

综 述

盐藻和 β -胡萝卜素研究述评*

刘建国 吴超元

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

提 要 养殖盐藻生产 β -胡萝卜素是近十几年新兴起的研究领域, 因其应用前途广阔, 现已成为微藻生物学的研究前沿和热点, 预计本世纪末和下世纪初将有更大发展。鉴于我国在这方面文章不系统、不全面, 本文从盐藻生物学、养殖学、 β -胡萝卜素异构体、 β -胡萝卜素形成生理等角度全面概述了该领域的研究现状, 并提出存在的问题与研究方向。

关键词 盐藻 β -胡萝卜素 异构体

β -胡萝卜素是维生素 A 原、良好的食用色素、防癌和降低心血管发病率的药物, 具有很高的经济价值。盐生杜氏藻(简称盐藻)能在适宜条件下累积大量的 β -胡萝卜素, 是 β -胡萝卜素的最好天然资源 (Massyuk, 1966)。目前许多国家进行养殖盐藻生产 β -胡萝卜素的研究, 其中澳大利亚、中国、美国等国家已经生产出 β -胡萝卜素产品。该项研究和开发方兴未艾, 我国在该项研究上有其独到之处。本文就该领域的研究现状予以综述, 并展望其发展趋势。

1 盐藻生物学特征

Teodoresco, 1905 最先描述盐藻 (*Dunaliella salina*) 的形态结构。它为单细胞、无细胞壁、具二条等长鞭毛的绿藻。盐藻细胞外被一层弹性膜包围, 胞内有一大的杯状叶绿体, 叶绿体基部有造粉核一个 (Borowitzka et al., 1988a), 杯状叶绿体的杯口有红色眼点一个、杯内有一个细胞核。盐藻外部形态不固定, 随环境条件变化而变化, 因而表现出形态多样性(如卵圆形、椭圆形、圆形、梨形、圆柱形等) (Borowitzka, 1990)。盐藻的这些特征也是杜氏藻属所共有的, 因此造成盐藻种名混乱, 即: 1) 杜氏藻属内的不同种、变种、变型均称盐藻; 2) 盐藻种称作其它不同种名。造成这一现象的原因归于盐藻固有的形态特征少, 仅有二条等长鞭毛的裸露细胞, 传统方法进行分类十分困难。

严格地讲, 盐藻的分类必需借助生理生化方法。盐藻能在适宜条件下累积大量 β -胡萝卜素, 这些 β -胡萝卜素累积于叶绿体内的中性脂质小体中, 分布在类囊体片层之间 (Ben-Amotz et al., 1982, 1988), 这是盐藻区别于其它藻的典型生理特性。本文作者赞同 Borowitzka (1990) 提出的以盐藻 β -胡萝卜素累积量多少作为分类标准的观点。据此, 称作盐藻的 UTEX 200 (CCAP19/3)、乌克兰品系 6、Thomas 种、亚速海种为杜氏藻属不同生物种, 分别应称为 *D. viridis*, *D. parva*, *D. viridis*, 而以色列 Ben-Amotz 分

* 国家自然科学基金资助项目, 38970587 号。刘建国, 男, 出生于 1964 年 6 月, 副研究员, 博士。

收稿日期: 1990 年 11 月 14 日; 接受日期: 1994 年 6 月 28 日。

离的 *D. Bardawil* 应为盐藻 (*D. salina*) (Borowitzka, 1990)。

盐藻体积比其它杜氏藻属的种大,为 $14\mu\text{m} \times 22\mu\text{m}$ 左右,而后者为 $3\mu\text{m} \times 9\mu\text{m}$ 左右。盐藻的生活史存在单倍体阶段和双倍体阶段,具有有性循环和无性循环(图1)。无性生殖纵裂形成游动孢子;或在一定条件下,形成外被一层厚粘液包埋的胶群体;或形成厚壁、表面粗糙的不动孢子。一般培养很少发现有性生殖,露天养殖时有性生殖较多出现。盐藻有性生殖为同配生殖,其过程类似水藻同配生殖。合子是生活史中仅存的双倍体阶段,合子外有一层很厚、表面光滑的孢粉质壁,合子呈绿色或红色。经过一段时间的休眠后,合子行减数分裂和细胞分裂,形成32个细胞,以后这些细胞从母细胞中释放出来。尽管有盐藻的生长和繁殖方式受渗透调节调控之说,但调节盐藻生长繁殖的真正原因目前尚不清楚。

