

文章编号: 1674-5566(2014)06-0856-07

4株淡水微藻的适宜温度、光照强度及其细胞组成

曾蓓蓓¹, 黄旭雄^{1,2,3}, 危立坤¹, 刘林林¹

(1. 上海海洋大学农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 2. 上海市水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306; 3. 上海高校知识服务平台上海海洋大学水产动物遗传育种中心, 上海 201306)

摘要: 采用单因子试验方法, 研究了不同温度和光照强度对4株微藻(多芒藻 *Golenkinia* sp. SHOU-F56, 绿球藻 *Chlorococcum* sp. SHOU-F93, 月牙藻 *Selenastrum* sp. SHOU-F119 和绿球藻 *Chlorococcum* sp. SHOU-F124)生长的影响, 并分析了在适宜培养温度和光照条件下4株微藻细胞的生化组成。结果表明: 多芒藻, 绿球藻 SHOU-F93, 月牙藻和绿球藻 SHOU-F124 的最适温度条件分别为 29.5、19.3、21.5 和 24.3 °C; 最适光照强度分别为 35.5、8.3、22.5 和 19.2 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。绿球藻 SHOU-F93 的色素和总糖含量最高, 分别占细胞干重的 3.26% 和 20.90%, 蛋白质较高的为绿球藻 SHOU-F93 和月牙藻, 分别为 32.64% 和 33.91%, 月牙藻的总脂含量最高(23.74%)。4株微藻主要的脂肪酸为 16:0、18:1n-9、18:2n-6 和 18:3n-3。依据4株微藻的细胞组成特点, 后续可作为淡水饵料微藻开发利用。

研究亮点: 微藻在自然界分布广泛, 种质资源丰富, 微藻培养生态调查是种质资源利用的首要工作。微藻细胞组成易因温度、光照、营养盐等环境条件而改变。本文研究了新分离的4株淡水微藻的适宜培养条件并分析了其在适宜条件下的细胞组成, 从中得到总脂含量较高的藻株(月牙藻 *Selenastrum* sp. SHOU-F119)和可作为淡水饵料开发利用的藻株(绿球藻 *Chlorococcum* sp. SHOU-F93)。

关键词: 微藻; 生长; 温度; 光照强度; 细胞组成

中图分类号: S 963.21

文献标志码: A

微藻是湖泊、河流、池塘等水域生态系统中重要的初级生产者, 具有种类多、繁殖快、含有多种生物活性物质等特点^[1-2], 是具有重大开发潜力的生物资源。从野外分离获得纯的藻株并研究其适宜培养条件和细胞组成, 是新的微藻资源开发利用的基础性工作。绿球藻目(*Chlorococcales*)是淡水水域中较为常见的微藻, 其中绿球藻属(*Chlorococcum*)常用于提取类胡萝卜素^[3-4]; BHAGAVATHY 等^[5]还发现从土生绿球藻(*C. humicola*)中提取的生物活性物质具有抗菌活性; 月牙藻(*Selenastrum* sp.)则作为实验生物被应用于化学毒性评估研究^[6-8]; 而关于多芒藻(*Golenkinia* sp.)的研究国内外少有报道。本文研究了从淡水池塘中分离得到的4株绿藻(多芒藻 *Golenkinia* sp. SHOU-F56, 绿球藻

Chlorococcum sp. SHOU-F93, 月牙藻 *Selenastrum* sp. SHOU-F119, 绿球藻 *Chlorococcum* sp. SHOU-F124)的适宜温度和光照强度, 并分析了其在适宜培养条件下的细胞组成, 以期后续4株微藻的进一步开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 藻株的来源

试验用4种微藻藻株由本实验室保种, 分别采自上海市南汇、奉贤及浦东新区的养殖池塘, 经分离和纯化后鉴定与编号分别为: 多芒藻 *Golenkinia* sp. SHOU-F56, 绿球藻 *Chlorococcum* sp. SHOU-F93, 月牙藻 *Selenastrum* sp. SHOU-F119 和绿球藻 *Chlorococcum* sp. SHOU-F124。纯化藻株采用不含硅的 f/2 培养液^[9]进行逐级扩种

收稿日期: 2014-04-01 修回日期: 2014-06-05

基金项目: 国家海洋局项目(SHME2011SW02); 沪农科推字(2013第2-1号)

作者简介: 曾蓓蓓(1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为微藻培养和环境生态学。E-mail: zeng.beibei@aliyun.com

