

耐高温球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)藻种的选育与饵料特性初步分析*

赵东会^{1,2} 赵丽达⁴ 尤宏¹ 秦松^{2,3} 王寅初^{2,3} 焦绪栋^{2,3}

(1. 哈尔滨工业大学(威海)海洋科学与技术学院 威海 264209; 2. 中国科学院烟台海岸带研究所 烟台 264003; 3. 中国科学院海洋大科学研究中心 青岛 266071; 4. 南阳师范学院生命科学与技术学院 南阳 473061)

摘要 通过显微操作技术从海水饵料微藻培育池中分离出 4 株球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)藻株, 测试其在高水温(33°C, 40°C)下的生长性能; 对藻株的颗粒大小和粗蛋白含量进行了测定; 筛选出一株生长速度较快的球等鞭金藻 PHY7004, 优化了其培养条件; 分析了单环刺螠幼苗对其的摄食能力。结果表明, 分离出的 4 株球等鞭金藻可在水温 33°C 下生长, 其中 PHY7004 生长速率最快; 分离出的各藻株细胞的平均直径为 5.5—7.5 μm; 耐受 33°C 的 4 株藻株平均鲜重蛋白质含量为 34.29 mg/L, 其中 PHY7003 蛋白质含量最高, 为 41.80 mg/L; 优化后的最适培养条件为 pH=7, N/P=14:1; 单环刺螠幼苗对 PHY7002 的摄食强度较高。本实验为耐高温饵料藻种的筛选提供参考, 也可为单环刺螠育苗所用的饵料微藻的选择提供依据。

关键词 球等鞭金藻; 耐高温; 饵料微藻; 单环刺螠

中图分类号 X55; Q148 **doi:** 10.11693/hyhz20200300091

饵料微藻可以在生物链中作为鱼虾幼苗良好的开口食物, 是水产动物苗种培育阶段的关键因素之一。与传统的人工饲料相比, 微藻生物饵料有易被养殖对象消化、便于培养、营养全面、对水体污染小等独特的优势(许家辉等, 2018)。目前研究的饵料微藻主要包括三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)、等鞭金藻(*Isochrysis* sp.)、亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*)、中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)、威氏海链藻(*Thalassiosira weissflogii*)和海水小球藻(*Chlorella* sp.)等(刘皓等, 2010; 熊良伟等, 2013; 刘祚屹等, 2020)。

然而, 在夏季高温条件下, 水温影响了饵料生物的正常繁殖与生长(包永波等, 2004)。普通饵料微藻容易衰败, 造成饵料微藻供应不及时或无法足量供应(邹琰等, 2010), 为水产苗种的生产带来诸多隐患。

三角褐指藻在 25°C 下细胞生长最好, 小球藻(*Chlorella vulgaris*)在 5—30°C 均可正常生长, 20°C 为最适宜的生长温度(赵婷等, 2016)。亚心形扁藻在 28°C 的生长量最大, 31°C 的温度条件下, 亚心形扁藻的生长量下降。不同温度条件下, 等鞭金藻塔溪堤品系 *Isochrysis galbana* (Tahitian strain) 的相对生长率在 25°C 条件下最高, 其最适生长温度为 20—30°C (梁英等, 2011)。诸多研究表明, 目前的饵料微藻最适耐受温度普遍低于 30°C。因此寻找可以在 30°C 及以上温度条件下稳定生长的饵料微藻, 以保障夏季饵料微藻的供应量是比较迫切的。

单环刺螠(*Urechis unicinctus*)属螠虫动物门(Echiurioidea)、螠纲(Echiurida)、无管螠目(Xenopneusta)、刺螠科(Urchidae)、刺螠属(李诺等, 1998)。目前, 单环刺螠的研究主要集中在单环刺螠的

* 中国科学院青年创新促进会人才计划项目; 烟台市海洋经济创新发展示范城市项目, YHCX-SW-L-201703 号; 福州市海洋经济创新发展示范城市项目, FZJH04 号; 莱州市科技计划项目, 201801—201912 号。赵东会, 硕士研究生, E-mail: 18s030063@hit.edu.cn

