

不同光照条件对小新月菱形藻和等鞭金藻 8701 生长及生化成分的影响

石 娟, 潘克厚

(中国海洋大学 水产学院, 海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要:研究了小新月菱形藻(*Nitzschia closterium* f. *minutissima*) (MACC/B228) 和等鞭金藻 8701 (*Isochrysis galbana* Parke 8701) (MACC/H060) 在 4 种光照条件下的生长情况, 以及不同光强下、不同时期收获的藻细胞中总脂和碳水化合物含量的变化。结果表明, 小新月菱形藻在光强 $70 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 时细胞分裂频率(μ)最大, 最适光强 $70 \sim 140 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$; $260 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 光强能导致细胞分裂频率变慢, 指数期缩短。等鞭金藻 8701 在光强 $140 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 时 μ 值最大, $260 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 下略有降低。2 种藻均在低光下脂肪含量多, 小新月和等鞭金藻脂肪含量分别占干重的 25.5% ~ 35.3% 和 28.3% ~ 37.5%; 而碳水化合物含量少, 分别占干重的 5.5% ~ 18.2%、3.9% ~ 11.4%; 在高光强下相反。不考虑光照条件的影响, 2 种藻细胞内碳水化合物的含量均在静止期达到最大, 分别占干重的 18.98% 和 23.32%。小新月菱形藻在 $70 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 光强下的指数期细胞有最大的脂肪含量, 等鞭金藻的最高脂肪含量出现于光强 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 下指数末期的细胞中。二者在光强 $140 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 下生长且进入静止期时均可获得较大生物量, 同时细胞的脂肪和碳水化合物的含量也处于较高水平。

关键词:小新月菱形藻; 等鞭金藻 8701; 光强; 总脂; 碳水化合物

中图分类号:Q949.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2004)02-0121-08

海洋微藻作为优良天然饵料被广泛应用于水产养殖, 是多种软体动物、甲壳类幼体和浮游动物(如轮虫)的主要食源^[1-3]。微藻的饵料价值与许多因素有关, 包括细胞大小、细胞壁的可消化程度和细胞内容物的生化组成^[4], 尤以后者最为重要^[5-6]。很早就有人注意到环境因子的改变对微藻生长及生化成分的影响^[7-8], 后续研究相继阐述了各种微藻在不同的培养基配方^[9-10]、不同的培养方式^[11-12]以及不同的温度^[13-15]、光强^[16-19]、通气量^[20]、盐度^[21-22]、pH^[23]、光周期^[24]和光质^[25]下细胞内生化成分的变化。

新月菱形藻和等鞭金藻因富含多不饱和脂肪酸 EPA、DHA 而在水产养殖中广泛应用, 是多种养殖生物的优良饵料。先前的研究认为不饱和脂肪酸的含量是影响微藻饵料价值的最主要因子, 但总脂和碳水化合物作为供能物质, 对养殖生物的生长发育同样起决定作用^[26]。本研究以青岛近海分离出的两种海洋单胞藻—小新月菱形藻(*Nitzschia closterium* f. *minutissima*) 和等鞭金藻 8701 (*Isochrysis galbana* Parke 8701) 为研究对象, 研究不同光照条件对

藻细胞生长繁殖的影响, 以及不同光强下、不同时期收获的藻细胞中总脂和碳水化合物含量的变化。这 2 种藻藻体微小, 而且都是低温生态类型, 特别适合我国北方海水养殖动物育苗前期的饵料培养。本研究旨在优化其培养条件, 获得产量及营养价值均较高的微藻提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

2 种藻均取自中国海洋大学水产学院微藻种质库(MACC), 为纯种培养。小新月菱形藻(Bacillariophyceae, 硅藻纲) 编号为 MACC/B228, 等鞭金藻 8701 (Prymnesiophyceae, 普林藻纲) 编号为 MACC/H060。

1.2 方法

1.2.1 培养与收获 培养用海水为青岛近海自然海水, 盐度 31, pH 8.1, 海水经脱脂棉过滤, 烧开灭菌。藻种先接入 1 000 mL 三角瓶中不充气培养, 每瓶约 600 mL, 培养条件见表 1, 每天摇瓶数次。

收稿日期: 2003-08-11; 修订日期: 2003-11-21。

基金项目: 山东省科技攻关项目(022110104); 青岛市科技攻关项目(02-2-KJ-YJ-26)。

作者简介: 石 娟(1979-), 女, 硕士研究生, 从事海洋微藻生理及分子生物学研究。E-mail: sjcjp@sina.com

通讯作者: 潘克厚, E-mail: khpan@mail.ouc.edu.cn

表1 两种藻的培养条件
Table 1 Culture conditions of two species of microalga

藻类名称 Species	培养基 Medium		盐度 Salinity	温度/℃ Temperature	初始 pH Initiated pH	是否充气 Aeration	光强/($\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) Light intensity
	体积 Volume/L	配方 Formula					
小新月菱形藻 <i>Nitzschia closterium</i> <i>N. minutissima</i>	0.6L	f/2 ^[27] ; N, P, Si 加倍	31 ^[29]	21 ± 1	8.1	No	40
	2L	f/2; N, P, Si 加倍	31	21 ± 1	7.3 ± 0.2	Yes	*
等鞭金藻 8701 <i>Isochrysis galbana</i> Parke 8701	0.6L	f/2; N, P 加倍 ^[28]	25 ^[30]	21 ± 1	8.1	No	40
	2L	f/2; N, P 加倍	25	21 ± 1	7.3 ± 0.2	Yes	*

* : 指设4组, 光照强度分别为 20, 70, 140, 260 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$.