通信作者: 黄旭雄, E-mail: xxhuang@shou.edu.cn

培养。

1.2 适宜培养条件的筛选

采用单因子试验方法筛选 4 株微藻的适宜培养条件。采用 f/2 培养液,培养容器为 1 000 mL 三角烧瓶。试验在光照培养箱内进行培养,光周期为 24 L:0 D,培养周期为 14 d,每天定时摇瓶 3 次。

根据预实验结果,温度筛选试验时绿球藻 SHOU-F93 设置 10、15、20、25 和 30 °C 5 个温度梯度;多芒藻 SHOU-F56、月牙藻 SHOU-F119 和绿球藻 SHOU-F124 设置 15、20、25、30 和 35 °C 5 个温度梯度,4 株微藻培养的光照强度均为 20 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。光照筛选试验时分别在各株微藻适宜培养温度范围内设置 5 个光照强度梯度,依据预实验结果,多芒藻 SHOU-F56 光照强度设置为 10、30、50、70 和 90 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$;绿球藻 SHOU-F93、月牙藻 SHOU-F119 和绿球藻 SHOU-F124 光照强度设置为 4、12、20、28 和 36 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 5 个梯度。所有实验组均设置 3 个平行。

1.3 微藻生长情况及细胞组成的检测

培养过程中每天定时取样测定微藻生长。因多芒藻 SHOU-F56 易集群,故以生物量干重作为其生长评价指标;绿球藻 SHOU-F93、月牙藻 SHOU-F119、绿球藻 SHOU-F124 采用血球计数板法测定藻细胞密度;然后计算比生长率,采用公式:

$$\mu = \ln(N_t - N_0)/t \quad (1)$$

式中: N_0 为培养初始藻细胞密度; N_t 为经过 t 时间后培养液中的藻细胞密度; t 为培养时间。培养结束后每组各取 100 mL 藻液经 0.45 μm 滤膜抽滤,滤纸恒重后测定其生物量用于细胞色素、总糖和蛋白含量的计算。

参照严佳琦等^[10]方法测定藻细胞的色素、总糖、蛋白和总脂含量。取一定量藻液离心弃去上层清液,后加入 1.5 mL 甲醇,在 45 °C 下黑暗静置 30 min,离心后采用分光光度法测定细胞色素含量^[11-12]。总糖含量采用苯酚-硫酸法测定^[13]。采用福林-酚蛋白法测定^[14]细胞蛋白含量。试验结束后离心收集藻细胞,经 -46 °C 冷冻干燥后得藻粉。总脂含量的测定采用 V(氯仿):V(甲醇) = 2:1 法^[15]。提取的脂肪经 0.5 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液及苯-石油醚溶液(1:1, V/V)处理后,提取脂肪酸甲酯后在 Agilent 7890A/5975C 气 -

质联用仪分析脂肪酸组成,毛细管柱为 Supelco Omegawax 320(30.0 m \times 0.32 mm \times 0.25 μm)。根据 Sigma 脂肪酸标准品的分析图谱和保留时间对样品脂肪酸进行定性,按归一化法计算各脂肪酸的相对百分含量^[16],每组样品平行测定三次。

1.4 数据处理和分析

对微藻的比生长速率进行回归分析^[17],以最高比生长速率为中值,以 10% 为适宜生长区间,求算微藻的适宜生长条件区间^[18-20]。微藻的色素、总糖和蛋白含量以试验结束后占干重的百分比计算。结果以平均值 \pm 标准差表示,采用 PASW Statistics 18.0 软件进行方差分析并作 Duncan 氏多重比较,以 $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 温度对 4 株微藻生长的影响

如图 1(a) 所示为培养 14 d 后不同温度条件下多芒藻 SHOU-F56 的藻细胞干重,其在 15 °C 到 25 °C 范围内均能生长,且干重随温度的升高而增加,分别为(0.18 \pm 0.01)、(0.22 \pm 0.01)和(0.24 \pm 0.00) g/L,在 30 和 35 °C 时藻细胞干重显著高于其他组($P < 0.05$),分别为(0.27 \pm 0.00) g/L 和(0.26 \pm 0.01) g/L,对其不同温度培养条件下的干重回归分析,得 $y = -0.0003x^2 + 0.0177x + 0.0290$ ($R^2 = 0.9769$),由回归方程得最适生长温度为 29.5 °C,适宜温度范围为 20.7 ~ 38.3 °C。

