

doi: 10.7541/2019.080

温、光、盐对硅藻STR01生长、总脂、脂肪酸的影响

薛瑞萍 蒋霞敏 韩庆喜 张聪颖

(宁波大学海洋学院, 宁波 315211)

摘要: 为了优化新分离STR01的生态培养条件, 采用单因子试验和正交试验研究了不同温度、光照强度、盐度和温、光、盐三因素三水平对该藻的生长、总脂和脂肪酸组成影响。结果表明: 温、光、盐对STR01的生长、总脂和脂肪酸组成影响显著($P < 0.05$)。生长的适宜温度为15—35℃, 最适25—30℃(K 值达0.679—0.682), 总脂含量积累的最适温度是25℃(总脂可达17.23%), 温度20℃时有利于该藻PUFA的积累, 可达34.23%。STR01生长的适宜光照强度为40—120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 最适光强为60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光照强度40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 有利于该藻的PUFA积累, 可达34.29%。STR01生长的适宜盐度为10—35, 最适盐度25, 盐度25时PUFA含量较高(43.42%)。正交试验结果表明温度对STR01的平均相对生长速率和总脂含量影响显著, 生长的最优组合: 温度30℃、光照强度60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、盐度25, 该组合下的生长速率达0.756; 总脂含量积累的最优组合: 温度30℃、光照强度60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、盐度20, 该组合下的总脂含量为20.00%。PUFA的最优组合: 温度25℃、光照强度60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、盐度20, 该组合下PUFA的含量为35.37%。综上所述: 该藻生长迅速, 总脂含量较高, PUFA丰富, 是一种可开发利用的耐高温浮游硅藻。

关键词: 扭鞘藻; 平均相对生长速率; 总脂; 脂肪酸

中图分类号: S968.4

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2019)03-0670-10

微藻在水产养殖中的作用越来越重要, 不但可以作为饵料生物, 提高水产动物幼体的成活率^[1]; 而且可以调节水质, 消除氮磷, 抑制病害发生^[2]。温度、盐度、光照是影响海洋微藻生长和代谢的重要生态因子, 直接影响细胞内的光合电子传递、代谢途径调控、特异性酶反应和细胞的通透性等, 是影响藻细胞生长、油脂积累和脂肪酸组成的重要因素。大量研究表明改变微藻的培养条件和培养周期, 不但会影响微藻生长速率, 还会影响海洋微藻的油脂含量以及脂肪酸组成, 特别是PUFA、EPA和DHA的含量, 而且两者往往不同步, 所以很多学者提出“分级培养”或“二次培养”^[3-6]。

STR01是一种扭鞘藻(*Streptotheca* sp.), 是本实验室从象山港海区新分离的一株生长快、不易老化和污染、耐高温的浮游硅藻。该藻隶属于硅藻门、中心纲、盒形硅藻目、真弯藻科、扭鞘藻属。该藻壳面呈椭圆形, 壳环面长方形, 壳长22—38 μm ,

壳宽12—19 μm , 色素体黄褐色片状。初步试验表明是一种理想的贝类育苗饵料。但有关该藻的生态习性及其培养方法迄今为止未见报道。为此, 本文通过单因子和正交试验进行了温度、盐度、光照强度对该藻的生长、总脂和脂肪酸组成影响的研究, 以为扭鞘藻的进一步开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 藻种及培养

STR01藻种保藏于宁波大学饵料生物培养室, 实验药品均为分析纯; 培养用水为象山港海域天然海水, 经沙滤、暗沉淀、脱脂棉过滤、烧开后使用; 培养液采用宁波大学#3母液配方^[4]。藻种置于GXZ智能型光照培养箱(宁波江南仪器厂)中活化和扩大, 培养静置不充气, 每天定时摇藻2次, 早晚各1次。培养条件: 温度(25±1)℃, 光照 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光暗周期(L:D) 12:12。

收稿日期: 2018-04-09; 修订日期: 2018-10-29

基金项目: 国家海洋公益项目(201305022); 温州市重大专项(2018ZS002)资助 [Supported by the National Marine Public Nonprofit Project (201305022); the Major Project of Wenzhou City (2018ZS002)]

作者简介: 薛瑞萍(1994—), 女, 山西天镇人; 硕士研究生; 主要从事微藻生物技术研究。E-mail: 1374670747@qq.com

通信作者: 蒋霞敏, 教授, 博士生导师; E-mail: jiangxiamin@nbu.edu.cn

1.2 实验方法

温度试验 设置温度梯度10、15、20、25、30和35℃,培养容器为消毒的1000 mL三角烧瓶,各6平行。每瓶加培养液900 mL(宁波大学3[#]培养液配方),接种100 mL,其他培养条件:光照强度60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,光周期(L:D) 12:12,盐度25, pH 8.10,所有试验瓶均放在GXZ智能型光照培养箱,培养时间7d。接种后计数 N_0 ,7d后计数 N_t ,采用离心机(Centrifuge 5430 R)藻液离心(6000 r/min)收集藻,存放并冷冻干燥(-80℃, FD5-3T, Gold-SIM),测定总脂和脂肪酸。

光照强度试验 设置光照强度梯度40、60、80、100和120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,各6平行。培养条件:温度25℃,光周期(L:D) 12:12,盐度25, pH 8.1,其他条件同上。

盐度试验 盐度梯度设置为10、15、20、25、30和35,各6平行。培养条件:光照强度60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,光周期(L:D) 12:12,温度25℃, pH 8.1。其他条件同上。

温、光、盐正交试验 本试验采用温度(A)、光照强度(B)和盐度(C)三因素三水平正交试验(表1),其他培养条件:光周期(L:D) 12:12, pH 8.1,其他条件同上。

1.3 总脂含量及脂肪酸的测定

总脂的抽取及测定 采用改良Bligh-Dyer方法^[7,8]。取一定体积藻液,6000 r/min离心10min,再用消毒淡水清洗2—3次,冷冻干燥保存(FD5-3T, Gold-SIM)。将干燥的藻泥用研钵研碎后,采用氯仿:甲醇提取法,得出总脂含量。

脂肪酸组成分析 采用KOH甲醇水法^[9,10]。总脂用5%—6%KOH-甲醇:水(体积比为4:1)皂化2h(60℃水浴),2 mL氯仿:正己烷(体积比1:4)提取;后甲酯化,旋转蒸发蒸用正己烷(色谱纯)到离心管中离心,取上清液,再进行GL-MS分析。用6890N/5973气相色谱-质谱联用仪按照面积归一化法计算各组分的相对百分含量。

1.4 统计与数据处理

平均相对生长速率计算公式为: $K=(\ln N_t - \ln N_0)/t$ (式中, N_0 为初始细胞数目、 N_t 为培养7d后的细胞数、 t 为培养时间)。得出的实验数据用平均值(Mean)±标准差(SD)表示,单因素方差分析(ANOVA)和多元方差分析(MANOVA)以及Duncan多重比较分析($\alpha=0.05$)均用SPSS 17.0 统计软件,用2007版Excel进行图表制作。

表1 正交试验参数因数水平表

Tab. 1 The orthogonal test parameter-factor level

水平 Level	因素 Factor		
	A	B	C
1	20	40	20
2	25	60	25
3	30	80	30

ANOVA)和多元方差分析(MANOVA)以及Duncan多重比较分析($\alpha=0.05$)均用SPSS 17.0 统计软件,用2007版Excel进行图表制作。

2 结果

2.1 温度对STR01的生长、总脂含量及脂肪酸的影响

温度对STR01生长和总脂含量的影响 不同温度对STR01的平均相对生长速率影响显著($P<0.05$)。该藻在15—35℃内,随着温度升高平均相对生长速率呈先上升后降低趋势,在30℃时该藻的平均相对生长速率最大(K值为0.682),但25℃组与30℃组平均相对生长速率差异不显著($P>0.05$),温度在10℃条件下,培养7d大部分藻死亡分解,藻液颜色变白。所以该藻适合的温度是15—35℃,最适温度为25—30℃(图1)。