通信作者: 王寅初, 助理研究员, E-mail: yewang@yic.ac.cn; 焦绪栋, 高级工程师, E-mail: xdjiao@yic.ac.cn

收稿日期: 2020-03-25, 收修改稿日期: 2020-08-17

繁育、池塘养殖方面的创新工作(王淑芬等, 2016; 许星鸿等, 2016), 但对单环刺螠的摄食生理学研究甚少。单环刺螠属于滤食性动物, 主要以金藻、扁藻、小球藻等微藻作为饵料, 其中以金藻作为开口饵料效果较好(许星鸿等, 2016)。其夏季育苗一般自 5 月下旬开始, 至 8—9 月份结束, 育苗过程需经过夏季高温期。目前所用的饵料微藻难以在高温高光照条件下存活, 筛选耐高温饵料微藻可以满足夏季单环刺螠幼苗对活体饵料微藻的需求。

本文从夏季水温超过 40°C、已发生衰败的菜州某育苗场的球等鞭金藻培育池中分离出 4 株球等鞭金藻, 分别命名为 PHY7001—PHY7004。分析了各藻株在 33°C、40°C 的水温下的生长状态和藻株细胞大小、粗蛋白含量, 并对生长速率最快的一株耐高温球等鞭金藻(PHY7004)的培养条件进行优化。通过测试单环刺螠幼苗对耐高温藻株的摄食能力, 选育出具有较好适口性的藻株, 为后期的规模化利用提供了理论和现实依据。

1 材料与方法

1.1 微藻分离与培养

本实验藻液样品是在夏季从莱州市顺昌水产有限公司的饵料培育池取回, 实时水温为 43°C, 其中培育的藻类经过长期的高温已发生严重衰败。取回后立即通过显微操作技术分离耐受住高温胁迫的微藻活细胞, 对分离的单细胞进行培养后得到藻株, 分别命名为: PHY7001、PHY7002、PHY7003、PHY7004。

微藻培养采用 *f/2* 培养基(Guillard *et al*, 1962), 温度为 25°C, 盐度为 32, 光暗周期为 12 h/12 h, 光照强度 12 $\mu\text{mol}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ 。每天定时摇匀藻液 1 次, 以防细胞贴壁生长对实验结果产生干扰。

1.2 藻株的耐高温测试

本实验设 A(33°C)、B(40°C)两组温度, 对分离藻株的耐高温性能进行测试。每组每藻株设三个平行。将分离培养后达到对数生长期的藻株分别取 100 mL 藻液至 250 mL 三角瓶。将 A、B 组分别置于温度为 33°C、40°C 的恒温光照培养箱中培养, 光暗周期为 24 h/0 h, A、B 两组有效光强均为 16 $\mu\text{mol}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ 。采用 681 nm 吸光光度值表征其细胞数目。

1.3 藻株 PHY7004 培养基的优化

PHY7004 是 33°C 条件下生长速度最快的藻株。本实验对 PHY7004 进行培养基的优化, 优化的指标为 pH 值和氮磷比($\text{NaNO}_3 : \text{Na}_2\text{HPO}_4$), 其中 NaNO_3

的浓度为 75 g/L; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的浓度为 5.65 g/L。pH 值设置三个梯度: pH=7, pH=8, pH=9, N/P 比设置三个梯度: 12 : 1, 13 : 1, 14 : 1, 对 pH 值和 N/P 进行交叉实验, 共 9 个梯度。

将 PHY7004 置于 33°C 的恒温振荡培养箱中培养, 光暗周期为 24 h/0 h, 光强为 12 $\mu\text{mol}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ 。

1.4 藻株鲜重总蛋白含量的测定

用 BCA 总蛋白浓度检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)对所筛选出的耐高温饵料微藻进行鲜重下蛋白质含量的测定。用 Origin 软件线性拟合得到蛋白质的标准曲线: $A=13.50C+0.1170$, $R^2=0.9937$ 。其中: A 为 562 nm 的吸光度值; C 为总蛋白质浓度 (mg/mL)。

1.5 单环刺螠幼苗饲喂实验

选取 4 月龄, 体重为 0.32—0.90 g, 体长为 2.1—3.9 cm 的单环刺螠幼苗 200 尾, 从中挑选出生长状态良好的 150 尾幼苗, 随机分为 5 组, 1 组 30 尾单环刺螠幼苗, 每组设 3 个平行重复。分别置于 50 L 养殖容器中, 底部铺设 15 cm 干净海沙; 采用过滤海水每天 6:00am 换水 1 次, 充气暂养 7—10 d。分别用 PHY7001、PHY7002、PHY7003、PHY7004 的新鲜培养液, 于每天 5:30pm 定时饲喂单环刺螠幼苗, 投喂的饵料微藻的初始浓度为 2×10^6 — 3.5×10^6 CFU/mL。不放单环刺螠幼苗为对照组。饲喂实验持续 5 d, 于实验开始后第 3 天开始取样。饲喂后 2 h 在养殖池的不同位置分别取 3 次海水样品, 测试海水浊度。根据公式计算单环刺螠幼苗对所筛选出耐高温饵料微藻的摄食强度(F_i)(孙涛等, 2017)。