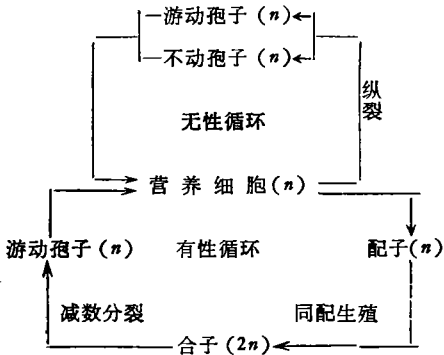


图1 盐藻的生活史

Fig. 1 The life history of *Dunaliella salina*

因目前尚不清楚。

盐藻一般在海水、咸水湖、盐池中生活,它也可在接近淡水的环境中生存。盐藻对渗透胁迫的适应能力很强,可以在接近淡水($<0.1 \text{ mol/L NaCl}$),直至饱和盐水($>5 \text{ mol/L NaCl}$)的环境中生存。其机理是通过快速增加或降低细胞内甘油的含量,与外液形成渗透平衡。盐藻忍耐 pH 值范围在1—11。事实上,盐藻是现知世界上最抗逆境胁迫的生物之一,除对 pH 值和渗透胁迫有很强的适应性外,对温度胁迫也有很强的抗性,盐藻在0—38℃的温度范围中均能生存 (Ginzberg, 1987; Borowitzka et al., 1988a)。

本文作者曾观察到盐藻在48.5℃中2h后还继续生长。

2 盐藻的养殖

盐藻累积 β -胡萝卜素,其量最高可达藻体干重的14% (Aasen et al., 1969; Borowitzka et al., 1984)。为此近几年来,人们对盐藻的研究主要集中在养殖盐藻生产 β -胡萝卜素,以下问题是其关键。

2.1 培养基 大规模养殖首先需培养纯藻种,而培养藻种的培养基又是很重要的,目前种类很多,其中 Johnson's 改良配方较好,成份如表1。另外,较常用的还有 Guillard f/2 培养液、ASP 改良培养液、加富海水培养液 (Borowitzka, 1990)。在大规模养殖时,可依据当地海水、卤水、苦卤水等具体情况,对营养盐适当地调整,配制培养液。

2.1.1 充足的碳源是决定养殖成败的关键因子之一 作为光合自养生物,在有 CO_2 的条件下,盐藻才能吸收光能进行光合作用。养殖盐藻多用高盐溶液,高盐溶液中 CO_2 的溶解度低,故需补充碳源以维持盐藻生长,盐藻细胞外有碳酸酐酶 (Aizawa et al., 1984; Brown et al., 1987),它促使 HCO_3^- 转变为 CO_2 。盐藻可利用 HCO_3^- ,但不能直接利用 CO_3^{2-} 。补充碳源有添加 NaHCO_3 或通入 CO_2 气体二种方法。作者注意到,尽管空气中也有 CO_2 ,但决不可通空气,否则藻体生长受抑制,甚至死亡。

2.1.2 硝酸盐和尿素是较好的氮营养源 盐藻所需的最好氮源为 NO_3^- (Mil'ko, 1962; Grant, 1968; Borowitzka et al., 1988b),最适生长浓度为 10 mmol/L ,硝酸盐价格较

表 1 用于盐藻培养的 Johnson's 改良配方

Tab. 1 Modified Johnson's Medium for the cultured *D. salina*

向 0.980 L 蒸馏水中, 添加下列物质 (g)	
NaCl	按需添加
MgCl ₂ · 6H ₂ O	1.5
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5
KCl	0.2
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.2
KNO ₃	1.0
NaHCO ₃	0.043
KH ₂ PO ₄	0.035
Fe-solution	10(ml)
Trace-element solution	10(ml)
其中	
①铁盐溶液(按 mg 加入 1L)	
Na ₂ EDTA	189
FeCl ₃ · 6H ₂ O	244
②微量元素溶液(按 mg 加入 1L)	
H ₃ BO ₃	61.0
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	38.0
CuSO ₄ · 5H ₂ O	6.0
CoCl ₂ · 6H ₂ O	5.1
ZnCl ₂	4.1
MnCl ₂ · H ₂ O	4.1
pH 值调节到 7.5 左右	