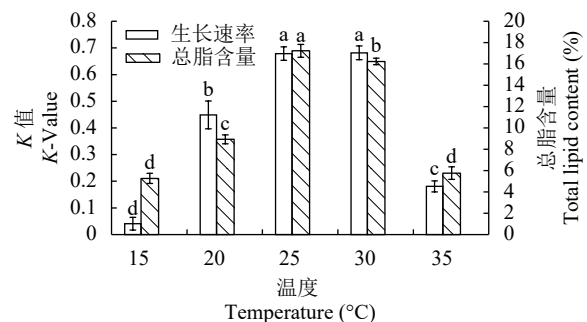


图1 温度对STR01生长和总脂含量的影响

Fig. 1 Effects of temperature on growth and total lipid content of STR01

不同小写字母表示差异性显著($P<0.05$)

Different small letters indicated significant difference ($P<0.05$)

在温度10—35℃内,温度10℃时,由于藻体死亡分解,无法收集,量不足无法完成总脂含量的测定。在15—35℃的温度下,温度对该藻的总脂含量有显著影响($P<0.05$),随着温度升高,该藻总脂含量先增加后减少,其中25℃时总脂含量最高(17.23%),且显著高于其他组($P<0.05$)(表2)。

温度对STR01脂肪酸组成和含量的影响 本试验共测定出该藻含13种主要脂肪酸,其中饱和脂肪酸(SFA) 4种,单不饱和脂肪酸(MUFA) 2种,多不饱和脂肪酸(PUFA) 7种。主要脂肪酸为C14:0、C16:1、C16:0、C18:0和C20:4 (n-6)。试验结果表明,温度对该藻PUFA、EPA含量影响显著($P<$

表2 温度对STR01的脂肪酸组成和含量的影响(%)

Tab. 2 Effects of temperature on fatty acid composition and content in STR01 (%)

脂肪酸 Fatty acid	温度 Light intensity (°C)				
	15	20	25	30	35
C14:1	2.51±0.02 ^a	1.29±0.01 ^c	1.11±0.03 ^d	1.43±0.02 ^b	2.40±0.01 ^a
C14:0	11.70±0.11 ^c	11.80±0.19 ^c	14.40±0.23 ^a	12.85±0.09 ^b	8.94±0.19 ^d
C15:0	1.20±0.25 ^b	1.51±0.17 ^a	0.53±0.05 ^c	1.01±0.07 ^b	0.23±0.06 ^d
C16:1	8.66±0.22 ^c	9.51±0.25 ^b	10.60±0.26 ^a	10.20±0.16 ^a	5.44±0.18 ^d
C16:0	31.20±0.20 ^b	25.00±0.17 ^c	25.60±0.13 ^{bc}	24.90±0.18 ^d	32.60±0.28 ^a
C18:2 (n-6)	1.12±0.21 ^b	0.80±0.25 ^c	1.10±0.17 ^b	1.10±0.12 ^b	1.35±0.13 ^a
C18:3 (n-3)	3.75±0.32 ^c	5.03±0.14 ^c	7.25±0.24 ^a	6.23±0.16 ^b	4.10±0.05 ^d
C18:0	24.70±0.10 ^b	16.80±0.31 ^d	15.30±0.23 ^c	20.40±0.13 ^c	31.20±0.42 ^a
C20:5 (n-3)	0.11±0.02 ^d	0.41±0.20 ^c	0.44±0.09 ^c	0.52±0.09 ^b	1.11±0.29 ^a
C20:4 (n-6)	10.47±0.12 ^d	24.80±0.34 ^a	20.10±0.26 ^b	16.32±0.28 ^c	9.59±0.17 ^c
C20:2	1.17±0.08 ^b	0.21±0.06 ^d	0.66±0.14 ^c	2.40±0.36 ^a	1.32±0.26 ^b
C22:6 (n-3)	1.87±0.09 ^b	2.16±0.17 ^a	2.12±0.23 ^a	1.76±0.23 ^b	0.07±0.02 ^c
C22:2	1.54±0.41 ^a	0.82±0.22 ^c	0.83±0.16 ^c	0.92±0.06 ^b	1.47±0.21 ^a
SFA	68.80±0.31 ^b	55.11±0.20 ^d	55.83±0.33 ^d	59.16±0.07 ^c	72.97±0.17 ^a
MUFA	11.17±0.16 ^b	10.80±0.12 ^c	11.71±0.30 ^a	11.63±0.32 ^a	7.84±0.24 ^d
PUFA	20.03±0.11 ^d	34.23±0.23 ^a	32.50±0.35 ^b	29.52±0.16 ^c	19.01±0.08 ^e
n-3 PUFA	5.73±0.23 ^d	7.60±0.04 ^c	9.81±0.17 ^a	8.51±0.26 ^b	5.28±0.05 ^e
n-6 PUFA	11.59±0.29 ^d	25.60±0.09 ^a	21.20±0.34 ^b	17.42±0.30 ^c	10.94±0.13 ^e

0.05), 在温度15—30°C内, 该藻PUFA的含量随着温度的升高呈现先上升后下降的趋势, PUFA的含量为19.01%—34.23%, 30°C时PUFA的含量最高(34.23%)。该藻的EPA和DHA含量极少, 在15—35°C条件下EPA含量为0.11%—1.11%, DHA含量为0.07%—2.16%。

2.2 光照强度对STR01的生长、总脂含量及脂肪酸的影响

光照强度对STR01生长和总脂含量的影响

不同的光照强度对STR01的平均相对生长速率影响显著($P < 0.05$)。该藻在40—120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 随着光照强度的升高生长速率呈先上升后降低趋势, 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时平均相对生长速率最大(K 值0.630), 且显著高于其他组。该藻生长的适合的光照强度是40—120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 最适光强为60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

光照强度在60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时该藻的总脂含量显著高于较其他组($P < 0.05$), 此时含量最高(16.73%)。总脂含量按照从高到低的排序60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ (16.73%) > 40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ (13.07%) \geq 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ (9.37%) > 80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ (6.87%) > 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ (6.67%)(图2)。

光照强度对STR01脂肪酸组成和含量的影响由表3所示, 不同光照强度对该藻PUFA影响

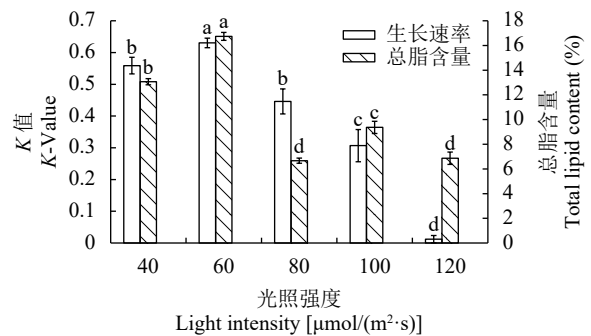


图2 光照强度对STR01生长和总脂含量的影响

Fig. 2 Effects of light intensity on growth and total lipid content of STR01

显著($P < 0.05$), 低光照[40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]时PUFA含量最高(34.29%)。PUFA中主要是C20:4 (n-6)的含量, 光照[80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]时达18.20%。该藻的EPA和DHA含量不高, 各组差异显著($P < 0.05$)。光照强度为20 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 该藻EPA最高(2.88%), 光照强度为80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 该藻DHA最高(2.23%)。

2.3 盐度对STR01的生长、总脂含量及脂肪酸的影响

盐度对STR01生长的影响 不同的盐度对STR01的平均相对生长速率影响显著($P < 0.05$)。在盐度10—35, 随着盐度的升高STR01平均相对生长速率呈先上升后降低趋势, 盐度25时平均相对生长

表 3 光照强度对STR01的脂肪酸组成和含量的影响

Tab. 3 Effects of light intensity on fatty acid composition and content in STR01 (%)