* : Four groups. The light intensities are 20, 70, 140 and 260 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, respectively.

培养到指数生长期的藻接入容积为 3 L 的三角瓶中, 瓶内盛有 1.8 L 培养液, 每瓶倒入藻液 200 mL, 按 1:10 的比例接种。培养条件见表 1。

光照条件: 使用国产 40 W 日光灯管, 通过增减日光灯管的数目和调整三角瓶与日光灯管的距离来确定每组的光照强度, 测量值为三角瓶瓶底中心位置的光强。4 组光强分别为 20, 70, 140 和 260 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, 持续光照 24 h。每种藻每组设 3 个重复。

培养的藻每日取样用血球计数板计数, 分别在其指数期、指数末期和静止期收获(表 2)。先取藻液测干重, 其余离心, 小新月菱形藻 4 ℃, 离心速率 3 500 g, 5 min; 等鞭金藻 8701 4 ℃, 离心速率 2 000 g, 5 min, 去上清, 用浓度为 0.5 mol/L 的甲酸胺重悬细胞, 洗掉多余盐分, 再离心, 彻底除上清, 细胞沉淀转入称量瓶, 立即冷冻干燥, 干藻粉置于 -20 ℃ 保存待生化成分分析(1 星期内)。

表2 两种藻的收获时间
Table 2 Harvested time of two microalga

收获时间 Harvested time	小新月菱形藻 <i>Nitzschia closterium</i> f. <i>minutissima</i>				等鞭金藻 8701 <i>Isochrysis galbana</i> Parke 8701			
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
指数期 Exponential phase/d	4	4	4	4	4	4	4	4
指数末 Late exponential phase/d	8	6	6	6	8	6	6	6
静止期 Stationary phase/d	10	10	10	10	11	11	11	11

注: No. 1 ~ No. 4 光照强度分别为 20, 70, 140, 260 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$.

Note: The light intensities are 20, 70, 140 and 260 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, respectively.

1.2.2 干重 各 2 × 100 mL 藻液离心, 除上清, 0.5 mol/L 甲酸胺洗掉剩余盐分, 再离心, 5 000 g, 10 min, 彻底去上清, 无菌去离子水重悬浮细胞沉淀, 转入预先烘干(80 ℃, 20 h)称重的 Eppendorf 管, 80 ℃, 24 h, 再称重。

1.2.3 总脂 20 mg 干藻粉用氯仿-甲醇-水(体积比 5:10:4), 反复提取(5 × 5 mL), 直到提取液无色。离心(5 000 g, 5 min), 合并上层溶液, 加入氯仿-水(体积比 1:1), 使最终的溶剂体积比为 1:1:0.9, 静置分层。液体分为上部的水-甲醇层和下部的氯仿层^[31]。

移出上层液体, 氯仿层在氮气保护下转入特制的预先烘干(80 ℃, 6 h)称重的薄壁小旋转蒸发瓶中, 用真空旋转蒸发器蒸干氯仿, 再称重。

1.2.4 碳水化合物 提取总脂后剩余的水-甲醇层先浓缩至原体积的一半, 去离子水定容至 10 mL, 用改良的苯酚-硫酸法^[32]测糖(单糖和寡糖)含量。总脂提取后剩余的藻粉残渣真空干燥, 转入旋盖试管, 加 5 mL 浓度为 0.5 mol/L 硫酸, 100 ℃下水解 4 h, 冷却至室温, 离心(5 000 g, 5 min)。上清液用改良的苯酚-硫酸法测定糖含量(多糖)^[31]。藻细胞的碳水化合物含量等于 2 个测定值之和。

2 结果

2.1 生长情况

小新月菱形藻和等鞭金藻 8701 在弱光 (20

$\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) 下, 细胞分裂频率(μ)^[34]显著低于其他 3 组(表 3), 但其指数生长期并未因此延长, 所以在进入静止期时细胞数目明显低于其他组(图 1, 图 2)。

表 3 不同光照条件下微藻的生长
Table 3 Growth of microalgae at different light intensity

藻 名 Species	微藻细胞分裂频率 $\mu(24\text{h})^*$ Cell division rate $\mu(24\text{h})^*$			
	$20 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$	$70 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$	$140 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$	$260 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$
小新月菱形藻 <i>Nitzschia closterium</i> f. <i>minutissima</i>	0.262 ± 0.012^a	0.392 ± 0.014^c	0.367 ± 0.026^{bc}	0.347 ± 0.002^b
等鞭金藻 8701 <i>Isochrysis galbana</i> Parke 8701	0.245 ± 0.012^a	0.359 ± 0.004^b	0.412 ± 0.004^c	0.407 ± 0.012^c

* 数据经方差分析和 Duncan 多重比较, 同一行中标有不同字母的数值之间差异显著 ($P < 0.05$).
* All data were subjected to one-way ANOVA and Duncan's multiple range tests. Values with different letters within the same line are significantly different from each other ($P < 0.05$).