$$F_i = \Delta N = \Delta N_1 - \Delta N_2, \quad (1)$$

式中, ΔN_1 表示试验组投饵 1 h 后因单环刺螠摄食和沉降造成浊度的改变值(NTU); ΔN_2 表示对照组投饵 1 h 后因沉降造成浊度的改变值(NTU)。

2 结果与讨论

2.1 藻株的分离

通过显微操作技术分离出 4 株球等鞭金藻。分别命名为: PHY7001、PHY7002、PHY7003、PHY7004。单细胞培养 48 h 后, 观察各藻株颜色为绿色, 颜色纯正, 镜检细胞大小一致, 无原生动植物污染。

利用倒置显微镜拍摄各藻株的细胞照片后, 用 Digimizer 软件测量细胞直径(图 1)。计算各藻株细胞的平均直径为 5.5—7.5 μm , 与常规的球等鞭金藻(5—7 μm)相比, 大小差别不明显。

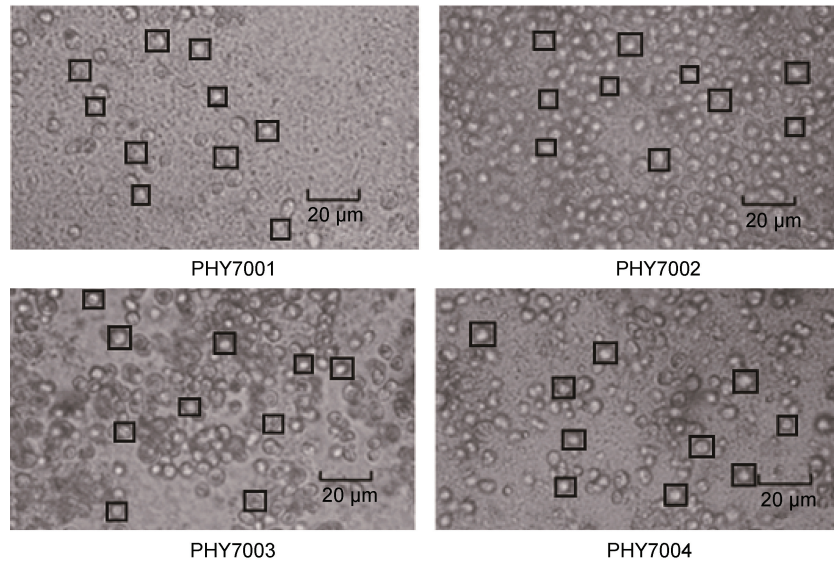


图 1 分离的 4 株耐高温球等鞭金藻

Fig.1 Four isolated strains of *I. galbana* resistant to high temperature

在培养微藻过程中,与控制温度相比,光照条件易控制且控制成本较低,因此本实验目的为筛选耐高温藻种,对光照强度的设置条件为不抑制球等鞭金藻正常生长即可。本实验微藻培养与耐高温测试实验的光照条件分别为 12 和 16 $\mu\text{mol}/(\text{cm}^2\cdot\text{s})$,均在球等鞭金藻可正常生长的光照强度范围内(郭兵等, 2011)。

2.2 耐高温性能测试

将分离的藻株在 33°C 水温中进行培养,发现分离的藻株均可在 33°C 水温下存活。其中从接种开始到第 7 天,各藻株的细胞数目均有增加;与第 7 天相比,第 9 天的 PHY7001、PHY7004 的细胞数量继续增加,PHY7002、PHY7003 的细胞数量没有大的变化;根据生长曲线的走势,PHY7001 和 PHY7004 的细胞数目可能继续增长。在培养周期内,PHY7004 的细胞数目几乎呈线性增长,生长状态最优,推测该藻株对高水温的适应能力较好。其他藻株也展示出了较好的生长能力,存在不同的生长滞后过程,提示其对高水温的适应能力需要进一步驯化(图 2)。

