

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第31卷 第18期 Vol.31 No.18 **2011**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 31 卷 第 18 期 2011 年 9 月 (半月刊)

目 次

高寒矮嵩草草甸冬季 CO ₂ 释放特征	吴 琴, 胡启武, 曹广民, 等 (5107)
开垦对绿洲农田碳氮累积及其与作物产量关系的影响	黄彩变, 曾凡江, 雷加强, 等 (5113)
施氮对几种草地植物生物量及其分配的影响	祁 瑜, 黄永梅, 王 艳, 等 (5121)
浙江天台山甜槠种群遗传结构的时空自相关分析	祁彩虹, 金则新, 李钧敏 (5130)
大兴安岭林区不同植被对冻土地温的影响	常晓丽, 金会军, 于少鹏, 等 (5138)
樟子松树轮不同组分的稳定碳同位素分析	商志远, 王 建, 崔明星, 等 (5148)
内蒙古不同类型草地叶面积指数遥感估算	柳艺博, 居为民, 朱高龙, 等 (5159)
杭州西湖北里湖荷叶枯落物分解及其对水环境的影响	史 绮, 焦 锋, 陈 莹, 等 (5171)
火干扰对小兴安岭落叶松-苔草沼泽温室气体排放的影响	于丽丽, 牟长城, 顾 韩, 等 (5180)
黄河中游连伯滩湿地景观格局变化	郭东罡, 上官铁梁, 白中科, 等 (5192)
黄土区次生植被恢复对土壤有机碳官能团的影响	李 婷, 赵世伟, 张 扬, 等 (5199)
我国东北土壤有机碳、无机碳含量与土壤理化性质的相关性	祖元刚, 李 冉, 王文杰, 等 (5207)
黄土旱塬裸地土壤呼吸特征及其影响因子	高会议, 郭胜利, 刘文兆 (5217)
宁南山区典型植物根际与非根际土壤微生物功能多样性	安韶山, 李国辉, 陈利顶 (5225)
岩溶山区和石漠化区表土孢粉组合的差异性——以重庆市南川区为例	郝秀东, 欧阳绪红, 谢世友 (5235)
夏蜡梅及其主要伴生种叶的灰分含量和热值	金则新, 李钧敏, 马金娥 (5246)
苏柳 172 和垂柳对 Cu ²⁺ 的吸收特性及有机酸影响	陈彩虹, 刘治昆, 陈光才, 等 (5255)
导入 <i>TaNHX2</i> 基因提高了转基因普那菊苣的耐盐性	张丽君, 程林梅, 杜建中, 等 (5264)
空气湿度与土壤水分胁迫对紫花苜蓿叶表皮蜡质特性的影响	郭彦军, 倪 郁, 郭芸江, 等 (5273)
黄土高原旱塬区土壤贮水量对冬小麦产量的影响	邓振镛, 张 强, 王 强, 等 (5281)
咸阳地区近年苹果林地土壤含水量动态变化	赵景波, 周 旗, 陈宝群, 等 (5291)
苗药大果木姜子挥发油成分变化及其地理分布	张小波, 周 涛, 郭兰萍, 等 (5299)
环境因子对小球藻生长的影响及高产油培养条件的优化	丁彦聪, 高 群, 刘家尧, 等 (5307)
不同基质对北草蜥和中国石龙子运动表现的影响	林植华, 樊晓丽, 雷焕宗, 等 (5316)
安徽沿江浅水湖泊越冬水鸟群落的集团结构	陈锦云, 周立志 (5323)
黑胸散白蚁肠道共生锐滴虫目鞭毛虫的多样性分析与原位杂交鉴定	陈 文, 石 玉, 彭建新, 等 (5332)
基于熵权的珠江三角洲自然保护区综合评价	张林英, 徐颂军 (5341)
专论与综述	
中小尺度生态用地规划方法	荣冰凌, 李 栋, 谢映霞 (5351)
土地利用变化对土壤有机碳的影响研究进展	陈 朝, 吕昌河, 范 兰, 等 (5358)
海洋浮游植物与生物碳汇	孙 军 (5372)
多年冻土退化对湿地甲烷排放的影响研究进展	孙晓新, 宋长春, 王宪伟, 等 (5379)
生源要素有效性及生物因子对湿地土壤碳矿化的影响	张林海, 曾从盛, 仝 川 (5387)
生态网络分析方法研究综述	李中才, 徐俊艳, 吴昌友, 等 (5396)
研究简报	
不同群落中米氏冰草和羊草的年龄结构动态	金晓明, 艾 琳, 刘及东, 等 (5406)
主题分辨率对 NDVI 空间格局的影响	黄彩霞, 李小梅, 沙晋明 (5414)

期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 314 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 35 * 2011-09



封面图说: 在树上嬉戏的大熊猫——大熊猫是中国的国宝, 自然分布狭窄, 数量极少, 世界上仅分布在中国的四川、陕西、甘肃三省的部分地区, 属第四纪冰川孑遗物种, 异常珍贵。被列为中国国家一级重点保护野生动物名录, 濒危野生动植物种国际贸易公约绝对保护的 CITES 附录一物种名录。瞧, 够得上“功夫熊猫”吧。

彩图提供: 陈建伟教授 国家林业局 E-mail: cites.chenjw@163.com

丁彦聪, 高群, 刘家尧, 衣艳君, 刘建国, 林伟. 环境因子对小球藻生长的影响及高产油培养条件的优化. 生态学报, 2011, 31 (18): 5307-5315.

Ding Y C, Gao Q, Liu J Y, Yi Y J, Liu J G, Lin W. Effect of environmental factors on growth of *Chlorella* sp. and optimization of culture conditions for high oil production. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31 (18): 5307-5315.

环境因子对小球藻生长的影响及 高产油培养条件的优化

丁彦聪¹, 高 群¹, 刘家尧¹, 衣艳君^{1,*}, 刘建国^{2,*}, 林 伟²

(1. 青岛农业大学生命科学学院, 青岛 266109; 2. 中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

摘要:探讨了不同环境条件对小球藻(*Chlorella* sp.)叶绿素荧光动力学参数以及净光合放氧速率的影响,确定了以 L₁海水培养基为基础,以 8.8 mmol/L 浓度的(NH₂)₂CO 为氮源、0.145 mmol/L NaH₂PO₄·H₂O 浓度为磷源,在 150 μmol·m⁻²·s⁻¹光照强度、培养温度为 18 ℃的小球藻最优培养条件。在此条件下,明显加快了小球藻细胞的生长速度,促进了油脂和脂肪酸的积累,细胞密度增加 24%,油脂和脂肪酸含量分别增加了 16.8% 和 66.6%。在培养液中添加外源柠檬酸(最适浓度以 0.06 mmol·L⁻¹·d⁻¹为宜)可以明显提高小球藻的生长速度,促进其脂肪酸的积累。同时也可看出,筛选的小球藻藻种具有生长快、易培养、产油高的优点,可作为生物能源研究的良好材料,为海洋微藻的开发利用奠定了基础。