表 3 显示, 小新月菱形藻在光强 $70 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 下生长时 μ 最大(平均 0.39), 最适光强 $70 \sim 140 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, 更高的光强反而使细胞分裂变慢。而且在高光下, 指数生长期缩短, 细胞老化加快, 特别是进入静止期后藻细胞的悬浮能力变差, 有活力的藻细胞所占比例明显低于 $70 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 下生长的藻(图 1)。

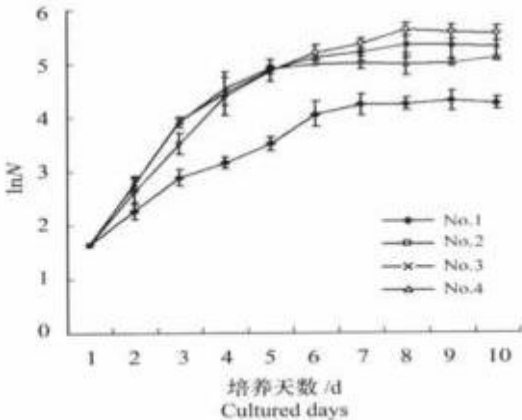


图 1 不同光照条件下小新月菱形藻生长曲线
Fig.1 The growth curves of *N. closterium* f. *minutissima* under different light intensities

与小新月菱形藻不同, 等鞭金藻 8701 能耐受很高的光强, $140 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 时具有最大的 μ 值 (0.41), $260 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 时分裂频率仅略有降低(表 3), 估计其饱和光照条件当在 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 以上, 而且在高光条件下细胞没有明显的老化现象, 所以最终可达到很高的细胞密度 ($3.07 \times$

$10^7 \sim 3.22 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$) (图 2)。

2.2 干重

光强 $70 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 以上时, 小新月菱形藻的藻细胞干重均为静止期 > 指数期 > 指数末期; 在各生长期, 藻细胞干重均随光强增加而增加, 特别是进入静止期后更为明显。在光强 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 弱光下不同生长期的藻细胞干重变化不大。 $260 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 光照强度下进入静止期的小新月菱形藻细胞干重达到最大值, 平均 $64.98 \text{ pg cell}^{-1}$ (图 3A)。

等鞭金藻 8701 在前 2 组光照条件下细胞干重为静止期 > 指数末期 > 指数期, 而后两组为静止期 > 指数期 > 指数末期。 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 下生长

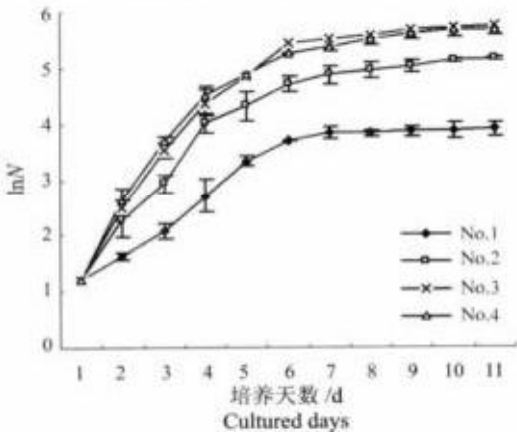


图 2 不同光照条件下等鞭金藻 8701 生长曲线
Fig.2 Growth curves of *I. galbana* Parke 8701 under different light intensities

且进入静止期后,藻细胞干重达到最大值,平均 $58.51 \text{ pg} \cdot \text{cell}^{-1}$ (图4A)。

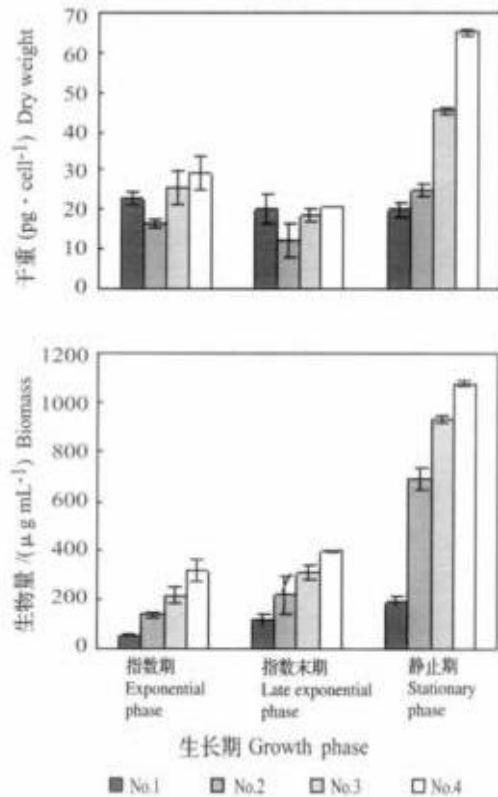


图3 不同光强和生长期下小新月菱形藻的细胞干重 ($\text{pg} \cdot \text{cell}^{-1}$ 和生物量 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$))