高; 铵盐的效果不如硝酸盐, 在高浓度或高温条件下, 对藻体产生“毒性”, 引起藻体死亡 (Mil'ko, 1962)。硝酸铵抑制 β -胡萝卜素的形成, 也导致培养液“酸化”, 影响藻体的旺盛生长或引起藻体死亡 (Borowitzka et al., 1988b)。可用价格较低的尿素代替硝酸盐培养盐藻, 特别是用有强缓冲能力的海水、卤水为溶液时效果为佳。但应当指出, 在大规模室外养殖时, 尿素经过一系列反应后产生氨, 氨富积到一定浓度能引起藻体大量死亡 (Massyuk, 1966)。氮浓度为 1mmol/L 对累积 β -胡萝卜素最适宜。

2.1.3 磷浓度适中有利于盐藻生长和 β -胡萝卜素累积 磷酸盐是盐藻生长最好的磷源。一般来说, 0.02—0.05g/L 的 KH₂PO₄ 为盐藻生长最适浓度 (Mclachlan, 1960; Mil'ko, 1962)。高浓度的磷能迅速抑制生长, 低浓度磷又使生长速度下降, 这种情况在大面积养殖中时常出现。

2.1.4 镁和钙、氯和硫的影响为比率 盐藻生长需镁和钙阳离子。在大面积养殖常用的加富海水、卤水或苦卤水中, 镁、钙离子较多, 无需添加。盐藻对镁和钙离子比率有很强的适应, 其比率在 0.8—20.0 时生长良好 (Mclachlan, 1960)。Cl⁻/SO₄²⁻ 比率影响盐藻生长和 β -胡萝卜素的含量。盐藻生长最适 Cl⁻/SO₄²⁻ 比率为 3.2 (Massyuk, 1965), 而有利于 β -胡萝卜素累积的比率为 8.6。目前认为, 阳离子和阴离子对盐藻生长可能存在相互作用。但这些问题尚未弄清。

2.1.5 铁盐和微量元素 铁(主要指可被生物利用的络合铁)对盐藻的生长十分重要。

在盐湖、盐沼中进行养殖时,铁常成为盐藻生长的限制因子。适宜于盐藻生长的铁浓度为 1.25—3.75mg/L (Mil'ko, 1962),高浓度的铁抑制盐藻生长。前面提及的 Johnson's 改良培养液中 Fe-EDTA, 可用柠檬酸铁代替 (Borowitzka et al., 1988b)。有报道柠檬酸铁比三氯化铁效果好。铁以络合物方式存在相对稳定,也易于生物利用。微量元素对藻生长的作用尚不十分清楚,但养殖盐藻时多添加微量元素,特别是用非加富海水作为培养液时,常加 Zn, Co, Mn, Cu, Mo 等。

2.2 pH 值 盐藻对 pH 的适应能力很强,但盐藻生长和 β -胡萝卜素累积的适宜 pH 值为中性和偏碱性(约为 9) (Loeblich, 1982)。

2.3 温度 不同品系的盐藻,其生长适宜温度不同,一般在 20—40℃ 之间 (Borowitzka et al., 1981)。低温,尤其是黑暗条件下的低温抑制生长 (Borowitzka, 1990),但盐藻仍可忍耐较低的温度,甚至在冰点以下都能生存 (Siegel et al., 1984); 盐藻也可以忍耐较高的温度,但通常 40℃ 以上对盐藻来说是致命的 (Borowitzka, 1990)。作者实验表明,盐藻可以忍耐高光强引起的 40℃ 以上高温,有时在 48.5℃ 中 2h 仍有一些藻体存活。这些存活的藻体含 β -胡萝卜素较多,呈红色;而含 β -胡萝卜素较少时,相对略呈绿色的藻体死亡了,并形成絮状沉淀。这说明累积 β -胡萝卜素越多的藻体可能越耐高温。