绿球藻 SHOU-F93 在不同温度条件下的生长情况如图 1(b) 所示,其在 20 °C 时生长最为旺盛(比生长速率为 0.18 \pm 0.00),而在 15、25 和 30 °C 时,比生长速率次之,分别为 0.15 \pm 0.00、0.15 \pm 0.01 和 0.14 \pm 0.00,在 10 °C 时生长最弱(比生长速率为 0.12 \pm 0.00)。对绿球藻 SHOU-F92 在不同温度条件下的比生长速率回归分析,得回归方程为 $y = -0.0004x^2 + 0.0154x + 0.0034$ ($R^2 = 0.8334$),由回归方程得最适生长温度为 19.3 °C,适宜温度范围为 13.1 ~ 25.4 °C。

月牙藻 SHOU-F119 在 15 °C 到 25 °C 生长均较好(图 1c),并且 25 °C 组比生长速率最大(0.21 \pm 0.00)。温度高于 25 °C 时月牙藻 SHOU-F119 的生长减弱,在 30 °C 和 35 °C 时比生长速率为 0.17 \pm 0.00 和 0.16 \pm 0.00。对其在不同温度条件下的比生长速率回归分析,得回归方程为

$y = -0.0003x^2 + 0.0129x + 0.0647$ ($R^2 = 0.8036$)。由回归方程得生长最适温度为 21.5 °C, 适宜温度范围为 13.3 ~ 29.7 °C。

如图 1(d) 绿球藻 SHOU-F124 在 20 °C 和 25 °C 时生长较好, 比生长速率分别为 0.21 ± 0.00 和 0.20 ± 0.00 , 在 30 °C 和 35 °C 时, 比生长速率次

之, 分别为 0.17 ± 0.00 和 0.16 ± 0.00 , 在 15 °C 时生长最弱 (0.12 ± 0.00)。对绿球藻 SHOU-F124 在不同温度条件下比生长速率回归分析, 得 $y = -0.0010x^2 + 0.0485x - 0.3556$ ($R^2 = 0.9339$)。由回归方程得, 其生长最适温度为 24.3 °C, 适宜温度范围为 19.4 ~ 29.0 °C。