Fig. 3 Cell dry weight and biomass of *N. closterium f. minutissima* at different light intensities and stages of growth

2.3 生物量

生物量 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 由单个细胞干重 $\times$ 每毫升细胞数得到。小新月菱形藻的生物量在整个生长周期中均随光照强度的增加而增加 (图3B); 等鞭金藻 8701 在前3组光强下与小新月菱形藻相似, 但是当光强更高时, 生物量反而有所下降, 见图4B。在同一光强下, 2种藻的生物量均为静止期 $>$ 指数末期 $>$ 指数期。260 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 光强下生长且进入静止期的小新月菱形藻有最大的生物量, 平均 1 077 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 而等鞭金藻 8701 则在 140 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 光强下进入静止期后生物量有最大值, 平均 989 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

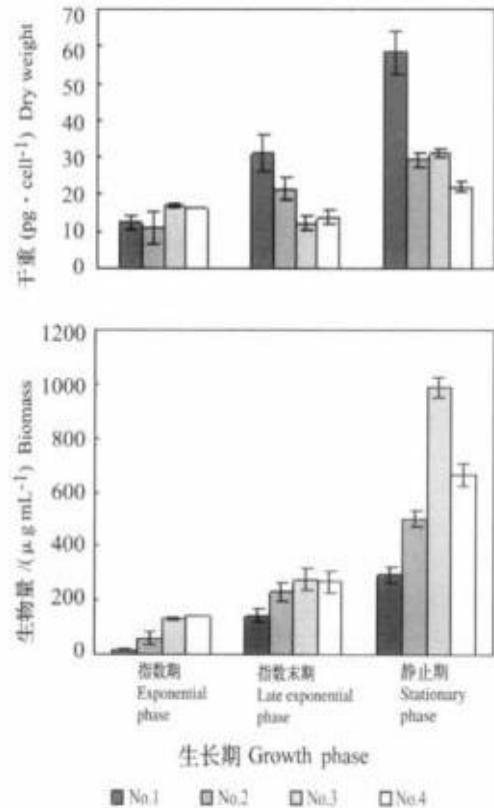


图4 不同光强和生长期下等鞭金藻 8701 的细胞干重 ($\text{pg} \cdot \text{cell}^{-1}$ 和生物量 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$))

Fig. 4 Cell dry weight and biomass of *I. galbana* Parke 8701 at different light intensities and stages of growth

2.4 总脂及碳水化合物

小新月菱形藻在相对低的光强下 (20 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, 70 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) 脂肪含量多, 可达 25.5% ~ 35.25% DW, 而碳水化合物含量少, 除 70 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 静止期的为 18.19% DW 外, 其余均在 5.53% ~ 7.42% DW; 高光强下 (140 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, 260 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) 则相反, 脂肪含量减少, 为 15.5% ~ 24.25% DW, 碳水化合物的含量增加, 为 6.5% ~ 18.98% DW, 见图5。进入静止期的藻细胞总脂含量与指数末期相比变化不大, 在其生长的适宜光强下 (70 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, 140 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) 脂肪含量, 碳水化合物含量略有上升, 分别为 27.5% $\rightarrow$ 28.75% DW, 21.25% $\rightarrow$ 24.25% DW。70 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 光强下指数期的藻细胞脂肪含量最高, 为 35.25% DW, 见图5A。如不考虑光

照条件的影响,藻细胞内碳水化合物的含量为:静止期 > 指数末期 > 指数期,最大为 18.98% DW (图 5B)。

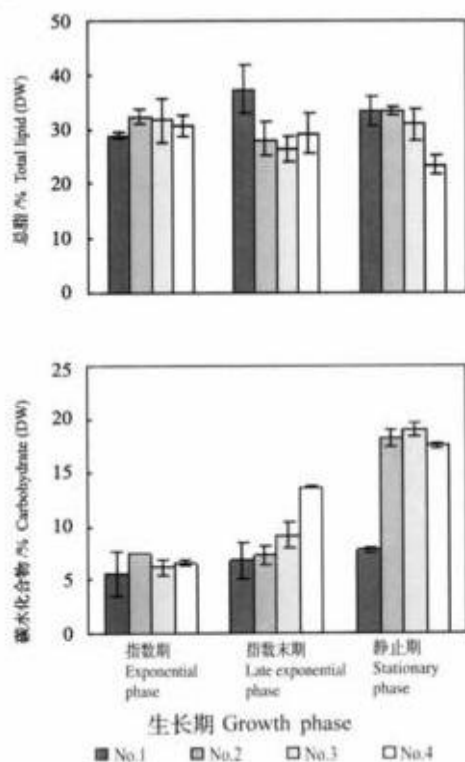


图5 不同光强和生长期下小新月菱形藻的总脂和碳水化合物含量

Fig.5 Percentages (dry weight basis) of total lipid and carbohydrate in *N. closterium f. minutissima* at different light intensities and stages of growth