将分离的藻株在 40°C 水温中进行培养时,藻株的生长状态与在 33°C 时完全不同。由图 3 所示,PHY7001、PHY7002、PHY7003、PHY7004 均不能耐受 40°C。与第 1 天相比,第 3 天的 4 株球等鞭金藻的细胞数量大幅减少,第 3 天的细胞数目约为第 1 天的 1/3—1/6 倍。在培育的第 3—9 天,虽然细胞数目中间有小幅度的上升,但是最终的细胞数目仍普遍呈下降趋势,这可能是由于球等鞭金藻最终无法适应高

温造成的。

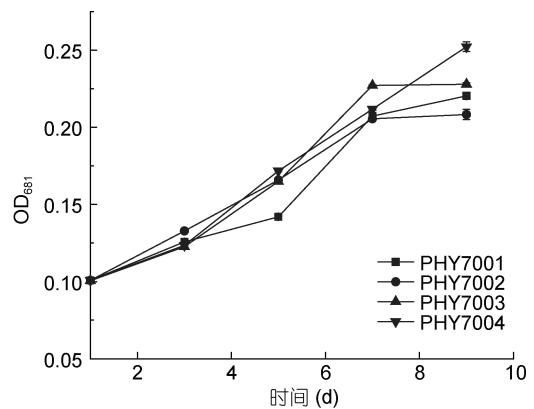


图 2 球等鞭金藻的存活及生长性能(33°C)

Fig.2 Analysis of the survival and growth capability of *I. galbana* (33°C)

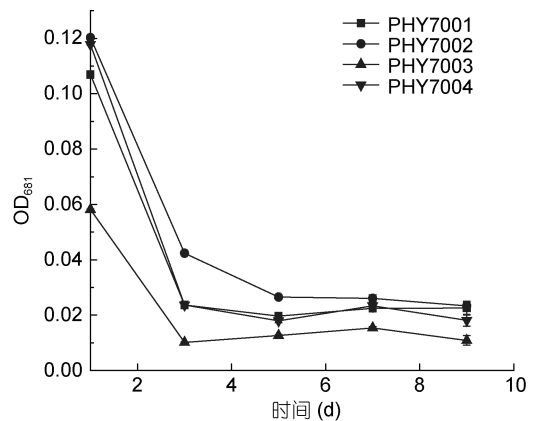


图 3 球等鞭金藻的存活及生长性能(40°C)

Fig.3 Survival and growth of *I. galbana* (40°C)

2.3 球等鞭金藻的优化

对可耐受 33°C 且生长速率最快的 PHY7004 绘制其在 33°C 下的生长曲线。用 Origin 软件对数据进行线性拟合, 拟合出的方程为: $A=0.1097-0.0015T+0.0048T^2-0.0003T^3$, $R^2=0.9920$ 。由图 4 可见, 当 PHY7004 起始接种量 OD₆₈₁ 值为 0.1007 时, 第 1—2 天为 PHY7004 的适应期; 第 2—9 天为 PHY7004 的对数生长期; 第 9—11 天为 PHY7004 的平稳期; 第 11—12 天为 PHY7004 的衰退期。培育第 9 天时 PHY7004 的 OD₆₈₁ 值为 0.2491, 细胞浓度达到起始浓度的 1.37 倍。梁英等(2011)对球等鞭金藻进行生长曲线的绘制, 第 10 天生长达到平稳期, 与本研究结果基本一致。丛超等(2017)研究的 5 株球等鞭金藻均在培养第 4—5 天后便进入稳定期, 与本研究中的 PHY7004 相比, 其生长周期要短得多。这可能与培养条件和株系不同有关。

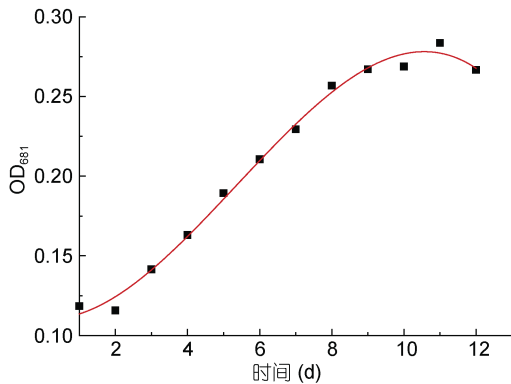


图 4 球等鞭金藻 PHY7004 的生长曲线(33°C)
Fig.4 Growth curve of *I. galbana* PHY7004 (33°C)

目前微藻培养的生长速度普遍较快, 微藻的生长速度与接种浓度、培养方法和培养条件等有很大关系(Moheimani *et al*, 2011; 孙春晓等, 2014)。本实验数据仅限于实验室条件下测出, 藻株应用于大规模生产时的繁殖速度还有待进一步研究。

