

C/N对牟氏角毛藻生长速率和总脂含量的影响

王蒙^{1,2}, 李纯厚^{1*}, 戴明¹, 吕国敏¹, 韦芳三^{1,2}, 梁福全¹,
周岩岩^{1,2}, 杨慧英^{1,2}, 胡维安^{1,2}, 杨进^{1,2}, 李琦^{1,2}

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所,农业部海水养殖生态与质量控制重点开放实验室,广东广州 510300;
2. 上海海洋大学水产与生命学院,上海 201306)

摘要:以牟氏角毛藻为实验材料,研究了1:1、2:1、3:1、4:1和5:1等5种不同C/N比值培养液对牟氏角毛藻生长及总脂含量的影响。结果表明,在C/N比值为2:1时,牟氏角毛藻的相对生长率最高,达到每天1.98,C/N比值为3:1时,相对生长率最低,为每天1.69;C/N比值为5:1时,总脂含量百分比达到最高,为31.26%,C/N比值为2:1时,总脂含量百分比最低,仅为28.39%;C/N比值为2:1时,总脂日增量最高,达到0.84,C/N比值为3:1时,总脂日增量最低,仅为0.64;5种C/N比值对牟氏角毛藻不饱和脂肪酸的积累有不同程度的促进作用,C/N比值为5,总不饱和脂肪酸的比例达最高。综合比较表明,C/N比值为2:1时,最适合牟氏角毛藻的生长及总脂肪积累。

关键词:牟氏角毛藻;碳氮比;相对生长率;总脂含量;总脂日增量

中图分类号:Q 949.27; S 917.3

文献标识码:A

由于全球石油、煤炭等化石燃料能源资源日趋枯竭^[1],国际社会都把目光转向开发可替代生物质能源,而海洋微藻,尤其是硅藻,因成本低、产量高、无污染以及不占用耕地等特点,在众多生物质能源材料中,受到格外关注^[2]。牟氏角毛藻(*Chaetoceros muelleri*)是一种海洋硅藻,隶属硅藻门(Bacillariohyta),盒形藻目(Biddulphiales)^[3],由于该藻体内含有大量的脂肪酸,且具有细胞壁薄、耐高温、繁殖速度快、抗污染能力强等特征,近年已成为国内外研究生物质能源的重要原材料之一^[4-8]。

牟氏角毛藻藻体体积小、营养丰富,也是水产经济动物良好的饵料生物^[9],为了提高牟氏角毛藻的生产量,许多学者先后研究了牟氏角毛藻的生长速率、单位面积产量、总脂含量、脂肪酸组成等^[10-11],但作为生物质能源,对于提高该藻总脂含量生长条件及其影响因子的研究尚属空白。已有的相关研究表明,外界培养条件的变化(养分、光照、温度、盐度等)均会影响微藻细胞的生长及

其脂肪酸的含量与组成,培养基中氮源对微藻的生长及脂肪酸的影响最为显著^[10];在氮不足的情况下,细胞的生长和细胞内各组分的合成受到抑制,但细胞内脂类却保持着较高水平,氮源限制可以使细胞内脂肪含量提高2~3倍^[11]。Ratledge等^[12]详细论述了微生物积累油脂的生化过程,认为富油微生物总脂积累的两个关键底物是乙酰辅酶A(acetyl-CoA)和NADPH,乙酰辅酶A是合成脂肪酸、酮体等能源物质的前体物质;NADPH + H⁺是体内许多合成代谢中氢原子的供体,如脂肪酸、胆固醇和类固醇激素等化合物的合成,都需要大量NADPH,细胞中二者生成能力决定着有机体积累油脂的能力;丰富的碳源有利于积累更多的油脂^[13],不同的C/N比值对微藻油脂合成具有显著影响^[14]。因此,为了探讨提高牟氏角毛藻总脂含量的关键生态因子,设计了培养液中不同C/N比值条件,对牟氏角毛藻生长与总脂含量的影响,以期筛选和优化牟氏角毛藻最适生长与利于富集总脂含量的最佳培养条件。

收稿日期:2010-06-06 修回日期:2010-07-20

资助项目:广东省海洋渔业科技推广专项(A200899104)