关键词:小球藻;环境因子;细胞生长;脂肪酸;优化培养

Effect of environmental factors on growth of *Chlorella* sp. and optimization of culture conditions for high oil production

DING Yancong¹, GAO Qun¹, LIU Jiayao¹, YI Yanjun^{1,*}, LIU Jianguo^{2,*}, LIN Wei²

1 College of Life Sciences, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China

2 Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China

Abstract: After series of screening a marine chlorella was selected for further study. In L₁ seawater medium the chlorophyll fluorescence induction dynamics of *Chlorella* sp. under different environmental conditions was analyzed after 48 hours. The results showed that the chlorophyll fluorescence induction dynamics parameters such as maximum quantum yield (F_v/F_m), per excited cross section (CS) for trapping (TR_o/CS_o), electron transport (ET_o/CS_o), and density of active reaction centers (RC/CS_o) of *Chlorella* sp. were affected by light intensity, temperature, and the concentration of nitrogen and phosphorus. The chlorophyll fluorescence parameters was increased with certain environmental factors, but inhibited when the environmental factors exceeded the limits. The best condition for chlorophyll fluorescence induction dynamics parameters of *Chlorella* was composed of 150 μmol·m⁻²·s⁻¹ light intensity, 18℃ temperature, 8.8 mmol/L NaNO₃, and 0.145 mmol/L NaH₂PO₄·H₂O. The net photosynthetic oxygen evolution rate of *Chlorella* sp. under different environmental conditions was examined, and the results were consistent with that of the chlorophyll fluorescence induction dynamics. Based on the formula of L₁ medium, the optimal culture media of *Chlorella* sp. was determined (8.8 mmol/L (NH₂)₂CO, 0.145 mmol/L NaH₂PO₄·H₂O, 150 μmol·m⁻²·s⁻¹ light intensity, 18℃ temperature). Under the optimized culture conditions, the cell density of *Chlorella* sp. was significantly higher than the conditions before optimization, the cell density reached 6.3×10⁷/mL after 10 days culture, and the density was increased by 24%. The total lipid and fatty acid of *Chlorella* sp. were

基金项目:国家重点基础研究发展(973)计划课题(2011CB200904);国家高技术研究发展(863)计划课题(2008AA09Z403);青岛农业大学人才基金项目(630744);青岛市科技计划基础研究项目(10-3-4-5-3-jch)

收稿日期:2011-02-23; 修订日期:2011-06-23

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yijianjun1@yahoo.com.cn; jgliu@qdio.ac.cn

increased by 16.8% and 66.6% respectively. In addition, the cell growth rate and the accumulation of fatty acids of *Chlorella* sp. were improved by addition of exogenous citric acid (the optimal concentration was $0.06 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). Statistics analysis showed that the fatty acids content of *Chlorella* sp. was positively correlated with citric acid ($P < 0.5$). Under the conditions of optimized light intensity, temperature and $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ concentration, the growth rate, total lipid and fatty acid contents of *Chlorella* sp. with different nitrogen source (NaNO_3 , $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, NH_4Cl , the concentrations were all 8.8 mmol/L) were examined and the results showed that the cell density of *Chlorella* sp. cultured in three types of nitrogen source all reached the highest after 10 days culture. The cell density of *Chlorella* sp. cultured in the medium of $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ as nitrogen source was 1.85 times that of NaNO_3 as nitrogen source, and 1.5 times that of NH_4Cl as nitrogen source. The fatty acid and total lipid contents of *Chlorella* sp. under different nitrogen source conditions were measured, and the results showed that the fatty acid content of *Chlorella* sp. cultured in the medium of $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ as nitrogen source was the highest, accounting for 13.3 percent of the dry weight, and being 2.7 times that of NaNO_3 as nitrogen source, and 1.36 times that of NH_4Cl as nitrogen source. The total lipid content of *Chlorella* sp. cultured in the medium of $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ as nitrogen source accounted for 58.6 percent of the dry weight, slightly lower than the NH_4Cl as nitrogen source, but much higher than the NaNO_3 as nitrogen source. The $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (concentration 8.8 mmol/L) was the best nitrogen source for the culture of *Chlorella* sp.. In summary, the selected *Chlorella* sp. has many advantages such as fast growth, easy culture and high oil production, and can be used as a good material for bio-energy research and also for the development and utilization of marine microalgae.

Key Words: *Chlorella* sp.; environmental factors; cell growth; fatty acids; optimization

随着化石能源的逐渐枯竭,全球正进行着一场用生物可再生资源代替化石能源的资源战略大转移,其中生物柴油作为一种可再生的替代能源越来越受到重视。生物柴油是指以动植物油脂为原料通过酯交换工艺制成的可代替石化柴油的再生性柴油燃料,其原料成本占总生产成本的 50%—85%^[1],因而寻找廉价且可持续大量供应的优质原料对生物质能应用至关重要。

海洋单细胞微藻种类繁多、含油高、生长周期短,可利用海水以及可在盐碱荒地上进行高密度生产,不受季节限制,因此,海洋微藻作为一种生物柴油原料越来越受到人们的关注^[2]。小球藻(*Chlorella*)隶属于绿藻门(Chlorophyta)、绿藻纲(Chlorophyceae)、小球藻科(Chlorellaceae),为球形单细胞藻类,直径 3—8 μm ,种类繁多,在淡水、海水中均有分布。关于高产能微藻的筛选、培养方式及其油脂含量已有一些研究^[3-6],但要获得含油量高、细胞繁殖快的优质海洋微藻种类还要做大量的工作。本文选用课题组分离、筛选的一株高含油量海洋小球藻为实验材料,在 L_1 海水培养基^[7]基础上,研究不同光照、温度、培养液氮、磷的浓度条件下小球藻叶绿素荧光参数的变化,确立小球藻生长的最佳培养条件,并通过分析环境条件对小球藻脂肪酸和总脂含量影响,探讨适宜于小球藻高产油的优化培养体系,为大规模培养小球藻生产生物柴油以及海洋微藻生理生态研究、开发利用海洋微藻奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料和培养

小球藻(*Chlorella* sp.),从数十株海洋微藻中筛选出来的 1 株高含油量藻株,现保存于青岛农业大学生命科学学院用 Guillard 和 Hargraves 的 L_1 海水培养基培养,培养条件为温度(24 ± 0.2) $^{\circ}\text{C}$ 、光照周期 12 h/12 h、光强 $40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,每天摇动 8 次。在不同光照强度(0、100、125、150、175、200、250、500 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)、温度(15、18、20、22 $^{\circ}\text{C}$)、氮浓度(0.88、1.76、3.53、4.41、6.62、8.82、11.03、13.24 mmol/L)、磷浓度(0.036、0.072、0.14、0.22、0.29、0.36 mmol/L)条件下培养一定时间后进行各种指标测定。