脂肪酸 Fatty acid	光照强度 Light intensity [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]				
	40	60	80	100	120
C14:1	2.23±0.21 ^a	1.51±0.25 ^b	0.82±0.43 ^c	1.67±0.16 ^b	2.50±0.20 ^a
C14:0	9.64±0.11 ^d	12.00±0.19 ^c	17.30±0.26 ^a	8.00±0.20 ^c	13.20±0.21 ^b
C15:0	1.02±0.13 ^c	1.13±0.10 ^b	1.89±0.08 ^a	1.08±0.07 ^c	1.32±0.12 ^b
C16:1	7.38±0.11 ^c	8.25±0.18 ^b	10.40±0.23 ^a	7.20±0.07 ^c	10.40±0.27 ^a
C16:0	31.20±0.19 ^a	31.90±0.15 ^a	25.10±0.13 ^c	31.80±0.21 ^a	29.90±0.13 ^b
C18:2 (n-6)	1.68±0.12 ^a	1.61±0.21 ^a	1.47±0.32 ^b	1.26±0.07 ^b	1.19±0.09 ^c
C18:3 (n-3)	2.58±0.31 ^d	4.16±0.26 ^b	5.99±0.24 ^a	4.18±0.11 ^a	3.68±0.17 ^c
C18:0	16.70±0.09 ^c	19.00±0.19 ^b	13.10±0.12 ^d	20.10±0.22 ^a	21.40±0.15 ^a
C20:5 (n-3)	2.88±0.09 ^a	1.08±0.19 ^c	1.71±0.12 ^b	1.53±0.12 ^b	1.10±0.07 ^c
C20:4 (n-6)	17.70±0.13 ^b	14.21±0.25 ^c	18.20±0.21 ^a	17.90±0.29 ^b	12.00±0.21 ^d
C20:2	2.26±0.11 ^a	1.84±0.18 ^c	0.09±0.01 ^c	2.03±0.09 ^b	1.05±0.16 ^d
C22:6 (n-3)	1.09±0.10 ^c	1.20±0.09 ^b	2.23±0.28 ^a	1.32±0.14 ^b	0.91±0.21 ^c
C22:2	3.09±0.15 ^a	2.03±0.17 ^b	0.79±0.16 ^d	1.94±0.15 ^b	1.25±0.15 ^c
SFA	59.76±0.18 ^c	64.03±0.13 ^b	57.39±0.23 ^d	65.98±0.10 ^a	66.82±0.17 ^a
MUFA	10.01±0.21 ^c	9.76±0.12 ^d	11.22±0.11 ^b	8.87±0.17 ^c	13.00±0.22 ^a
PUFA	34.29±0.45 ^a	27.72±0.05 ^d	33.29±0.15 ^b	28.16±0.10 ^c	23.08±0.31 ^c
n-3 PUFA	18.58±0.17 ^c	20.16±0.21 ^b	24.22±0.08 ^a	17.32±0.22 ^d	20.59±0.28 ^b
n-6 PUFA	19.48±0.18 ^c	15.61±0.29 ^d	20.57±0.30 ^b	21.90±0.14 ^a	13.19±0.12 ^c

速率最高(K 为0.634), 盐度为10时扭鞘藻的数量几乎没有增加(图 3)。该藻生长的适合盐度范围是10—35, 最适盐度为25。

盐度对STR01的总脂含量影响显著($P < 0.05$)。在盐度10—35, 随着盐度的升高, 该藻总脂含量呈先增加后减少趋势, 盐度30时最高(13.66%), 且显著高于其他组(图 3)。

盐度对STR01脂肪酸组成和含量的影响 盐度对STR01的脂肪酸组成及含量影响显著($P < 0.05$)。盐度10—35 时PUFA的含量随着温度的升高呈现先上升后下降的趋势, 盐度25时PUFA的含量最高(43.42%)。PUFA中主要是C20:4 (n-6)的含量, 盐度25时达27.20%。在盐度10—35 条件下EPA含量为1.06%—9.80%, DHA含量为1.92%—2.66%。在盐度25、30、35时EPA含量大幅度增加, 分别达9.80%、9.16%和7.25%, 特别是盐度25时, EPA含量高达9.80%(表 4)。

2.4 温光盐正交试验对STR01生长、总脂及脂肪酸的影响

温光盐正交试验对STR01生长和总脂的影响

采用温度(A)、光照强度(B)、盐度(C)进行正交试验, 结果藻细胞生长和总脂含量见表 5。生长最优组合为: A₃B₂C₂, 即温度30°C、光照强度60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、盐度25, 该组合时平均相对生长速率最大

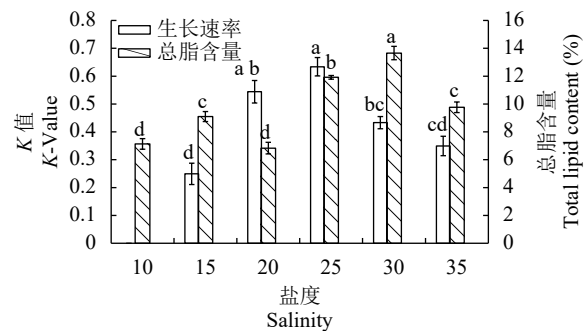


图 3 盐度对STR01生长和总脂含量的影响

Fig. 3 Effects of salinity on growth and total lipid content of STR01

(K 值达0.756); 总脂含量积累的最优组合为A₃B₂C₁ 即温度30°C、光照强度60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、盐度20, 总脂含量可达20.00%。

影响STR01生长的正交因素主次为A>C>B, 3因素中温度对STR01平均相对生长速率影响最大(表 6), 在置信区间95%的情况下, 得出3个因素对平均相对生长速率影响的显著性排序为F_A>F_C>F_B, 即温、光、盐对该藻平均相对生长速率的可靠性影响的大小顺序为A>C>B, 与方差分析的结果一致(表 7)。温度和盐度对该藻生长速率的影响有高度显著差异($P=0.000$); 光照强度对STR01平均相对生长速率有显著差异($P=0.012$); 温度和盐度有交互作

表4 盐度对STR01的脂肪酸组成和含量的影响

Tab. 4 Effects of salinity on fatty acid composition and content in STR01 (%)

脂肪酸 Fatty acid	盐度 Salinity					
	10	15	20	25	30	35
C14:1	1.44±0.11 ^a	1.45±0.18 ^a	1.47±0.24 ^a	0.53±0.12 ^b	0.57±0.14 ^b	0.43±0.06 ^c
C14:0	11.80±0.25 ^c	12.40±0.33 ^d	12.60±0.28 ^d	17.80±0.19 ^c	18.50±0.09 ^b	22.20±12 ^a
C15:0	1.80±0.04 ^a	1.79±0.19 ^a	1.76±0.07 ^a	1.16±0.20 ^b	0.91±0.18 ^c	0.90±0.23 ^c
C16:1	10.20±0.13 ^d	10.80±0.24 ^d	10.90±0.21 ^d	12.10±0.12 ^c	14.80±0.09 ^b	16.80±0.11 ^a
C16:0	31.40±0.23 ^a	31.40±0.22 ^a	30.50±0.09 ^b	18.90±0.25 ^d	20.10±0.17 ^c	21.00±0.09 ^c
C18:2 (n-6)	0	1.46±0.21 ^b	1.60±0.20 ^b	1.89±0.13 ^a	1.46±0.07 ^b	1.06±0.11 ^c
C18:3 (n-3)	5.37±0.10 ^a	4.67±0.30 ^b	4.75±0.05 ^b	1.44±0.12 ^c	1.46±0.20 ^c	0.95±0.34 ^d
C18:0	16.80±0.19 ^a	16.20±0.15 ^a	16.20±0.05 ^a	6.13±0.14 ^b	6.72±0.10 ^b	5.97±0.14 ^c
C20:5 (n-3)	1.24±0.32 ^c	1.07±0.03 ^d	1.06±0.12 ^d	9.80±0.11 ^a	9.16±0.09 ^a	7.25±0.17 ^b
C20:4 (n-6)	14.50±0.07 ^d	14.00±0.18 ^d	14.50±0.11 ^d	27.20±0.32 ^a	22.10±0.16 ^b	20.10±0.23 ^c
C20:2	1.18±0.21 ^a	1.20±0.22 ^a	0.97±0.09 ^a	0.35±0.11 ^c	0.75±0.11 ^b	0.69±0.09 ^c
C22:6 (n-3)	2.42±0.12 ^a	2.04±0.08 ^a	2.35±0.13 ^a	2.23±0.25 ^a	2.66±0.31 ^a	1.92±0.04 ^b
C22:2	1.87±0.17 ^a	1.59±0.09 ^b	1.33±0.26 ^c	0.51±0.05 ^c	0.76±0.11 ^d	0.62±0.21 ^d
SFA	61.80±0.34 ^a	61.79±0.03 ^a	61.06±0.22 ^a	43.99±0.13 ^d	46.23±0.19 ^c	50.07±0.23 ^b
MUFA	11.64±0.09 ^d	12.26±0.22 ^c	12.37±0.17 ^c	12.63±0.19 ^c	15.37±0.34 ^b	17.23±0.26 ^a
PUFA	26.58±0.40 ^d	26.03±0.32 ^d	26.56±0.12 ^d	43.42±0.36 ^a	38.35±0.11 ^b	32.59±0.15 ^c
n-3 PUFA	9.03±0.14 ^c	7.78±0.21 ^d	8.16±0.31 ^d	13.47±0.05 ^a	13.28±0.10 ^a	10.12±0.11 ^b
n-6 PUFA	14.50±0.03 ^f	15.46±0.40 ^c	16.10±0.25 ^d	29.09±0.31 ^a	23.56±0.13 ^b	21.16±0.06 ^c