通讯作者:李纯厚,E-mail:scslch@vip.163.com

1 材料与amp;方法

1.1 材料

试验于 2009 年 9 - 11 月在中国水产科学研究院南海水产研究所深圳实验基地进行,牟氏角毛藻藻种由中国水产科学研究院水产种质资源与养殖技术重点开放实验室提供。试验用药品全部为分析纯(天津市福晨化学试剂厂生产)。

1.2 方法

培养用水、培养液配方和培养容器 培养海水用取自大亚湾杨梅坑海域盐度为 30.6 的海水,加消毒淡水配制而成,海水盐度为 20。配制好的海水遮光沉淀 5 d,经 300 目筛绢过滤,并煮沸消毒备用。培养液基础配方^[15]: NaHCO₃ 0.15 g/L、NaSiO₃ · 9H₂O 0.20 g/L、NaNO₃ 1.00 g/L、KH₂PO₄ 0.02 g/L、VB₁ 2.70 mg/L、VB₁₂ 1.5 μg/L、f/2 微量元素 1 mL/L(ZnSO₄ 23 mg、MnCl₂ 178 mg、CuSO₄ · 5H₂O 10 mg、FeC₆H₅O₇ · 5H₂O 3.9 g、CoCl₂ · 2H₂O 12 mg、Na₂EDTA 4.35 g、蒸馏水 1 L),通过添加不同浓度的 NaHCO₃ 调节 C/N。培养容器为 Corning 1 L 扁形玻璃培养瓶,实验前用 1% 稀盐酸溶液浸泡、洗涤后再经 120 °C 高温消毒 1 h,冷却备用。

实验梯度设置与培养方法 在预实验基础上,设置 5 个不同 C/N 比值梯度,即 A = 1:1、B = 2:1、C = 3:1、D = 4:1、E = 5:1,每个梯度设 3 个平行组,以基础培养液为对照组。试验按每个梯度配制不同的培养液,其中 NaHCO₃ 的浓度分别为 1.15、2.30、3.45、4.60、5.75 g/L,其他成分的浓度不变。试验采用半连续单种培养,培养瓶放置在恒温磁力加热搅拌器上,搅拌速度 200 r/min,温度设定为 26 °C,采用 6 只 40 W 灯管并排放置法 24 h 光照,光照强度 4 000 lx(上海市嘉定学联 JD-3 照度计),pH 控制为 7.8 ~ 8.5。用直径 5 mm 的玻璃管匀速通入 CO₂ 与空气的混合气体,混合比例为 1:15,气体通入速率控制为每秒钟 3 个气泡。每天从培养瓶中取出约三分之二倒入 5 L 塑料桶中,然后添加新鲜培养液。倒入塑料桶中的藻液继续培养 5 ~ 8 d,至指数生长期末期采收与分析。

1.3 计数

每天上午 8:00 - 10:00 扩藻,扩藻前后分别取样一次,采用 KB-K-25 血球计数板计数,每个

样计数 2 ~ 3 次,取平均值并分别计算牟氏角毛藻的细胞密度,计算相对生长率。

1.4 采收与提取

待塑料桶中的牟氏角毛藻生长至指数生长期末期^[16]进行采收。采收的培养液用离心机(上海安亭 LXJ-IIB)4 500 r/min 离心 15 min 后弃去上清液,离心沉淀的藻泥用消毒淡水清洗 2 ~ 3 次,然后置于鼓风干燥箱中,于 45 °C 干燥至恒重备用。

取干燥后的藻泥,称重并用脱脂棉包好装入卷好的滤纸筒,再将滤纸筒放入提取筒中,连接好接收瓶和冷凝管,并用铁架台固定。加入无水乙醚至接收瓶容积的 2/3,60 °C 水浴加热,索氏提取法提取体内的粗脂肪。用乙醚萃取时,除各种甘油三酸脂外,还有许多杂质溶解到乙醚萃取物中,如游离脂肪酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸等有机酸以及各种腊状物、磷脂、色素、树脂、香精油、硫化物、醛、酮等物质,故用乙醚萃取法测得的脂肪常称为醚浸出物或粗脂肪。提取后的滤纸筒烘干至恒重,准确称量提取前后干滤纸筒的重量,两者之差即为粗脂肪的重量^[17]。