1.2 实验方法

1.2.1 小球藻叶绿素荧光参数的测定

小球藻快速叶绿素荧光诱导动力学曲线用便携式 Handy PEA 植物效率分析仪(Hansatech,英国)测定,激

发光波长为 650 nm。测定前先将小球藻在设定的条件下培养 48 h,取 2 mL 待测藻液放入悬浮液标准管,暗适应 15 min,然后启动 Handy PEA 的饱和脉冲光($2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$),测定小球藻快速叶绿素荧光诱导动力学曲线,Handy PEA 每秒钟可以连续记录 10 万次荧光踪迹数据,本实验记录从照光后的 10 μs 到 1 s 的所有荧光参数。根据叶绿素荧光快速诱导动力学曲线,按照 Strasser 和 Strasser 的 O-J-I-P test 的分析方法计算各种荧光参数^[8-9];其中 F_v/F_m 为 PS II 最大光化学效率, CS_o 为($t=0$ 时)照光材料的横截面积, RC/CS_o 为单位面积内反应中心的数量, ABS/RC 为单位反应中心吸收的光能, TR_o/CS_o 为光合机构单位面积捕获的能量, ET_o/CS_o 为光合机构单位面积用于电子传递的能量, $PI_{ABS} = (RC/ABS) \cdot [\varphi_{P_0}/(1-\varphi_{P_0})] \cdot [\psi_0/(1-\psi_0)]$ 是以吸收光能为基础的性能指数,其中 $\varphi_{P_0} = TR_o/ABS = F_v/F_m$, $\psi_0 = ET_o/TR_o$,它比 F_v/F_m 更敏感,能更好地反映环境因子对光合机构的影响。所有测定均重复 5 次。

1.2.2 小球藻光合放氧速率的测定

小球藻的净光合放氧速率用 OXY-LAB 氧电极(Hansatech,英国)测定^[10-11]。取在设定条件下培养 48 h 后的小球藻藻液 2 mL,移入反应杯,打开最适光源,恒温水浴下(最适温度)搅拌 3—4 min,达到平衡后记录耗氧速率的踪迹曲线,并选取一段斜率比较稳定的记录结果计算斜率(每个测定设 3 个重复)。

1.2.3 小球藻生长测定

采用血球计数法测定小球藻细胞密度表示小球藻生长状况,每天定时取样测定。每个测定设 3 个重复。

1.2.4 总脂的提取和脂肪酸检测方法

总脂的提取采用 Folch^[12]的方法;脂肪酸甲酯化采用硫酸-甲醇法^[13],脂肪酸检测使用 GC112A 型气相色谱仪,色谱柱:OmegawaxTM320,30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μm ;测试条件为:程序升温条件:自 60 $^{\circ}\text{C}$ 起以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 150 $^{\circ}\text{C}$ 并停留 2 min,再以 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 265 $^{\circ}\text{C}$ 。载气为高纯度氮气,流速为 90 mL/min,进样量 1 μL ,利用标准参照样品标定各脂肪酸出峰时间和顺序,根据内标(C_{17})的峰面积计算小球藻各种脂肪酸组分的含量。每个测定设 3 个重复。

2 结果与分析

2.1 环境因子对小球藻叶绿素荧光参数的影响

植物叶绿素荧光动力学是一种新型、快速、简便、精确且整体无损伤检测植物光合作用生理状况的新技术,叶绿素 a 荧光信号包含了十分丰富的光合作用过程变化的信息,被视为植物光合作用与环境关系的内在探针^[14]。各种荧光参数由 Handy PEA 软件直接从测定的叶绿素荧光快速诱导动力学曲线中获得。

2.1.1 光照强度对小球藻叶绿素荧光参数的影响

小球藻培养分别用不同光强处理 48 h 后测定荧光参数。由表 1 可以看出,光照强度从 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 增加至 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,小球藻的最大光化学效率(F_v/F_m),光合机构单位面积捕获的能量(TR_o/CS_o)、用于电子传递的能量(ET_o/CS_o)和活性反应中心的数量(RC/CS_o)都在增加,并在 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照强度下达到最高,继续增加光照强度,荧光参数则下降。150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照强度下小球藻的性能指数(PI_{ABS})也是

表 1 不同光照强度下小球藻叶绿素荧光参数的变化

Table 1 Changes of chlorophyll fluorescence parameters in *Chlorella* sp. under different light intensity

光强/($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) Light intensity	F_v/F_m	TR_o/CS_o	ET_o/CS_o	RC/CS_o	PI_{ABS}
100	0.619 $\pm$ 0.004	170.11 $\pm$ 1.57	86.2 $\pm$ 0.78	108.79 $\pm$ 4.04	0.659 $\pm$ 0.04
125	0.621 $\pm$ 0.003	167.08 $\pm$ 7.09	86.38 $\pm$ 3.14	107.19 $\pm$ 4.35	0.699 $\pm$ 0.01
150	0.624 $\pm$ 0.001	176.49 $\pm$ 1.97	91.07 $\pm$ 1.44	115.13 $\pm$ 0.74	0.719 $\pm$ 0.02
175	0.620 $\pm$ 0.001	166.26 $\pm$ 4.78	84.97 $\pm$ 2.34	106.88 $\pm$ 2.74	0.670 $\pm$ 0.01
200	0.613 $\pm$ 0.001	167.96 $\pm$ 1.34	85.91 $\pm$ 0.84	105.97 $\pm$ 0.60	0.642 $\pm$ 0.02

F_v/F_m : 最大光化学效率; TR_o/CS_o : 光合机构单位面积捕获的能量; ET_o/CS_o : 用于电子传递的能量; RC/CS_o : 活性反应中心的数量; PI_{ABS} : 以吸收光能为基础的性能指数

最高,表明在 $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照强度下,小球藻的最大光化学效率、最大捕光效率以及反应中心捕获的激子将电子传递到电子传递链中超过 QA 的其它电子受体的概率都达到最高水平,此时有活性的反应中心的数目也是最多,因此可以将 $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 作为小球藻的最适光照强度。

2.1.2 温度对小球藻叶绿素荧光参数的影响

在不同温度条件下培养小球藻 48h 后叶绿素荧光参数结果列于表 2。结果表明,培养温度为 18°C 时,小球藻的 F_v/F_m 、 TR_o/CS_o 、 ET_o/CS_o 、 RC/CS_o 和 PI_{ABS} 都达到最高值。结果还可看出,温度升高反而导致小球藻活性反应中心的数量下降,进而捕获和用于电子传递的能量减少,造成性能指数降低。当温度为 20°C 时,活性反应中心的数量减少了 26.8%,光合机构单位面积捕获的能量减少了 27%,用于电子传递的能量减少了 28%。温度升高到 22°C ,活性反应中心数量减少了 74.4%,光合机构单位面积捕获的能量减少了 74.6%,用于电子传递的能量减少了 75.6%。可见,小球藻在温度为 18°C 的环境中,单位面积上用来还原 QA 的激发能及进入超过 QA 的电子传递链中的还原能都是最高的,温度升高或者降低都会影响小球藻的光合作用,进而影响小球藻的生长。