从图 5 和图 6 可以看出, pH 值范围为 7—9, 氮、磷比例分别为 12:1、13:1、14:1 时, PHY7004 的细胞数量和生长速率均呈增长趋势, 这可能是因为 pH 值和氮、磷比例均在球等鞭金藻耐受范围内。球等鞭金藻在 pH 值为 3—9 的条件下均能生长, 研究发现金藻生长的最适 pH 范围为 7.0—9.0, 当偏离这个范围时, 藻体生长和体内代谢活动都将会受到抑制(王珺等, 2008)。在氮、磷比等于 16:1 的条件下, 球等鞭金藻的生长速度最快(刘东艳等, 2002)。

在培育第 2 天时, 各条件下的藻生长速率均增长最快; 与第 2 天相比, 培育第 3 天各条件下的藻生长速率明显降低; 培育第 3—8 天藻生长速率均稳步上升。据图 5 可知实验期为球等鞭金藻的对数生长期, 后期还会增长。

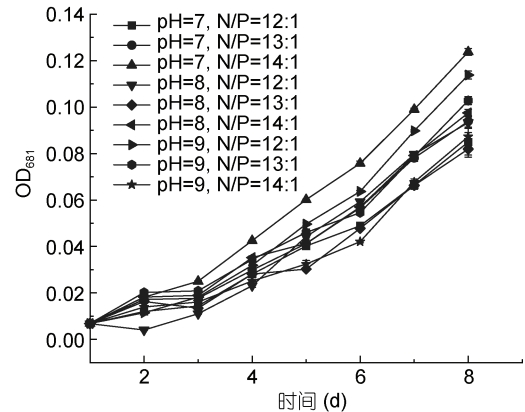


图 5 球等鞭金藻 PHY7004 在不同优化条件的生长曲线(40°C)

Fig.5 The growth curve of *I. galbana* PHY7004 in different optimum conditions (40°C)

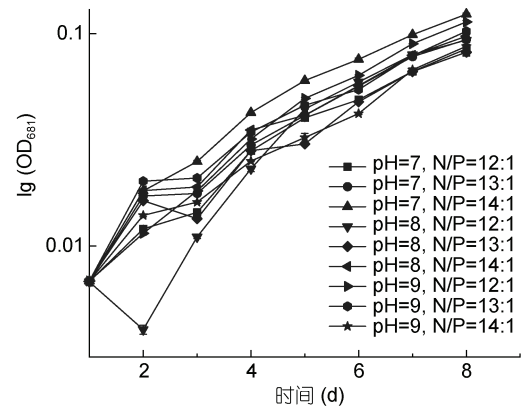


图 6 PHY7004 在不同优化条件下的生长速率(40°C)
Fig.6 The growth rate of PHY7004 in different optimum conditions (40°C)

通常海水中的 pH 比较稳定(pH≈8.2), 但受自然因素影响, 海水 pH 值会产生波动, pH 会影响脂质生产率, 对细胞代谢具有广泛影响(Ren *et al*, 2013)。氮磷营养盐在藻类生长过程中是重要的影响因子。磷对于生物质生产至关重要。因此本实验对培养基中的氮磷比和 pH 值进行优化, 结果表明, 在 N/P=14:1, pH=7 的状态下, 藻细胞的生长速率最快, 细胞数量最高, 因此, PHY7004 在 33°C 下最适的培养基 N/P=14:1, pH=7。在 33°C 下, 当培养基 N/P=12:1 时 PHY7004 较适 pH=9; 当培养基 N/P=13:1 时 PHY7004

较适 pH=9; 当培养基 N/P=14:1 时 PHY7004 较适 pH=7; 当培养基 pH=7 时 PHY7004 较适 N/P=14:1; 当培养基 pH=8 时 PHY7004 较适 N/P=12:1; 当培养基 pH=9 时 PHY7004 较适 N/P=12:1。

2.4 4 株球等鞭金藻蛋白质的含量

球等鞭金藻平均蛋白质含量为 34.29 mg/L, 分离的 4 株球等鞭金藻蛋白质含量差异较大, PHY7003 蛋白质含量最高, 见表 1。饲料蛋白质含量对动物消化酶影响显著, 在鱼虾等水产动物中均有报道(黄凯等, 2003; 赵东海, 2004)。宋萍萍等(2015)研究的球等鞭金藻的蛋白质含量可达到 110 mg/L, 其蛋白含量远高于本实验藻株。蛋白质的含量与微藻的品系、培养条件和培养方式有关(Wang *et al.*, 2004; 张跃群等, 2009)。

