

文章编号: 1674-7054(2018)04-0457-07

3种微藻生物量监测方法的比较

刘积光^{1,2} 李 昂² 刘平怀²

(1. 海南大学 热带农林学院, 海口 570228; 2. 海南大学 材料与化工学院, 海口 570228)

摘 要: 对生物质干重法、细胞计数法和光密度法3种微藻生物量监测方法进行比较研究,以BG11为基础培养基,在光自养分批培养模式下完成对热带海洋富油微藻 *Desmodesmus* sp. WC08 整个生长周期内的生物量变化监测。结合梯度稀释法,对不同浓度藻液的光密度(OD)、细胞密度和生物质干质量进行测定,建立3种测定微藻生物量方法的数学联系。在最大吸收波长680 nm下,对数生长期的微藻细胞密度与OD值存在线性关系,即 $y = 0.33666x - 0.00288$, $R^2 = 0.9987$; 生物质干质量与OD值呈线性关系,直线方程为: $y = 1.09598x - 0.06404$, $R^2 = 0.97314$ 。分别考察了5种不同培养基下 *Desmodesmus* sp. WC08 生长过程中光密度与细胞密度监测方法结果的差异,以及同一培养基培养5株不同微藻,在生长过程中光密度与细胞密度监测结果的差异。比较结果表明,通过测定微藻的光密度(OD)能较准确的计算出藻液生物量、生物质干质量和细胞密度。光密度法简便可靠,更适用于微藻培养过程中的生物量监测。

关键词: 生长监测; 光密度; 细胞计数; 干质量

中图分类号: Q 93-332

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2018.04.015

微藻是一种肉眼不可见的微小藻类的统称,既有原核种类(如蓝藻),也有真核种类(如绿藻),都能进行光合作用,是地球上最古老的初级生产者之一。随着化石能源的枯竭,在未来的经济建设或社会发展等方面,微藻生物柴油作为一种非常优良的新型可再生生物燃料能源将发挥更大的作用。微藻的理论研究和实际生产均需要知道微藻的准确生物量,但因其个体微小、数量巨大及其测量环境复杂等因素,使得微藻生物量的准确定量难度大,且费时费力,这成了研究和生产工作中亟待解决的难题之一。浮游植物细胞计数,对了解细胞的生长状态、密度测定甚至环境监测等都十分重要^[1-2],但对于细胞较小的藻种,如小球藻、微球藻等,可能因为藻细胞过小,密度过大,在显微镜下计数时容易出现较大的人为误差。近年来,光谱学方法表现出良好的前景,广泛运用于多种物质与生物量等的定量测定^[3],也适用于细胞较小的藻种的测定。在诸多生长检测的方法中,生物质干重法、细胞计数法和光密度法是藻类生物量测定的常用基本方法,也是确定其他测定方法有效性的依据,且3种方法之间存在一定的联系,笔者使用3种方法对微藻生物量进行监测并对比分析,以期获得一个最适于监测微藻生物量的方法。

1 材料与方 法

1.1 材 料 实验所用藻种如表1所示,均由海南大学生物工程实验室提供,全部分离自海南岛周围海域,经鉴定分别为 *Desmodesmus* sp. WC08、*Chlorella* sp. C74、*Monoraphidium* sp. C29、*Micractinium* sp. C67、*Chlorella* sp. QH。仪器:光照发酵罐(瑞士 INFORS),光照摇床(瑞士 INFORS),高速冷冻离心机 CR22G II(日立),冷冻干燥机 LGJ-25C(北京四环仪器),紫外可见分光光度计 TU-1810(普析通用),pH计 PB10

收稿日期: 2018-06-21

修回日期: 2018-10-08

基金项目: 国家科技型中小企业技术创新基金项目(13C26244604892); 海南省产学研一体化项目(CXY20150034); 海南省中药现代化科技专项(ZY201327); 国家科技支撑计划项目(2011BAD14B01); 海口市应用技术与开发项目(2017044)

作者简介: 刘积光(1994),男,海南大学2017级硕士研究生, E-mail: 467174664@qq.com

通信作者: 刘平怀(1967-),男,教授,研究方向: 药食同源植物/微藻及其代谢产物研究开发, E-mail: twlph@163.com

(赛多利斯)。

1.2 培养方法 微藻的培养采用光照摇床培养和发酵罐培养 2 种方式。1) 光照摇床培养: 培养基为 BG-11 液体培养基, 以体积分数为 10% 接种于 1 000 mL 三角瓶中, 三角瓶中装 400 mL 培养液, 置于光照摇床里, 设定温度 26 °C, 搅拌速度 100 r · min⁻¹, 连续光照, 光照强度为 4 000 lx。2) 发酵罐培养: 培养基为 BG-11 液体培养基, 按体积分数为 10% 接种, 生长条件设定为温度 26 °C, 搅拌速度 300 r · min⁻¹, 培养开始后的前 24 h 植物生长灯开启 60%, 光照强度为 6 000 lx, 之后植物生长灯全部开启, 光照强度提高为 10 000 lx, 通入无菌空气, 通气压力为 0.16 MPa。