表 2 不同温度下小球藻叶绿素荧光参数的变化

Table 2 Changes of chlorophyll fluorescence parameters in *Chlorella* sp. under different temperature

温度 Temperature/ $^\circ\text{C}$	F_v/F_m	TR_o/CS_o	ET_o/CS_o	RC/CS_o	PI_{ABS}
15	0.673 ± 0.002	123 ± 2.14	78 ± 1.08	98.27 ± 2.98	1.72 ± 0.04
18	0.700 ± 0.001	126 ± 2.76	86 ± 1.01	97.03 ± 1.42	2.44 ± 0.02
20	0.691 ± 0.001	91 ± 0.56	62 ± 0.24	71.18 ± 1.71	2.32 ± 0.02
22	0.696 ± 0.001	32 ± 0.76	21 ± 0.15	24.33 ± 0.56	2.16 ± 0.02

2.1.3 氮、磷浓度对小球藻叶绿素荧光参数的影响

氮是植物细胞内蛋白质、核酸等活性物质的重要组成成分,磷则是作为底物或调节物直接参与植物光合作用,因此,培养液中氮和磷的浓度会影响小球藻的生长。在上述最佳光强和温度条件下,本实验以 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ 作磷源(L_1 培养基中浓度),用不同浓度的 NaNO_3 作氮源,研究不同浓度氮素对小球藻叶绿素荧光参数的影响。结果发现,小球藻培养 48 h,不同浓度的 NaNO_3 对小球藻叶绿素荧光参数影响很大(表 3)。综合所有叶绿素荧光参数,小球藻在浓度为 8.8 mmol/L 的 NaNO_3 培养液中生长状况最佳,有活性的反应中心数目最多,最大光化学效率和性能指数都最高。增加和降低 NaNO_3 的浓度,有活性的反应中心数目减少,小球藻的 F_v/F_m 和 PI_{ABS} 下降。

表 3 不同浓度 NaNO_3 培养下小球藻叶绿素荧光参数的变化

Table 3 Changes of chlorophyll fluorescence parameters in *Chlorella* sp. under different NaNO_3 concentration

浓度/(mmol/L) Concentration	F_v/F_m	TR_o/CS_o	ET_o/CS_o	RC/CS_o	PI_{ABS}
3.53	0.675 ± 0.008	31.56 ± 0.74	21.52 ± 0.69	20.71 ± 0.95	2.23 ± 0.09
4.41	0.700 ± 0.007	34.15 ± 0.69	21.58 ± 0.47	24.55 ± 1.47	2.86 ± 0.03
6.62	0.737 ± 0.003	36.84 ± 0.34	23.94 ± 0.56	28.20 ± 1.64	3.31 ± 0.06
8.82	0.739 ± 0.003	35.47 ± 0.71	23.47 ± 0.64	27.20 ± 0.83	3.79 ± 0.12
11.03	0.738 ± 0.002	35.41 ± 0.36	22.82 ± 0.47	24.99 ± 0.91	3.06 ± 0.05
13.24	0.730 ± 0.005	35.05 ± 0.32	22.92 ± 0.43	24.64 ± 0.78	2.93 ± 0.06

由表 4 可以看出,在以最佳浓度(8.8 mmol/L)的 NaNO_3 为氮源时,培养液中不同浓度的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ 条件下小球藻叶绿素荧光参数 F_v/F_m 、 TR_o/CS_o 、 ET_o/CS_o 、 RC/CS_o 均没有明显变化,在 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ 浓度为 0.145 mmol/L 时,小球藻的性能指数最高,可作为最适培养浓度。

表 4 不同浓度 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 培养下小球藻叶绿素荧光参数的变化Table 4 Changes of chlorophyll fluorescence parameters in *Chlorella* sp. under different $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ concentration

浓度/(mmol/L) Concentration	F_v/F_m	TR_o/CS_o	ET_o/CS_o	RC/CS_o	PI_{ABS}
0.036	0.70±0.006	38.09±0.34	25.96±1.37	27.03±0.76	2.76±0.19
0.072	0.71±0.007	37.70±0.55	26.61±1.26	26.71±0.72	3.24±0.11
0.145	0.70±0.006	37.11±0.46	26.47±0.99	26.10±0.69	3.34±0.09
0.217	0.71±0.007	36.52±0.55	25.76±1.23	25.79±0.27	3.26±0.18
0.29	0.71±0.004	36.71±0.42	25.51±0.98	26.77±0.47	3.26±0.13
0.362	0.71±0.005	36.83±0.34	25.41±0.85	26.60±0.47	3.08±0.17

通过对不同环境因子对小球藻叶绿素荧光参数影响的分析,可以看出光照强度、温度、氮和磷浓度都能明显影响小球藻的光系统Ⅱ最大光化学效率、最大捕光效率等荧光动力学参数,影响小球藻的生长,随着这些环境因子强度(浓度)增加,在一定范围内光合作用效率增大,但超过一定强度(或浓度)会抑制小球藻的光合作用。因此用小球藻叶绿素荧光参数作为指标可以优化小球藻培养条件。结果表明小球藻在 $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光照强度、培养温度为 18°C 、以 8.8 mmol/L 浓度的 NaNO_3 为氮源、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 浓度为 0.145 mmol/L 为磷源的环境条件下有利于生长。

为了进一步验证上述结果,又测定了不同环境条件下小球藻净光合放氧速率。结果(图1)表明,小球藻在 $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光照强度下净光合放氧速率最大。

在不同浓度氮(磷营养盐浓度为 L_1 培养基中浓度)条件下的小球藻净光合放氧速率随着培养液中 NaNO_3 浓度的增加而增加,当培养液中 NaNO_3 浓度超过 4.4 mmol/L 时,增加幅度减小(图2),考虑到培养液中氮会随培养时间的延长而消耗,因此,培养液中 NaNO_3 添加的浓度可适当增加。培养液中 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的浓度为 0.145 mmol/L (氮营养盐浓度为 L_1 培养基中浓度)时,小球藻的净光合放氧速率最大(图3)。这些指标与通过叶绿素荧光动力学曲线中获得的结果一致。