在对盐藻生长的影响上,不同环境因子之间存在相互作用,如温度和盐度二者之间存在很强的相互作用,温度和光照之间也有很强的相互作用,但目前这方面的工作还未见报道。

2.4 光是养殖盐藻生产 β -胡萝卜素中第一位重要的因子 Loeblich (1982), Ben-Amotz (1989) 实验证实光在养殖盐藻生产 β -胡萝卜素中的重要性。作者实验表明,盐藻光补偿点为 30 $\mu\text{E}/(\text{M}^2 \cdot \text{S})$, 盐藻光饱和点为 600 $\mu\text{E}/(\text{M}^2 \cdot \text{S})$ 。600 $\mu\text{E}/(\text{M}^2 \cdot \text{S})$ 以上的光强对盐藻生长不利,但有利于 β -胡萝卜素累积;在其它条件适宜的情况下,光照越强,单位面积 β -胡萝卜素产量越高。为此建议以生产 β -胡萝卜素为目的养殖盐藻时,应选择 in 低纬度地区进行。

2.5 适当增加盐度有利于藻体生长 盐度对盐藻生长有密切的关系。低盐度有利于藻体生长,但在大规模室外养殖时,低盐度也有利于原生动物和其它杂藻等敌害生物的繁殖,结果反而不利于盐藻的生长。为避免此类现象发生,通常采用 15% 以上的 NaCl 盐度培养盐藻。

3 盐藻 β -胡萝卜素异构体

β -胡萝卜素属萜类化合物,分子式为 $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$, 其分子结构如图 2。在结构上 β -胡萝卜素含 9 个共轭双键组成的大 π 键,理论上有 273 种异构体,由于甲基的阻碍作用,仅余 4 个不受阻碍的双键,其异构体有 20 种左右。Ben-Amotz 等(1982)报道盐藻累积的 β -胡萝卜素含 5 种异构体,顺式异构体占含量的大多数($\approx 60\%$),并且其中 3 种异构体,分别是全反式、9-顺式和 15-顺式。作者的结果表明,盐藻至少累积 6 种以上的 β -胡萝卜素异构体,现已分离、制备和鉴定出这 6 种异构体;同时研究表明,光强、盐度、温度、氮和磷等环境条件变化均对 β -胡萝卜素各异构体的累积产生影响 (Liu Jianguo et al., 1991, 1993b), 并且也给出了有利于各种顺式异构体总量累积的条件模式。盐藻 β -胡萝卜素异构化过程不是发生于 β -胡萝卜素分子形成之后,而是在其前体八氢番茄红素之前 (Ben-

Amotz et al., 1988; Shaish et al., 1990)。

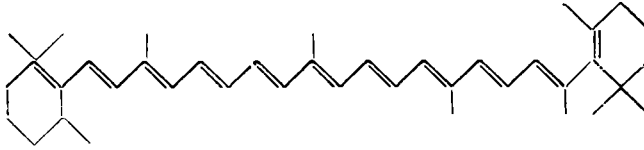


图 2 β -胡萝卜素的分子结构

Fig. 2 The molecular structure of β -carotene

β -胡萝卜素是维生素 A 的前体, 理论上一分子 β -胡萝卜素可生成二分子的维生素 A; 而 β -胡萝卜素顺式异构体能猝灭高化学活性的自由基, 降低因自由基过多诱发的过氧化作用, 在防癌和降低心血管发病率方面的药性更强, 具更高经济和应用价值。

4 盐藻 β -胡萝卜素形成生理

盐藻累积的胡萝卜素主要是 β -胡萝卜素(约占 90%); 有报道智利分离了一种盐藻不仅累积大量 β -胡萝卜素, 而且累积 α -胡萝卜素。在适宜条件下, 盐藻累积的 β -胡萝卜素量可达藻体干重的 10% 以上, 这是其它生物无法比拟的。这里的适宜条件不是指适宜盐藻生长的条件, 而是有利于 β -胡萝卜素累积的条件, 即高光强、高盐度、高温、氮和磷营养亏缺。环境因子变化对盐藻生物量、 β -胡萝卜素及其总顺式异构体含量的影响, 总结如表 2 (Liu Jianguo et al., 1993a)。其中, 光是 β -胡萝卜素形成最重要的环境因子, 它启动 β -胡萝卜素生物合成, 只有光照达到一定强度, β -胡萝卜素合成过程才开始; 并且光照越强, β -胡萝卜素累积量越多; 光质与 β -胡萝卜素合成无关 (Ben-Amotz et al., 1989)。