与小新月菱形藻相似,等鞭金藻 8701 在指数末期和静止期也表现出低光强下 ($20 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, $70 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) 细胞内含有较多的脂类 ($28.25\% \sim 37.5\% \text{ DW}$) 和较少的碳水化合物 (除 $70 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 静止期的为 $11.37\% \text{ DW}$ 外,其余均在 $3.98\% \sim 5.99\% \text{ DW}$);而在高光强下相反 (图 6)。且进入静止期后,在最低及最高光强下脂肪含量减少,分别为 $37\% \rightarrow 33.25\% \text{ DW}$ 、 $29.25\% \rightarrow 23.25\% \text{ DW}$,而在适宜光强下脂肪含量增加,分别为 $28.25\% \rightarrow 33.5\% \text{ DW}$ 、 $26.25\% \rightarrow 31\% \text{ DW}$ 。 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 光强下生长且处于指数末期的藻细胞具有最大的脂肪含量 ($37\% \text{ DW}$, 图 6A)。碳水化合物的含量除第 1 组变化不明显外,其他 3 组均为静止期明显高于指数期和指数末期,并在静止期

$140 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 光强的藻细胞中达到最大 $23.32\% \text{ DW}$ 。如不考虑生长期,则随光强升高,碳水化合物含量增加,但是当光强超过其饱和光强时,碳水化合物的含量有所下降,如图 6B 所示。

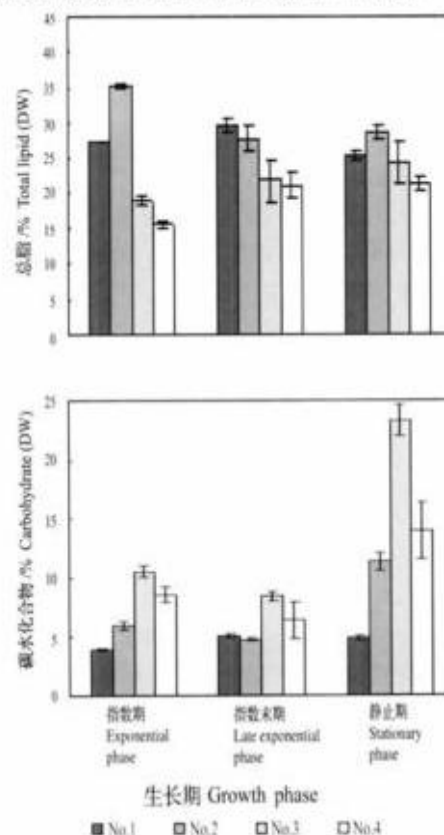


图6 不同光强和生长期下等鞭金藻 8701 的总脂和碳水化合物含量

Fig.6 Percentages (dry weight basis) of total lipid and carbohydrate in *I. galbana* Parke 8701 at different light intensities and stages of growth

3 讨论

光是单胞藻培养中影响其生长的最重要的因子之一。在适光范围内,增加光照强度可使光合作用速度加快,细胞分裂速率达到最高值时的光照强度称最适光强或饱和光强。超过饱和光强后光和作用减弱甚至受抑制^[29,33]。有资料表明,高光强下叶绿素 a 和类胡萝卜素的含量明显减少^[35],藻对光的利用效率降低,细胞分裂变慢。

在本研究所设的光照条件下,小新月菱形藻的光饱和点较低, $140 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 时即出现光抑

制现象(表3),且高光强下倾向于提前进入静止期,见图1。等鞭金藻8701细胞分裂频率(μ)随光强增加而加快,在 $140 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 时是 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 时的1.7倍, $260 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 时藻细胞的分裂频率虽出现下降趋势,但仍维持在较高水平(表3),而且高光下没有提前进入静止期的迹象(图2),其饱和光强当在 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 以上,比原种^[51]更能耐受高光。相似的结果出现在周汝伦等^[30]的研究中。

