

光照时间、强度和温度对角毛藻增殖率的影响*

陈椒芬 谭桂英 潘永尧

(中国科学院海洋研究所)

海洋单细胞藻是海产动物幼体必需的食料,也是进行生理和遗传研究的好材料。在藻类培养中,光照时间、强度和温度是影响藻类增殖速度的重要因素。有关藻类生长和光照强度、温度之间的关系已有不少报道^[1,7,8]。但是光照时间、强度和温度对同一种藻类增殖率影响的报道是不多的^[5]。

为了配合海产动物人工育苗工作,保证育苗期间植物性饵料的充足供应,其关键问题是寻找饵料藻类生长的适宜培养条件,提高增殖率。为此,我们以角毛藻 *Chaetoceros sp.* 为对象进行光照时间、强度和温度对其增殖率影响的研究。

一、材料和方法

角毛藻种由国家水产总局黄海水产研究所提供。这种硅藻在适宜条件下绝大多数以单个细胞存在。环境不利时,常2—4个细胞相连。藻体有一个黄褐色色素体,壳环面 $3.7—4.9 \times 4.3—6.5\mu$,细胞壁薄,角毛直,长约 18.5μ 左右,自壳缘略往里生出和壳环面成对角线。在不适宜的条件下,细胞或延长、弯曲;或缩小成小球。在限定条件下、持续培养后期有部分细胞个体膨大,细胞壁加厚,角毛变粗而短成为“老化细胞”。这种“老化细胞”一旦转入新鲜培养液中仍可恢复活力并继续生长繁殖。以往,这种硅藻一直被水产养殖单位称作牟氏角毛藻 *Chaetoceros Muelleri Lemmermann.*。最近经中国科学院海洋研究所郭玉洁进一步鉴定,认为可能是 *Chaetoceros minutissimus Maker et Pr-Lavr.*。

实验用250毫升三角烧瓶,每瓶盛培养液100毫升。培养液由煮沸海水加营养盐组成,其浓度为 NaNO_3 -N10ppm, KH_2PO_4 -P1ppm, $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$ -Fe0.1ppm和 $\text{NaSiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ -SiO₂ 1ppm。实验各组平行2瓶。

每次实验将种藻液预先接入新鲜培养液内,在温度30℃、光强2000Lux、光照12小时的培养条件下培养2—3天,然后将这样的藻液作为实验的母液。实验的起始浓度约为每毫升 10^5 个细胞左右。

温度实验采用水浴控温。除40℃组温度常差1—2℃之外,其余各组的温度差均在 $\pm 0.5^\circ\text{C}$ 。光照强度和光照时间的实验都在控温 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 的培养室内进行。所有光源都用40瓦日光灯从培养瓶顶部照光。除光照时间实验外,其余实验照光12小时。静止培养,仅每日旋转三次。

生长测定用血球计数板定时进行细胞计数,各实验组计数500个细胞以上。增殖率按以下公式计算。

$$K = \frac{(\log N_1 - \log N_0) 3.32}{T}$$

式中 N_0 是实验开始时的细胞数, N_1 是经 T 时培养后的细胞数, T 是培养时间, 3.32是变为 \log_2 的系数。

二、实验结果

(一) 生长实验

我们先后进行了不同光、温条件下的10次

* 本文承导师曾呈奎教授指导和审阅, 特致感谢。

培养。结果表明，培养第一天角毛藻细胞数量显著增加，第二天仍良好，第三天增殖速度略减慢，第四天就有部分细胞膨大，厚壁的“老化细胞”出现，第五天、第六天这种“老化细胞”明显增多，生长速度大大减慢，生长曲线开始下降（见图1）。在限定的培养条件下，改变外部的光、温条件只能影响生长曲线的斜率和增殖速度，指数生长期不变，角毛藻的指数生长期从接种起可持续2至3天。实验中最大增殖率是2.0—2.1，也就是每隔11—12小时细胞增加一倍，培养的最后细胞密度可达每毫升 $3.5-4.0 \times 10^6$ 个细胞。

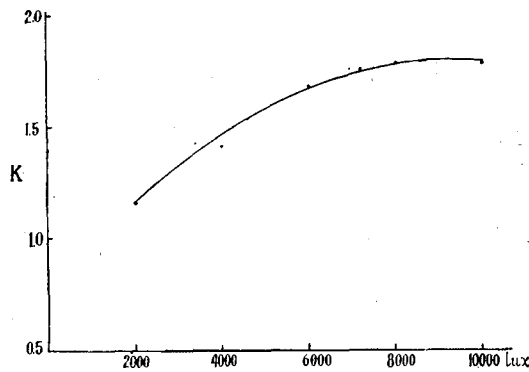


图1 角毛藻生长曲线

(二) 温度实验

从图2中可看出，角毛藻在10—35℃的温度范围内，增殖率随温度升高而提高。但各温度之间增殖率的差距以10—25℃大，25—35℃差距就很小。30℃比25℃增殖率高0.07—0.12，

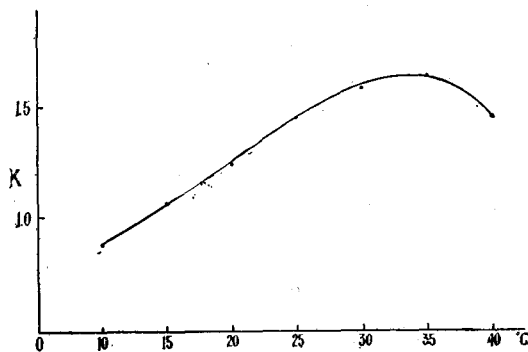


图2 角毛藻在不同温度中的增殖率

细胞增倍时间短2小时：35℃比30℃增殖率相差±0.05。温度升高至40℃，增殖率明显下降。由此可见，角毛藻在10—40℃温度范围内都可正常分裂生长，而其生长的最适温度应在25—35℃。