表 1 耐高温饵料微藻蛋白质含量
Tab.1 Protein content of high-temperature-resistant microalgae bait

耐高温饵料微藻	OD ₅₆₂ ±S.D.	蛋白质含量 (mg/L)±S.D.
PHY7001	0.65±0.04	39.28±0.96 ^a
PHY7002	0.36±0.03	17.84±0.97 ^b
PHY7003	0.68±0.04	41.80±1.37 ^b
PHY7004	0.63±0.05	38.25±0.98 ^a

注: 标有不同小写字母表示组间有显著性差异($P<0.05$), 标有相同小写字母者表示组间无显著性差异($P>0.05$)

总蛋白含量是评价微藻营养价值的重要指标之一, 但不是唯一标准。对于饵料微藻而言, 脂肪含量, 特别是所含不饱和脂肪酸的总量和组成也是评价微藻是否适合海水养殖生物应用的重要指标。微藻饲养

动物的效果不因微藻蛋白质水平而异, 微藻所含的必需脂肪酸能否满足动物的营养需求才是评定微藻营养价值的重要指标(Brown *et al.*, 1997)。高蛋白饲料或饵料对养殖动物体内的消化道、酶系、微生态平衡都会有显著影响, 有时也会损害养殖动物的健康。

藻类蛋白的研发正在迅速发展, 小球藻、栅藻、螺旋藻等蛋白产品开发已吸引了众多的目光, 在保健品和饲料行业小有市场, 然而其他 72000 种微藻资源还未得到研究和开发。本文研究的球等鞭金藻藻株, 为微藻蛋白的开发提供了一个新的原料。球等鞭金藻蛋白质含量在已经研究的微藻中含量较高。以这几株藻为基础进行微藻工业开发, 在生物能源、微藻饵料、单细胞蛋白等方面均有巨大的应用潜力, 值得对其进行更多的研究和应用发掘。

2.5 单环刺螭的摄食强度

在筛选出的耐 33°C 的球等鞭金藻中, 4 月龄单环刺螭幼苗(体重 0.32—0.90 g, 体长 2.10—3.90 cm)对筛选出的四株耐高温球等鞭金藻的摄食强度无显著性差异($P>0.05$), 单环刺螭幼苗对 PHY7002 的摄食强度最大, 见表 2。一般认为饵料颗粒的大小是判断其是否适合育苗生产的关键要素。由表 2 可知, PHY7002 的细胞大小跟滤食性动物 4 月龄单环刺螭幼苗的口径相一致。值得注意的是, 本实验中的单环刺螭幼苗对蛋白含量最少的 PHY7002 摄食强度最大, 对蛋白含量最多的 PHY7003 摄食强度最小。这说明藻株的蛋白含量与单环刺螭对其摄食强度不一定成正比, 这与前人研究结果一致, 饲料蛋白含量与增重率并不呈正比(朱伟等, 2005)。

表 2 单环刺螭幼苗对球等鞭金藻的平均摄食强度
Tab.2 Feeding intensity of larval *U. uncinatus* on Days 1—3

饲喂饵料	天数			平均摄食强度(F_i)±S.D.
	1 d	2 d	3 d	
PHY7001	0.740±0.003	3.600±0.002	-0.500±0.004	0.800±2.100
PHY7002	0.700±0.003	2.300±0.005	0.470±0.005	1.100±1.000
PHY7003	0.650±0.005	1.200±0.004	-0.310±0.004	0.100±0.760
PHY7004	1.400±0.004	2.400±0.005	-0.510±0.006	0.150±2.000

最新研究表明, 在长期的进化过程中, 许多海洋生物幼体拥有选择适合自己生长所需的藻类的“特异功能”, 可利用其尚未明确的“嗅觉”等方式选择自己喜欢的饵料(麦康森, 2020)。球等鞭金藻(*I. galbana* Parke)是一种金黄色的金藻, 个体小、繁殖速度快、营养丰富, 并且没有细胞壁, 容易被动物幼虫消化吸

收(王珺等, 2002), 可作为优质饵料。已有研究(Kain *et al.*, 1958; 陈椒芬等, 1985; 周汝伦等, 1994)报道, 球等鞭金藻(*I. galbana* Parke)是贻贝、牡蛎、泥蚶等双壳类贝苗和对虾幼体的优良饵料。但目前还没有用球等鞭金藻饲喂单环刺螭的报道。单环刺螭人工养殖正处于摸索起步阶段, 目前用饵料微藻饲养中国对