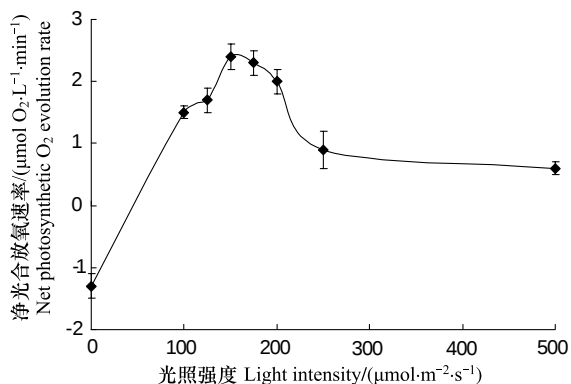
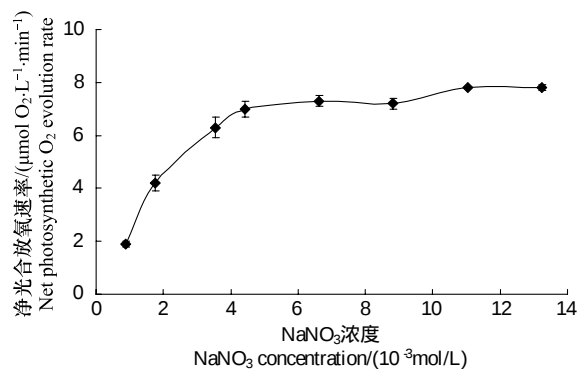


图1 不同光强下小球藻净光合放氧速率的变化

Fig. 1 Changes of net photosynthetic O_2 evolution rate in *Chlorella* sp. under different light intensity图2 不同 NaNO_3 浓度条件下小球藻净光合放氧速率的变化Fig. 2 Changes of net photosynthetic O_2 evolution rate in *Chlorella* sp. under different NaNO_3 concentration

2.2 小球藻的优化培养及其细胞的生长、脂肪酸及总脂含量变化

在2.1部分,利用叶绿素荧光参数作为指标,确定了以 L_1 海水培养基为基础,以 8.8 mmol/L 浓度的 NaNO_3 为氮源、 0.145 mmol/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 浓度为磷源,在 $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光照强度、培养温度为 18°C 条件下小球藻培养的最优条件。

为了证明小球藻最优条件的培养效果,我们测定了最优培养条件下小球藻的生长状况。结果(图4)表明,在优化的培养条件下小球藻细胞密度明显高于优化前的基础条件培养。小球藻在基础培养条件下培养,

第 10 天细胞密度最大,达到 5×10^7 个/mL,之后不再增加;优化条件后培养的小球藻在培养的第 10 天细胞密度达到 6.3×10^7 个/mL,增加了 24%,而且藻细胞密度在随后的时间内一直在增加,18 d 后达到 8×10^7 个/mL,是基础培养条件下细胞密度的 1.83 倍。

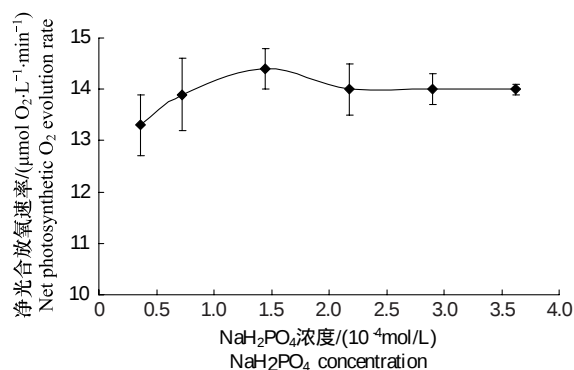


图 3 不同 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 浓度条件下小球藻净光合放氧速率

Fig. 3 Changes of net photosynthetic O_2 evolution rate in *Chlorella* sp. under different $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ concentration

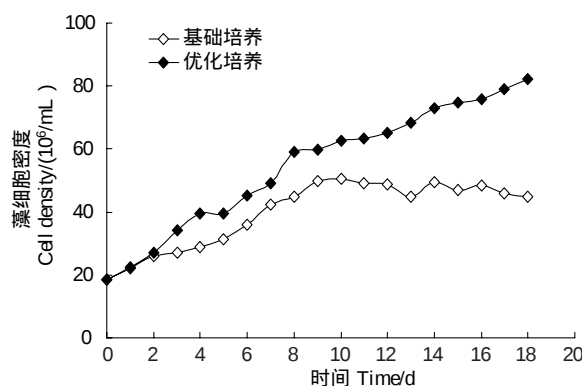


图 4 小球藻的生长曲线

Fig. 4 Growth curves of *Chlorella* sp.

从小球藻在基础培养和优化条件下培养达收获期后总脂及其脂肪酸含量的变化(图 5)来看,采用基础培养的小球藻总脂含量占干重 34.1%,优化培养后总脂含量达 39.79%,增加了 16.8%。采用基础培养的小球藻脂肪酸的含量占干重 5.98%,优化培养后达 9.96%,增加了 66.6%。

2.3 柠檬酸对小球藻细胞生长、总脂及脂肪酸含量的影响

有报道指出,添加外源柠檬酸可以提高微藻脂肪酸合成的速率^[4]。本实验在 L_1 培养基配方基础上,添加浓度分别为 0、0.26、0.52、0.78 mmol/L 外源柠檬酸,结果表明,培养液中添加柠檬酸可以明显加快小球藻的生长速度(图 6)。在培养的最初几天,小球藻在较低浓度的柠檬酸培养液中生长较快,随着培养时间的延长,小球藻在柠檬酸浓度高的培养液中生长速度加快,达到收获期时,在添加了浓度为 0.78 mmol/L 柠檬酸的培养液中小球藻的细胞密度最大(25.2×10^6 个/mL),是对照的 2.5 倍。

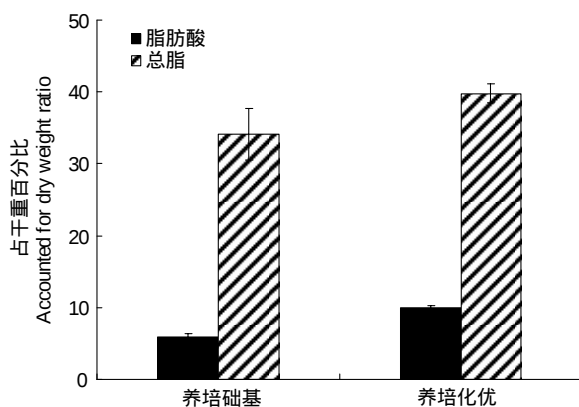


图 5 小球藻总脂及脂肪酸含量

Fig. 5 Total lipid and fatty acid content of *Chlorella* sp.