1.5 计算公式

相对生长率的计算公式:

$$K = 3.322 \times (\text{Lg}N_t - \text{Lg}N_0) / (t - t_0)$$

式中, K 代表生长率, N_t 为实验进行到 t 天时扩藻前的细胞密度, N_0 为实验进行到 t_0 天时扩藻后的细胞密度, $t_0 < t$ 。

总脂含量百分比计算公式:

$$P = n/m \times 100\%$$

式中, P 代表总脂含量百分比, n 代表粗脂肪总重, m 代表样品藻的干重。

假设样品藻干重初始为 ag , P 代表总脂含量百分比,且在相同生长条件下 P 不变。则生长 1 d 后,藻液中的藻干重为 $2^k ag$,藻中粗脂肪的总重量为 $2^k aPg$,所以总脂日增量的计算公式为

$$Q = a(2^k P - P)$$

2 结果与分析

2.1 C/N 对牟氏角毛藻生长率的影响

不同 C/N 比值培养液培养一段时间后,各实验组牟氏角毛藻的初始密度、终密度、相对生长率以及总脂含量百分比见图 1 ~ 图 4,其中终密度为培养 1 d 后藻的密度。经方差分析,初始密度之

间无显著差异 ($F = 0.817, P > 0.05$), 实验显示, 牟氏角毛藻的终密度最高可达 21.4×10^6 cell/mL, 最低为 12.2×10^6 cell/mL, 相对生长率最大为每天 2.12, 最低每天 1.63, 实验期间, 生长率连续 15 ~ 20 d 维持较高水平。

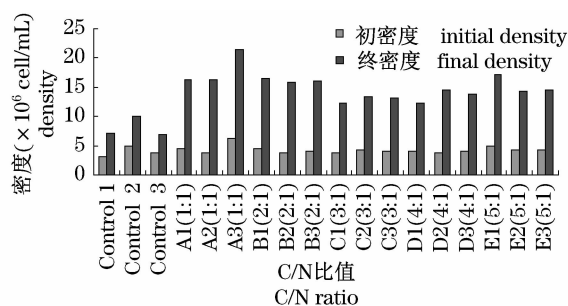


图1 C/N 比值对牟氏角毛藻生长 24 h 前后密度的影响

Fig. 1 Effect of C/N ratio on the density of *C. muelleri*

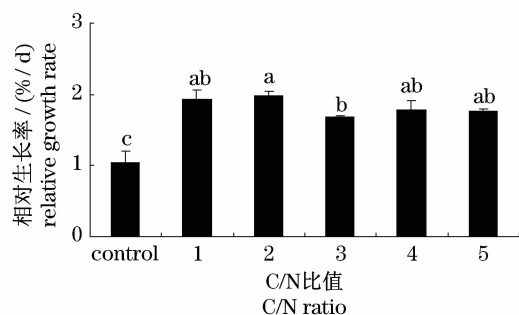


图2 C/N 比值对牟氏角毛藻相对生长率的影响

Fig. 2 Effect of C/N ratio on the relative growth rate of *C. muelleri*

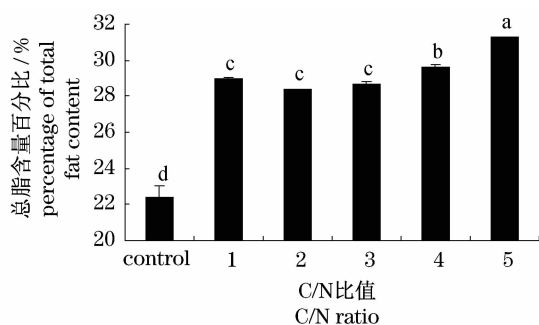


图3 C/N 比值对牟氏角毛藻总脂含量百分比的影响

Fig. 3 Effect of C/N ratio on the percentage of total lipid content of *C. muelleri*

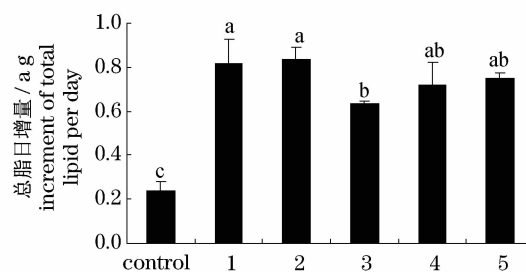


图4 C/N 比值对牟氏角毛藻总脂日增量的影响
Fig. 4 Effect of C/N ratio on the increment of total lipid per day of *C. muelleri*