表 1 微藻的形态特征
Tab. 1 Morphology of microalgae

编号 Code	种属 Microalgae species	大小及形态 Size and morphology
WC08	链带藻(<i>Desmodesmus</i> sp.)	单细胞或无一定数目的细胞群体, 细胞呈椭圆形, 长 4 ~ 6 μm, 宽 3 ~ 4 μm
C74	若夫小球藻(<i>Chlorella</i> sp.)	单细胞, 幼年期细胞椭圆形, 成年期球形, 大小 3 ~ 5 μm
C67	微茫藻(<i>Micractinium</i> sp.)	单细胞, 藻体呈椭圆形, 长 4 ~ 5 μm, 宽 3 ~ 4 μm
C29	单针藻(<i>Monoraphidium</i> sp.)	单细胞, 细胞呈球形, 大小 3 ~ 5 μm
QH	小球藻(<i>Chlorella</i> sp.)	单细胞, 幼年期细胞椭圆形, 成年期球形, 大小 3 ~ 5 μm

1.3 微藻生物量检测方法

1.3.1 显微计数法 藻液稀释时要保持藻液新鲜、均匀且不带入杂质颗粒, 同时还要根据 OD 值来初步估算细胞数目在 15 ~ 30 个/中格。采用 2.5% 戊二醛磷酸缓冲固定液对藻液进行固定孵化。取固定液 10 μL 加入 5 mL 待测藻液中, 轻微振荡后避光孵化 5 min, 取出摇匀取样制片。固定时间为 15 ~ 60 min; 加样制片。边缘计数时遵循“计上不计下, 计左不计右”的原则, 交点处个体只记 1 次。

1.3.2 光密度测定法 微藻最大吸收波长的确定: 取对数生长期藻液, 进行 350 ~ 750 nm 波长扫描, 波长间隔为 5 nm, 获得不同波长下的 OD 值, 以确定最大吸收波长。藻种培养于 20 °C, 光照度 4 000 lx, 光暗比为 12 h:12 h, 待培养 4 ~ 5 d。然后将藻液稀释成浓度梯度, 在最大吸收峰处测其 OD 值, 同时利用血球计数板法在显微镜下对微藻进行计数。以 OD 值对细胞密度作图, 求其吸光系数。

1.3.3 干质量测定法 取新鲜藻液 8 000 r · min⁻¹ 下离心 6 min, 弃上清液, 然后用蒸馏水洗涤, 再离心, 重复以上步骤 2 次, 将藻泥完全移至表面皿上, 涂匀后放入 -40 °C 冰箱预冻。采用冷冻真空干燥 12 ~ 20 h, 取出立即称其质量。在冷冻干燥前要将藻泥厚度均匀的摊在干燥器皿上(可打孔成蜂窝状), 且不可堆积过厚, 保证微藻的干燥时间均匀。

1.4 3 种监测方法间的函数关系测定方法 在光照发酵罐中进行 *Desmodesmus* sp. WC08 的光自养分批培养, 将对数生长期的藻液 3 500 r · min⁻¹ 离心 8 min, 浓缩获得高浓度的藻液, 分别稀释 50 倍, 60 倍, 70 倍, 80 倍, 90 倍, 95 倍, 100 倍, 105 倍, 110 倍, 115 倍, 进行全波长扫描, 确定藻液最大吸收波长。每日在最大吸收波长下分别测定其光密度(OD)、细胞密度和生物质干质量。

1.5 5 种不同培养基生物量分析的测定方法 分别配制 5 种不同的培养液(表 2), 将 *Desmodesmus* sp. WC08 藻种分别置于 5 种培养基中进行培养。使用 1L 柱状玻璃管于高压灭菌锅内 121 °C 灭菌 20 min, 培养液冷却至室温后, 按体积分数为 10% 接种。室温下培养, 光照强度 8 000 ~ 10 000 lx, 从玻璃管顶部连续通入无菌空气, 通气比为 0.25。接种后的第 2 天, 每天取藻样于分光光度计下测定其光密度值和细胞密度, 每次测量 3 次, 取平均值。

表 2 5 种不同培养基

培养基 Medium	去离子水 Deionized water /L	NaNO ₃ /(g·L ⁻¹)	海盐 Sea salt/(g·L ⁻¹)	pH
无	1	1.5	15	7
BG11	1	1.5	15	7
BBM	1	3×1.5	15	7
F/2	1	1.5	15	6.5
BG11	1	1.5	2×15	7

1.6 5 株不同微藻生物量分析的测定方法 统一以 BG11 为基础培养基, 分别将藻种 *Desmodesmus* sp. WC08, *Chlorella* sp. C74, *Monoraphidium* sp. C29, *Micractinium* sp. C67, *Chlorella* sp. QH 按体积分数为 10% 接种于 1L 柱状玻璃管装中, 室温下培养, 光照强度 6 000 ~ 8 000 lx, 从玻璃管顶部连续通入无菌空气, 通气比为 0.25。每日测定其光密度值和细胞密度, 每次 3 组平行, 取平均值。