虾、牙鲆等水产动物较多, 对于单环刺螠摄食饵料微藻的研究甚少。有研究表明, 使用微绿拟球藻和三角褐指藻的混合饵料投喂单环刺螠幼苗会取得比较明显的促生长效果(常林瑞等, 2018)。因此, 在今后单环刺螠人工配合饲料的研发中可适当添加球等鞭金藻。

3 结论

通过显微操作技术分离出 4 株球等鞭金藻。经耐高温测试, 分离出的 4 株球等鞭金藻均可耐受 33°C, 且 PHY7004 生长速率最快, 分离出的各藻株细胞的平均直径为 5.5—7.5 μm; 经培养基优化实验得, 可耐受 33°C 且生长速率最快的一株球等鞭金藻 (PHY7004) 在 33°C 下较适的培养基条件为 N/P=14:1, pH=7。通过耐高温藻的单环刺螠幼苗饲喂实验, 发现单环刺螠幼苗对 PHY7002 摄食强度较高, 这两株藻后期可以作为单环刺螠育苗期间的饵料微藻备选。人们对单环刺螠的摄食生理学还未开展系统的研究, 本实验可为单环刺螠的池塘养殖技术提供一定的参考。

参 考 文 献

- 王 珺, 王永强, 陈雪芬等, 2008. 金藻 0898 培养的生态条件研究. 海南大学学报自然科学版, 26(1): 93—98
- 王 珺, 李 红, 王 嫣, 2002. 球等鞭金藻 3011 的生长与其营养盐关系的研究. 海南大学学报自然科学报, 20(4): 319—323
- 王盛林, 刘平怀, 曹 猛, 2019. 微藻营养价值及微藻饲料的开发利用. 食品工业, 40(7): 275—279
- 王淑芬, 唐永政, 李德顺等, 2016. 单环刺螠与日本对虾池塘混养试验. 中国水产, 58(2): 85—86
- 丛 超, 胡冬雪, 孙春晓等, 2017. 不同品系球等鞭金藻在生长及脂肪酸组成上的种内差异. 中国水产科学, 24(4): 774—782
- 包永波, 尤仲杰, 2004. 几种环境因子对海洋贝类幼虫生长的影响. 水产科学, 23(12): 39—41
- 朱 伟, 麦康森, 张百刚等, 2005. 刺参稚参对蛋白质和脂肪需求量的初步研究. 海洋科学, 29(3): 54—58
- 刘 皓, 高永利, 殷克东等, 2010. 不同氮磷比对中肋骨条藻和威氏海链藻生长特性的影响. 热带海洋学报, 29(6): 92—97
- 刘东艳, 孙 军, 巩 晶等, 2002. 不同氮、磷比例对球等鞭金藻生长的影响. 海洋水产研究, 23(1): 29—32
- 刘祚屹, 慕世斌, 何 宁等, 2020. 碳、氮、磷营养对 7 种海洋微藻种群增长的影响研究. 南方水产科学, 16(1): 87—97
- 许星鸿, 朱信轩, 霍 伟等, 2016. 单环刺螠人工育苗及养殖技术. 海洋与渔业, (3): 53—55
- 许家辉, 陈世雄, 俞兴发等, 2018. 投喂海水小球藻和三角褐指藻对泥蚶成贝镉排出的影响. 海洋与湖沼, 49(3): 624—629
- 孙 涛, 刘 峰, 王力勇等, 2017. 单环刺螠摄食节律的研究. 大连海洋大学学报, 32(4): 447—450
- 孙春晓, 王忠全, 周全利等, 2014. 氮、磷和铁对微拟绿球藻生物量和蛋白含量的影响. 上海海洋大学学报, 23(5): 748—752
- 麦康森, 2020. 中国水产动物营养研究与饲料工业的发展历程与展望. 饲料工业, 41(1): 2—6
- 李 诺, 宋淑莲, 唐永政, 1998. 单环刺螠. 生物学通报, 33(8): 13—15
- 邹 琰, 李 琪, 邱兆星等, 2010. 单胞藻高温期培养技术要点. 齐鲁渔业, 27(5): 45
- 宋萍萍, 贾 义, 李 前, 2015. 缺氮对球等鞭金藻生长以及油脂和蛋白质含量的影响. 技术与市场, 22(11): 113—116
- 张跃群, 陆德祥, 王勇军, 2009. 紫外线辐照对 3 种海洋微藻蛋白质含量的效应. 安徽农业科学, 37(20): 9350—9351
- 陈椒芬, 何义潮, 谭桂英等, 1985. 两种新分离的海洋金藻及其对贻贝幼虫的饲养效果. 海洋湖沼通报, (2): 44—46
- 周汝伦, 孙爱淑, 杨 震, 1994. 金藻 8701 培养的生态条件研究. 青岛海洋大学学报, 24(2): 181—186
- 赵 婷, 韩笑天, 詹天荣等, 2016. 温度对四种产油微藻生长和油脂特性的影响. 海洋与湖沼, 47(6): 1140—1148
- 赵东海, 2004. 饲料蛋白水平对鳊鱼实验种群胃肠道消化酶活性的影响. 河北渔业, (2): 10—11
- 郭 兵, 龚阳敏, 万 霞等, 2011. 光强和温度对球等鞭金藻 (*Isochrysis sphaerica*) 生长及其脂肪酸的影响. 中国油料作物学报, 33(3): 295—301
- 黄 凯, 王 武, 卢 洁, 2003. 南美白对虾幼虾饲料蛋白质的需要量. 中国水产科学, 10(4): 318—324
- 常林瑞, 李世顺, 崔庆奎, 2018. 单环刺螠幼体生长及摄食强度的研究. 大连海洋大学学报, 33(3): 336—340
- 梁 英, 范丽敏, 陈淑秀, 2011. 温度对等鞭金藻塔溪堤品系细胞密度和叶绿素荧光参数的影响. 大连海洋大学学报, 26(5): 422—427
- 熊良伟, 袁 圣, 徐 真, 2013. 海水小球藻池塘规模化培育技术. 海洋与渔业, (7): 83
- Brown M R, Jeffrey S W, Volkman J K *et al*, 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151(1—4): 315—331
- Guillard R R, Ryther J H, 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 8(2): 229—239
- Kain J M, Fogg G E, 1958. Studies on the growth of marine phytoplankton II. *Isochrysis galbana* Parke. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 37(3): 781—788
- Moheimani N R, Borowitzka M A, 2011. Increased CO₂ and the effect of pH on growth and calcification of *Pleurochrysis carterae* and *Emiliania huxleyi* (Haptophyta) in semicontinuous cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(4): 1399—1407
- Ren H Y, Liu B F, Ma C *et al*, 2013. A new lipid-rich microalga *Scenedesmus* sp. strain R-16 isolated using Nile red staining: effects of carbon and nitrogen sources and initial pH on the biomass and lipid production. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1): 143
- Wang Haiying, Guo Siyuan, Zheng Bisheng *et al*, 2004. Growth and biochemical components of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultivations. *Journal of South China University of Technology (Natural Science Edition)*, 32(5): 47—55