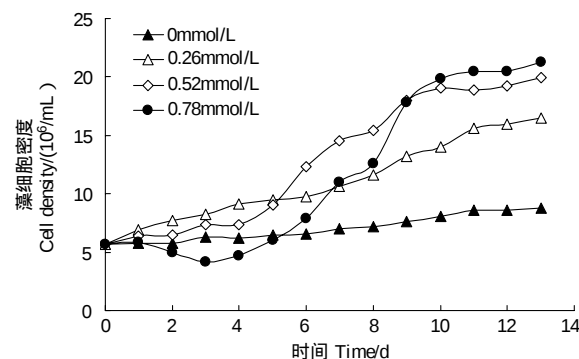


图 6 柠檬酸对小球藻生长的影响

Fig. 6 Effect of citric acid on growth in *Chlorella* sp.

进一步分析小球藻总脂及脂肪酸的含量,在本实验所添加的浓度范围内,小球藻的总脂含量均为干重的 40% 左右,外源柠檬酸浓度对小球藻总脂含量无显著影响($P > 0.5$)。但是,添加外源柠檬酸则明显提高小球藻体内脂肪酸的含量,添加柠檬酸的浓度为 0.78 mmol/L 时,收获后小球藻体内脂肪酸含量比对照提高了

66%, 统计结果显示小球藻脂肪酸的含量与柠檬酸的浓度呈正相关($P < 0.5$) (图 7)。

柠檬酸可以直接被微藻吸收利用, 参与微藻体内的三羧酸循环, 也是脂肪酸合成的重要前体。本实验结果显示, 添加外源柠檬酸不仅可以促进脂肪酸的积累, 还可以提高小球藻的生长速度。但是, 柠檬酸浓度过大容易使培养液的 pH 值下降, 不利于小球藻的生长, 因此建议最好每天逐级向培养液中添加低浓度的柠檬酸 (以 $0.06 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 为宜), 使得培养液中柠檬酸的浓度随小球藻细胞密度的增加而增加, 从而满足了小球藻对柠檬酸的需求^[15]。

2.4 氮源种类对小球藻细胞生长、总脂及脂肪酸含量的影响

研究表明藻类能利用各种形态的氮, 如硝酸盐、铵盐、尿素等^[5-6, 16-17], 为进一步了解小球藻培养的最佳氮源, 本实验研究了在最佳光强、温度和磷浓度条件下, 不同氮源 (NaNO_3 、 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ 、 NH_4Cl , 浓度均为 8.8 mmol/L) 培养条件下小球藻生长及脂肪酸及总脂含量。结果显示, 在 3 种氮源中生长的小球藻均在培养 10 d 后细胞密度达到最高, 但是在 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ 为氮源的培养液中, 小球藻的细胞密度是 NaNO_3 为氮源的 1.85 倍, 是 NH_4Cl 为氮源的 1.5 倍 (图 8)。

由图 9 可知, 不同氮源条件下小球藻脂肪酸及总脂含量, 以 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ 为氮源培养的小球藻脂肪酸含量亦是最高, 占干重的 13.3%, 是以 NaNO_3 为氮源的 2.7 倍, NH_4Cl 为氮源的 1.36 倍。总脂含量占干重的 58.6%, 虽比 NH_4Cl 为氮源略低, 但远高于 NaNO_3 作为氮源。可见, 尿素是小球藻培养过程中最好的氮源。

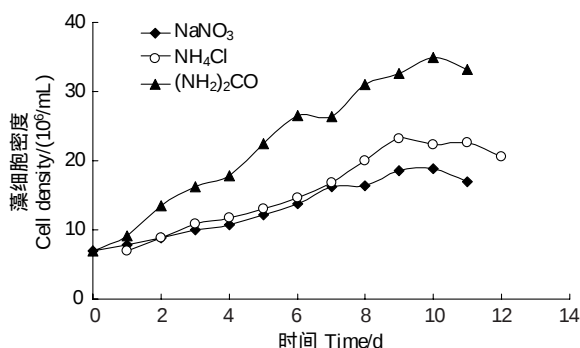


图 8 小球藻在不同氮源中的生长曲线

Fig. 8 Growth curves of *Chlorella* sp. under different nitrogen source

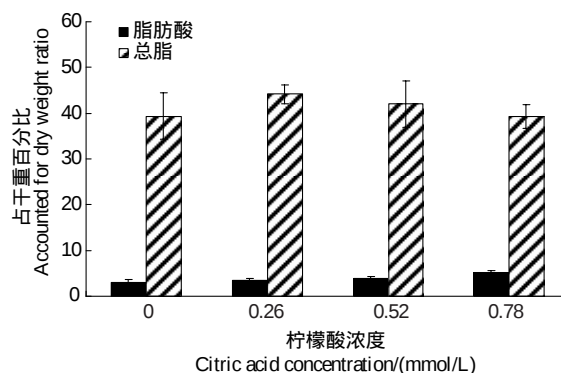


图 7 柠檬酸对小球藻总脂及脂肪酸含量的影响

Fig. 7 Effects of citric acid on total lipid and fatty acid content in *Chlorella* sp.

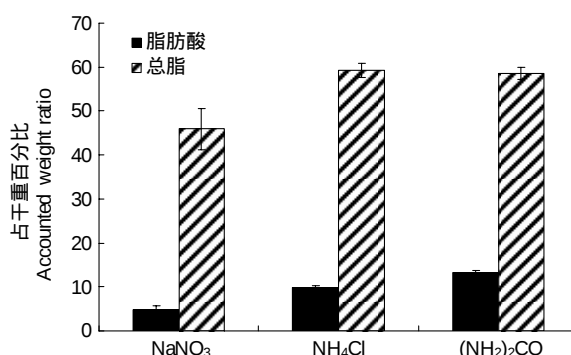


图 9 小球藻在不同氮源中总脂及脂肪酸含量

Fig. 9 Total lipid and fatty acid content of *Chlorella* sp. under different nitrogen source

一般传统培养微藻大都以 NaNO_3 作为氮源。但李斌等^[17]报道海洋微藻利用氮的能力为 $\text{NH}_4\text{-N} > (\text{NH}_2)_2\text{CO-N} > \text{NO}_3\text{-N} > \text{NO}_2\text{-N}$, 原因是 $\text{NH}_4\text{-N}$ 可以直接通过转氨基作用合成氨基酸, 而 $\text{NO}_3\text{-N}$ 需经过相应的硝酸还原酶还原成 $\text{NH}_4\text{-N}$ 进而合成氨基酸, $(\text{NH}_2)_2\text{CO-N}$ 需经过尿素酶脱羧形成 $\text{NH}_4\text{-N}$ 最终被微藻所利用。胡章喜等^[5]发现 *Phaeocystis globosa*, *Scrippsiella trochoidea* 和 *Keletonema costatum* 3 种微藻均可利用尿素生长。郑维发等^[6]采用正交实验方法优化培养舟形藻 *Navicula*, 发现以 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ 为氮源培养的藻液细胞密度明显高于以 KNO_3 为氮源。本实验研究也证明, 微藻能利用多种氮源, 以 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ 作为氮源, 小球藻生长速度快, 脂肪酸和总脂的含量也明显增加, 与胡章喜、郑维发等学者的研究结果一致。