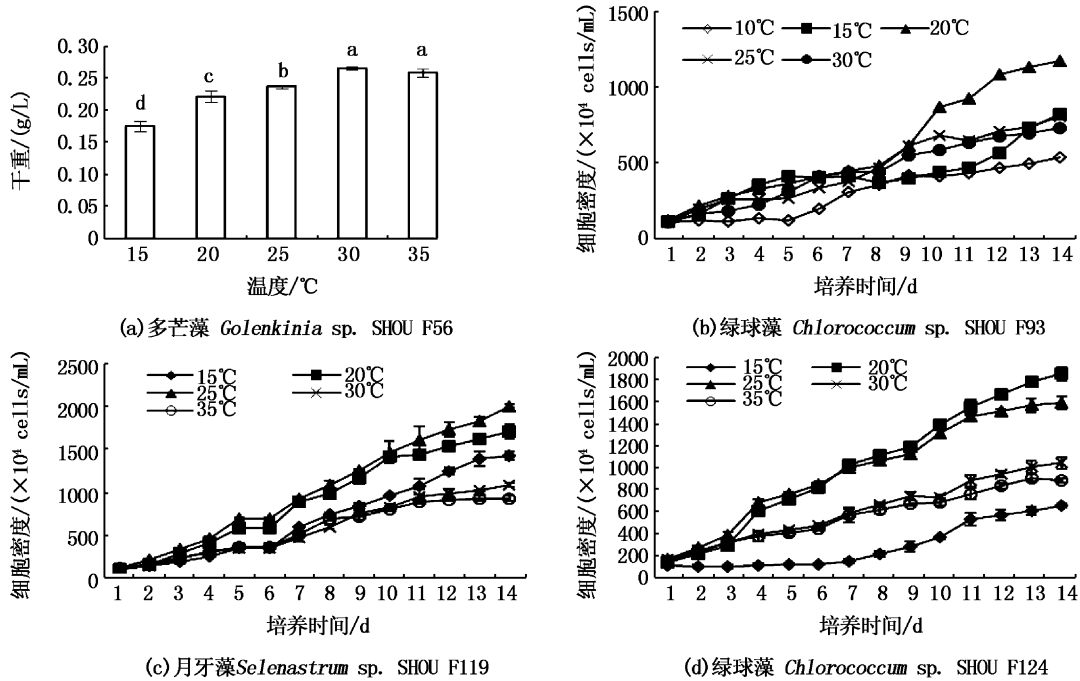


图 1 不同温度对 4 株微藻生长的影响

Fig. 1 Effects of different temperatures on the growth of the four microalgae

2.2 光照强度对 4 株微藻生长的影响

多芒藻 SHOU-F56 在不同光照强度下的干重见图 2(a), 随着光照强度的升高, 其收获干重增加, 在 $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和 $30 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, 干重分别为 (0.19 ± 0.00) 和 (0.31 ± 0.01) g/L。当光照强度为 $50 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时干重为 (0.35 ± 0.02) g/L 显著高于其他组 ($P < 0.05$)。而在 $70 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和 $90 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, 干重均为 (0.33 ± 0.01) g/L。对不同光照强度条件下多芒藻 SHOU-F56 的干重回归分析, 得 $y = -0.0001x^2 + 0.0071x + 0.1297$ ($R^2 = 0.9483$)。由回归方程得, 最适光照强度为 $35.5 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 适宜光照强度范围为 $19.5 \sim 51.5 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

绿球藻 SHOU-F93 在光照为 4 和 $12 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时均能生长 (图 2b), 但在 $12 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时比生长速率最大 (0.11 ± 0.00), 但光照强

度超过 $20 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, 绿球藻 SHOU-F92 基本不能生长。对其在不同光照强度条件下比生长速率回归分析, 得 $y = -0.0002x^2 + 0.0033x + 0.0902$ ($R^2 = 0.9807$)。由回归方程得, 最适光照强度为 $8.3 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 适宜光照强度范围为 $8.0 \sim 15.5 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

如图 2(c) 所示光照强度在 $20 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 到 $36 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 范围内月牙藻 SHOU-F119 均能生长, 在光照强度为 $20 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时比生长速率最大 0.16 ± 0.00 。其次是 $28 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和 $36 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 比生长速率均为 0.14 ± 0.00 。在光照强度为 $12 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, 比生长速率较低 (0.10 ± 0.00), 在 $4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时基本不生长。对月牙藻 SHOU-F119 在不同光照强度下的比生长速率回归分析, 得 $y = -0.0002x^2 + 0.0090x + 0.0328$ ($R^2 = 0.9023$)。由回归方程得, 最适光照强度为 22.5

$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 适宜光照强度范围为 $14.3 \sim 30.7 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

绿球藻 SHOU-F124 在光照强度为 $20 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时比生长速率最大 (0.17 ± 0.00)。光照强度为 12、28 和 $36 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, 比生长速率次之, 分别为 0.12 ± 0.00 、 0.12 ± 0.00 和 $0.11 \pm$

0.01 。在光照强度为 $4 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时基本不生长。对绿球藻 SHOU-F124 在不同光照强度下的比生长速率回归分析, 得 $y = -0.0003x^2 + 0.0115x + 0.0277$ ($R^2 = 0.7780$)。由回归方程得, 最适光照强度为 $19.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 适宜光照强度范围为 $12.4 \sim 25.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