表 2 环境因子变化对盐藻生物量、 β -胡萝卜素及其总顺式异构体含量影响一览表

Tab. 2 Summary of the influence of various environmental factors on biomass production, β -carotene and its total cis isomers content of cultured *Dunaliella salina*

环境因子	生物量	β -胡萝卜素	总顺式异构体
盐度增加	--	++++	--
盐度降低	+	(-) ¹⁾	++
氮营养亏缺	--	+++	++
磷营养亏缺	-	++	+
无机碳源增加	+++	++	#
光强增加	+	+++++	++
光强降低	-	---	-
温度上升	+	+++	+
温度降低	-	--	-
恒温	-	#	#
氧气增加	-	-	#
微量元素增加	+	0	#
铁盐	+	+	#
苦卤水增加	++	(+) ²⁾	#
苦卤水降低	--	(-) ²⁾	#

+表示增加或刺激; -表示降低或抑制。#表示尚无研究; 0表示没有效果。1)表示速度很慢; 2)表示波动。

盐度与 β -胡萝卜素累积有密切关系。盐度越高,细胞内 β -胡萝卜素累积量越多;但是高盐度本身又抑制了细胞生长,单位面积 β -胡萝卜素产量并不一定最高。生产上选择并维持盐度在22%—24%,可达到 β -胡萝卜素最高产量(Borowitzka, 1990);也有将整个养殖分为二步的作法,首先养藻于15%的盐度和高营养盐的培养液中,使其生物量达到最大,然后提高培养液盐度,使细胞内 β -胡萝卜素大量累积(Massyuk, 1966),但该法在大规模生产时有一些缺点,常不易实现。

β -胡萝卜素在盐藻内累积速度快。当盐度从15%提高到25%,4—5d内,盐藻的 β -胡萝卜素量由每克蛋白质小于10mg增大到260mg;在该期间 β -胡萝卜素占总类胡萝卜素的量也由50%上升到90%;其它类胡萝卜素,如 α -胡萝卜素、叶黄素、玉米黄素等却无变化(Borowitzka, 1990)。

盐度降低, β -胡萝卜素在盐藻内降解速度相对较慢,这一现象对大规模养殖盐藻生产 β -胡萝卜素来说有利,尤其对雨季进行该工作更是十分有益。

5 问题与研究趋势

盐藻和 β -胡萝卜素方面已有系列研究,并已向生产过渡。但以下问题尚存空白,待进一步探讨。

5.1 环境因子变化与 β -胡萝卜素形成的动力学 以往多注意环境因子对 β -胡萝卜素累积的影响效果。但对不同时间内,各种环境因子的变化与盐藻细胞、藻液中 β -胡萝卜素含量变化的关系,即其累积动力学研究却较少。而弄清该问题,不仅了解 β -胡萝卜素的累积是简单直线、S型曲线或其它累积过程,而且对指导生产,确定最佳收获藻体时间均具有重要意义。

5.2 建立养殖盐藻生产 β -胡萝卜素及其顺式异构体的优化模式 自然界同时变化的环境因子并不限一种,多为几种,另外环境因子之间还存在相互作用。以往研究多集中于单一环境因子对 β -胡萝卜素累积的影响,结果与大规模养殖尚存一定距离。故下步需用计算机模拟并建立养殖盐藻生产 β -胡萝卜素,特别是顺式异构体的优化模式,直接指导生产。