3 结论

筛选作为生物柴油原材料的微藻藻种,主要考虑两个重要指标:(1)生长速度快,生物量高;(2)有较高的含油量。传统的优化研究方法大多采用单因子或正交实验方法^[4,6,18],所需时间长,工作量浩大。研究环境条件对小球藻生长的影响以及对小球藻的生长条件和培养液成分进行优化的目的,正是从提高小球藻的生长速度和促进小球藻总脂和脂肪酸积累量方面考虑。本研究探讨了不同环境条件对小球藻叶绿素荧光动力学参数以及净光合放氧速率的影响,确定了以 L_1 海水培养基为基础,以 8.8 mmol/L 浓度的 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ 为氮源、 0.145 mmol/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 浓度为磷源,在 $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光照强度、培养温度为 18°C 条件下培养小球藻,明显加快了细胞的生长速度,促进了油脂和脂肪酸的积累。同时也可看出,筛选的小球藻藻种具有生长快、易培养、产油高的优点,可作为生物能源研究的良好材料,为海洋微藻的开发利用奠定了基础。

References:

- [1] Song D H, Hou L J, Shi D J. Exploitation and utilization of rich lipids-microalgae, as new lipids feedstock for biodiesel production — a review. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2008, 24(3): 341-348.
- [2] Chisti Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 2007, 25(3): 294-306.
- [3] Liu Q, He M L, Li L, Yu W J, Xu N J, Liu J G. A biodiesel producing micro-algal strain IOAC689S and optimization of its culture parameters. *Marine Sciences*, 2011, 35(1): 29-35.
- [4] Wang L Z, Wen H C, Zou Y, Zhou W W, Xie T H, Zhang Y K. Isolation, selection of microalgae for lipid production and optimization of its nitrogen resource and carbon resource in autotrophic culture. *Microbiology China*, 2010, 37(3): 336-341.
- [5] Hu X Z, Xu N, Duan S S, Li A F, Zhang C W. Effects of urea on the growth of *Phaeocystis globosa*, *Scripsiella trochoidea*, *Skeletonema costatum*. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, 30(6): 1265-1270.
- [6] Zheng W F, Wang X M, Wang Y Q, Chu C C. Effects of different nutritional minerals on the growth of *Navicula* BT001. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2007, 38(2): 157-162.
- [7] Guillard R R L, Hargraves P E. *Stichochrysis immobilis* is a diatom, not a chrysophyte. *Phycologia*, 1993, 32(3): 234-236.
- [8] Strasser B J, Strasser R J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions; the JIP test// Mathis P, ed. *Photosynthesis: from Light to Biosphere*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995, 5: 977-980.
- [9] Li P M, Gao H Y, Strasser R J. Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, 31(6): 559-566.
- [10] Fodorpataki L, Bartha L. Differential sensitivity of the photosynthetic apparatus of a freshwater green alga and of duckweed exposed to salinity and heavy metal stress// Allen J F, Gantt E, Golbeck J H, Osmond B, eds. *Photosynthesis: Energy from the Sun*. Dordrecht: Springer, 2008: 1451-1454.
- [11] Shao Y, Ye W W, Xu K. Effect of temperature stress on photosynthesis in *Myrica rubra* leaves. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(16): 161-166.
- [12] Folch J, Lees M, Stanley G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 1957, 226(1): 497-509.
- [13] Liu J G, Cohen Z, Richmond A. Fatty acids profile in a high cell density culture of arachidonic acid-rich *parietochloris incisa* (Trebouxiphyceae, Chlorophyta) exposed to high PFD. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2002, 20(2): 149-156.
- [14] Liu J Y, Yi Y J, Zhang C D, Yan Z P. The in vivo chlorophyll fluorescence induction kinetics and its application in study of salt resistance physiology. *Journal of Qufu Normal University: Natural Science*, 1997, 23(4): 80-83.
- [15] Watson J A, Lowenstein J M. Citrate and the conversion of carbohydrate into fat. Fatty acid synthesis by a combination of cytoplasm and mitochondria. *The Journal of Biological Chemistry*, 1970, 245(22): 5993-6002.
- [16] Fan C L, Glibert P M, Burkholder J M. Characterization of the affinity for nitrogen, uptake kinetics, and environmental relationship for *Prorocentrum minimum* in natural blooms and laboratory cultures. *Harmful Algae*, 2003, 2(4): 283-299.
- [17] Li B, Ou L J, Lu S H. Effects of different kinds of nitrogen on growth and nitrate reductase activity of *Chattonella marina* (Raphidophyceae). *Marine Environmental Science*, 2009, 28(3): 264-267.
- [18] Fábregas J, Domínguez A, Regueiro M, Maseda A, Otero A. Optimization of culture medium for the continuous cultivation of the microalga

Haematococcus pluvialis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2000, 53(5): 530-535.

参考文献:

- [1] 宋东辉, 侯李君, 施定基. 生物柴油原料资源高油脂微藻的开发利用. *生物工程学报*, 2008, 24(3): 341-348.
- [3] 刘倩, 何梅琳, 李凌, 于文俊, 徐年军, 刘建国. 一种能源微藻 IOAC689S 的筛选和优化培养. *海洋科学*, 2011, 35(1): 29-35.
- [4] 王立柱, 温皓程, 邹渝, 周稳稳, 谢通慧, 张永奎. 产油微藻的分离、筛选及自养培养氮源、碳源的优化. *微生物学通报*, 2010, 37(3): 336-341.
- [5] 胡章喜, 徐宁, 段舜山, 李爱芬, 张成武. 尿素对中国近海 3 种典型赤潮藻生长的影响. *环境科学学报*, 2010, 30(6): 1265-1270.
- [6] 郑维发, 王雪梅, 王义琴, 储成才. 四种营养盐对舟形藻 (*Navicula*) BT001 生长速率的影响. *海洋与湖沼*, 2007, 38(2): 157-162.
- [9] 李鹏民, 高辉远, Strasser R J. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用. *植物生理与分子生物学学报*, 2005, 31(6): 559-566.
- [11] 邵毅, 叶文文, 徐凯. 温度胁迫对杨梅光合作用的影响. *中国农学通报*, 2009, 25(16): 161-166.
- [14] 刘家尧, 衣艳君, 张承德, 闫志佩. 活体叶绿素荧光诱导动力学及其在植物抗盐生理研究中的应用. *曲阜师范大学学报: 自然科学版*, 1997, 23(4): 80-83.
- [17] 李斌, 欧林坚, 吕颂辉. 不同氮源对海洋卡盾藻生长和硝酸还原酶活性的影响. *海洋环境科学*, 2009, 28(3): 264-267.