不同光强对细胞内主要的生化成分也有一定影响。本研究中,在较低的光强下,2种藻的脂肪含量多而碳水化合物含量少,在较高光强下则相反,且光对碳水化合物的变化较脂类更为显著(图5、图6)。在对其他饵料微藻的研究中得到了相似的结果^[18,33,36]。这种变化也许跟细胞内参与光和作用的细胞器的变化有关。已知甘油酯是类囊体膜的主要组分,可与色素蛋白复合体结合。甘油酯的相对数量与细胞的光合活力密切相关^[18]。低光条件下,为了增加光吸收和光的利用效率,类囊体膜的表面积及其上色素蛋白复合体的数量均有所增加^[37-38],膜脂及光和色素的合成速率维持在较高水平。而当光强超过饱和光强时,细胞内光和器的含量减少,光的吸收能力和利用效率随之下降^[37,39],膜脂合成速率较低,而多糖和三酰甘油等储能物质的合成能力增加,细胞内碳水化合物含量显著增高而总脂含量变化不大^[18]。

在相同光强下,2种藻静止期的培养物比指数期的含有更多碳水化合物,这与球等鞭金藻(*Isochrysis galbana* TK1)^[15]、盐生拟微绿球藻(*Nannochloropsis salina*)和陆慈尔巴夫藻(*Pavlova lutheri*)^[40]的相关研究结果相似。对于光合自养的微藻,在营养丰富的培养基中,细胞消耗碳水化合物以满足快速生长和分裂的需要。当培养基中某一种或多种营养元素含量减少并成为限制性因素时,细胞分裂变慢,此时更多的光同化碳进入到碳水化合物或脂肪中^[41-42]。研究表明氮限制能够诱导藻细胞进入静止期^[43],在氮限制下,氨基酸合成受抑制,蛋白质含量减少,碳水化合物和脂类含量增加,出现能量积累的趋势^[20,36,44-46]。当把静止期的培养物移入营养丰富的培养基中时,在一个短暂的延迟期后,细胞内碳水化合物含量与指数期培养物的含量相似^[12]。

本研究中也发现了静止期细胞内脂肪的积累,但是这种现象只发生在光强为 $70 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$

和 $140 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 时的培养物中,总的来说脂肪含量随生长期变化不显著,这与Dunstan^[12]、Sukerik等^[47]、Harrison等^[48]、Zhu等^[15]的研究结果相似。有报道表明,室内培养的新月菱形藻(*Nitzschia closterium*)和球等鞭金藻(*I. galbana*)脂肪含量分别在13%~20% DW^[31,49]和10%~28% DW^[11,50],均较本研究所选用的新月菱形藻(15.5%~35.25%, DW)和等鞭金藻8701(23.25%~37.5% DW)含量低,说明在适宜条件下培养可获得高于原种的总脂含量。

总之,由本研究的结果可知,新月菱形藻在光强 $70 \sim 140 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 、等鞭金藻8701在光强 $140 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 下生长时均可获得较大的生物量,同时细胞内脂肪和碳水化合物的含量也处于较高水平。是否此时饵料效果最好还需要进一步的实验证实。

参考文献:

- [1] Carres M, Goutreau P, Sorgeloos P. Dietary impact of algal and artificial diets, fed at different feeding rations, on the growth and fatty acid composition of *Tapes philippinarum* (L.) spat [J]. Aquaculture, 1999, 170:307-322.
- [2] Robert R, Parisi G, Lilianna R, et al. Use of fresh and preserved *Tetraselmis suecica* for feeding *Crassostrea gigas* larvae [J]. Aquaculture, 2001, 192:333-346.
- [3] Thinh Luong-Van, Renaud S M, Parry D L. Evaluation of recently isolated Australian tropical microalgae for the enrichment of the dietary value of brine shrimp, *Artemia nauplii* [J]. Aquaculture, 1999, 170:161-173.
- [4] Laing I Child, A R, Janke A. Nutritional value of dried algae diets for larvae of Manila clam (*Tapes philippinarum*) [J]. J Mar Biol Ass, 1990, 70:1-12.
- [5] Reitan K I, Raimazzo J R, Øie G, et al. A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae [J]. Aquaculture, 1997, 155:207-221.
- [6] Brown M R, Jeffrey S W, Volkman J K, et al. Nutritional properties of microalgae for mariculture [J]. Aquaculture, 1997, 151:315-331.
- [7] Ketchum B H, Rodfield A C. Some physical and chemical characteristics of algae growth in mass culture [J]. J Cell Comp Physiol, 1949, 33:281-299.
- [8] Spoehr H A, Milner H W. The chemical composition of *Chlorella*: effect of environmental conditions [J]. Plant Physiol, 1949, 24:120-142.
- [9] Fabregas J, Herrero C, Cabezas B, et al. Biomass production and biochemical composition in mass cultures of the marine microalga *Isochrysis galbana* Parke at varying nutrient concentrations [J]. Aquaculture, 1986, 53:101-113.