BREEDING AND FEEDING CHARACTERISTICS OF HIGH-TEMPERATURE-RESISTANT STRAINS OF *ISOCHRYSIS GALBANA*

ZHAO Dong-Hui^{1,2}, ZHAO Li-Da⁴, YOU Hong¹, QIN Song^{2,3}, WANG Yin-Chu^{2,3}, JIAO Xu-Dong^{2,3}
(1. School of Marine Science and Technology, Harbin Institute of Technology (Weihai), Weihai 264209, China; 2. Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China; 3. Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 4. School of Life Science and Technology, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China)

Abstract Four strains of *Isochrysis galbana*, named PHY7001—PHY7004, were isolated in microscope and tested for their growth characteristics in high temperatures (33°C, 40°C). The cell size and protein content of the strains were determined and the medium of the one with the fastest growth rate (PHY7004) was optimized. In addition, we conducted feeding experiment of *Urechis unicinctus* seedlings. Results show that the four strains could grow best at 33°C, of which the growth rate of PHY7004 was the biggest. The average diameter of cell size was 5.5—7.5 μm, the average fresh-weight protein content of the 4 strains was 34.29 mg/L, of which the protein content of PHY7003 was the highest: 41.80 mg/L. The optimum culture conditions for the fast-growing PHY7004 were pH=7 and N/P=14:1; and *U. unicinctus* seedling of PHY7002 feeding intensity was the highest. This study provides a reference for screening of high-temperature-resistant bait, and a basis for the bait selection of *U. unicinctus* seedling.

Key words *Isochrysis galbana*; hyperthermia-resistant; bait microalgae; *Urechis unicinctus*