

海水养殖技术资料汇编 第七十九辑

生物饵料增养殖技术
与人工配合饵料
(九)

中国科学院海洋研究所科技情报研究室

2003 年元月 青岛

目 录

微藻的保种技术及其应用	潘克厚, 朱葆华 (1)
有效氯对 4 种单胞藻种群增长的影响	刘 青, 王玉善等 (6)
不同氮、磷比例对球等鞭金藻生长的影响	刘东艳, 孙 军等 (11)
超声波对湛江等鞭金藻生长和脂肪酸组成的影响	李文权, 王 宪等 (15)
等鞭金藻对次氯酸钠中有效氯耐受力的研究	曹善茂, 张治国等 (22)
小球藻培养新技术及其展望	程 伶编译 (24)
极大螺旋藻培养液中微量元素的最佳浓度	崔青曼等 (28)
裂壶藻及其制品在水产苗种培育中的应用	陈家鑫 (30)
牟氏角毛藻的生产性培养技术	郑忠明, 金春华等 (31)
单细胞藻类培养过程中的管理	海 阳 (33)
单细胞藻的薄膜袋浮式法在二级培养中的应用	张小葵, 张法忠等 (36)
等鞭金藻 3011 的半连续密封培养	王彩理 (44)
快速培育单胞藻技术	曹洪泽 (47)
光照对细胞融合藻 <i>Tetraselmis</i> sp.-1 混合培养的影响	沈继红, 林学政等 (48)
离子束诱变技术在海洋微藻培育中的应用	古绍彬, 姚建铭等 (38)
塑料袋培育金藻类单胞藻技术	欧俊新 (41)
温度、光照、氮含量对微绿球藻生长及脂肪酸组成的影响	蒋霞敏 (51)
室内大规模培养单细胞藻类实用技术	苏海岩, 王海涛等 (56)
单胞藻培养中敌害生物的防治	刘锡胤, 梁爱萍等 (58)
螺旋藻在水产养殖中的应用	高志刚, 唐建清等 (55)
湛江叉鞭金藻扩大培养中原生物的防治	丛立晶, 杨 旭 (72)
金鱼活饵料的人工培育技术	王爱敏 (61)
浅淡日本刺沙蚕的增养殖	王希升, 王广成等 (60)
沙蚕人工养殖技术	蔡清海 (63)
沙蚕的几种养殖方式	顾晓英, 郑忠明等 (70)
沙蚕的养殖技术	蒋霞敏 (75)
沙蚕——不容忽视的海水增养殖资源	黄 猛, 陈百尧等 (152)
轮虫十池培养高产技术	罗 刚 (42)
臂尾轮虫的饵料基础研究进展	窦雅秋, 李晓东 (73)
蓴花臂尾轮虫的培养技术	董 娟 (68)
生物活菌素应用于褶皱臂尾轮虫规模化培养的初探	李英涛 (80)
酵母及藻类对褶皱臂尾轮虫培养效果的比较研究	王金秋, 潘连德等 (84)
7 株海洋微藻强化褶皱臂尾轮虫效果的研究	赵明日, 孙世春等 (88)
轮虫强化培养的研究进展	谭树华, 周杰良 (76)
轮虫、卤虫营养强化应注意的几个问题	于大国 (94)
温室大棚轮虫培养高产技术	罗 刚, 李庭占 (113)

卤虫增殖及其开发利用·····	李勃生, 单宝田 (96)
可持续发展的盐湖卤虫和虫卵的质量·····	王基琳 (99)
臭氧在卤虫卵孵化中的应用效果研究·····	宫小明, 刘 淇等 (101)
两种卤虫休眠卵的终止滞育及休眠卵的诱导发生·····	黄 成, 柳光宇等 (104)
稀土元素钇对海水卤虫孵化率的影响·····	王永玲, 蔡春芳等 (107)
微波诱导多刺裸腹蚤耐盐性的初步研究·····	徐善良, 王丹丽等 (109)
不同饵料对多刺裸腹蚤增殖的影响·····	石志猛, 陆开宏等 (114)
在蒙古裸腹蚤培养中用药物杀灭褶皱臂尾轮虫的研究·····	赵玉明, 何志辉 (117)
四种常用药物对蒙古裸腹蚤的毒性研究·····	王广军, 黄建华等 (123)
海水育苗活饵料——桡足类的采捕与运输技术·····	赵青松, 王春琳等 (126)
水蚯蚓及其人工养殖技术·····	陈华芬, 凌志勇 (127)
水丝蚓人工养殖技术·····	钟永平, 保 华等 (129)
适合人工养殖的蚯蚓品种·····	钟乐芳, 玄 福等 (130)
海水土池育苗适口饵料生物培育技术·····	赵青松, 金 珊 (131)
海水仔稚鱼的必需脂肪酸——n-3 系列高度不饱和脂肪酸研究概况·····	刘镜恪, 陈晓琳 (141)
亲鱼营养的研究进展·····	常 青等 (136)
海水仔稚鱼脂类营养研究进展·····	刘镜恪等 (146)
史氏鲟饲料中脂肪的最适含量·····	肖懿哲 (64)
亲虾营养需求研究进展·····	杜少波, 胡超群等 (160)
对虾对营养物质的需要量·····	王吉桥, 徐 锟 (169)
饲喂核苷酸增强虾的抗病力·····	王桂军, 韦 平 (177)
南美白对虾饲料的营养分析·····	王彩理, 刘丛力等 (178)
南美白对虾饲料的设备及工艺研究·····	王彩理, 朱伯清 (181)
酵母饲料添加剂在对虾育苗中的应用·····	王兴春, 王初升 (183)
稀土螯合合成饵料的研制·····	包玉敏, 张宏江等 (153)
水产动物诱食剂的研究进展·····	王安利, 苗玉涛等 (133)
新型高效水产饲用添加剂·····	吴彩云, 杨汝德等 (185)
一种新型微颗粒饲料——卤虫虾片的营养分析·····	王彩理, 滕 瑜等 (187)
微生物多糖在水产养殖中的应用·····	石 军, 张云刚等 (190)
低聚糖在水产养殖中的应用前景·····	张治国 (192)
海藻在渔用饲料中的应用·····	陈 琴 (194)
柠檬酸在水产饲料中的应用·····	周兴华, 陈 建等 (197)
维生素的稳定性及推荐添加量·····	程 伶编译 (199)
海洋酵母简易培养新技术·····	周 泓, 宛 立等 (203)

维生素 C 对水产动物的功用及其保护方法·····	母学全, 王安利等 (205)
虾饲料黏著剂的比较研究·····	叶信平 (210)
EM 在水产养殖中的应用·····	陈 琴, 张 敏 (157)
水产饲料中的植物源抗营营养素 (上) ·····	唐胜球, 董小英等 (208)
绿色饲料添加剂在水产养殖中的应用·····	林建斌 (66)
生物活性预混料的最新研究成果及水产动物安全促生长的有效手段·····	朱文慧 (213)
二氢吡啶及在水产养殖中的应用·····	唐胜球, 邹晓庭等 (216)
中草药饲料添加剂在水产养殖中的应用·····	陈 琴 (217)