5.3 调控物对 β -胡萝卜素累积的影响 众所周知,植物生长和代谢活动受激素等调控物的调控。十分遗憾,对该领域这类研究所知甚少,且多从生长素、赤霉素角度进行研究。总结盐藻生长和 β -胡萝卜素累积生物学后,不难发现只从生长素、赤霉素角度研究前途不大,必需从另一类植物调控物入手,才能找出有利于 β -胡萝卜素累积的代谢调控物,并应用于生产,起到事半功倍的作用。作者的初步结果也证实了这一设想,尚待进一步实践验证。

5.4 β -胡萝卜素的生物合成途径和生物合成关键酶 盐藻可累积比其它生物多得多的 β -胡萝卜素,必有其特殊机理。该特殊机理可能是:(1) β -胡萝卜素的生物合成途径,尤其合成初始途径不同;(2)生物合成酶,特别是限制合成速度的关键酶性质不同;(3)产物 β -胡萝卜素累积机制特殊。盐藻确实有特殊累积机制, β -胡萝卜素累积于叶绿体内、类囊体片层之间的中性脂质小体中。但进一步用阻断剂阻断 β -胡萝卜素合成,发现其前体等量累积,因之,机理(3)不是盐藻累积 β -胡萝卜素多的主要原因。但遗憾的是目前尚无(1),(2)方面的研究。

5.5 β -胡萝卜素累积对盐藻生存的意义 一般来说,盐藻累积 β -胡萝卜素应有益于自身生存。尽管目前有(1)猝灭自由基,抗氧化;(2)滤光,抗光损伤;(3)防止光合作用反应中心色素 Chl.a 被破坏;(4)贮存 β -胡萝卜素,以备后用;(5)转化并利用不稳定化学能,避免高温;(6)补偿因捕光色素 Chl.a 损伤,而引起的光合捕光效率下降等学说,但具体原因尚不清楚,还需进一步探讨。作者赞同学说(2),并提出(5)和(6)(刘建国等,1992)。

参 考 文 献

- 刘建国、吴超元,1992,盐藻对高温和高光强胁迫的生理适应,植物抗性生理研究,山东科学技术出版社(济南),247—251。
- Aasen, A. J., Eimhjellen, K. E., Liaaen-Jensen, S., 1969, An extreme source of β -carotene, *Act. Chim Scand.*, **23**: 2544—2545.
- Aizawa, K., Miyachi, S., 1984, Carbonic anhydrase located on the cell surface increases the affinity for inorganic carbon in photo synthesis of *Dunaliella tertiolecta*, *FEBS Lett.*, **173**: 41—44.
- Ben-Amotz, A., Katz, A., Avron, M., 1982, Accumulation of β -carotene in halotolerant algae: purification and characterization of β -carotene-rich globules from *Dunaliella bardwil* (Chlorophyceae), *J. Phycol.*, **18**: 529—537.
- Ben-Amotz, A., Lers, A., Avron, M., 1988, Stereoisomers of β -carotene and phytoene in the alga *Dunaliella bardwil*, *Plant Physiol.*, **86**: 1286—1291.
- Ben-Amotz, A., Avron, M., 1989, The wavelength dependance of massive carotene synthesis in *Dunaliella bardwil* (Chlorophyceae), *J. Physiol.*, **25**: 175—178.
- Borowitzka, L. J., 1981, The microflora. Adaptations to life in extremely saline lakes, *Hydrobiologia*, **81**: 33—46.
- Borowitzka, L. J., Borowitzka, M. A., Moulton, T., 1984, Mass culture of *Dunaliella*: from laboratory to pilot plant, *Hydrobiologia*, **116/117**: 115—121.
- Borowitzka, M. A., Borowitzka, L. J., 1988a, *Dunaliella*, In *Micro-algal Biotechnology*, ed. by Borowitzka, M. A., Borowitzka, L. J., Cambridge University Press (Cambridge), pp. 456—465.
- Borowitzka, M. A., Borowitzka, L. J., 1988b, Limits to growth and carotenogenesis in laboratory and large-scale outdoor cultures of *Dunaliella salina*, In *Algal Biotech.* ed. by Stadler, T., Mollion, J., Verdus, M. G. et al., ed. Elsevier Applied Science (Barking), pp. 139—150.
- Borowitzka, M. A., 1990, The mass culture of *Dunaliella salina*, In *The First Asia Pacific Workshop on Culture and Utilization of Seaweed* (Cebu City, Philippines), pp. 63—80.
- Brown, A. D., Goyal, A., Larsen, H. et al., 1987, A salt sensitive mutant of *Dunaliella tertiolecta*, A role of carbonic anhydrase, *Microbiol.*, **147**: 309—314.
- Ginzburg, M., 1987, *Dunaliella*: a green alga adapted to salt, *Adv. Bot. Res.*, **14**: 93—183.
- Grant, B. R., 1968, The effect of carbon dioxide concentration and buffer system on nitrate and nitrite assimilation by *Dunaliella tertiolecta*, *J. Gen. Microbiol.*, **54**: 327—336.
- Liu Jianguo, Wu Chaoyuan, 1991, Effect of salinity on accumulation of β -carotene isomers in *Dunaliella salina*, *J. Phycology*, **27**(3): 189.
- Liu Jianguo, Wu Chaoyuan, Liu Haihang, 1993a, An optimized model for the culture of *Dunaliella salina*, In *The Second International Conference on the Marine Biology of the South China Sea* (Guangzhou, China), pp. 69.
- Liu Jianguo, Wu Chaoyuan, Chen Nianhong, Wang Yujun, Yu Lidong, 1993b, Effects of nitrate and phosphate on the accumulation of β -carotene isomers in *Dunaliella salina*, In *The Second International Conference on the Marine Biology of the South China Sea*, (Guangzhou, China), pp. 70.
- Loeblich, L. A., 1982, Photosynthesis and pigments influenced by light intensity and salinity in the halophile *Dunaliella salina* (Chlorophyta) *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **62**: 493—508.
- Massyuk, N. P., 1965, Effect of Na, Mg, Cl and SO₄ ions on growth reproduction and carotene production in *Dunaliella salina* Teod., *Ukr. Bot. Zh.*, **22**: 3—11.
- Massyuk, N. P., 1966, Mass culture of carotene containing alga *Dunaliella salina* Teod., *Ukr. Bot. Zh.*, **23**: 12—19.
- McLachlan, J., 1960, The culture of *Dunaliella tertiolecta* Butcher a euryhaline organism, *Car. J. Mi-*

