, Le Roche J, Geider R J. Physiological response to phosphorus limitation in batch and steady-state cultures of *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyta): a unique stress protein as an indicator of phosphate deficiency [J]. J Phycol, 1996, 32: 825-838.
- [21] Cochlan W P, Harrison P J. Uptake of nitrate, ammonium, and urea by nitrogen starved cultures of *Micromonas pusilla* (Prasinophyceae): Transient responses [J]. J Phycol, 1991, 27: 673-679.
- [22] Parslow J S, Harrison P J, Thompson P A. Development of rapid ammonium uptake during starvation of batch and chemostat cultures of the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* [J]. Mar Biol, 1984a, 83: 43-50.
- [23] Harrison G I, Harris L R, Irwin B D. The kinetics of nitrogen utilization in the oceanic mixed layer: Nitrate and ammonium interactions at nanomolar concentrations [J]. Limnol Oceanogr, 1996, 41: 16-32.
- [24] Dortch Q, Thompson P A, Harrison P J. Short-term interaction between nitrate and ammonium uptake in *Thalassiosira pseudonana*: effect of preconditioning nitrogen source and growth rate [J]. Mar Biol, 1991, 110: 183-198.
- [25] Kilham S S, Kruger D A, Goulden C E, et al. Effects of nutrient limitation on biochemical constituents of *Ankistrodesmus falcatus* [J]. Freshwat Biol, 1997, 38(3): 591-596.
- [26] Young E B, Beardall J. Photosynthetic function in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyta) during a nitrogen starvation and recovery cycle [J]. J Phycol, 2003, 39 (5): 897-905.
- [27] Dyhrman S T, Palenik B P. The identification and purification of a cell surface alkaline phosphatase from the dinoflagellate *Prorocentrum minimum* (Dinophyceae) [J]. J Phycol, 1997, 33 (4): 602-612.
- [28] Rose C, Adler R P. Uses of alkaline phosphatase activity in evaluating phytoplankton community phosphorus deficiency[J]. Hydrobiologia, 361: 145-156.
- [29] Beardall J, Berman T, Hensud P, et al. A comparison of methods for detection of phosphate limitation in microalgae [J]. Aquat Sci, 2001, 63: 107-121.
- [30] Giordano M, Kansiz M, Hensud P, et al. Fourier Transform Infrared spectroscopy as a novel tool to investigate changes in intracellular macromolecular pools in the marine microalgae *Chaetoceros mullerii* (Bacillariophyceae) [J]. J Phycol, 2001, 37(2): 271-279.
- [31] 冯建灿, 胡秀丽, 王训申. 叶绿素荧光动力学在研究植物逆境生理中的应用 [J]. 经济林研究, 2002, 20(4): 14-18.
- [32] 蒋高明. 当前植物生理生态研究的几个热点问题[J]. 植物生态学报, 2001, 25(5): 514-519.
- [33] 赵会杰, 邹奇, 余振文. 叶绿素荧光分析技术及其在植物光合机理研究中的应用[J]. 河南农业大学学报, 2000, 34(3): 248-251.
- [34] Young E B, Beardall J. Photosynthetic function in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyta) during a nitrogen starvation and recovery cycle[J]. J Phycol, 2003, 39 (5): 897-905.
- [35] Parkhill J P, Mallet G, Cullen J J. Fluorescence-based maximal quantum yield for PSII as a diagnostic of nutrient stress [J]. J Phycol, 2001, 37: 517-529.
- [36] Young E, Beardall J. Rapid ammonium and nitrate-induced perturbations to chl a fluorescence in nitrogen-stressed *Dunaliella tertiolecta* (chlorophyta) [J]. J Phycol, 2003, 39: 332-342.
- [37] Rech M, Moquet J-L, Tremblin G. Modification of the Hansatech FMS fluorometer to facilitate measurements with microalgal cultures [J]. Aquat Bot, 2003, 77(1): 71-80.
- [38] Beardall J, Young E B, Roberts S. Interaction between photosynthesis and the acquisition of N and P in *Dunaliella* [A]. Photosynthesis: from light to biosphere [C]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. 435-438.
- [39] Lippemeier S, Klaus R H, Vaseklow K H, et al. In-line recording of PAM fluorescence of phytoplankton cultures as a new tool for studying effects of fluctuating nutrient supply on photosynthesis [J]. Eur J Phycol, 2001, 36(1): 89-100.
- [40] Lippemeier S, Frampton D M, Blackburn S I, et al. Influence of phosphorus limitation on toxicity and photosynthesis of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) monitored by in-line detection of variable chlorophyll fluorescence [J]. J Phycol, 2003, 39(2): 320-331.
- [41] 杨东方, 张经, 滕康, 等. 营养盐限制的惟一性因子探究 [J]. 海洋科学, 2001, 25(12): 49-51.
- [42] Falkowski P G. Rationalizing elemental ratios in unicellular algae [J]. J Phycol, 2000, 36: 3-6.
- [43] Kansiz M, Hensud P, Wood B, et al. Fourier Transform Infrared microspectroscopy and chemometrics as a tool for the discrimination of cyanobacterial strains [J]. Phytochemistry, 1999, 52 (3): 407-417.