信息简讯

益水宝有效改良养殖水环境及提高水产动物抗病力的基本问答 (14) 卤虫卵的加工贮存技术 (21) 新
 加坡研究成功高密度养殖食用鱼虾 (23) 虾蟹养殖适宜的活饵料——苹果螺 (27) 发展沙蚕增
 养殖前景初探 (32) 枝角类鱼虫的人工培育 (35) 小规格网箱养鱼加遮阳盖的作用 (43) 纳米
 技术在饲料工业中的应用具有独特优势 ((43) 牙鲆网箱养殖关键的因素是温度 (43) 水产养殖利
 用生物转盘可有效控制养殖池中的氨氮 (43) 海藻粉在鱼用饲料中应用将具有广阔的前景 (43) 缢
 蛭网围养殖技术 (57) 池塘增殖轮虫技术要点 (59) 蚯蚓的饲养繁殖技术 (67) 优质青饲料—
 莪菜的种植技术 (95) 新型颗粒饲料熟化机 (128) 益生素的功用分为三类 (130) 益生菌研究
 和发展的前景广阔 (130) 新型鱼饲草——箭舌豌豆 (180) 我国养殖扇贝遗传改良有重大突破 (182)
 美、日计划大规模开发海藻 (198) 黄粉虫喂养的简易方法 (212) 绿色水产食品的基本概念 (212)
 山东东营丰年虫养殖热起来 (215) 蓬莱大棚养革胡子鲶成功 (218)

微藻的保种技术及其应用

潘克厚 朱葆华

(青岛海洋大学水产学院, 青岛, 266003)

摘 要 本文介绍了微藻保种的几种常用方法, 包括继代保存、固定化保存和超低温保存。结果表明: 继代保存简便易行, 在生产和科研实践中比较实用; 而固定化保存可用于较长期保存; 超低温保存则可用于长期保存。另外, 还对这几种保种技术的研究及应用现状进行了简单概述, 以期能对微藻保种工作的开展有所裨益。

关键词 微藻; 保种技术; 继代保存; 固定化保存; 超低温保存

中图分类号 Q179.1; S325

文章编号 1001-1862(2002)03-0403-06

微藻的营养丰富, 在人们的生活和生产实践中具有很广泛的应用^[1], 特别是海洋微藻由于富含EPA和DHA, 在许多方面受到人们的青睐^[2-5]。在微藻的培养和应用中, 保种技术十分重要^[6-9], 它是微藻培养和进一步应用的基础和关键环节。1种好的保种技术应能保持微藻的优良遗传性状、不易污染、简便易行, 从而达到较长期保种的目的。分离培养1个单种, 往往得花费数月时间。而筛选出1个优良的、有应用价值的微藻单种就更加困难。所以, 当人们分离筛选到1个有应用价值的微藻单种后, 必须十分小心。在实验室进行卓有成效地保种培养, 既能达到长期贮藏种质的目的, 又能使它们得到复壮, 选育出更加优良的品种。因此, 在微藻保种工作中要尽量减少接种次数, 避免藻种被杂藻、细菌或原生动物污染, 既延长转接间隔时间, 又能维持藻种的生命活力, 这是微藻科研工作者努力的方向之一。

1 继代保存

继代保存是指把藻种接种在单一固体、液体或固-液双相培养基上, 在低温(是指温度控制在5~8℃之间)、弱光(通常指在冰箱内装1支8W的日光灯照明)条件下培养, 一代一代传下去以延续“种族”的1种方法。接种1次可保藏半年到1年。

1.1 培养基的制备 液体培养基通常用消毒海水按常规配方(例如F/2培养基)配制^[10], 固体培养基即平板培养基, 作为保藏藻种用的固体培养基, 其营养物质的浓度应按常规配方增加1倍, 用合适的仪器分装后, 加入适量琼脂, 培养液经高压蒸汽灭菌后, 取出, 试管应倾置成斜面, 三角烧瓶则平放, 冷却后即成固体培养基。

1.2 接种 要保藏的藻种, 可接种在固体或液体培养基上, 也可以在固体培养基上加入比其体积多两倍的培养液, 然后在液相接种少量藻液, 称双相培养。

1.3 培养和保藏 液体或双相培养基保藏的藻种, 接种后可直接放置低温、弱光的条件下保藏, 也可在适宜光照条件下培养3~4d后再移置低温、弱光条件下保藏。而仅用固体培养基保藏的藻种, 接种后应首先放在适宜的光照条件下培养, 待藻细胞生长繁殖达到较高密度, 在平板上可见明显的条状或块状的藻细胞群, 再移置

收稿日期: 2001-10-09; 修订日期: 2002-03-04

潘克厚, 男, 1963年3月出生, 副教授, 博士。

低温、弱光的条件下保藏。

1.4 研究及应用概况 液体培养基简便易行,但保存期短;固体培养基保存期较长但容易干涸,而双相培养既可避免干涸问题,又能保存更长时间,保存效果比单一培养基好。而且,还可通过液相中有无游动胞准确地检查藻的生存与否^[11]。由于简便易行,目前在生产和科研实践中,保存藻种最常用的仍是液体培养基。

作为目前一般实验室保存藻种的常规方法,继代保存简便易行,设备简单,但工作比较琐碎,耗费时间和精力。在多次的移接过程中,稍有疏忽就会使藻种污染上杂藻、细菌或原生动物,使保种失败,而且还会使藻种逐渐老化。为避免这种情况,每1种藻类的保存,至少要保存3种不同年龄的藻种,最早的藻种用于传代,其余2种以备培养发生意外时急用^[12]。

2 固定化保种

固定化细胞(immobilized cells)是指将游离细胞包埋或多糖或多聚化合物制成的网状支持物中,进行无菌培养。

2.1 固定化保种原理 固定化细胞培养是最接近自然状态的培养方法之一,细胞处于静止或相对静止状态,而培养液为流动态^[13]。由于微藻细胞受到固定载体的束缚,影响细胞代谢过程,从而抑制细胞的生长和分裂。固定化后的各种微藻在固定化载体内进行细胞分裂并形成大小不一的藻落。当藻落达到一定密度后,细胞的生长就逐渐停止。有些种类固定化细胞会逐渐死亡解体,而另一些种类,若定期更换培养液和保持合适的培养条件,细胞仍可保持旺盛活力不会死亡。因此,不同的微藻固定化保存的时间长短不同^[8-9,14-15]。

2.2 固定化方法 在固定化培养中,固定细胞的固定剂主要是一些多糖和多聚化合物,如褐藻酸盐、琼脂、琼脂糖、角叉藻聚糖、明胶、聚丙烯酰胺等。现以褐藻酸盐为例来说明固定化保种的方法。将经过消毒的褐藻酸钠(2.5%,w/v)与藻液(浓度约 1×10^6 cell/mL)按4:1的比例充分混匀,用9号针头的注射器以6mL/min的速率滴入2%的CaCl₂溶液中,边滴边摇动。约30min后形成固化的褐藻酸钙胶珠,从而使藻细胞得以固定。将形成的褐藻酸钙胶珠用消毒海水洗涤两次,置于100mL的三角烧瓶内保存培养。