- [10] Whikfors G H. Altering growth and gross chemical composition of two microalgae molluscan food species by varying nitrate and phosphate[J]. *Aquaculture*, 1986, 59: 1-14.
- [11] Brown M R, Garland C D, Jeffrey S W, et al. The gross and amino acid compositions of batch and semi-continuous cultures of *Isochrysis* sp. (clone T. ISO), *Paulownia lutheri* and *Nannochloropsis oculata*[J]. *J Appl Phycol*, 1993, 5:285-296.
- [12] Dunstan G A, Volkman J K, Barrett S M, et al. Changes in the lipid composition and maximisation of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture[J]. *J Appl Phycol*, 1993, 5:71-83.
- [13] James C M, Al-Hinty S, Salaman A E. Growth and 3 fatty acid and amino acid composition of microalgae under different temperature regimes[J]. *Aquaculture*, 1989, 77:337-351.
- [14] Renaud S M, Zhou H C, Parry D L, et al. Effect of temperature on the growth, total lipid content and fatty acid composition of recently isolated tropical microalgae *Isochrysis* sp., *Nitzschia closterium*, *Nitzschia paleacea*, and commercial species *Isochrysis* sp. (clone T. ISO) [J]. *J Appl Phycol*, 1995, 7:595-602.
- [15] Zhu C J, Lee Y K, Chao T M. Effects of temperature and growth phase on lipid and biochemical composition of *Isochrysis galbana* TK1[J]. *J Appl Phycol*, 1997, 9:451-457.
- [16] Mortensen S H, Børstheim K Y, Rainuzzo J K, et al. Fatty acid and elemental composition of the marine diatom *Chaetoceros gracilis* Schutt. Effects of silicate deprivation, temperature and light intensity[J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1988, 122:173-185.
- [17] Thompson P A, Harrison P J, Whyte J N C. Influence of irradiance on the fatty acid composition of phytoplankton[J]. *J Phycol*, 1990, 26:278-288.
- [18] Sukenik A, Carmeli Y, Berner T. Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp. [J]. *J Phycol*, 1989, 25:686-692.
- [19] Renaud S M, Parry D L, Luong-Van T, et al. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture[J]. *J Appl Phycol*, 1991, 3:43-53.
- [20] Chen F, Johns M R. Effect of C/N ratio and aeration on the fatty acid composition of heterotrophic *Chlorella sorokiniana*[J]. *J Appl Phycol*, 1991, 3: 203-209.
- [21] Laing L, Utting S D. The influence of salinity on the production of two commercially important unicellular marine algae[J]. *Aquaculture*, 1980, 21:79-86.
- [22] Jiménez C, Niell F X. Growth of *Dunaliella viridis* Teodoresco; effect of salinity, temperature and nitrogen concentration[J]. *J Appl Phycol*, 1991, 3:319-327.
- [23] 王秀良, 刘晨临, 张学成. pH 对眼点拟微绿球藻的生长、总脂含量及脂肪酸组成的影响[J]. *海洋科学*, 2002, 26(5): 63-67.
- [24] Molina Grima E, Sánchez Pérez J A, García Camacho F, et al. Variation of fatty acid profile with solar cycle in outdoor chemostat culture of *Isochrysis galbana* ALII-4[J]. *J Appl Phycol*, 1995, 7:129-134.
- [25] Tremblin G, Cannuel R, Mouget Jean-Luc, et al. Change in light quality due to a blue-green pigment, marenne, released in oyster-ponds; effect on growth and photosynthesis in two diatoms, *Haslea ostrearia* and *Skeletonema costatum* [J]. *J Appl Phycol*, 2000, 12:557-566.
- [26] Leonards N, Lucas Ian A N. The nutritional value of algae grown under different culture conditions for *Mytilus edulis* L. larvae[J]. *Aquaculture*, 2000, 182:301-315.
- [27] Guillard R R L, Ryther J H. Studies of marine planktonic diatom. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran[J]. *Can J Microbiol*, 1962, 8:229-239.
- [28] Thompson A S, Rhodes J C, Pettman L. Culture collection of algae and protozoa catalogue of strains[M]. Windermere: CCAP, 1988.
- [29] 陈明耀. 生物饵料培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995, 25-92.
- [30] 周汝伦, 孙爱淑, 杨 震. 金藻 8701 培养的生态条件研究[J]. *青岛海洋大学学报*, 1994, 24(2):181-186.
- [31] Brown M R. The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture[J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1991, 145:79-99.
- [32] 董 群, 郑丽伊, 方积年. 改良的苯酚-硫酸法测定多糖和寡糖含量的研究[J]. *中国药理学杂志*, 1996, 31(9):550-553.
- [33] 李文权, 黄贤芒, 陈清华, 等. 4 种海洋单胞藻生化组成的环境因子效应研究[J]. *海洋学报*, 1999, 21(3):59-65.
- [34] 李庆彪, 王远隆, 张晓燕, 等. 关于单细胞藻增殖计算的几个问题的讨论[J]. *海洋湖沼通报*, 1983, (1):59-67.
- [35] Parke M W. Studies on marine flagellates[J]. *J Mar Bio Ass U K*, 1949, 28:255-285.
- [36] Varum K M, Myklesstas S. Effects of light, salinity and nutrient limitation on the products of β 1-3-D-glucan and exo-D-glucanase activity in *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve[J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1984, 83:13-25.
- [37] Sukenik A, Bennett J, Falkowski P G. Light saturated photosynthesis limitation by electron transport or carbon fixation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1987, 891:205-215.
- [38] Berner T, Wyman K, Dubinsky Z, et al. Photoadaptation and the "package" effect in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) [J]. *J Phycol*, 1989, 25:70-78.
- [39] Perry M J, Talbot M C, Alberte R S. Photoadaptation in marine phytoplankton; response of the photosynthetic unit[J]. *Mar Biol (Berl.)*, 1981, 62:91-101.
- [40] Emdadi D, Berland B. Variation in lipos class composition during batch growth of *Nannochloropsis salina* and *Paulownia lutheri* [J]. *Mar Chem*, 1989, 26:215-225.
- [41] Aaronson S, Berner T, Dubinsky Z. Microalgae as a source of chemicals and natural products[A]. *Algae Biomass: Production and Use* [M]. Amsterdam: Elsevier/North Holland Medical Press, 1980:575-601.