图1显示牟氏角毛藻培养 24 h 前后细胞密度的变化情况, 因此, $t - t_0 = 1$, 相对生长率的计算公式可以简化为 $K = 3.322 \times (\text{Lg}N_t - \text{Lg}N_0) / (t - t_0)$ 。显然, 在一定的范围内, 初始密度越高, 藻的相对生长率越高。图2显示了牟氏角毛藻在 5 个不同 C/N 比值梯度培养条件下, 指数生长期各梯度条件下的平均生长率与对照组平均生长率的比较。通过比较发现, C/N 比值为 2 时平均生长率最高为每天 1.98, C/N 比值为 3 时平均生长率最低为每天 1.69。方差分析, C/N 比值在 1 ~ 5 时, C/N 比对牟氏角毛藻的相对生长率有显著影响 ($F = 8.126, 0.01 < P < 0.05$)。其中, 5 个 C/N 比值梯度与对照组差异均为极显著 ($P < 0.01$); C/N = 2 与 C/N = 3 之间差异显著 ($0.01 < P < 0.05$); 其他情况下差异均不显著 ($P > 0.05$)。

2.2 C/N 对牟氏角毛藻总脂含量百分比的影响

C/N 比值在 2 ~ 5 时, C/N 比值越高, 牟氏角毛藻体内的总脂含量百分比越高 (图3)。方差分析显示, C/N 比值对牟氏角毛藻总脂含量有极显著影响 ($F = 191.60, P < 0.01$), 其中对照组与 5 个 C/N 比值培养藻之间差异均极显著 ($P < 0.01$); C/N 比值为 3 时与 C/N 比值为 1 和 2 时总脂含量百分比差异不显著 ($P > 0.05$), C/N 比值为 5 时与其余 4 个梯度时的总脂含量百分比差异极显著 ($P < 0.01$), 其余各比例间差异均为显著 ($0.01 < P < 0.05$)。

2.3 C/N 比值对牟氏角毛藻总脂日增量的影响

利用总脂日增量的计算公式计算出各个 C/N 比值下牟氏角毛藻的总脂日增量, 运用 SPSS 软件进行方差分析, C/N 比对牟氏角毛藻总脂日增

量影响不显著 ($F=2.450, P>0.05$), 其中对照组与 5 个 C/N 比值梯度之间差异均极显著 ($P<0.01$), C/N 比值为 3 与 C/N 比值为 1,2 之间差异显著 ($0.01<P<0.05$), 其余比例间差异不显著 ($P>0.05$)。即 5 个 C/N 比值条件下, 牟氏角毛藻的总脂日增量较对照组均有较大幅度提高 (图 4)。

2.4 C/N 比值对牟氏角毛藻脂肪酸组成的影响

利用 GC/MS 面积归一化法 (JY/T003—

1996) 测定脂肪酸的组成, 每个梯度取 1 个样本进行测定 (表 1), 分析数据可得, 牟氏角毛藻体内 TUFA 的量大于 TSFA 的量, 且不同的 C/N 比值条件培养的藻体内各种脂肪酸的量相差较大。实验组的 TUFA 范围在 63.04% ~ 69.72%, 平均值为 65.15%, 比对照组提高了 5.82 个百分点, 说明实验组可有效提高牟氏角毛藻体内 TUFA 的积累, 减缓 TSFA 的积累。