2.3 研究及应用概况 从1978年以来,固定化技术就被用来作为延长光合细胞寿命的一种重要手段。现在,对微藻的一些试验表明,固定化技术可作为微藻种质保存的重要方法之一。由于各种藻的特性不同,固定化保存的时间长短也不尽相同。Tamponnet等^[16]报道了固定化纤细裸藻存活2年;Hertzberg等^[17]报道了固定化的三角褐指藻(*Phaeodactylum tricorputum*)保存18个月,中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)保存6个月,但矮小海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)和贺氏钙板金藻(*Emiliana huxleyi*)仅能保存3个月,而蓝螺藻(*Scrippsella trochoidea*)固定化培养1个月后会死亡;马志珍等^[8]通过固定化方法保存三角褐指藻(*Phaeodactylum tricorputum*)的存活时间可达2年左右;然而,作小南等^[14]的研究结果却与以上的报道有些出入,在他们所研究的7种海洋微藻中,三角褐指藻固定化细胞会逐渐死亡解体。

固定化保种的设备较为简单,培养保存时间较长^[8],活化复苏快,一般经3~4d的延缓期,最多5~6d就能复苏生长,但固定化程序较复杂,需要细心操作。另外,大多数微藻在培养后期常会从胶珠中溢出,有的胶珠还会融解,这是今后工作的重点和难点之一。而且,现有的资料表明^[8-9,14-15],某种固定化方法只适用一定种类的微藻,对同一种固定化方法,不同种类的微藻会有不同的反应,其原因是复杂的,探讨其内在机制还需要做更深入、广泛的研究。也只有进行更广泛的试验后,才能确定是否能用固定化技术来作某种微藻的种质保存,这就给固定化保种技术的推广带来了一定的困难。

3 超低温保种技术

所谓超低温即指液氮低温(-196℃),以区别于其他低温概念的冰箱温度(4~-40℃)和干冰温度(-79℃)^[18]。微藻的超低温保存研究起步较晚,目前普遍采用2步冷冻法,即慢速降温进行冷适应,然后投入

液氮中保存^[19-21]。并且,一般进行快速解冻活化复苏效果较好^[22-23]。但由于微藻的种类很多,适宜的保存条件各异,如何因种而异,找出不同微藻的超低温保种方法,应是今后努力研究的目标^[24]。

3.1 超低温保存的基本原理 在液氮低温-196℃下,生物体的物质代谢和生长活动几乎完全停止,可是它们仍处于可逆的成活状态。通过添加一定的抗冻保护剂,防止细胞在降温冰冻过程中严重脱水 and 低温休克,避免细胞内冰晶的形成,采用适当的冰冻速度,使细胞安全地越过冰晶形成危险区(从细胞介质或原生质的冰点到-60℃),进入玻璃化状态,以达到长期保存的目的。所谓玻璃化是指液体转变为非晶态(玻璃态)的固化过程。玻璃态固体分子之间的关系和液态无明显变化,水分子停止运动,保持原来的无序状态,形成坚硬、均匀的团块结构。玻璃化的细胞不会出现原生质的严重脱水,细胞结构完整,解冻后即可恢复生长繁殖能力。

3.2 超低温保存的基本方法

3.2.1 大部分微藻可用图1所示2步降温液氮法^[25]。

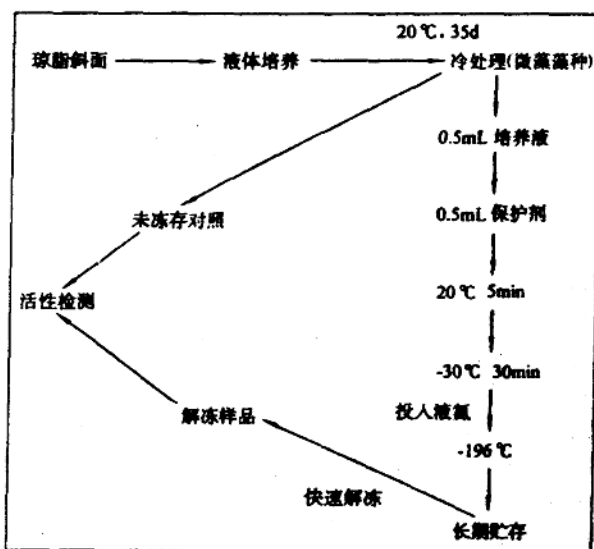


图1 藻类二步降温液氮保存法示意图

Fig. 1 Conventional diagram of preservation of algae in liquid nitrogen by two-step cooling

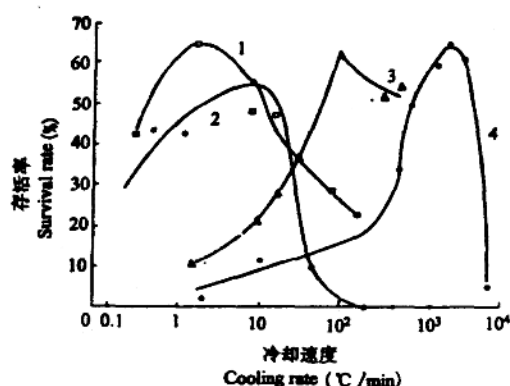
从理论上讲,以上3种方法均可用于微藻的保存,但由于所需试验系统比较复杂,设备比较昂贵,玻璃化冻存微藻尚处于起步阶段,但它无疑是对微藻超低温保存的1种新的尝试。

3.3 影响保存效果的因素 微藻的超低温保存除与微藻的种类、年龄和生理状况有关外,下面的因素至关重要。

3.3.1 降温速率 在超低温保存中,降温速率对微藻的存活有很大影响。只有降温速度适中,细胞才能适度脱水,不致形成胞内冰,又不致脱水过度产生容积效应,从而大大提高细胞存活率。几种细胞的低温保存存活率与冷却速率的关系(图2)^[25],说明对应不同的细胞,有不同的最佳冷却速率。

在实践中,一般对材料进行预处理,例如通过光照、营养等手段使微藻细胞分裂生长同步以及对材料进行较低温度的适应锻炼等,以提高材料的抗冻能力。

3.3.2 抗冻保护剂 到目前为止,除了最简单的细菌及多数其它类型微生物以外,绝大多数细胞的低温保存都必须采用抗冻剂。冰冻保护剂的种类很多,一般可分为胞内保护剂和胞外保护剂两大类。胞内保护剂属渗透型保护剂,属于小分子化合物,这类保护剂的特点是能很快渗入细胞,占有细胞的容积,避免由于脱水过度而引起死亡。胞外保护剂一般属于大分子化合物,它们不能渗入细胞,其作用是增加胞外溶液粘性,减缓细胞脱水速度,从外环境避免细胞脱水过度引起的伤害。



- 1 骨髓细胞(Medullary cells)
2 酵母细胞(Yeast cells)
3 仓鼠细胞(Hamster cells)
4 红细胞(Erythrocyte)

图2 几种细胞的低温保存存活率与冷却速率的关系

Fig. 2 Relationship between viability of cold storage and cooling rate of several kinds of cells

由于单一保护剂各有优缺点,一般混合使用,使各种成分的保护作用得到综合协调的发展,产生累加效应,又能彼此减少甚至消除单一成分的毒害作用。

3.3.3 解冻方法 解冻过程的关键是防止次级重结晶。现已证明,植物材料解冻时,次级重结晶的危险温度区约是 $-50\sim-10^{\circ}\text{C}$ 。一般建议^[25],如冷却过程的速率较快,那么相应的解冻速率也要快些,这样可获得较好的效果。实践中,一般采用 $37\sim40^{\circ}\text{C}$ 的解冻速度。解冻后应立即进行洗涤,清除冰冻保护剂,很快进行活力检查和再培养。