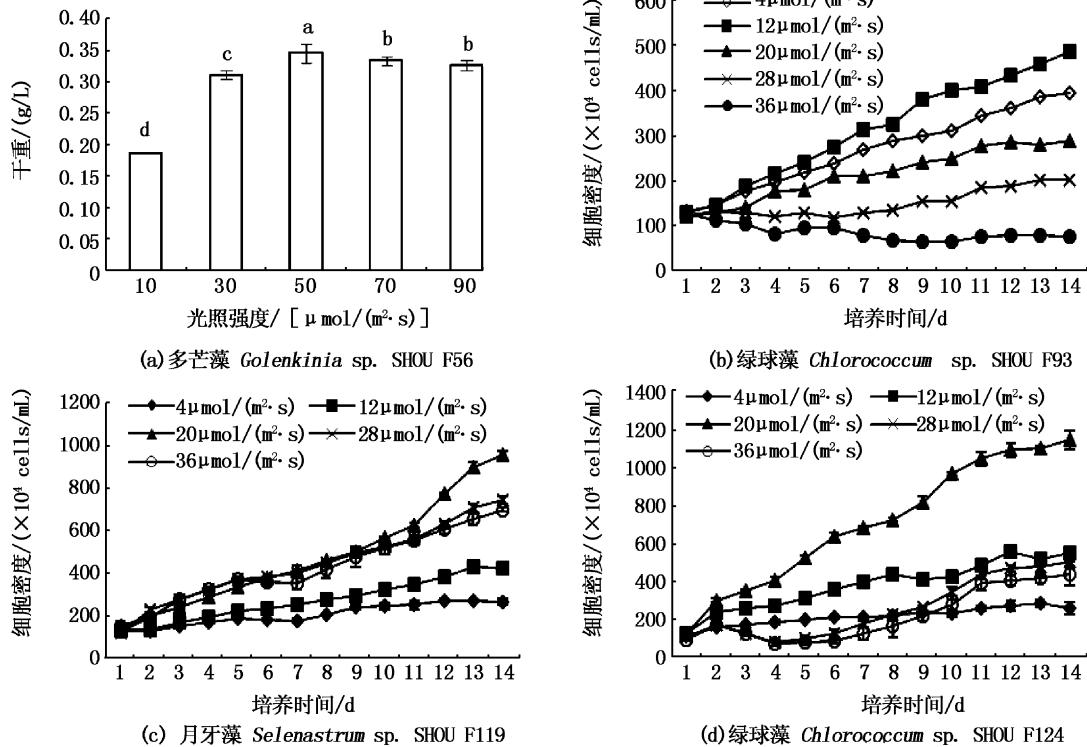


图 2 不同光照强度对 4 株微藻生长的影响

Fig. 2 Effects of different light intensity on the growth of the four microalgae

2.3 4 株微藻的细胞组成

4 株微藻分别在其最适温度和光照强度条件下培养 10 天后, 采收检测其细胞组成见表 1 (干重), 绿球藻 SHOU-F93 的色素和总糖含量最高, 分别占细胞干重的 3.26% 和 20.90%, 蛋白质较高的为绿球藻 SHOU-F92 和月牙藻 SHOU-F119, 而且月牙藻 SHOU-F119 的总脂含量最高 (23.74%)。4 株微藻在最适培养条件下的脂肪酸组成见表 2。4 株微藻脂肪酸主要以 C16 (31.46% ~ 39.46%) 和 C18 (60.84% ~ 66.87%) 为主, 其中主要脂肪酸为 16:0、18:1n-9、18:2n-6 和 18:3n-3; 绿球藻 SHOU-F93 含有较高的 16:2n-6, 而 18:1n-9 占总脂肪酸比例较低; 绿球藻 SHOU-F124 还含有较高的 16:4n-3。

3 讨论

许多研究表明温度、光照强度是影响微藻生长繁殖重要的生态因子。温度在一定程度上影响着微藻光合作用相关酶的活性和光合作用的有关过程, 进而对营养物的吸收利用效率及细胞分裂周期等产生影响; 光照强度对微藻生长的调控作用受到培养温度的影响。张曼等^[21]研究了温度变化对不同光照水平下蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*) 的光能利用和生长的影响, 结果表明: 温度升高削弱了光照增强对小球藻生长的促进作用, 微藻的适宜光照水平因温度升高而降低。本研究是在相同光照条件下分析微藻适宜生长的温度条件, 然而不同微藻对温度的耐受性不同, 本研究中多芒藻 SHOU-F56 能适

应较高温度,属于耐高温种,而绿球藻 SHOU-F93 为中温狭性种,月牙藻 SHOU-F119 和绿球藻 SHOU-F124 均为常温种,其中月牙藻 SHOU-F119 适宜温度范围较广。ZHANG 等^[3]报道绿球藻(*Chlorococcum* sp.) 在 30 °C 时生长最快,严佳琦

等^[22]研究的绿球藻 SHOU-F3 的适宜生长温度范围为 28.4 ~ 30.4 °C。然而本研究中绿球藻 SHOU-F93 (19.3 °C) 和绿球藻 SHOU-F124 (24.3 °C) 的结果较低,可能是由于不同品系和分离条件不同所致。

表 1 4 株微藻的细胞组成

Tab. 1 Biochemical compositions of the four microalgae

微藻	色素含量			总糖含量	蛋白含量	总脂含量
	叶绿素-a	叶绿素-b	类胡萝卜素			
多芒藻 SHOU-F56	1.35 ± 0.06 ^c	0.42 ± 0.02 ^b	0.53 ± 0.01 ^b	20.32 ± 0.16 ^c	24.94 ± 1.52 ^b	12.73 ± 0.41 ^d
绿球藻 SHOU-F93	2.00 ± 0.05 ^a	0.62 ± 0.08 ^a	0.64 ± 0.01 ^a	30.90 ± 0.94 ^a	32.64 ± 1.29 ^a	14.63 ± 0.34 ^c
月牙藻 SHOU-F119	1.91 ± 0.03 ^a	0.10 ± 0.02 ^c	0.62 ± 0.00 ^a	15.24 ± 1.10 ^d	33.91 ± 0.84 ^a	23.74 ± 1.35 ^a
绿球藻 SHOU-F124	1.64 ± 0.10 ^b	0.42 ± 0.01 ^b	0.51 ± 0.02 ^b	25.96 ± 0.20 ^b	12.59 ± 0.25 ^c	17.72 ± 0.38 ^b