表5 STR01生长速率和总脂正交试验设计

Tab. 5 Orthogonal test design of the relative growth ratio and total lipid combination of STR01

试验号 Test number	A	B	C	生长速率 K-value	总脂含量 Total fat content (%)
1	1	1	1	0.385	14.8
2	1	1	2	0.419	12.3
3	1	1	3	0.288	16.4
4	1	2	1	0.382	14.2
5	1	2	2	0.328	12.8
6	1	2	3	0.285	13.6
7	1	3	1	0.160	12.5
8	1	3	2	0.318	15.7
9	1	3	3	0.223	12.3
10	2	1	1	0.333	13.8
11	2	1	2	0.524	14.4
12	2	1	3	0.606	17.5
13	2	2	1	0.360	17.0
14	2	2	2	0.723	16.4
15	2	2	3	0.580	13.1
16	2	3	1	0.406	17.1
17	2	3	2	0.619	12.6
18	2	3	3	0.641	14.3
19	3	1	1	0.560	12.2
20	3	1	2	0.506	13.5
21	3	1	3	0.571	14.7
22	3	2	1	0.494	20.0
23	3	2	2	0.756	16.2
24	3	2	3	0.673	16.1
25	3	3	1	0.460	14.1
26	3	3	2	0.521	13.7
27	3	3	3	0.504	14.4

用,且交互作用极度显著($P=0.000$);温度、光照强度和盐度这三者的交互作用显著($P=0.001$)。

同样影响STR01总脂正交因素主次为 $B>A>C$,即光照强度对总脂含量的影响最大(表8、表9)。温度和光照强度对该藻总脂含量影响高度显著($P=0.000$),盐度对该藻总脂含量影响有显著差异($P=0.002$)。温度和光照、光照和盐度之间有交互作用($P=0.000$);温、光、盐三者有交互作用($P=0.000$)。

温光盐正交试验对STR01脂肪酸组成和含量的影响 在试验设定的组合下,PUFA含量最高时的组合为 $A_2B_2C_1$ (温度 25°C 、光照强度 $60\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、盐度20),此时PUFA含量为35.37%,该组合与组合为 $A_2B_3C_1$ (温度 25°C 、光照强度 $80\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、盐度20)无显著性差异。PUFA中主要是C20:4 (n-6)的含量,组合为 $A_2B_2C_1$ (温度 25°C 、光照强度 $60\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、盐度20)时C20:4 (n-6)的含量最高为23.80%,组合为 $A_3B_2C_1$ (温度 30°C 、光照强度 $60\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、盐度20)时含量最高为21.90%。该藻的EPA和DHA含量虽然极少,但在 $A_3B_2C_1$ (温度 30°C 、光照强度 $60\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、盐度20)条件下该藻的EPA含量达到最高(2.91%) $A_2B_2C_1$ (温度 25°C 、光照强度 $60\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、盐度20)条件下该藻的DHA含量达到最高(2.56%)(表10)。

表 6 生长速率极差分析

Tab. 6 Range analyses of relative growth ratio

试验号 Test number	温度 Temperature	光照强度 Light intensity	盐度 Salinity
第一水平均值 K_{11}	0.310	0.466	0.393
第二水平均值 K_{12}	0.532	0.509	0.524
第三水平均值 K_{13}	0.561	0.428	0.486
极差 R	0.251	0.081	0.131
极差顺序 Extreme order	1	3	2

表 7 生长速率方差分析

Tab. 7 ANOVA of the relative growth ratio

来源 Source	III型平方和 Type III SS	自由度 df	均方 MS	F值 F values	P值 P values
温度 Temperature	0.835	2	0.418	59.921	0.000
光照 Light intensity	0.066	2	0.033	4.759	0.012
盐度 Salinity	0.244	2	0.122	17.490	0.000
温度×光照 Temperature× Light intensity	0.038	4	0.009	1.357	0.261
温度×盐度 Temperature× Salinity	0.212	4	0.053	7.614	0.000
光照×盐度 Light intensity× Salinity	0.002	4	0.001	0.084	0.987
温×光×盐 Temperature×Light intensity×Salinity	0.209	8	0.026	3.753	0.001

表 8 总脂含量极差分析

Tab. 8 Range analyses of total lipid content

实验号 Test number	温度 Temperature	光照强度 Light intensity	盐度 Salinity
第一水平均值 K_{11}	13.844	14.400	15.078
第二水平均值 K_{12}	15.133	15.489	14.178
第三水平均值 K_{13}	14.989	14.078	15.300
极差 R	1.289	1.411	1.122
极差顺序 Extreme order	2	1	3

表 9 总脂含量方差分析

Tab. 9 ANOVA of total lipid content

来源 Source	III型平方和 Type III SS	自由度 df	均方 MS	F值 F values	P值 P values
温度 Temperature	28.583	2	14.292	17.659	0.000
光照 Light intensity	29.858	2	14.929	18.446	0.000
盐度 Salinity	11.807	2	5.904	7.294	0.002
温度×光照 Temperature× Light intensity	61.505	4	15.376	18.999	0.000
温度×盐度 Temperature× Salinity	5.218	4	1.305	1.612	0.185
光照×盐度 Light intensity× Salinity	68.540	4	17.135	21.172	0.000
温×光×盐 Temperature×Light intensity×Salinity	82.101	8	10.263	12.681	0.000

表 10 正交试验对扭鞘藻的脂肪酸组成和含量的影响

Tab. 10 Effect of orthogonal test on fatty acid composition and content in STR01 (%)