CONTENTS

CO ₂ emission from an alpine <i>Kobresia humilis</i> meadow in winters	WU Qin, HU Qiwu, CAO Guangmin, et al (5107)
Effect of cultivation on soil organic carbon and total nitrogen accumulation in Cele oasis croplands and their relation to crop yield ...	 HUANG Caibian, ZENG Fanjiang, LEI Jiaqiang, et al (5113)
Biomass and its allocation of four grassland species under different nitrogen levels	 QI Yu, HUANG Yongmei, WANG Yan, et al (5121)
Small-scale spatial patterns of genetic structure in <i>Castanopsis eyrei</i> populations based on autocorrelation analysis in the Tiantai Mountain of Zhejiang Province	 QI Caihong, JIN Zexin, LI Junmin (5130)
Influence of vegetation on frozen ground temperatures the forested area in the Da Xing'anling Mountains, Northeastern China	 CHANG Xiaoli, JIN Huijun, YU Shaopeng, et al (5138)
Analysis of stable carbon isotopes in different components of tree rings of <i>Pinus sylvestris</i> var. <i>mongolica</i>	 SHANG Zhiyuan, WANG Jian, CUI Mingxing, et al (5148)
Retrieval of leaf area index for different grasslands in Inner Mongolia prairie using remote sensing data	 LIU Yibo, JU Weimin, ZHU Gaolong, et al (5159)
Decomposition of lotus leaf litter and its effect on the aquatic environment of the Beili Lake in the Hangzhou West Lake	 SHI Qi, JIAO Feng, CHEN Ying, et al (5171)
Effects of fire disturbance on greenhouse gas emission from <i>Larix gmelinii</i> - <i>Carex schmidtii</i> forested wetlands in XiaoXing'an Mountains, Northeast China	 YU Lili, MU Changcheng, GU Han, et al (5180)
Wetland landscape transition pattern of Lianbo Beach along the Middle Yellow River	 GUO Donggang, SHANGGUAN Tieliang, BAI Zhongke, et al (5192)
Effect of revegetation on functional groups of soil organic carbon on the Loess Plateau	 LI Ting, ZHAO Shiwei, ZHANG Yang, et al (5199)
Soil organic and inorganic carbon contents in relation to soil physicochemical properties in northeastern China	 ZU Yuangang, LI Ran, WANG Wenjie, et al (5207)
Characteristics of soil respiration in fallow and its influencing factors at arid-highland of Loess Plateau	 GAO Huiyi, GUO Shengli, LIU Wenzhao (5217)
Soil microbial functional diversity between rhizosphere and non- rhizosphere of typical plants in the hilly area of southern Nixia	 AN Shaoshan, LI Guohui, CHEN Liding (5225)
Differences in the surface palynomorph assemblages on a karst mountain and rocky desertification areas: a case in Nanchuan District, Chongqing	 HAO Xiudong, OUYANG Xuhong, XIE Shiyu (5235)
Ash content and caloric value in the leaves of <i>Sinocalycanthus chinensis</i> and its accompanying species	 JIN Zexin, LI Junmin, MA Jine (5246)
Uptake kinetic characteristics of Cu ²⁺ by <i>Salix jiangsuensis</i> CL J-172 and <i>Salix babylonica</i> Linn and the influence of organic acids ...	 CHEN Caihong, LIU Zhikun, CHEN Guangcai, et al (5255)
Introduction of <i>TaNHX2</i> gene enhanced salt tolerance of transgenic puna chicory plants	 ZHANG Lijun, CHENG Linmei, DU Jianzhong, et al (5264)
Effects of air humidity and soil water deficit on characteristics of leaf cuticular waxes in alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)	 GUO Yanjun, NI Yu, GUO Yunjiang, et al (5273)
Influence of water storage capacity on yield of winter wheat in dry farming area in the Loess Plateau	 DENG Zhenyong, ZHANG Qiang, WANG Qiang, et al (5281)
Research of dynamic variation of moisture in apple orchard soil in the area of Xianyang in recent years	 ZHAO Jingbo, ZHOU Qi, CHEN Baoqun, et al (5291)
Volatile oil contents correlate with geographical distribution patterns of the miao ethnic herb <i>Fructus Cinnamomi</i>	 ZHANG Xiaobo, ZHOU Tao, GUO Lanping, et al (5299)
Effect of environmental factors on growth of <i>Chlorella</i> sp. and optimization of culture conditions for high oil production	 DING Yancong, GAO Qun, LIU Jiayao, et al (5307)
The effects of substrates on locomotor performance of two sympatric lizards, <i>Takydromus septentrionalis</i> and <i>Plestiodon chinensis</i>	 LIN Zhihua, FAN Xiaoli, LEI Huanzong, et al (5316)
Guild structure of wintering waterbird assemblages in shallow lakes along Yangtze River in Anhui Province, China	 CHEN Jinyun, ZHOU Lizhi (5323)
Phylogenetic diversity analysis and <i>in situ</i> hybridization of symbiotic Oxymonad flagellates in the hindgut of <i>Reticulitermes chinensis</i> Snyder	 CHEN Wen, SHI Yu, PENG Jianxin, et al (5332)
An entropy weight approach on the comprehensive evaluation of the Pearl River Delta Nature Reserve	 ZHANG Linying, XU Songjun (5341)
Review and Monograph	
On planning method of mesoscale and microscale ecological land	 RONG Bingling, LI Dong, XIE Yingxia (5351)
Effects of land use change on soil organic carbon: a review	 CHEN Zhao, LÜ Changhe, FAN Lan, et al (5358)
Marine phytoplankton and biological carbon sink	 SUN Jun (5372)
Effect of permafrost degradation on methane emission in wetlands: a review	 SUN Xiaoxin, SONG Changchun, WANG Xianwei, et al (5379)
A review on the effects of biogenic elements and biological factors on wetland soil carbon mineralization	 ZHANG Linhai, ZENG Congsheng, TONG Chuan (5387)
A review of studies using ecological network analysis	 LI Zhongcai, Xu Junyan, WU Changyou, et al (5396)
Scientific Note	
Dynamics of age structures on <i>Agropyron michnoi</i> and <i>Leymus chinensis</i> in different communities	 JIN Xiaoming, AI Lin, LIU Jidong, et al (5406)
The impact of thematic resolution on NDVI spatial pattern	 HUANG Caixia, LI Xiaomei, SHA Jinming (5414)

2009 年度生物学科总被引频次和影响因子前 10 名期刊★

(源于 2010 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响因子 Impact factor
1	生态学报	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

★《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次,全国排名第 1;影响因子 1.812,全国排名第 14;第 1—9 届连续 9 年入围中国百种杰出学术期刊;中国精品科技期刊

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 31 卷 第 18 期 (2011 年 9 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 18 2011

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元