注:同一列数据上标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

表 2 四株微藻的脂肪酸组成

Tab. 2 Fatty acid profiles of the four microalgae

脂肪酸	多芒藻 SHOU-F56	绿球藻 SHOU-F93	月牙藻 SHOU-F119	绿球藻 SHOU-F124
16:0	20.62 ± 0.25 ^a	16.63 ± 0.12 ^c	17.40 ± 0.22 ^b	20.40 ± 0.54 ^a
16:1n-7	1.65 ± 0.06 ^b	1.10 ± 0.17 ^c	1.86 ± 0.33 ^a	1.69 ± 0.09 ^{ab}
16:1n-9	0.80 ± 0.05 ^b	0.58 ± 0.10 ^c	1.86 ± 0.01 ^a	1.86 ± 0.08 ^a
16:2n-6	9.84 ± 0.16 ^b	11.33 ± 0.26 ^a	0.97 ± 0.03 ^c	0.87 ± 0.01 ^c
16:3n-3	4.76 ± 0.18 ^b	9.46 ± 0.33 ^a	-	1.15 ± 0.11 ^c
16:3n-6	-	-	-	0.62 ± 0.04
16:4n-3	1.50 ± 0.05 ^c	-	7.78 ± 0.25 ^b	10.48 ± 0.19 ^a
Σ16	39.16 ± 0.21 ^a	39.10 ± 0.21 ^a	31.46 ± 0.44 ^c	37.08 ± 0.87 ^b
18:0	1.38 ± 0.02 ^b	1.11 ± 0.24 ^c	0.62 ± 0.06 ^d	3.78 ± 0.04 ^a
18:1n-9	11.91 ± 0.36 ^c	4.41 ± 0.41 ^d	23.00 ± 0.24 ^a	18.22 ± 0.16 ^b
18:2n-6	36.62 ± 0.56 ^a	34.62 ± 0.19 ^b	13.10 ± 0.14 ^c	9.48 ± 0.23 ^d
18:3n-3	10.93 ± 0.13 ^c	20.76 ± 0.28 ^b	19.88 ± 0.12 ^b	24.44 ± 0.87 ^a
18:3n-6	-	-	2.07 ± 0.06	1.56 ± 0.07
18:4n-3	-	-	8.18 ± 0.08	4.46 ± 0.09
Σ18	60.84 ± 0.21 ^c	60.90 ± 0.21 ^c	66.87 ± 0.27 ^a	61.94 ± 0.86 ^b
22:0	-	-	0.72 ± 0.04	0.98 ± 0.04
24:0	-	-	0.96 ± 0.12	-
ΣSFA	22.00 ± 0.23 ^b	17.75 ± 0.33 ^d	19.70 ± 0.14 ^c	25.16 ± 0.50 ^a
ΣMUFA	14.35 ± 0.39 ^c	6.09 ± 0.67 ^a	26.73 ± 0.25 ^d	21.77 ± 0.06 ^b
ΣPUFA	63.65 ± 0.56 ^b	76.17 ± 0.99 ^a	53.57 ± 0.17 ^c	53.07 ± 0.48 ^c

注: - 表示未测出; ΣSFA 表示总饱和脂肪酸; ΣMUFA 表示总单不饱和脂肪酸; ΣPUFA 表示总多不饱和脂肪酸。同一行数据上标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

微藻光合作用所需的能量由光强提供,藻类对光照强度的需求有一个适宜范围(即补偿光照强度和饱和光照强度之间),超过或低于这一范围,微藻的生长均受到抑制。在光限制阶段,光照强度是微藻生长的限制因子,光合作用速率随着光照强度的增加而升高;在光饱和阶段,光合作用速率达到最大并随光强升高而产生光抑制^[23]。对 4 株微藻在不同光照强度条件下的研

究进一步证实了这一点。然而 4 株淡水微藻适宜光照强度均较低,为喜弱光种。特别是绿球藻 SHOU-F93,当光照强度高于 20 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时比生长速率仅为 0.08。有研究表明,在光限制阶段,藻类能够通过增加光合单位(photosynthetic units)的数量及光捕获色素蛋白复合体(light-harvesting complexes)的大小来增加细胞的色素^[24]。本研究中绿球藻 SHOU-F92 相比于其他