crobiol. **6**: 367—375.

- Mil'ko, E. S., 1962, Study of requirement of two *Dunaliella* spp. in mineral and organic components of the medium, *Moscow Univ. Vses. Biol.* **6**: 21—23.
- Shaish, A., Avron, M., Ben-Amotz, A., 1990 Effect of inhibitors on the formation of stereoisomers in the biosynthesis of β -carotene in *Dunaliella bardwil*, *Plant Cell Physiol.*, **31**: 689—696.
- Siegel, B. Z., Siegel, S. M., Speitel, T. et al., 1984, Brine organisms and the question of habitat-specific adaptation, *Origins of Life*, **14**: 757—770.

A STUDY REVIEW OF *DUNALIELLA SALINA* AND ITS β -CAROTENE

Liu Jianguo, Wu Chaoyuan

(*Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao 266071*)

ABSTRACT

As β -carotene, the precursor of vitamin A, can improve eyesight at night, provide nutrition for the skin, has potential anti-cancer and antiageing functions, and can reduce the incidence of cardiovascular diseases, it (natural β -carotene especially) is now in great demand.

The culture of *Dunaliella salina* for producing β -carotene as a hot research area in micro-algal biology, was detailedly studied in the past decade and will be greatly developed in the 1990's and the next century.

The studies covered 1) the biology and culture of *D. salina*, to 2) β -carotene isomers, and 3) the physiology of β -carotene accumulation. This paper points out some existing problems and future potential research fields to include (1) kinetics of β -carotene formation induced by changing environmental factors, (2) establishment of optimized models for cell growth, for producing β -carotene and its cis isomers, (3) effects of phytohormones and plant growth regulators (especially ABA and the other growth inhibitors) on β -carotene accumulation, (4) β -carotene biosynthetic pathways and their key enzymes, and (5) the physiological functions of β -carotene accumulation.

Key words *Dunaliella salina* β -carotene Isomer