如将角毛藻液存放在4℃冰箱内，一个月后检查，细胞色泽正常，个别还呈现即将分裂的样子。如转入适宜温度仍能正常增殖。

单生型角毛藻大都是适高温的种类。据报道，已在培养应用的有 *Chaetoceros calcitrans form pumilus*。生长的最适温度是23℃。

(三) 光强实验

图3所示，角毛藻细胞增殖率在2000—8000Lux的光强范围内，随光强增强而增加。2000—6000Lux增殖率提高显著，即每增加2000Lux光强，增殖率提高0.22—0.28。但是6000Lux至8000Lux增殖率只提高0.14。8000Lux至10000Lux，光强增强并未引起增殖

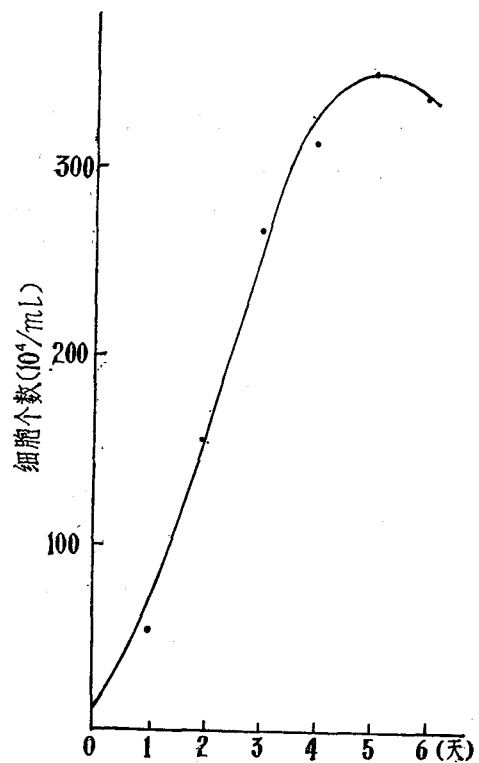


图3 角毛藻在不同光强下的增殖率

率继续增加, 曲线趋向平区。由于受条件限制, 未进行10000Lux 以上光强的实验。因此, 不能得出影响增殖率下降的光照强度。但是, 从实验结果可以看到, 角毛藻在2000—10000Lux的光强范围内都能正常生长, 达到增殖率最高值的光强是在8000Lux左右。

我们也把角毛藻液置于30°C的黑暗条件下, 7天后检查, 细胞色泽正常并未失去繁殖能力。

(四) 光照时间实验

角毛藻的增殖率和光照时间的长短有着密切的关系(见表)。增殖率随着光照时间的延

角毛藻在不同光照时间下的增殖率和增倍时间表

光照时间 (小时)	9	12	15	24
增殖率 K	1.00 1.00	1.20 1.31	1.50 1.63	2.00 2.10
增倍时间 (小时)	24 24	20 18	16 15	12 11

长而增加。24小时光照增殖率最高, 15小时次之, 12小时更次之, 而9小时最低。24小时连续光照获得最高的增殖率。但是, 从角毛藻的增殖率和细胞增倍时间看, 光照24小时的增殖率是9小时的一倍, 光照时间每增加3小时, 细胞增倍时间缩短4小时来推算, 角毛藻生长的饱和光照时间可能在18小时左右。

三、小 结

在限定的培养条件下, 角毛藻的指数生长期从接种起可持续2—3天, 实验中最大增殖率为2.0—2.1, 即每隔11—12小时细胞增倍一次。生长实验中, 最后细胞浓度可达每毫升 $3.4-4.0 \times 10^6$ 个细胞。

角毛藻能在很宽的光、温范围内生长, 但其生长的最适温度在25—35°C。增殖率最高的光强约在8000Lux左右。光照时间的长短明显影响角毛藻的增殖速度。实验证明, 连续24小时光照增殖率最高。

THE EFFECT OF TEMPERATURE, LIGHT INTENSITY AND PHOTOPERIOD ON THE GROWTH OF CHAETOCEROS SP.

Chen Jiaofen Tan Guiying Pan Yongyao

(Institute of Oceanology, Academia Sinica)

Abstract

The marine diatom, *Chaetoceros* sp. was grown in an enriched sea-water medium. Growth was measured by direct count of the cells increased. The relative growth constant K was used as an index for comparing the growth rate under different photoperiods, light intensities and temperatures.

In the growth of *Chaetoceros* sp. the exponential phase was about 2-3 days after inoculation. Under optimum condition, the relative growth constant K was 2.0-2.1 loge units/day, corresponding to a division period of about 11-12 hours. The maximum cell concentration achieved in culture of *Chaetoceros* sp. was about $3.5-4.0 \times 10^6$ cell/ml.

Chaetoceros sp. can grow well in a wide range of environmental condition, but the optimum temperature was 25-35°C. Light intensities under which the maximum relative growth rate was reached was about 8000 lux and the photoperiod saturation for growth was attained by an illumination period between 15 and 24 hours.