表 1 不同的 C/N 比值下牟氏角毛藻的脂肪酸组成

Tab.1 Fatty acid composition on different C/N ratio conditions of *C. muelleri*

脂肪酸 fatty acid	C/N=1/1	C/N=2/1	C/N=3/1	C/N=4/1	C/N=5/1	对照 control
C _{12:0}	0.11	0.08	0.15	0.12	0.12	0.22
C _{13:0}	0.05	0.02	0.02	0.03	0.06	0.06
C _{14:0}	12.93	12.56	14.73	11.70	11.37	11.09
C _{14:1}	0.05	0.09	0.13	0.18	0.06	0.36
C _{15:0}	0.67	0.64	1.66	2.20	1.27	4.26
C _{16:0}	19.38	20.49	16.92	17.72	15.39	20.18
C _{16:1}	20.30	20.62	15.61	14.70	15.22	15.83
C _{16:2}	22.47	22.65	9.62	10.20	16.12	9.35
C _{16:3}	1.66	1.53	7.54	6.09	6.82	3.27
C _{17:0}	1.08	1.11	1.35	1.82	1.11	0.83
C _{18:0}	0.35	0.40	0.88	0.92	0.46	2.56
C _{18:1}	1.44	1.46	5.03	5.32	3.78	4.52
C _{18:2}	2.39	2.39	2.92	2.28	2.67	2.84
C _{18:3}	1.50	1.47	1.47	1.02	1.26	2.87
C _{18:4}	0.59	0.60	0.80	0.61	0.41	1.07
C _{20:0}	0.10	0.04	0.06	0.04	0.03	0.15
C _{20:1}	0.00	0.09	0.06	0.02	0.00	0.02
C _{20:4}	0.54	0.45	1.75	2.10	3.36	4.64
C _{20:5}	12.50	11.53	16.70	20.76	18.83	13.72
C _{22:0}	0.42	0.43	0.65	0.50	0.25	0.92
C _{22:6}	1.08	1.00	1.41	1.31	1.19	0.84
C _{24:0}	0.40	0.35	0.53	0.36	0.21	0.39
TUFA	64.52	63.88	63.04	64.59	69.72	59.33
TSFA	35.48	36.12	36.95	35.41	30.27	40.66
TFA	100.00	100.01	99.99	100.00	99.99	99.99

注: TFA 为总脂肪酸; TUFA 为总不饱和脂肪酸; TSFA 为总饱和脂肪酸。

Notes: TFA. total fatty acids; TUFA. total unsaturated fatty acids; TSFA. total saturated fatty acids.

3 讨论

以往的研究用普通的摇瓶法培养, 得到牟氏角毛藻的最高密度为 4.8×10^6 cell/mL^[18-19], 邹宁等^[20]运用生物反应器培养牟氏角毛藻密度最高为 10×10^6 cell/mL, 本研究表明, 牟氏角毛藻的终密度最高为 21.4×10^6 cell/mL, 是普通摇瓶培养法的 4.46 倍, 是生物反应器培养方法的

2.14 倍; 终密度最低为 1.22×10^6 cell/mL, 是以往培养方法的 1.22 ~ 2.54 倍。在此高密度条件下, 牟氏角毛藻可完全抑制弧菌的生长^[21]。邹宁等^[20]报道, 牟氏角毛藻的相对生长率为每天 0.309; 于谨等^[22]研究报道, 牟氏角毛藻的相对生长率为每天 0.72; 在本研究中, C/N 比值为 2 时平均生长率最高, 达到每天 1.98, C/N 比值为 3 时平均生长率最低, 为每天 1.69。显然, C/N 比

值在1~5范围内牟氏角毛藻的生长速度明显加快。王菊芳等^[23]研究得出C/N比值在6~31范围内,随着C/N比值的增大,隐甲藻(*Cryptocodinium cohnii*)的生物量呈现下降的趋势,这与本研究基本吻合。

吴夏莞等^[24]指出充足的碳源和氮饥饿都有利于油脂的积累,但藻类的生长需要氮源。蒋霞敏等^[25]报道了牟氏角毛藻的总脂含量为15.07%,王明清等^[26]研究报道牟氏角毛藻的总脂含量为14.56%,本研究表明,牟氏角毛藻的总脂含量在C/N=5时达最高,为31.26%,C/N=2时,总脂含量百分比最低,为28.39%。结果表明,C/N比值在2~5范围内,总脂含量随C/N比值的增大而增大。C/N比值越大,脂积累的两个关键底物是乙酰辅酶A(acetyl-CoA)和NADPH大量合成,因此牟氏角毛藻体内的脂肪迅速积累,导致总脂含量增加。王菊芳^[23]在研究C/N比对隐甲藻的总脂含量的影响时,发现隐甲藻的总脂含量在C/N为6~31之间时先减小再增大;而Roessler等^[13]研究报道,丰富的碳源有利于藻类积累丰富的油脂;两者看似矛盾,但与本研究结合,可归纳为随着C/N比值的增加,藻类总脂含量呈现先增加后减小再增加的趋势。