3.4 研究及应用概况 早在20世纪70年代,英国的Morris等^[26]就对海产单胞藻进行了冷冻保存研究,取得了在 -196°C 下保存1年,存活率100%的结果。Day等^[27]分别用1步冷冻法和2步冷冻法保存四鞭藻(*Tetraselmis*),融化后的存活率分别为50%和70%多。Canavate等^[19]通过相同的超低温冷冻程序保存了微绿球藻(*Nannochloris*)等6种微藻,保存效果却相差很大。Day等^[24]对真核藻类进行了冷冻保存,认为虽然有些藻株的存活率可达95%,但目前还没有找到适合所有种类的超低温保种技术。在我国,马志珍等^[7]研究了15种海产饵料微藻,其中13种微藻都能在一定的时间内活化复苏,进行正常的生长繁殖,但各种微藻的生长延缓期和生长率却相差很大。王起华等^[27]用两步冷冻法研究了3种饵料金藻,其存活率均在30%左右。

综上所述,几乎所有微藻都可以进行超低温冷冻保存,但由于种类不同,其存活率差异较大,或因培养株生理状态不同,其重复性较差;还由于绝大多数细胞的低温保存都必须采用抗冻保护剂,而不同的细胞要求不同类型的抗冻剂,浓度也不同,至今还没有找出1种对所有种类都适用的保护剂;还有,不同的细胞有不同的最佳降温和解冻速率,因此,如果能针对不同种类的微藻摸索出其最佳降温和解冻速率,必将是超低温保存微藻工作的重大突破。

4 应用策略

综上所述,单细胞藻类的保种技术尚没有发展成为1项成熟稳定的技术,许多问题还有待于我们去探索,开展微藻保种方面的研究工作,不但会填补微藻保种理论研究上的空白,还会在生产实践中发挥应有的作用。

4.1 继代保存的应用 由于继代保存简便易行,在生产和科研实践中仍受到青睐。

4.2 固定化保存的应用 由于固定化保存使藻细胞生长速度缓慢,便于营养物质转化成次生产物而不形成生物量,还可使产物不断地从细胞中排到胞外,以促进代谢产物的形成。所以,固定化保存可用于次生代谢物质的生产;固定化微藻能在生物处理装置内维持高浓度的生物量,因而可以提高处理负荷,用于进行污水处理。

4.3 超低温保存的意义 超低温保存不需要机械空调设备及其它管理,设备简单,保存费用只相当于种质库保存的1/4,同时具有保持种质遗传稳定性、对藻种进行优胜劣汰、便于长期保存、能最大限度地减少污染等方面的优点,还能省去种子的活力监测和繁殖更新,是1种省事、省工、省费用的种子低温保存新技术。

随着微藻超低温保存研究地不断深入,有必要建立微藻超低温保存种质库,保持一些稀有的及濒危微藻的种质资源;便于国内外学术交流中微藻种质的交换;有可能培养出抗逆性强的优良微藻新品系。

我们进行微藻的超低温保存,从理论上说,可以为低温生物学领域提供新的资料,更重要的是想用该手段贮藏种质和提高种质,在生产上发挥作用。相信,随着研究工作的不断深入,在探明生物细胞冻害和抗冻机理的基础上,超低温保存微藻种质的技术将会越来越完善,也会在生产实践中发挥越来越大的作用。

参考文献

青岛海洋大学学报,2002,32(3):403-407

- [1] 梁英,麦康森,孙世春.微藻的应用概述. [J] 海洋湖沼通报,1999,2:69~77
- [2] 蔡阿根,郑爱榕,李文权,等.海洋微藻中脂肪酸的气相色谱分析. [J] 海洋技术,1998,17(4):64~68
- [3] 曹春晖,孙世春,麦康森,等.30株海洋绿藻的总脂含量和脂肪酸组成. [J] 青岛海洋大学学报,2000,30(3):428~434
- [4] 李荷芳.海洋微藻脂肪酸组成的比较研究. [J] 海洋与湖沼,1999,30(1):34~40
- [5] 魏东,张学成,邹立红,等.细胞生长时期对两种海洋微藻总脂含量和脂肪酸组成的影响. [J] 青岛海洋大学学报,2000,30(3):503~509
- [6] 马志珍,武振彬.建立微藻超低温保存种质库的技术及意义. [J] 国外水产,1993(1):1~5
- [7] 马志珍,张继红.海产饵料微藻超低温保种技术的研究. [J] 中国水产科学,1997,4(4):13~17
- [8] 马志珍,张继红.海产饵料微藻固定化保种技术. [J] 中国水产科学,1998,5(2):57~61
- [9] 马志珍.微藻固定化培养技术及其应用前景. [J] 国外水产,1993(3):1~4
- [10] 陈明耀主编.生物饵料培养. [M] 北京:中国农业出版社,1997
- [11] 冈内正典.饵料用微藻的大量培养技术开发及其利用. [J] 国外水产,1991,2:17~22
- [12] 华汝成编著.单细胞藻类的培养与利用. [M] 北京:农业出版社,1980
- [13] 王秉娟主编.海藻生物技术. [M] 上海:上海科学技术出版社,1994
- [14] 仵小南,谭桂英,周百成,等.几种海洋微藻的固定化培养. [J] 海洋学报,1992,14(1):129~133
- [15] 张学成,仵小南.固定化培养对亚心形扁藻生理功能及超微结构的影响. [J] 海洋学报,1994,16(4):96~101
- [16] Tomponent C. Cytological and physiological behaviours of *Englena gracilis* cells entrapped in a calcium alginate. [J] *Physiol plant*, 1985,63(2):277~283
- [17] Hertzberg S. Studies of alginate-immobilized marine microalgae. [J] *Botanica Marina*, 1989,32(4):267~273
- [18] 张轩杰.鱼类精液超低温冷冻保存研究进展. [J] 水产学报,1987,11(3):359~367
- [19] Canavate J P, Lubian L M. Some aspects on the cryopreservation of microalgae used as food for marine species. [J] *Aquaculture*, 1995,136:277~290
- [20] Canavate L M Lubian. Relationship between cooling rates cryoprotectant concentrations and salinities in the cryopreservation of marine microalgae. [J] *Marine Biology*, 1995,124:325~334
- [21] Day J G, Fenwick C. Cryopreservation of members of the genus *Tetraselmis* used in aquaculture. [J] *Aquaculture*, 1993,118:151~160
- [22] Anne M B, Freddy E. A method for the cryoconservation of *dunaliella salina*(chlorophyceae):effect of glycerol and cold adaptation. [J] *J Phycol*, 1996,32:346~352
- [23] Canavate J P, Lubian L M. Effects of slow and rapid warming on the cryopreservation of marine microalgae. [J] *Cryobiology*, 1997,35:143~149
- [24] John G D. Long-term viability of preserved eukaryotic algae. [J] *J A phycol*, 1997,9:121~127
- [25] 李广武,郑从义,唐兵,主编.低温生物学. [M] 湖南:湖南科学技术出版社,1997
- [26] Morris G J. Cryopreservation of 250 strains of *Chlorococcales* by the method of two-step cooling. [J] *Br Phycol J*, 1978,13:15~24
- [27] 王起华,石若夫,程爱华.三种饵料金藻的超低温保存研究. [J] 中国水产科学,1999,6(2):89~92