- [42] Myers J. On the algae: thoughts about physiology and measurements of efficiency [A]. Primary Productive in the Sea [M]. New York: Plenum Press, 1980:1-16.
- [43] Grasse J, van der Molen M. Effects of nutrient concentration on the growth of *Tahitian Isochrysis*. *Austasia* [J]. *Aquaculture*, 1992, 6:43-47.
- [44] Renaud S M, Parry D L, Laong - Van T, et al. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture [J]. *J Appl Phycol*, 1991, 3:43-53.
- [45] Suen Y, Hubbard J S, Holzer G, et al. Total lipid production of the green alga *Nannochloropsis* sp. QH under different nitrogen regimes [J]. *J Phycol*, 1987, 23:289-296.
- [46] Fabregas J, Abalde J, Herreno G. Biochemical composition and growth of the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) with different ammonium nitrogen concentrations as chloride, sulphate, nitrate and carbonate [J]. *Aquaculture*, 1989, 83:289-304.
- [47] Sukanik A, Wahnson R. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. I. *Isochrysis galbana* [J]. *Aquaculture*, 1991, 97:61-72.
- [48] Harrison P J, Thompson P A, Calderwood G S. Effects of nutrient and light limitation on the biochemical composition of phytoplankton [J]. *J Appl Phycol*, 1990, 2: 45-56.
- [49] 周洪琪, Renaud S M, Parry D L, 等. 温度对新月菱形藻、铲状菱形藻和巴夫藻的生长、总脂肪含量以及脂肪酸组成的影响 [J]. *水产学报*, 1996, 20(3):235-240.
- [50] Molina Grima E, Garcia Camacho F, Sánchez Pérez J A, et al. Biochemical productivity and fatty acid profiles of *Isochrysis galbana* Parke and *Tetraselmis* sp. as a function of incident light intensity [J]. *Process Biochem*, 1994, 29:119-126.
- [51] Kain J M, Fogg G E. Studies on the growth of marine phytoplankton [J]. *J Mar Biol Ass*, 1958, 37:781-788.

Effects of different light intensities on growth and biochemical composition of *Nitzschia closterium* f. *minutissima* and *Isochrysis galbana* Parke 8701

SHI Juan, PAN Ke-hou

(College of Fisheries, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Two marine microalgae *Nitzschia closterium* f. *minutissima* (MACC/B228) and *Isochrysis galbana* Parke 8701 (MACC/H060), both isolated from the sea area near Qingdao, were cultured at four irradiance levels (20, 70, 140, and 260 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$), and harvested in the exponential, late exponential and stationary growth phases. The effects of irradiance level on cell division rate (μ) and the influence of light intensity and growth phase on the gross biochemical composition, with emphasis on the total lipid and carbohydrate, were examined. *N. closterium* f. *minutissima* had the highest μ at the light intensity of 70 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ and its optimum light intensity is 70-140 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$. At the intensity of 260 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, the comparative slow cell division and shorter exponential growth phase were caused. *I. galbana* Parke 8701 had the highest μ at 140 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, and it could reach a very high cell density even at 260 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, though that was near its photoinhibiting light intensity when μ slightly decreased. Both of the microalgae had more lipid and less carbohydrate at lower irradiance, while contained less lipid and more carbohydrate at higher irradiance. Carbohydrate accumulated in the stationary growth phase and its content increased with the increasing light intensity regardless of the growth phase. The highest lipid contents of *N. closterium* f. *minutissima* and *I. galbana* Parke 8701 were found at the exponential phase at 70 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ and at the late exponential phase at 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, respectively. The highest carbohydrate contents of these two microalgae were found at stationary phase at 140 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$. Both of them could reach a higher value of biomass at stationary phase at 140 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$. Under the same condition, their cellular lipid and carbohydrate were also in higher level.

Key words: *Nitzschia closterium* f. *minutissima*; *Isochrysis galbana* Parke 8701; light intensity; lipid; carbohydrate

Corresponding author: PAN Ke-hou. E-mail: khpan@mail.ouc.edu.cn