脂肪酸 Fatty acid	三因子 Three-factor								
	$A_1B_1C_1$	$A_1B_2C_1$	$A_1B_3C_1$	$A_1B_1C_2$	$A_1B_2C_2$	$A_1B_3C_2$	$A_1B_1C_3$	$A_1B_2C_3$	$A_1B_3C_3$
C14:1	2.10±0.27 ^b	1.72±0.19 ^c	1.85±0.21 ^c	1.84±0.13 ^c	1.98±0.22 ^c	1.72±0.09 ^c	3.29±0.10 ^a	2.36±0.31 ^b	1.96±0.11 ^c
C14:0	11.70±0.52 ^c	14.80±0.25 ^c	11.00±0.13 ^c	11.60±0.08 ^c	10.80±0.12 ^c	10.30±0.14 ^c	6.69±0.22 ^b	8.45±0.03 ^f	11.40±0.17 ^d
C15:0	1.35±0.43 ^b	1.67±0.18 ^b	1.41±0.45 ^b	1.17±0.04 ^c	1.02±0.36 ^c	1.22±0.08 ^c	0.65±0.15 ^c	1.09±0.34 ^c	1.78±0.03 ^b
C16:1	10.60±0.75 ^a	10.10±0.43 ^b	11.20±0.06 ^a	9.80±0.13 ^b	10.10±0.21 ^b	11.40±0.56 ^a	7.48±0.22 ^c	10.30±0.07 ^b	10.20±0.61 ^b
C16:0	29.70±0.27 ^b	27.80±0.76 ^c	28.40±0.14 ^c	26.60±0.04 ^d	28.74±0.14 ^b	27.80±0.94 ^c	30.57±0.65 ^d	28.10±0.90 ^b	27.70±0.54 ^c
C18:2 (n-6)	0.66±0.09 ^c	1.03±0.07 ^d	0.58±0.17 ^f	0.63±0.34 ^f	0.99±0.28 ^d	0.75±0.08 ^c	1.11±0.09 ^d	0.62±0.08 ^f	0.93±0.04 ^c
C18:3 (n-3)	3.16±0.09 ^c	4.00±0.04 ^f	5.83±0.12 ^d	5.66±0.08 ^d	5.59±0.18 ^c	5.89±0.18 ^d	7.91±0.14 ^b	6.68±0.17 ^b	5.22±0.24 ^c
C18:0	17.10±0.75 ^d	16.30±0.61 ^c	16.40±0.56 ^c	16.80±0.59 ^c	18.70±0.60 ^d	17.00±0.43 ^d	24.90±0.91 ^a	20.70±0.23 ^c	17.10±0.67 ^d
C20:5 (n-3)	0.24±0.05 ^d	1.01±0.14 ^c	0.55±0.04 ^c	1.01±0.01 ^c	0.59±0.02 ^c	0.58±0.01 ^c	0	0.36±0.07 ^d	0.91±0.05 ^c
C20:4 (n-6)	19.90±0.21 ^b	17.60±0.45 ^d	16.80±0.87 ^d	20.70±1.01 ^b	16.50±0.88 ^d	18.60±1.41 ^c	11.40±0.55 ^b	15.90±0.82 ^d	17.50±0.98 ^d
C20:2	1.21±0.07 ^c	1.44±0.07 ^c	1.26±0.01 ^c	0.99±1.01 ^b	1.38±0.04 ^c	1.27±0.03 ^c	2.68±0.04 ^a	1.53±0.02 ^c	1.32±0.07 ^c
C22:6 (n-3)	1.23±0.32 ^d	1.48±0.23 ^c	1.45±0.19 ^c	0.98±0.08 ^{bc}	1.33±0.01 ^d	1.57±0.01 ^c	0.78±0.13 ^c	1.59±0.16 ^c	1.72±0.05 ^c
C22:2	1.09±0.02 ^d	1.00±0.23 ^c	3.31±0.04 ^a	2.21±0.23 ^d	2.28±0.17 ^d	2.30±0.03 ^d	2.57±0.03 ^c	2.32±0.08 ^{bd}	2.25±0.01 ^d
SFA	59.85±0.99 ^c	60.57±1.32 ^c	57.21±1.45 ^c	56.17±0.85 ^f	59.26±1.02 ^d	56.32±0.90 ^c	62.81±1.17 ^b	58.34±1.81 ^d	57.98±0.83 ^d
MUFA	12.70±0.15 ^a	11.82±0.13 ^b	13.05±0.08 ^a	11.64±0.34 ^a	12.08±0.42 ^a	13.12±0.27 ^a	10.77±0.51 ^b	12.66±0.46 ^a	12.16±0.29 ^a
PUFA	27.49±0.97 ^c	27.56±1.45 ^c	29.78±0.90 ^c	32.18±1.07 ^b	28.66±0.86 ^d	30.96±1.21 ^c	26.45±0.94 ^c	29.00±0.99 ^d	29.85±1.27 ^c
n-3PUFA	4.63±0.02 ^f	6.49±0.04 ^d	7.83±0.03 ^b	7.65±0.07 ^b	7.51±0.25 ^c	8.04±0.24 ^b	7.91±0.42 ^a	8.63±0.99 ^c	7.85±0.21 ^c
n-6PUFA	20.56±0.76 ^b	18.63±0.23 ^c	17.38±0.65 ^d	21.33±0.78 ^b	17.49±0.08 ^d	19.35±0.93 ^c	12.51±0.67 ^b	16.52±0.87 ^c	18.43±0.96 ^d

续表10

脂肪酸 Fatty acid	三因子 Three-factor								
	A ₂ B ₁ C ₁	A ₂ B ₂ C ₁	A ₂ B ₃ C ₁	A ₂ B ₁ C ₂	A ₂ B ₂ C ₂	A ₂ B ₃ C ₂	A ₂ B ₁ C ₃	A ₂ B ₂ C ₃	A ₂ B ₃ C ₃
C14:1	1.61±0.09 ^c	1.44±0.01 ^d	1.45±0.06 ^d	1.91±0.04 ^c	2.05±0.06 ^c	1.44±0.12 ^d	1.44±0.02 ^d	1.57±0.07 ^d	1.53±0.05 ^d
C14:0	12.40±0.34 ^d	14.30±0.25 ^c	10.60±0.27 ^c	14.00±0.18 ^{cd}	16.40±0.17 ^b	17.40±0.43 ^a	15.40±0.67 ^c	16.20±0.43 ^b	14.70±0.27 ^c
C15:0	1.65±0.17 ^b	2.10±0.11 ^b	2.49±0.10 ^a	1.75±0.32 ^b	1.77±0.09 ^b	2.56±0.11 ^a	2.15±0.17 ^b	2.49±0.23 ^a	2.24±0.21 ^b
C16:1	11.10±0.37 ^b	10.60±0.26 ^b	9.07±0.21 ^c	8.48±0.17 ^c	8.29±0.29 ^c	9.67±0.36 ^c	9.84±0.21 ^c	9.44±0.20 ^c	10.60±0.17 ^b
C16:0	26.30±0.95 ^d	22.50±0.76 ^f	24.80±1.12 ^c	27.40±0.84 ^c	27.40±1.45 ^c	27.50±0.95 ^c	29.00±0.87 ^b	27.10±1.23 ^{cd}	26.30±0.94 ^d
C18:2 (n-6)	1.13±0.01 ^d	0.99±0.02 ^d	1.06±0.02 ^d	1.38±0.01 ^c	1.50±0.03 ^c	1.64±0.03 ^b	1.44±0.01 ^c	1.68±0.02 ^b	1.32±0.01 ^c
C18:3 (n-3)	5.40±0.12 ^c	4.85±0.11 ^f	5.12±0.10 ^d	6.96±0.09 ^c	4.36±0.21 ^f	4.32±0.23 ^f	7.75±0.22 ^b	5.36±0.11 ^e	3.97±0.10 ^g
C18:0	17.90±0.29 ^d	13.70±0.76 ^f	16.30±0.64 ^c	18.93±0.05 ^c	18.30±0.84 ^d	14.30±0.23 ^f	15.70±0.21 ^e	15.20±0.11 ^e	15.20±0.13 ^c
C20:5 (n-3)	0.50±0.01 ^d	1.59±0.02 ^b	1.60±0.01 ^b	1.00±0.04 ^c	1.59±0.09 ^b	2.24±0.06 ^a	1.09±0.10 ^c	1.80±0.03 ^b	1.85±0.10 ^b
C20:4 (n-6)	17.80±0.98 ^{cd}	23.80±0.11 ^a	22.32±0.09 ^a	14.40±0.22 ^c	13.30±0.10 ^f	15.40±0.87 ^c	12.70±0.76 ^f	15.40±0.34 ^c	18.30±0.97 ^c
C20:2	0.97±0.04 ^b	0.27±0.01 ^c	1.96±0.01 ^{bc}	0.43±0.01 ^c	0.48±0.12 ^c	0.18±0.02 ^d	0.32±0.01 ^c	0.35±0.01 ^c	0.36±0.11 ^c
C22:6 (n-3)	1.95±0.23 ^c	2.56±0.21 ^a	1.96±0.01 ^{bc}	2.05±0.05 ^b	1.88±0.02 ^c	2.15±0.02 ^a	1.91±0.01 ^c	2.16±0.13 ^a	2.28±0.24 ^a
C22:2	1.28±0.02 ^d	1.31±0.02 ^d	1.27±0.01 ^d	1.32±0.03 ^d	2.66±0.06 ^b	1.19±0.03 ^d	1.26±0.04 ^d	1.26±0.03 ^d	1.34±0.01 ^d
SFA	58.25±1.04 ^c	52.60±0.98 ^g	54.19±1.22 ^f	62.08±0.76 ^c	63.87±0.23 ^b	61.76±0.87 ^c	62.25±1.23 ^c	60.99±0.87 ^c	58.44±1.20 ^c
MUFA	12.71±0.43 ^a	12.04±0.23 ^b	10.52±0.34 ^c	10.39±0.52 ^c	10.34±0.54 ^c	11.11±0.34 ^b	11.28±0.75 ^b	11.01±0.26 ^b	12.13±0.97 ^b
PUFA	29.03±0.43 ^d	35.37±0.87 ^a	35.29±0.56 ^a	27.54±1.02 ^c	25.77±0.63 ^f	27.12±0.34 ^c	26.47±0.47 ^f	28.01±0.65 ^d	29.42±0.47 ^c
n-3PUFA	7.85±0.24 ^b	9.00±0.21 ^b	8.68±0.17 ^c	10.01±0.24 ^a	7.83±0.32 ^c	8.71±0.21 ^c	10.75±0.85 ^a	9.32±0.22 ^b	8.10±0.14 ^c
n-6PUFA	18.93±0.76 ^d	24.79±0.47 ^a	23.38±0.76 ^a	15.78±0.87 ^c	14.80±0.58 ^f	17.04±0.68 ^d	14.14±0.48 ^f	17.08±0.29 ^d	19.62±0.43 ^c