微藻在最适宜条件下的色素含量较高。因此表明绿球藻 SHOU-F92 能够更高效捕获并利用有限的光能。

微藻含有多糖、类胡萝卜素、脂类等生物活性物质被广泛应用于医药、保健、生物能源等领域。本研究对于 4 株微藻细胞组成的分析中,绿球藻 SHOU-F92 的总糖含量较高(30.90%),可以作为提取多糖的原料开发利用。微藻同时又是制备生物柴油的一种经济和高效的原料,目前国内许多机构已经开展了产油微藻的选育工作,曹春晖等^[25]报道 2 株海水绿球藻总脂含量分别为 34.49% 和 22.02%;蒋霞敏和郑亦周^[26]报道的 5 株绿藻总脂含量为 4.21% ~ 25.29%,许瑾等^[27]从华南地区分离出 8 株总脂含量在 23.5% ~ 42.3% 的绿藻。本研究中的 4 株微藻的总脂含量在 12% ~ 23.74%,其中月牙藻 SHOU-F119 的总脂含量较高,占干重的 23.74%。这比严佳琦等^[10]报道的月牙藻 SHOU-F1 的总脂含量(12.53%)高。从脂肪酸组成来看,绿藻含有丰富的 C16 和 C18^[28],并且 ZHUKOVA 和 AIZDAICHEK^[29]认为绿藻纲的藻类很少有长链(20C 以上)的脂肪酸。本研究中 4 株微藻的脂肪酸组成明显具有绿藻的特征。然而各种微藻的具体脂肪酸组成又因种而异,多芒藻 SHOU-F56 和绿球藻 SHOU-F93 含有较高的 18:2n-6 (36.62% 和 34.62%)。而除多芒藻 SHOU-F56 以外的 3 株微藻均含有较高的 18:3n-3 (19.88% ~ 24.44%)。18:3n-3 和 18:2n-6 是淡水鱼类正常发育的必需脂肪酸^[9],因此绿球藻 SHOU-F93 后续可作为良好的淡水饵料开发利用。

参考文献:

- [1] CHISTI Y. Biodiesel from microalgae [J]. *Biotechnology Advances*, 2007, 25(3): 294-306.
- [2] SUN N, WANG Y, LI Y T, et al. Sugar-based growth, staxanthin accumulation and carotenogenic transcription of heterotrophic *Chlorella zofingiensis* (*Chlorophyta*) [J]. *Process Biochemistry*, 2008, 43: 1288-1292.
- [3] ZHANG D H, LEE Y K, PHANG S M. Composition and accumulation of secondary carotenoids in *Chlorococcum* sp. [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1997, 9: 147-155.
- [4] YUAN J P, CHEN F, LIU X, et al. Carotenoid composition in the green microalga *Chlorococcum* [J]. *Food Chemistry*, 2002, 76(3): 319-325.
- [5] BHAGAVATHY S, SUMATHI P, JANCY S B I, et al. Green algae *Chlorococcum humicola*-a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity [J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2011; 1-7.
- [6] FRÄNZLE O. Bioindicators and environmental stress assessment [J]. *Trace Metals and other Contaminants in the Environment*, 2003, 6: 41-84.
- [7] 杜青平, 林壮立, 黄斌艳, 等. 羊角月牙藻 (*Selenastrum carpicornutum*) 对 1,2,4-三氯苯的降解效应研究[J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32(5): 932-936.
- [8] 李义刚, 刘滨扬, 彭颖, 等. 三氯生对羊角月牙藻生长及其抗氧化系统的影响[J]. *生态毒理学报*, 2013, 8(3): 357-365.
- [9] 成永旭. 饵料生物培养学[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2007.
- [10] 严佳琦, 黄旭雄, 马坤俊, 等. 单生卵囊 (*Oocystis solitaria*) 和月牙藻 (*Selenastrum* sp.) 的培养条件及其细胞组成[J]. *生态学杂志*, 2011, 30(12): 2761-2766.
- [11] STRICKLAND J D H, PARSONS T R. A practical handbook of seawater analysis [M]. Fisheries Research Board of Canada, Ottawa, 1968.
- [12] RITCHIE R J. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents [J]. *Photosynthesis Research*, 2006, 89(1): 27-41.
- [13] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. *Analytical Chemistry*, 1956, 28(3): 350-356.
- [14] LOWRY O H, ROSEBTOUGH N J, FARR A L, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, 193(1): 265-275.
- [15] PRUVOST J, VOOREN G V, GOUIC B L, et al. Systematic investigation of biomass and lipid productivity by microalgae in photobioreactors for biodiesel application [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(1): 150-158.
- [16] WEI L K, HUANG X X, HUANG Z Z, et al. Orthogonal test design for optimization of lipid accumulation and lipid property in *Nannochloropsis oculata* for biodiesel production [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 147: 534-538.
- [17] 李爱杰. 水产动物营养与饲料学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [18] ROBBINS K R. A method, SAS program, and example for fitting the broken-line to growth data [R]. University of Tennessee Agricultural Experiment Station Research Report, 1986.
- [19] SHI Z H, HUANG X X, FU R B, et al. Salinity stress on embryos and early larval stages of the pomfret *Pampus punctatissimus* [J]. *Aquaculture*, 2008, 275: 306-310.
- [20] 王锦林, 朱晓鸣, 雷摇武, 等. 异育银鲫幼鱼对饲料中维生素 B₆ 需求量的研究[J]. *水生生物学报*, 2011, 35(1): 98-104.
- [21] 张曼, 曾波, 王明书, 等. 温度升高对高光强环境下蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*) 光能利用和生长的抑制效应[J]. *生态学报*, 2007, 27(2): 662-667.