有效氯对4种单胞藻种群增长的影响

刘青, 王玉善, 赵文

(大连水产学院 养殖系, 辽宁 大连 116023)

摘要: 在室温下, 研究了不同有效氯浓度对新月菱形藻、扁藻、球等鞭金藻和湛江等鞭金藻种群增长的影响, 以及在 10 mg/L 的有效氯浓度下, 不同接种时间对扁藻种群增长的影响。结果表明: 1 mg/L 以上的有效氯对单胞藻的种群增长已产生了抑制作用, 随着有效氯浓度的增加, 其抑制作用增强。几种饵料藻类对有效氯的耐受顺序为: 等鞭金藻 > 扁藻 > 新月菱形藻。有效氯对单胞藻的毒性作用不但与有效氯的初始浓度有关, 而且与有效氯的衰减密切相关。有效氯浓度相同时, 对单胞藻生长的抑制作用随接种时间的延后而减小。

关键词: 有效氯; 单胞藻; 种群增长; 生长速率; 衰减

中图分类号: S963.21

文献标识码: A

单胞藻是对虾、扇贝等水产经济动物的天然饵料, 也是优良动物性饵料——卤虫、褶皱臂尾轮虫的鲜活饵料。在育苗实践中, 用于水体消毒的氯制剂更新换代很快, 第一代是以漂白粉为代表的次氯酸盐, 第二代是以优氯净为代表的二氯异氰尿酸钠, 第三代是以强氯精为代表的三氯异氰尿酸。目前, 二氧化氯被人们推崇为第四代消毒剂。不同消毒剂的杀菌能力不同、对水中病毒的抑制能力及对水生生物的毒副作用也不同^[1]。有效氯对浮游植物生长、叶绿素、初级生产力的影响已有报道^[2], 但有效氯对单胞藻种群增长的影响尚未见报道。本实验中作者研究了不同有效氯浓度对几种单胞藻种群的增长及在相同有效氯浓度下, 不同接种时间对扁藻种群增长的影响, 以便为生产单位选择有效氯消毒剂量提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 藻种和培养

1.1.1 藻种来源 新月菱形藻 (*Nitzschia closterium*)、球等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*)、湛江等鞭金藻 (*Isochrysis zhanjiangensis*)、扁藻 (*Platymonas* sp.) 均由辽宁省海洋水产研究所提供。

收稿日期: 2002-01-25

基金项目: 辽宁省博士启动基金项目资助 (001052)

作者简介: 刘青 (1965-), 女, 讲师。王玉善为大连水产学院养殖系 2000 届毕业生。

1.1.2 藻种培养 用250 mL锥形瓶取上述藻种各1瓶(约200 mL),取回后放置于与实验相同的环境下两昼夜使其稳定,取上层藻液接种。所有实验用海水均经过沉淀、过滤、煮沸消毒处理,锥形瓶亦全部煮沸消毒(以下略)。培养液为f/2培养液^[3],与海水的体积比为1:1000。在室温、自然光照(亮暗时间约为14 h:10 h)下培养。培养期间每日振荡数次,培养两周左右,取处于指数生长期的藻种做实验。

1.2 实验方法

1.2.1 有效氯浓度对单胞藻种群增长的实验 用天津化学试剂公司生产的安替福民(Antiformin)即次氯酸钠(分析纯),配制成1 g/L的有效氯母液。500 mL三角烧瓶内,依次加入消毒海水、有效氯母液、f/2培养液及藻种(表1),终体积均为300 mL。实验设3个平行组。各平行组间及组内的添加顺序一致。接种后将各瓶摇匀,立即取样固定,记录起始的细胞数目。在室温、自然光照下培养,每日适当摇动,培养5 d。培养期间,每日定时(上午8:00~9:00)取样测定细胞数目。

1.2.2 相同有效氯浓度下不同接种时间对扁藻种群增长的实验 有效氯浓度为10 mg/L,在添加有效氯0、4、8、12、16、20和24 h后分别接种,另设1个对照样。实验设3个平行组。每种物质的添加剂量、顺序及培养条件同上,培养7 d。记录细胞起始密度,每日取样测定细胞数目。

1.2.3 测定方法 种群增长测定采用细胞视野计数法,用鲁哥氏液固定。将藻液摇匀,取0.1 mL已固定的藻液于0.1 mL的浮游植物计数框中,在400倍显微镜下观察计数。藻类的生长速率(μ)的计算公式为: $\mu = (\ln N_t - \ln N_0) / (t \ln 2)$ 式中: N_t 是第 t 天的细胞数量; N_0 为初始细胞数量($t=0$), t 为培养时间。

2 结果

2.1 有效氯浓度对单胞藻种群增长的影响

2.1.1 新月菱形藻 由图1可知,与对照组相比,加入有效氯后即对新月菱形藻的种群增长产生了抑制作用。有效氯为1 mg/L时对细胞的抑制作用要小一些,小于3 mg/L的有效氯对新月菱形藻的影响趋势相同,细胞密度都经历了一个由升高——降低——升高的过程。

2.1.2 扁藻 由图2可知,当有效氯浓度在10 mg/L以内时,细胞密度均先降后升,且随有效氯浓度的升高,细胞密度降低所持续的时间越长,数量回升得越缓慢,对藻细胞的抑制作用越明显。当有效氯浓度>10 mg/L时,细胞密度一直下降,表现出负增长。

2.1.3 湛江等鞭金藻和球等鞭金藻 由图3和图4可知,湛江等鞭金藻和球等鞭金藻对有效氯的耐受性非常相似且均较高。当有效氯浓度<3 mg/L,细胞密度亦先降低后升高,但它们的增加幅度明显高于扁藻和新月菱形藻。当有效氯浓度为5 mg/L时,细胞密度虽然减少,但变化很缓慢,且在第五天出现了增加的趋势。当有效氯浓度>10 mg/L时,对藻细胞产生了破坏作用,抑制了藻细胞的生长,致使细胞密度一直下降。

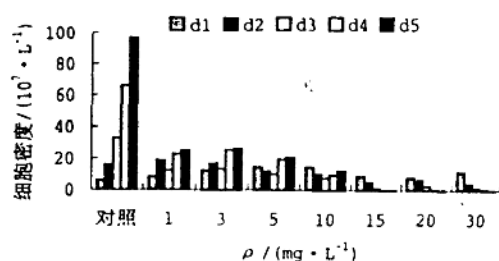


图1 有效氯对新月菱形藻种群增长的影响 (17℃)

Fig.1 The influence of active chlorine on population growth of *Nitzschia closterium* (17℃)

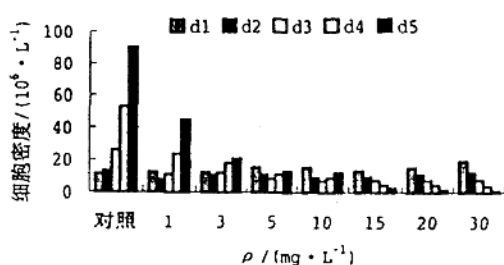


图2 有效氯对扁藻种群增长的影响 (19~21℃)

Fig.2 The influence of active chlorine on population growth of *Platymonas* sp. (19~21℃)