脂肪酸 Fatty acid	三因子 Three-factor								
	A ₃ B ₁ C ₁	A ₃ B ₂ C ₁	A ₃ B ₃ C ₁	A ₃ B ₁ C ₂	A ₃ B ₂ C ₂	A ₃ B ₃ C ₂	A ₃ B ₁ C ₃	A ₃ B ₂ C ₃	A ₃ B ₃ C ₃
C14:1	1.64±0.07 ^c	1.30±0.02 ^c	1.43±0.11 ^c	2.04±0.04 ^b	1.24±0.04 ^d	1.69±0.03 ^c	1.39±0.10 ^c	0.96±0.03 ^d	0.93±0.01 ^d
C14:0	13.60±0.67 ^d	16.60±0.43 ^b	14.80±0.27 ^c	11.40±0.26 ^c	14.10±0.27 ^c	14.10±0.31 ^c	14.40±0.24 ^c	18.40±0.32 ^a	16.50±0.34 ^b
C15:0	2.19±0.21 ^c	1.95±0.08 ^c	2.07±0.10 ^c	1.88±0.21 ^c	2.20±0.11 ^c	2.25±0.09 ^c	2.34±0.01 ^a	3.19±0.02 ^b	3.01±0.03 ^b
C16:1	7.45±0.97 ^d	7.84±0.32 ^d	8.03±0.24 ^d	7.62±0.25 ^d	8.78±0.32 ^c	8.34±0.11 ^c	5.83±0.01 ^c	9.91±0.31 ^c	11.30±0.11 ^b
C16:0	30.40±0.11 ^a	29.60±0.43 ^b	29.90±0.34 ^b	31.40±0.56 ^a	28.40±0.32 ^c	29.40±0.28 ^b	30.20±0.65 ^a	25.60±0.35 ^{de}	26.20±0.71 ^d
C18:2 (n-6)	1.63±0.02 ^b	2.17±0.01 ^a	1.74±0.03 ^b	1.27±0.02 ^{cd}	1.86±0.01 ^b	1.48±0.01 ^c	1.50±0.07 ^c	1.68±0.04 ^b	1.40±0.02 ^c
C18:3 (n-3)	5.56±0.08 ^c	4.99±0.07 ^f	4.12±0.05 ^f	6.64±0.05 ^c	6.35±0.04 ^d	5.50±0.01 ^c	6.23±0.10 ^a	5.05±0.04 ^c	4.72±0.09 ^f
C18:0	20.50±1.01 ^b	17.10±0.56 ^d	18.50±0.47 ^d	22.40±0.98 ^b	18.00±0.76 ^d	19.60±0.37 ^c	18.60±0.99 ^d	14.30±1.13 ^f	14.80±0.97 ^f
C20:5 (n-3)	1.81±0.03 ^b	2.91±0.01 ^a	2.40±0.01 ^a	0.67±0.01 ^c	1.12±0.07 ^c	1.65±0.05 ^b	1.03±0.07 ^c	2.17±0.10 ^a	2.88±0.04 ^a
C20:4 (n-6)	12.40±0.77 ^f	12.70±0.68 ^f	14.00±0.83 ^c	12.40±0.76 ^f	14.20±0.27 ^c	13.30±0.26 ^f	14.60±0.31 ^c	15.70±0.32 ^c	15.10±0.22 ^e
C20:2	0.33±0.01 ^c	0.47±0.13 ^c	0.55±0.01 ^c	0.34±0.01 ^c	0.35±0.00 ^c	0.31±0.02 ^c	1.13±0.01 ^c	0.20±0.01 ^c	0.23±0.06 ^c
C22:6 (n-3)	1.50±0.08 ^c	1.67±0.07 ^c	1.80±0.01 ^c	1.00±0.03 ^d	1.66±0.06 ^c	1.55±0.10 ^c	1.91±0.11 ^c	2.22±0.05 ^a	2.23±0.14 ^a
C22:2	1.01±0.02 ^c	0.75±0.01 ^d	0.67±0.01 ^d	0.86±0.04 ^d	1.73±0.04 ^d	0.79±0.05 ^d	0.86±0.04 ^d	0.63±0.01 ^d	0.68±0.02 ^d
SFA	66.69±1.34 ^a	65.25±0.96 ^b	65.27±0.76 ^b	67.08±0.28 ^a	62.70±1.19 ^c	65.35±0.76 ^b	65.54±1.56 ^a	61.49±0.34 ^c	60.51±0.41 ^d
MUFA	9.09±0.14 ^c	9.14±0.21 ^c	9.46±0.25 ^c	9.66±0.24 ^c	10.02±1.10 ^c	10.03±1.14 ^c	7.22±0.08 ^f	10.87±0.13 ^b	12.23±0.23 ^a
PUFA	24.24±0.73 ^g	25.66±0.46 ^f	25.28±0.64 ^f	23.18±0.37 ^h	27.27±0.91 ^c	24.58±0.37 ^f	27.26±0.91 ^c	27.65±0.74 ^c	27.24±0.36 ^c
n-3PUFA	8.87±0.09 ^c	9.57±0.19 ^c	8.32±0.26 ^c	8.31±0.18 ^b	9.13±0.18 ^b	7.15±0.23 ^c	9.17±0.36 ^a	9.44±0.18 ^b	9.83±0.19 ^c
n-6PUFA	14.03±0.93 ^f	14.87±1.03 ^c	15.74±0.98 ^c	13.67±0.34 ^f	16.06±0.97 ^c	14.78±0.65 ^f	16.10±0.23 ^d	17.38±0.35 ^d	16.50±0.38 ^c

3 讨论

3.1 温度对微藻的影响

温度是影响微藻生长和代谢的重要环境因子之一^[11]。温度对海洋微藻的生长及发育等具有调

节作用,对营养物的吸收利用效率、酶的活性、及细胞分裂的周期等存在不同程度不同方式的影响^[12]。正交试验结果表明,温度对STR01平均相对生长速率影响最大,单因子试验表明:STR01生长的适温为15—35℃,最适温度25—30℃(0.679—

0.682)。该藻在15—35℃内,随着温度升高平均相对生长速率呈先上升后降低趋势,在30℃时该藻的平均相对生长速率最大(K 值为0.682),但25℃组与30℃组平均相对生长速率差异不显著($P > 0.05$),温度在10℃条件下,培养7d大部分藻死亡分解,藻液颜色变白。这一结果与金德祥等^[13]研究扭鞘藻对温度的适应范围是在10—30℃,最适温度是在20—25℃的试验结果不一致,可能由于其试验环境、条件和藻种不同所致。不同海洋微藻对不同的温度的适应能力不同,海链藻(*Thalassiosira* sp.)在温度24—27℃时,其生长则明显受到抑制,在30℃时则完全不能生长,但在18—24℃温度范围内,海链藻具有较高的生长速率^[14],而牟氏角毛藻(*Chaetoceros muelleri*)是一种耐高温藻种,其生长的最佳温度为25—35℃。本试验STR01在10℃以下完全不能生长,在35℃时平均相对生长速率明显降低。