研究表明,C/N=2时,总脂日增量最大,为0.84 ag,虽然C/N=5时总脂含量最高,但相对生长率较低,总脂日增量不能达最大。故不能单纯的认为微藻的总脂含量越高,生物燃油产量就越高,也不能单纯的认为,生物燃油产量随微藻的相对生长率的增大而增加。根据总脂日增量与相对生长率、总脂含量百分比的函数,研究发现总脂日增量与相对生长率的联系较为密切。在实际培养时,不同的藻应采用不同的C/N比值配制培养液,使相对生长率与总脂含量共同作用,达到提高产油量的目的。

陆开宏等^[27]研究报道,牟氏角毛藻的脂肪酸组成为8.12%(14:0),10.21%(16:0),18.98%(16:1),3.21%(16:2),0.12%(18:0),2.23%(18:1),1.14%(18:2),0.52%(18:3),0.10%(18:4),21.45%(20:5),0.88%(22:6)。王明清等^[26]研究报道,牟氏角毛藻的脂肪酸组成为10.7%(14:0),0.6%(14:2),12.6(16:0),20.2%(16:1),4.8%(16:2),7.9%(16:3),2.3%(18:0),3.1%(18:1),0.9%(18:2),1.1%

(18:3),0.8%(20:2),2.3%(20:4),29.1%(20:5),0.9%(22:6)。而本研究的结果中十四碳酸、十六碳酸、十六碳二烯酸等比其他人研究的比例高,十六碳三烯酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸等低于前人的研究结果。引起这种差异的原因是多方面的,如培养条件、提取方法等。本研究设置的5个C/N比值梯度培养牟氏角毛藻,可不同程度提高其不饱和脂肪酸的含量,其中C/N为5时,总不饱和脂肪酸含量达最大,为69.72%。其原因为台能是C/N比值越大,脂积累的两个关键底物乙酰辅酶A(acetyl-CoA)和NADPH大量合成,牟氏角毛藻体内的不饱和脂肪酸迅速积累,因此,C/N比值越大,牟氏角毛藻体内总不饱和脂肪酸含量越大。

本研究结果表明,牟氏角毛藻高产油量的优化培养基推荐配方为NaHCO₃ 2.30 g/L、NaSiO₃·9H₂O 0.20 g/L、NaNO₃ 1.00 g/L、KH₂PO₄ 0.02 g/L、VB₁ 2.70 mg/L、VB₁₂ 1.5 μg/L。

参考文献:

- [1] 梅洪,张成武,殷大聪,等. 利用微藻生产可再生能源研究概况[J]. 武汉植物学研究,2008,26(6):650-660.
- [2] 王兆凯. 基于海洋硅藻的生物燃油生产[J]. 渔业现代化,2008,35(2):59-63.
- [3] 郑忠明,金春华,冯坚. 牟氏角毛藻的生产性培养技术[J]. 水产科学,2002,21(6):20-21.
- [4] 李文权,张元标,陈清花,等. 超声辐射对牟氏角毛藻的生物效应研究[J]. 海洋科学,2001,25(10):39-42.
- [5] Sirlei C A, Virginia M T G. Growth and biochemical composition of the diatom *Chaetoceros* cf. *wighamii* brightwell under different temperature, salinity and carbon dioxide levels; I. Protein, carbohydrates and lipids[J]. Aquaculture,2005,246:405-412.
- [6] McGinnis K M, Dempster T A, Sommerfeld M R. Characterization of the growth and lipids content of the diatom *Chaetoceros muelleri* [J]. Journal of Applied Phycology,1997,2(9):19-24.
- [7] 胡晗华,高坤山. CO₂浓度倍增对牟氏角毛藻生长和光合作用的影响[J]. 水生生物学报,2001,25(6):636-639.
- [8] Jose A L E, Voltolina D, Enriquez O F, et al. Indoor and outdoors mass production of the diatom *Chaetoceros muelleri* in a Mexican commercial hatchery [J]. Aquacultural Engineering, 2005, 33