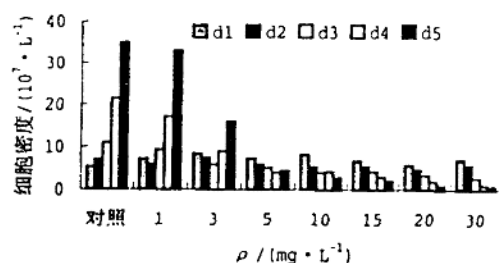


图3 有效氯对湛江等鞭藻种群增长的影响 (20~24℃)

Fig.3 The influence of active chlorine on population growth of *Isochrysis chanjiangensis* (20~24℃)

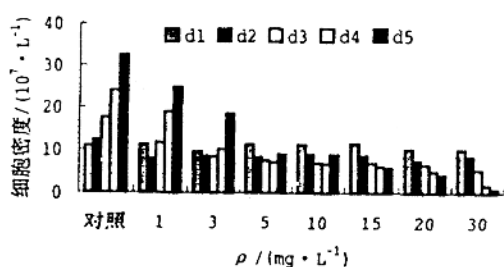


图4 有效氯对球等鞭藻种群增长的影响 (20~24℃)

Fig.4 The influence of active chlorine on population growth of *Isochrysis galbana* (20~24℃)

2.1.4 几种藻类的生长速率 如图5所示,当有效氯浓度由低到高变化时,生长速率则由大到小、由正到负变化。有效氯浓度越高,生长速率越小,负增长越显著。新月菱形藻在有效氯浓度5 mg/L以前,生长速率为正值;10 mg/L以后,生长速率为负值。扁藻在有效氯浓度<10 mg/L时,生长速率为正值,在有效氯浓度>15 mg/L时为负值。湛江等鞭藻和球等鞭藻当有效氯浓度较低时,生长速率为正值;当有效氯浓度较高时,生长速率为负值。

2.2 相同有效氯浓度不同接种时间对扁藻种群增长的影响

由图6可知,有效氯浓度为10 mg/L时,当加入有效氯后8 h之内接种,虽然有效氯的衰减很快,但对藻细胞生长仍产生较强的抑制作用,生长速率为负值。而8 h以后接种,随着接种时间的延后,有效氯对细胞生长的抑制作用显著减小。因此,生长速率呈现出正值,但生长速率增加的幅度不明显。

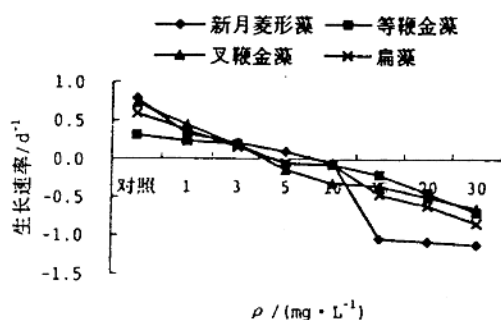


图5 不同藻类生长速率的比较

Fig. 5 The comparasion of growing rate of different kinds of algae

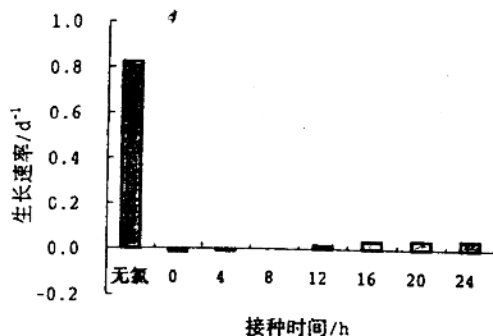


图6 有效氯对扁藻生长速率的影响

Fig. 6 The influence of active chlorine on growing speed of *Platymonas* sp.

3 讨论

3.1 有效氯对几种单胞藻生长的影响

在本实验条件下, 浓度 $< 3 \text{ mg/L}$ 的有效氯对单胞藻的影响趋势相同, 细胞密度都经历了一个由升高——降低——升高过程, 且低浓度有效氯 (1 mg/L) 对细胞的抑制作用要小些, 这与有效氯在水中的衰减有关。杨凤等^[4]指出有效氯为 1.06 mg/L 时, 在混合水中, 18°C 时, 有效氯 24 h 耗尽; 当有效氯为 $3 \sim 10 \text{ mg/L}$ 时, 96 h 后尚有余氯存留; 当有效氯浓度极低时, 对细胞已不再产生抑制作用。因此, 细胞密度出现了由降低到升高的过程。当有效氯浓度较低时, 大部分有效氯在 24 h 内已基本耗尽, 但余氯对细胞的破坏作用仍能持续一段时间, 因此, 细胞密度出现了一个由升高到降低的过程; 当有效氯浓度为 $5 \sim 10 \text{ mg/L}$ 时, 由于有效氯的浓度较高, 其衰减所消耗的时间较长, 因此, 对细胞的破坏作用较大, 抑制了细胞生长, 致使细胞密度在培养前期一直处于下降阶段。直至 96 h 后, 有效氯浓度衰减为较低时, 细胞密度才略有增加。而有效氯浓度为 $15 \sim 30 \text{ mg/L}$ 时, 由于有效氯浓度太高以及受水体 COD、温度、pH 和光照等多种因素的影响, 在相同的环境条件下, 有效氯衰减耗时较长, 使藻细胞密度一直处于下降阶段, 而且细胞密度骤减, 几乎消失。

有效氯在海水中的衰减先快后慢, 尤其前 6 h 之内衰减较快, 而后则变得缓慢。由图 6 可知, 在加入有效氯后 8 h 之内接种, 生长速率为负值; 而在 8 h 之后接种, 生长速率为正值。这是由于初始有效氯浓度较高, 衰减后的余氯值仍较大, 对藻细胞生长仍产生较强的抑制作用。而 8 h 以后接种, 因为是以衰减后的余氯作为有效氯的初始浓度, 经过相同的培养时间, 抑制作用相对于 8 h 以内接种要小些。因此, 生长速率呈现出正值, 且随着接种时间的延后, 有效氯对细胞生长的抑制作用减小。Wong^[5]等、Hall^[6]等和王勇强等^[7]均得到相近的结论。

不同藻类对有效氯的耐受性不同。新月菱形藻对有效氯最敏感, 其耐受性最低, 扁

藻次之,而湛江等鞭金藻和球等鞭金藻对有效氯的耐受性最强。当有效氯处于高浓度(15~30 mg/L)时,这两种金藻的生长速率明显大于新月菱形藻和扁藻。闫喜武等^[2]通过实验指出:金藻类对有效氯的耐受性极强,甚至用150 mg/L有效氯处理仍能存活。由此可以得出,常见饵料藻类对有效氯的耐受能力为:金藻类>绿藻类>硅藻类。究其原因可能与细胞壁的有无有关。加入有效氯后,有细胞壁的新月菱形藻出现质壁分离,显微镜下可见细胞壁与原生质之间出现空隙,而无细胞壁的金藻类则形成胞囊。对于植物细胞而言,如果发生质壁分离,则细胞对外界的渗透压调节功能和物质交换能力容易丧失,也容易导致细胞死亡;而胞囊的形成对不良环境条件具有极强的抵抗能力。