有研究表明,在极端低温或高温情况下,微藻合成油脂的含量减少^[15-17],STR01在低温15℃和高温35℃时总脂积累很少,总脂含量也相差不大,低温和高温对微藻的危害方式并不相同。Opote^[16]认为海洋微藻的油脂合成,在极端温度下微藻的油脂合成受限,可能是由于合成脂肪相关的酶发生不可逆损伤。低温对微藻的破坏是机械性,而高温对微藻的破坏是化学性,大量的研究表明微藻对低温的抵抗和忍耐性较强。不同藻种总脂含量积累的最适温度不同,本试验总脂含量积累的最适温度是25℃(总脂含量可达17.23%)。三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)的诱变株MP-2,总脂积累的最适温度是20℃^[18]。硅藻的脂肪酸主要成分有C14:0、C16:1(n-7)、C16:0,有些硅藻的富含EPA。扭鞘藻属于硅藻,本试验表明其主要脂肪酸成分是C14:0、C16:1、C16:0、C18:0和C20:4(n-6),其EPA含量不高。有研究表明海链藻低温处理可明显提高长链多不饱和脂肪酸含量,但并不是其积累PUFAs的最佳温度^[11]。在本试验的单因子试验中,温度20℃下,PUFA含量最高达34.23%,在正交试验中,温度为25℃时,PUFA积累较多,而30℃该藻平均相对生长速率最高,若要获得较多的不饱和脂肪酸可考虑分步培养。

3.2 光照强度对微藻的影响

光照影响微藻的生长速率和光合作用,对细胞体内生化成分产生影响,光强和照射时间的长短影响微藻光合作用的效率^[14,19]。光是影响海洋微藻生化成分种类和含量多少及其生长的最重要的因子之一,有研究实验结果表明超过一定的光照强度范围,微藻生长会受到抑制。本次试验光照强度为

60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,STR01平均相对生长速率 K 值达到最大(0.630),当光照强度超过100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,STR01的平均相对生长速率明显降低,说明高光强不利于该藻的生长。不同的藻种的生长适应的光强不一样,如后棘藻(*Ellipsoidion* sp.)在光强较高下生长速率高,其适宜光强范围为108.75—244.15 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光强低于71.12 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时生长速率有所降低^[20]。多方面的研究显示,浮游海洋微藻在变化的环境中生存和生长的,其生理适应是关键过程,水生浮游植物为了提高其不同环境中生存能力,可以通过提高对环境因子的适应能力来实现,特别是在资源能够循环再生的情况下,这种调节机制更加的明显^[21]。

正交试验结果表明,光照强度对STR01总脂含量的积累影响最大,单因子试验表明光照强度为60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,STR01的总脂含量最高可达16.73%。单因子试验结果表明,随着光照强度的升高,总脂含量呈下降趋势,表明高光不利于STR01总脂的积累。国内学者对微绿球藻^[22]、后棘藻^[19]、小球藻和三角褐指藻^[23]的研究中也发现PUFA含量随光强增加而呈下降趋势。低光下两种藻小新月菱形藻和等鞭金藻的脂肪含量多,而高光下则相反^[23]。低光照[20 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]更有利于2株曼氏骨条藻(*Skeletonema munzelii*)总脂及PUFA的积累^[22],单因子光照强度试验和正交试验都结果表明光强[60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]有利于STR01的PUFA的积累,单因子试验结果表明,随着光照强度的升高,PUFA呈下降趋势,表明高光不利于STR01PUFA的积累。

3.3 盐度对微藻的影响

本试验结果表明,适合STR01生长的盐度为15—35,最适生长盐度为25(K 值0.634)。盐度影响藻类的渗透压和营养盐的吸收。当微藻生活的盐度环境发生改变时,细胞的渗透压受到影响也随之改变,过低或过高的盐度均会对微藻造成伤害^[24,25]。盐度在10以下,STR01几乎完全不能生长,在盐度15—35时, K 值呈现先上升后下降趋势。藻种不同,对盐度的适应力也不同,亚历山大藻(*Alexandrium* sp.)偏嗜较高盐度环境,在低盐度下几乎不能生长。蛋白核小球藻适盐范围比较广,在盐度15—45范围内均可以快速生长。

不同藻种的在不同的盐度下,总脂含量的积累也不同,本试验STR01总脂含量积累的适宜盐度范围是10—35,盐度30时,总脂含量最高(13.66%)。有研究表明高盐有利于总脂的积累,虽然高盐下微藻的生长率不高。在高盐度下微藻的生长需要更多能量,藻细胞内的储存的脂肪的含量相应增加^[26,27]。

三角褐指藻在较高盐度30—35条件下,其总脂含量显著高于其他组^[18],本试验在高盐度30时总脂含量最高,与上述试验结果吻合。这种藻产脂应用中可分两步培养。增大培养基的盐度虽使得微绿球藻的生长速率降低,但有利于油脂积累^[28]。本试验的盐度单因子试验表明,在盐度25时,PUFA含量最高(43.42%),在正交试验中,较低盐度(20)有利于该藻PUFA的积累,在25℃、光照强度60 μmol/(m²·s)和盐度20的条件下STR01的PUFA含量达到35.37%。有试验研究表明,低盐有利于微藻PUFA的积累,如盐度(15)更有利于2株曼氏骨条藻PUFA的积累^[22],在对绿色巴夫藻的研究中,低盐度条件下有利于PUFA (n-3)的合成,盐度为6时C20:5 (n-3)的含量最高,为总脂的6.02%。在实际的大规模培养中,可以考虑现在最适微藻生长的盐度下培养藻细胞,然后再转到低盐下培养收集到更多的PUFA。

参考文献:

- [1] Li M, Zhu X L, Su Y Q, *et al.* Application of microalgae and animal biological feed in aquaculture [J]. *Ocean and Fishery*, 2016, **264**: 56—57 [刘梅, 朱曦露, 苏艳秋, 等. 微藻和动物性生物饵料在水产养殖中的应用研究. 海洋与渔业, 2016, **264**: 56—57]
- [2] Tang H. Removal of Nitrogen and phosphorus in sewage by immobilized microalgae [D]. Nanjing Agricultural University. 2016 [唐皓. 固定化微藻去除污水中氮磷的研究. 南京农业大学. 2016]
- [3] Shi J, Pan K H. Effects of different culture conditions and growth phases on lipid of microalgae [J]. *Marine Fisheries Research*, 2004, **25**(6): 79—85 [石娟, 潘克厚. 不同培养条件对微藻总脂含量和脂肪酸组成的影响. 海洋水产研究, 2004, **25**(6): 79—85]
- [4] Jiang X M. Effects of temperatures, light intensity and nitrogen concentrations on the growth and fatty acid composition of *Nannochloropsis oculata* [J]. *Marine Sciences*, 2002, **26**(8): 9—13 [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. 海洋科学, 2002, **26**(8): 9—13]
- [5] Yang X X, Yu H, Zeng X Q. Summarization of the factors affecting the fatty acid composition of microalgae [J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2001, **1**: 76—80 [杨秀霞, 于浩, 曾晓起. 影响微藻脂肪酸组成因素概述. 海洋湖沼通报, 2001, **1**: 76—80]
- [6] Alonso D L, Grima E M, Perez J A S, *et al.* Isolation of clones of *Isochrysis galbanarich* in eicosapentaenoic acid [J]. *Aquaculture*, 1992, **102**(4): 363—371
- [7] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification [J]. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, **37**(8): 911—917
- [8] Xu J L, Yan X J, Zhou C X, *et al.* The effects of air bubbling condition on fatty acid composition in 19 strains of marine microalgae [J]. *Journal of Ningbo University (NSEE)*, 2006, **19**(2): 180—185 [徐继林, 严小军, 周成旭, 等. 19种(株)海洋微藻脂肪酸组成及充气产生的影响. 宁波大学学报: 理工版, 2006, **19**(2): 180—185]
- [9] Reiser S, Somerville C. Isolation of mutants of *Acinetobacter calcoaceticus* deficient in wax ester synthesis and complementation of one mutation with a gene encoding afatty acyl-coenzyme A reductase [J]. *Journal of Bacteriology*, 1997, **179**: 2969—2975
- [10] Jiang X M, Liu M H and Xing C G. Effect of different ecological conditions on the growth and fatty acid composition of *Pavlova viridis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, **31**(1): 88—93 [蒋霞敏, 柳敏海, 邢晨光. 不同生态条件对绿色巴夫藻生长及脂肪酸组成的影响. 水生生物学报, 2007, **31**(1): 88—93]
- [11] Pan J, Yu J Z, Ma X L, *et al.* Effect of temperature on the growth and fatty acid composition of *Phaeodactylum tricornutum* [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2010, **31**(6): 91—94 [潘瑾, 俞建中, 马晓磊, 等. 温度影响三角褐指藻生长和脂肪酸组成的初步探讨. 渔业科学进展, 2010, **31**(6): 91—94]
- [12] Woldman J C, Mann R. Temperature influenced variations in speciation and the chemical composition of marine phytoplankton in outdoor mass cultures [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1980, **46**: 29—40
- [13] Jin D X, Chen D X, Liu S C, *et al.* Influence of temperature and salinity on the growth of planktonic Diatoms [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1964, **7**(4): 373—383 [金德祥, 陈真奋, 刘师成, 等. 温度和盐度对三种海洋浮游硅藻生长繁殖的影响. 海洋与湖沼, 1964, **7**(4): 373—383]
- [14] Zhu M, Zhang X C, Mao Y X, *et al.* Effects of temperature, salinity and illumination on the growth of *Thalassiosira* sp. [J]. *Marine Sciences*, 2003, **27**(12): 58—60 [朱明, 张学成, 茂云翔, 等. 温度、盐度及光照强度对海链藻(*Thalassiosira* sp.)生长的影响. 海洋科学, 2003, **27**(12): 58—60]
- [15] Aaronson S. Effect of incubation temperature on the macromolecular and lipid content of the phytoflagellate *Ochromonas danica* [J]. *Journal of Phycology*, 1973, **9**(1): 111—113
- [16] Opute, F. I. Studies on fat accumulation in *Nitzschia palea* [J]. *Annals of Botany*, 1974, **38**(4): 889—902
- [17] Xu N, Lü S H, Chen J F, *et al.* The influence of water temperature and salinity on the growth of *Scrippsiella trochoidea* [J]. *Marine Environmental Science*, 2004, **3**(23): 36—38 [徐宁, 吕颂辉, 陈菊芳, 等. 温度和盐度对锥状斯氏藻生长的影响. 海洋环境科学, 2004, **3**(23): 36—38]
- [18] Ye L, Jiang X M, Mao X X, *et al.* Effects of temperature, light intensity and salinity on the growth total lipid and fatty acid of *Phaeodactylum tricornutum* mutant [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2015, **34**(2): 454—462 [叶丽, 蒋霞敏, 毛欣欣, 等. 温、光、盐对三角褐指藻紫外

- 诱变株生长、总脂及脂肪酸的影响. 生态学杂志, 2015, **34**(2): 454—462]
- [19] Cao C H, Sun S C, Mai K S, *et al.* Effect of light intensity on the total lipid contents and fatty acid composition in 4 strains of marine green algae [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, **30**(9): 2347—2353 [曹春晖, 孙世春, 麦康森, 等. 光照强度对四株海洋绿藻总脂含量和脂肪酸组成的影响. 生态学报, 2010, **30**(9): 2347—2353]
- [20] Xu N J, Zhang X C. Effects of temperature, light intensity and pH on the Growth and fatty acid compositions of *Ellipsoidion* sp. [J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 2001, **31**(4): 541—547 [徐年军, 张学成. 温度、光照、pH值对后棘藻生长及脂肪酸含量的影响. 青岛海洋大学学报, 2001, **31**(4): 541—547]
- [21] Anning T, Macintyre H, Pratt S M, *et al.* Photoacclimation in the marine diatom *Skeletonema costatum* [J]. *Limnology and Oceanography*, 2000, **45**(18): 1807—1817
- [22] Gao X Z, Jing X M, Ye L. Effects of temperature, light intensity and salinity on the growth and fatty acid composition of *Skeletonema munzelii* SM-1 and SM-2 [J]. *Journal of Biology*, 2014, **31**(6): 64—69 [高秀芝, 蒋霞敏, 叶丽. 温度、光照和盐度对 2 株曼氏骨条藻生长及脂肪酸组成的影响. 生态学杂志, 2014, **31**(6): 64—69]
- [23] Miao J L, Wang B, Kan G F, *et al.* The influence of environment factors on lipid content and fatty acid composition in two species of Antarctic green microalga [J]. *Marine Sciences*, 2005, **29**(1): 4—11 [缪锦来, 王波, 阚光锋, 等. 环境因子对 2 种南极绿藻脂肪含量和脂肪酸组成的影响. 海洋科学, 2005, **29**(1): 4—11]
- [24] Bao J, Ting X L, Dong S L, *et al.* Effect of temperature salinity and light intensity on nitrogen and phosphorus uptake by *Sargassum thunbergii* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2008, **2**(15): 293—300 [包杰, 田相利, 董双林, 等. 温度、盐度和光照强度对鼠尾藻氮、磷吸收的影响. 中国水产科学, 2008, **2**(15): 293—300]
- [25] Guo J, Yang W D, Liu J S, *et al.* Effects of salinity, temperature and light intensity on the growth and toxin production of *Phaeocystis globose* [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2007, **8**(27): 1341—1346 [郭瑾, 杨维东, 刘洁生. 温度、盐度和光照对球形棕囊藻生长和产毒的影响研究. 环境科学学报, 2007, **8**(27): 1341—1346]
- [26] Kuwada Y, Ohta Y. Effect of salinity on hydrogen production and growth of *Lyngbya* sp [J]. *Journal of the Faculty of Applied Hiroshima University*, 1991, **30**(1): 13—17
- [27] Zhang Q T, Hu G K. Study on effect of salinity on the growth of micro algae *Isochrysis* [J]. *Journal of Salt and Chemical Industry*, 2009, **6**(38): 8—10 [张青田, 胡桂坤. 盐度对等鞭金藻生长的影响研究. 盐业与化工, 2009, **6**(38): 8—10]
- [28] Du X F, Zou N, Sun D H, *et al.* Optimization of oil-rich cultural conditions of *Nannochloropsis* sp [J]. *China Oils and Fats*, 2012, **37**(12): 66—69 [杜晓凤, 邹宁, 孙东红, 等. 微绿球藻富集油脂的培养条件优化. 微生物油脂, 2012, **37**(12): 66—69]

EFFECTS OF TEMPERATURE, LIGHT INTENSITY, SALINITY ON THE GROWTH RATE, TOTAL LIPID CONTENT AND FATTY ACID COMPOSITION OF STR01

XUE Rui-Ping, JIANG Xia-Min, HAN Qing-Xi and ZHANG Cong-Ying

(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: To optimize the cultivation condition of microalgae, single-factor design and orthogonal experiments were performed to assess the growth rate, total lipid content and fatty acid composition of STR01 by temperature, light intensity and salinity. The results showed that all these ecological factors exerted significant effects on the growth, total lipid content and fatty acid composition of STR01 ($P < 0.05$) with the appropriate temperature for growth at 15—35°C, the optimum temperature at 25—30°C (K -value 0.679—0.682) and the optimum temperature for total lipid content accumulation at 25°C (17.23%). The highest PUFA content at 34.23% appeared at 20°C. The appropriate light intensity for growth was 40—120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ and the optimum one was 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$. The light intensity of 40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ had the highest PUFA accumulation at 34.29%. The appropriate salinity for growth was 10—35 and the optimum salinity was 25. The orthogonal experiments showed that the optimum condition for growth was temperature 30°C, light intensity 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, and salinity 25, and that the optimum total lipid accumulation was temperature 30°C, light intensity 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ and salinity 20, and that the optimum PUFA content was temperature 25°C, light intensity 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, and salinity 20 at 37%. In conclusion, STR01 was promising prospect in future aquaculture with fast growth rate and high total lipid and PUFA contents.

Key words: STR01; Relative growth ratio; Total lipid; Fatty acid