- [22] 严佳琦, 黄旭雄, 陶妍, 等. 五种淡水微藻的适宜培养温度和光照强度[J]. 生态学杂志, 2012, 31(5): 1104 - 1110.
- [23] 李永富, 孟范平, 李祥蕾, 等. 光照对光生物反应器中微藻高密度光自养培养的影响[J]. 中国生物工程杂志, 2013, 33(2): 103 - 110.
- [24] MASOJIDÉK J, KOBLIŽEK M, TORZILLO G. Photosynthesis in microalgae[M] // RICHMOND A. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Publishing, Iowa, USA, 2004: 20 - 39.
- [25] 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: 自然科学版, 2000, 30(3): 428 - 434.
- [26] 蒋霞敏, 郑亦周. 14 种微藻总脂含量和脂肪酸组成研究[J]. 水生生物学报, 2003, 27(3): 243 - 247.
- [27] 许瑾, 张成武, 李爱芬, 等. 华南地区淡水产油微藻藻株的分离与筛选[J]. 可再生能源, 2011, 29(1): 66 - 71.
- [28] AMI B A, TOMABENE T G, THOMOS W H. Chemical profile of selected species of microalgae with emphasis on lipids[J]. Journal of Phycology, 1985, 21(1): 72 - 81.
- [29] ZHUKOVA N V, AIZDAICHER N A. Fatty acid composition of species marine microalgae[J]. Phytochemistry, 1995, 39(2): 351 - 356.

The suitable culture temperature, light intensity for four freshwater microalgae and analysis on cellular biochemical compositions

ZENG Bei-bei¹, HUANG Xu-xiong^{1,2,3}, WEI Li-kun¹, LIU Lin-lin¹

(1. Key Laboratory of Freshwater Fishery Germplasm Resources, Shanghai Ocean University, Ministry of Agriculture, Shanghai 201306, China. 2. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai 201306, China. 3. Shanghai University Knowledge Service Platform, Shanghai Ocean University Aquatic Animal Breeding Center, Shanghai 201306, China)

Abstract: In this study, a culture experiment was conducted to study the effects of different temperature and light intensity on the growth of four species of microalgae (*Golenkinia* sp. SHOU-F56, *Chlorococcum* sp. SHOU-F93, *Selenastrum* sp. SHOU-F119, *Chlorococcum* sp. SHOU-F124), and the biochemical compositions and fatty acids of the microalgae were analyzed. The results showed that the optimal culture temperatures were 29.5, 19.3, 21.5, 24.3 °C and the optimal light intensity was 35.5, 8.3, 22.5, 19.2 μmol/(m² · s) for *Golenkinia* sp. SHOU-F56, *Chlorococcum* sp. SHOU-F93, *Selenastrum* sp. SHOU-F119 and *Chlorococcum* sp. SHOU-F124, respectively. Under the suitable culture conditions, *Chlorococcum* sp. SHOU-F93 cells had the highest contents of pigments (3.26%) and carbohydrates (20.90%), while *Chlorococcum* sp. SHOU-F93 and *Selenastrum* sp. SHOU-F119 had the highest contents of protein, being 32.64% and 33.91%, respectively and *Selenastrum* sp. SHOU-F119 had the highest contents of total lipid (23.74%). The dominant fatty acids in the four microalgae were 16:0, 18:1n-9, 18:2n-6 and 18:3n-3. Based on characteristics of four microalgae cells, these microalgae may have prospects for the development and utilization as freshwater bait.

Key words: microalgae; growth; temperature; light intensity; biochemical composition