3.2 使用有效氯时应注意的问题

生产上应用有效氯进行消毒时,一定要考虑不同藻类对有效氯的耐受程度。由于硅藻对有效氯敏感,因此漂白粉或次氯酸钠等含氯消毒剂的用量不能太高。水产养殖中的病害防治通常采用1.0 mg/L的有效氯,但该浓度有效氯已经对硅藻类的生长产生了抑制作用。金藻类对有效氯的耐受能力较强,近年来,有效氯被用来杀灭金藻藻液中的原生动物。与酸化法相比,该法能杀灭有些用酸化法杀不死原生动物,且有很高的安全浓度,但是其不足也是显而易见的。金藻类虽然对有效氯具有很强的耐受能力,但生长出现“停滞期”,影响饵料水体的周转。且随着有效氯浓度的增加,“停滞期”有延长的趋势。金藻类用4 mg/L有效氯处理40 min,“停滞期”约为1周以上,而用150 mg/L有效氯处理1.5 h,“停滞期”长达2周以上。此外,被原生动物污染的藻液往往含有的大量的藻类残屑,而有效氯入水后易与这些藻类残屑的分解物(如腐殖酸、黄腐酸、藻类氨基酸和色氨酸等)作用产生三氯甲烷(TCM)卤代有机物(TCO)等致癌物^[2],这些有害物质对鱼、虾、贝等幼体的毒害作用目前尚不清楚,但应该引起重视。

有效氯对单胞藻的毒性与其初始浓度有关。相同浓度的有效氯由于接种时间不同,对单胞藻的毒性反应也不同。影响漂白粉有效氯在水中衰减的因素是错综复杂的,温度、COD、pH、光照、鱼的有无及氯的含量都会影响衰减,从而影响到其在水中的有效含量和残留时间^[6,8]。因此,在具体应用时应特别注意。首先,施用漂白粉有效氯或次氯酸钠等含氯消毒剂前须测定有效氯含量,然后按有效氯含量折算出漂白粉的用量后再施用。用有效氯消毒过的海水,在接种前一定要中和余氯,以免余氯抑制单胞藻的生长,尤其是余氯较高时,更应该彻底中和余氯以后再投放养殖生物。否则余氯值较高将导致藻类的突然死亡或解体,并进而引起缺氧,导致鱼、虾等大批死亡。

参考文献:

大连水产学院学报,2002,17(2):120-124

- [1] 赵增元,李天保,郭文,等.使用漂白粉改善对虾池水环境的研究[J].齐鲁渔业,1995,12(3):27-31.
- [2] 闫喜武,吕波,杨卫东,等.有效氯对浮游植物生长的影响[J].水产科学,1998,17(5):17-22.
- [3] 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,1979.208. (略)

文章编号:1000-7075(2002)01-0029-04

不同氮、磷比例对球等鞭金藻生长的影响

刘东艳 孙 军 巩 晶 钱树本

(青岛海洋大学海洋生命学院, 266003)

摘要 在不同氮、磷比($N:P=1:1, 4:1, 16:1, 80:1, 160:1$)条件下,对球等鞭金藻进行了培养。通过对其生长和营养生理特性的研究发现:在 N/P 比等于 $16:1$ 的条件下,球等鞭金藻的生长速度最快,单位水体内的细胞数量最多。此外,在高氮、磷比($N/P=160:1, 80:1$)的条件下,其生长速度要优于低氮、磷比($N/P=1:1, 4:1$)状态。藻细胞内碳水化合物和蛋白质的含量也明显受到氮、磷比的影响,其含量表现为 $16:1>160:1>80:1>4:1>1:1$;此外,细胞内物质的积累合成与细胞生长的不同阶段密切相关。

关键词 氮、磷比 球等鞭金藻 碳水化合物 蛋白质

中图分类号:Q948.892;O613.61;O613.62 **文献标识码**:A

The effects of different N/P ratios on the growth of *Isochrysis galbana*

LIU Dong-yan SUN Jun GONG Jing QIAN Shu-ben

(College of Marine Life Science, Ocean University of Qingdao, 266003)

ABSTRACT *Isochrysis galbana* was grown under the conditions of five different N/P ratios ($N:P=1:1, 4:1, 16:1, 80:1, 160:1$) in batch culture systems in laboratory. Cell abundance and growth rate were measured every day in a week. The results showed that its optimum N/P ratio was $16:1$, and the cells grew better in higher N/P ratios ($160:1, 80:1$) than lower N/P ratios ($4:1, 1:1$). The contents of carbohydrates and protein were obviously affected by different N/P ratios.

KEY WORDS N/P ratio *Isochrysis galbana* Carbohydrates Protein

在海洋中浮游植物的生长主要受到氮和磷的影响,而氮和磷的作用往往是相互影响的,不同的氮、磷比例不仅会对细胞的生长速度造成影响,甚至对细胞内物质的合成积累也有影响。A. C. Redfield (1958)提出海水中平均 N/P 原子比是 $15:1$,浮游植物在生长时 N 和 P 也以 $15:1$ 的比例被消耗。但因实验室分析结果认为浮游植物的组成 N/P 比是 $16:1$,故后来的学者多以此值作为浮游植物生长的最适氮、磷比例。这种方法忽略了不同的浮游植物在其生长过程中对营养盐有各自不同的需求。Rhee (1978)、Hecky 和 Kilham (1988)等国外学者的研究都证明了不同的浮游植物有适合各自生长的最适氮、磷比例,如:中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)的最适氮磷比为 12 。本文在此研究基础上,在不同氮、磷比例下,对球等鞭金藻的生长速度及细胞内物质

国家自然科学基金重点项目(40036010)资助

收稿日期:2001-09-24;接受日期:2001-11-28

的合成做了研究, 以期对球等鞭金藻的培养以及对自然环境中限制其增殖的营养盐因子等问题的探讨提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 材料来源

藻种由青岛海洋大学微藻室提供, 在 $f/2$ 培养液中进行培养 (Guillard et al. 1962), 达到指数生长期后, 分别接种到 $N:P$ 为 $1:1$ 、 $4:1$ 、 $16:1$ 、 $80:1$ 、 $160:1$ 的培养液中进行培养, N 、 P 浓度分别为: $2.0 \mu\text{mol/L}$ 、 $2.0 \mu\text{mol/L}$, $8.0 \mu\text{mol/L}$ 、 $2.0 \mu\text{mol/L}$, $32 \mu\text{mol/L}$ 、 $2.0 \mu\text{mol/L}$, $32 \mu\text{mol/L}$ 、 $0.4 \mu\text{mol/L}$, $32 \mu\text{mol/L}$ 、 $0.2 \mu\text{mol/L}$ (原海水中 $\text{NO}_3^- = 1.4 \mu\text{mol/L}$, $\text{PO}_4^{3-} = 0.1 \mu\text{mol/L}$, $\text{NH}_4^+ = 0.2 \mu\text{mol/L}$) 培养方式为一次性培养, 培养时间为 7 d。培养液盐度为 31, 培养温度 25°C , 光照强度为 3000 lx , 光暗比为 $L:D=16:8$ 。两个重复组。