Methods for determining microalgal nutrient limitation

LIANG Ying¹, YIN Cui-ling¹, FENG Li-xia¹, CAO Chun-hui²

(1. The Key Laboratory of Mariculture of Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Marine Science and Engineering College, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300222, China)

Abstract: The merits and methodological limitations of several main approaches for determining microalgal nutrient limitation are briefly reviewed and compared. 1) The elemental ratios of microalgae can reflect the status of nutrient limitation, but the result is far from constant and easily influenced by light, CO₂ availability and nutrient status. 2) Enrichment experiments have been commonly used to determine the nutrient limitation in phytoplankton and natural water, but it can be influenced by the species composition of the seeding /inocula phytoplankton sample and addition of one macronutrient may induce limitation of other nutrients. 3) Nutrient uptake kinetics can be used for detecting microalgal nutrient limitation, as nutrient limited cells exhibit increased uptake capacity or efficiency for the specific nutrient after it is re-supplied. But the uptake rates vary with a range of factors including microalgal species, nutrient history and nutrient status. 4) Biochemical approach has been used extensively in the study of N, P and Fe deprivation, but this method entails destruction of the sample and time consuming, and complicated process. 5) Fourier-transform infrared microspectroscopic analysis can reveal dramatic spectral differences between nutrient-limited and nutrient-replete microalgal cells and represents a novel method to investigate macromolecular synthesis in response to changes in nutrient supply. But this method has the limitation of requiring bulky and expensive equipment. 6) The chlorophyll fluorescence measurements are non-destructive and highly sensitive, thus require only small volumes and low concentration of experimental samples. These characteristics make it become an increasing potential approach for exploring nutrient status of microalgae and their physiological response to varying environmental conditions.

Key words: microalgae; nutrient limitation; chlorophyll fluorescence

欢迎订阅 2006 年《大连水产学院学报》

《大连水产学院学报》是由大连水产学院主办的以水产科学为主的综合性学术刊物。主要刊登水生生物学、水产养殖、水生生物病害及其防治、水生生物营养及其饲料、水产捕捞、水产品保鲜与加工、渔船设计与制造等方面的研究论文、综述及研究简报。可供水产、生物、海洋渔业等专业的科研技术人员和大专院校的师生参考。

本刊为中文核心期刊。现已被美国《化学文摘》和 ASFA《水科学和渔业文摘》以及俄罗斯的《文摘杂志》等近 20 种国内外检索刊物、数据库列为收录刊源。1999 年荣获全国优秀高校自然科学学报三等奖；2004 年荣获全国高校科技期刊优秀编辑出版质量奖。

本刊为国内外公开发刊。A4 开本，季刊，每期 10 元，全年 50 元（包括 10 元邮包费）。另外，本刊编辑部尚有部分过期刊，每期 2 元。欢迎各有关单位、个人订阅。

汇款地址：大连市黑石礁街 52 号 大连水产学院学报编辑部；邮政编码：116023；

联系电话：0411-84762672；E-mail: dlsyxb@dlfu.edu.cn

本刊已参加“全国非邮报刊联合征订”，订户也可直接汇款向半导体杂志社联订服务部订阅。

户头全称：联订服务部；账号：605248-1-003734；开户银行：工商银行天津市尖山分理处；邮政编码：300380

汇款地址：天津市大寺泉集北里别墅 17 号