- (3):181-191.
- [9] 金彬明,曾国权. 牟氏角毛藻培养技术[J]. 中国水产,2004(10):73-74.
- [10] 蒋霞敏. 温度、光照、氮含量对微绿球藻生长及脂肪酸组成的影响[J]. 海洋科学,2002,26(8):9-12.
- [11] Shifrin N S, Chisholm S W. Phytoplankton lipids: interspecific differences and effects of nitrate, silicate and light-dark cycles[J]. J Phycol, 1981, 17(4):374-379.
- [12] Ratledge C. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for single cell oil production[J]. Biochimie,2004,9(86):807-815.
- [13] Roessler P G. Environmental control of glycerol lipid metabolism in microalgae: commercial implications and future research directions[J]. J Phycol, 1990, 26:393-399.
- [14] Regnault A, Chervin D, Chammai A, et al. Lipid composition of *Euglena gracilis* in relation to carbon-nitrogen balance[J]. Phytochemistry, 1995, 3(40):725-733.
- [15] 田治立,王长海,于贞,等. 纤角毛藻培养条件优化[J]. 海洋科学,2005,29(2):5-7.
- [16] 王蒙,李纯厚,戴明. 以海洋微藻为原料提取生物燃料的研究进展与发展趋势[J]. 南方水产,2009,5(1):74-80.
- [17] 姚虹. 索式提取法测定脂肪含量方法改进[J]. 中山大学学报,1996,(4):64-65.
- [18] 袁有宪,曲克明,辛福言. 海水单胞藻培养液中微量元素的最佳浓度[J]. 中国水产科学,1998,5(2):45-51.
- [19] 王侃. 塑料白桶单胞藻生产性培养的初步试验[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版),2000,19(2):189-191.
- [20] 邹宁,孙东红,韩亚香. CO₂对牟氏角毛藻高密度培养的影响[J]. 生物工程学报,2005,21(5):844-847.
- [21] 姚雪梅,王珺,王思,等. 人工培养牟氏角毛藻对弧菌抑制效果研究[J]. 南方水产,2005,8(4):41-46.
- [22] 于谨,蒋霞敏,梁洪,等. 氮、磷、铁对牟氏角毛藻生长速率的影响[J]. 水产科学,2006,25(3):121-124.
- [23] 王菊芳,梁世中,吴振强,等. 碳氮比对隐甲藻(*Cryptocodinium cohnii*)总脂及DHA含量的影响[J]. 华南理工大学学报,2000,(28)10:28-31.
- [24] 吴夏芫,李环,韦萍. 能源微藻—葡萄藻培养的研究进展[J]. 安徽农业科学,2008,36(20):8755-8760.
- [25] 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.
- [26] 王明清,迟晓元,秦松,等. 海洋微藻总脂含量和脂肪酸组成的测定[J]. 中国油脂,2008,33(11):67-70.
- [27] 陆开宏,林霞. 13种饵料微藻的脂肪酸组成特点及在河蟹育苗中的应用[J]. 宁波大学学报(理工版),2001,14(3):27-32.

The effect of C/N on the growth and total lipid content of *Chaetoceros muelleri*

WANG Meng^{1,2}, LI Chun-hou^{1*}, DAI Ming¹, LÜ Guo-min¹, WEI Fang-san^{1,2}, LIANG Fu-quan¹,
ZHOU Yan-yan^{1,2}, YANG Hui-ying^{1,2}, HU Wei-an^{1,2}, YANG Jin^{1,2}, LI Qi^{1,2}

(1. Key Lab of Mariculture Ecology and Quality Control, Ministry of Agriculture,
South China Sea Fisheries Research Institute, Guangzhou 510300, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The effect of the medium of C/N ratio (1:1, 2:1, 3:1, 4:1 and 5:1, respectively) on the growth and total lipid content of *Chaetoceros muelleri* was evaluated in this study. The results showed that this algae had the highest growth rate of 1.98%/d at the C/N ratio of 2:1 and lowest growth rate of 1.69%/d at ratio of 3:1. The total lipid content of this algae was the highest (31.26%) at the C/N ratio of 5:1, but lowest (28.39%) at 2:1, and the daily lipid had the highest increment, which was 0.84 ag. The daily increment of lipid content was 0.64 ag at the C/N ratio of 3:1. The unsaturated fatty acids were also different in accumulation during the cultivation with 5 different C/N ratio mediums in this finding. The total unsaturated fatty acids content was the highest when the C/N ratio was 5:1. In conclusion, the growth rate and total lipid accumulation of *C. muelleri* was best at the C/N ratio of 2:1 in this study.

Key words: *Chaetoceros muelleri*; C/N; relative growth rate; total lipid content; increment of total lipid per day

Corresponding author: LI Chun-hou. E-mail: scslch@vip.163.com