1.2 测定方法

藻细胞密度的测定采用 Utermöhl 的方法, 在倒置显微镜下计数, 同一水样, 取样 3 次进行计数, 取平均值。细胞的生长速率按以下公式计算得出:

$$\mu = (\ln C_1 - \ln C_0) / (T_1 - T_0)$$

式中, C_0 和 C_1 为细胞在 T_0 和 T_1 时刻的细胞数量。碳水化合物的测定采用蒽酮比色法, 可溶性蛋白的测定采用 Folin-酚试剂法。

2 结果与讨论

2.1 球等鞭金藻细胞数量和生长率的变化

从图 1、2 中可以看出, 在不同氮、磷比例下培养的球等鞭金藻, 其细胞数量和生长速率表现为: $16:1 > 160:1 \geq 80:1 > 4:1 \geq 1:1$ 。由此可知, 在 $N:P=16:1$ 的状态下, 藻细胞的生长速率最快, 单位水体细胞数量最多, 此外, 在高氮、磷比 ($N/P=160:1$, $80:1$) 的条件下, 其生长速度要优于低氮、磷比 ($N/P=1:1$, $4:1$) 状态。

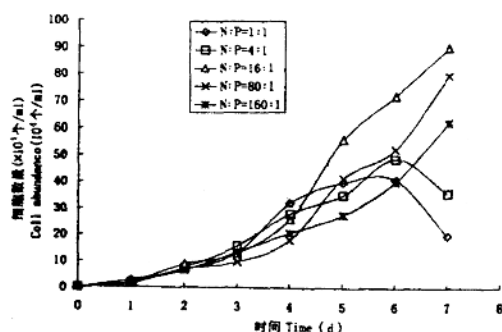


图 1 不同氮、磷比下球等鞭金藻细胞数量的变化
Fig. 1 The variations of cell abundance of *Isochrysis galbana* in different N/P ratios

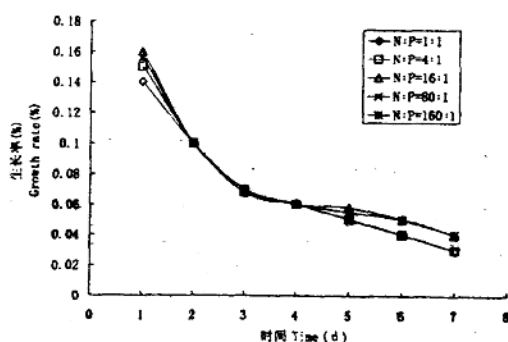


图 2 不同氮、磷比下球等鞭金藻生长速率的变化
Fig. 2 The variations of growth rate of *Isochrysis galbana* in different N/P ratios

从图中还可以看出,在前5 d内细胞均有不同程度的增长趋势。其中,在 $N:P=1:1$ 和 $4:1$ 培养状态下的球等鞭金藻从第6天开始进入静止期,继而开始下降进入细胞生长的衰亡期(第7天);而在 $N:P=16:1$ 、 $160:1$ 和 $80:1$ 培养液中生长的球等鞭金藻,其细胞数量在7 d的培养过程中,尽管后期细胞生长速率明显下降,但细胞数量仍处于增长状态。此外,从细胞的生长速率方面来看,在高氮、磷比($N:P=160:1$ 、 $80:1$ 、 $16:1$)条件下生长的球等鞭金藻,其生长速率在后期下降较为缓慢,这也是其细胞数量增大的原因之一。

2.2 球等鞭金藻碳水化合物和可溶性蛋白质浓度的变化

首先,从图3、4中可以看出,不同氮、磷比对细胞内物质的合成有明显影响。在不同氮、磷比下生长的球等鞭金藻,其细胞内碳水化合物和可溶性蛋白的含量表现为: $16:1 > 160:1 > 80:1 > 4:1 > 1:1$ 。由此可知,在 $N:P=16:1$ 的状态下,最有利于藻细胞内物质的合成。此外,在高氮、磷比($N:P=160:1$ 、 $80:1$)的条件下,其物质合成量要高于低氮、磷比($N:P=1:1$ 、 $4:1$)状态。

在 $N:P=4:1$ 、 $1:1$ 状态下生长的细胞,其碳水化合物和可溶性蛋白在细胞内的含量都出现过两次峰值。第1次出现在细胞生长从延缓期进入指数生长期的开始阶段(第2、3天),此时细胞充分吸收了培养液中的营养盐,迅速进行物质的合成积累,为细胞进入指数生长期奠定了细胞分裂的能量基础。在指数生长期内,细胞内物质的含量迅速降低。第2次高峰出现在细胞生长进入静止期的阶段(第6天),其峰值明显低于第1次。此时,培养液中的营养盐基本已消耗殆尽,细胞的生长策略开始改变,细胞内的能量主要是维持代谢,细胞分裂速率迅速下降,使物质的合成在细胞内得到了一个小的积累,出现了峰值。Droop(1974)等都认为当环境条件转坏的时候,细胞对碳水化合物和蛋白质等细胞内物质具有存储作用。而在 $N:P=160:1$ 、 $80:1$ 、 $16:1$ 状态下生长的细胞,由于尚未完全进入细胞生长的静止期,故第2个峰值不明显。

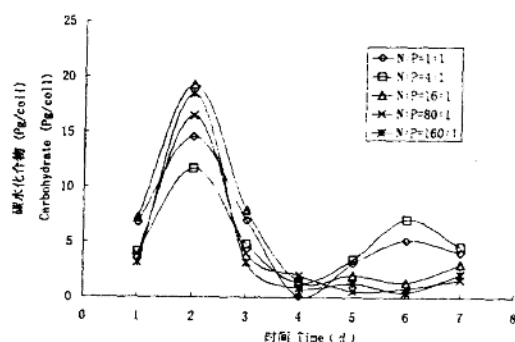


图3 不同氮、磷比下球等鞭金藻细胞内碳水化合物含量的变化

Fig. 3 The content variations of the carbohydrate of *Isochrysis galbana* in different N/P ratios

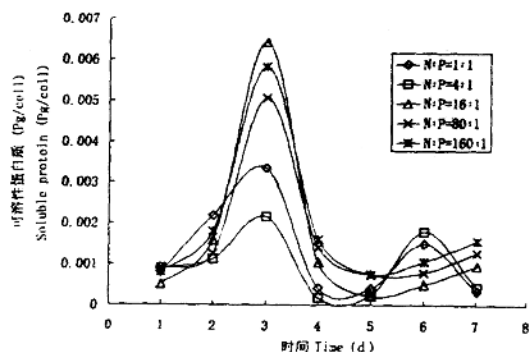


图4 不同氮、磷比例下球等鞭金藻细胞内可溶性蛋白含量的变化

Fig. 4 The content variations of soluble protein of *Isochrysis galbana* in different N/P ratios

3 小结

当营养盐总水平足以满足浮游植物生长时,海洋浮游植物对氮和磷吸收比例基本上是遵循 Redfield 比值 $16:1$,因此常用此比值来判断浮游植物受营养盐的相对限制情况。由以上实验结果可以看出, $16:1$ 是球等鞭金藻生长较为理想的氮、磷比值,但可以看出氮对其生长的影响要高于磷的作用,故作者判断球等鞭金藻在海水中的生长更容易受到氮的限制。

以往也有不少学者(王渊源 1984;郑爱榕等 1994)通过测定藻细胞对营养盐的吸收率和营养组分来进行活体饵料的筛选,但往往忽略了细胞指数生长期,能量因用于繁殖消耗太多,而降低了体内物质积累量的