2 结果与分析

2.1 3 种生物量监测方法的函数关系 不同浓度的藻液全波长扫描结果如图 1。在不同稀释浓度下, *Desmodesmus* sp. WC08 的最大吸收波长均为 680 nm, 这一结果与文献 [4-7] 中微藻培养检测采用的波长一致, 由此确定 680 nm 为最佳检测波长。

以稀释梯度为 50 倍, 60 倍, 70 倍, 80 倍, 90 倍, 95 倍, 100 倍, 105 倍, 110 倍, 115 倍的藻液, 在波长为 680 nm 测定吸光度值 (OD_{680})、细胞密度和生物质干质量(表 3), 从表 3 可见, 不同浓度的微藻细胞其 DW/OD 接近常数, 其值为 0.33 ± 0.01 。所得的标准曲线如图 2, 图 2 中 a, b, c, d 为 OD 值与细胞密度、生物质干质量之间的相互关系曲线。从图 2(a) 可见, 藻液的 OD 值、细胞密度和生物质干质量呈现一种增长的趋势。由图 2(b) 可见, 微藻细胞密度和生物质干质量存在线性关系, 即 $y = 0.019\ 01 + 0.299\ 82x$, $R^2 = 0.977\ 69$ 。由图 2(c) 可知, 藻体干质量与吸光度值存在线性关系^[8], 即

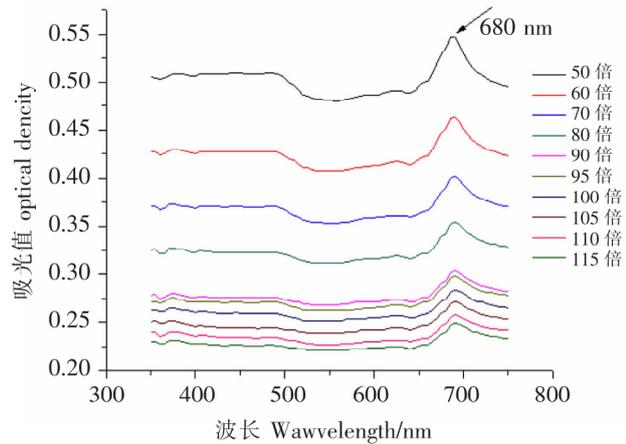


图 1 *Desmodesmus* sp. WC08 350~750 nm 下波谱扫描
Fig.1 Spectral scanning of *Desmodesmus* sp. WC08 at 350~750 nm

$y = -0.002\ 88 + 0.336\ 66x$, $R^2 = 0.998\ 7$, 藻体干质量与吸光度存在极强的线性关系。且从表 3 中可发现不同浓度的微藻细胞生物质干质量和 OD 值的比值几乎为常数。因此, 可根据所测得的吸光度值计算藻液中藻体的干质量; 由图 2(d) 可见, 藻体细胞密度与吸光度值存在较强的线性关系, 即 $y = -0.064\ 04 + 1.095\ 98x$, $R^2 = 0.973\ 14$ 。由此, 可根据所测得的吸光度值计算藻液中藻体细胞密度。笔者通过实验发现 3 种监测方法结果相互间均具有较强的线性关系, 且生物质干质量与吸光值具有极强的线性关系, 这说明使用光密度法测量生物量具有一定的可靠性和准确性。由于 OD 值的测定较简单、方便, 因此, 通过测定在波长为 680 nm 时微藻的吸光值来了解其生长状况, 可以大大简化试验操作, 节省大量时间, 提高试验效率。

2.2 不同培养基下生物量监测结果的差异 培养基的成分和浓度对微藻生长和代谢调控具有很大的影响^[9-10], 由图 3 可以看出, *Desmodesmus* sp. WC08 在海水 BG-11 中的生长明显快于其他几种培养基, 在盐度为 2 倍 BG-11 的高浓度盐的 BG-11 培养基中只能维持存活, 生长极为缓慢; 在 3N-BBM 中很快就进入了平稳期。图 3 结果分析表明 5 种培养基对 *Desmodesmus* sp. WC08 的生物量积累具有显著的影响, 故选择合适的培养基对微藻生物量的积累具有显著影响。微藻藻液是由培养基和悬浮于其中的藻细胞组成, 由图 4 可见, 不同培养基组成下 OD 值所反应的生物量有所差异, 故不能以同一个曲线方程去计算不同培养基下 OD 值所反应的生物量。

表 3 稀释梯度下微藻的吸光度、细胞密度和生物质干质量

Tab.3 Optical density (OD), cell density (CD) and biomass dry weight (DW) of microalgae under the dilution gradient

稀释倍数 Dilution factor	OD_{680}	细胞密度/ $CD(10^7 \text{ 个} \cdot \text{L}^{-1})$ Cell density	生物质干质量 $DW/(g \cdot L^{-1})$ Biomass dry weight	$DW/OD/(g \cdot L^{-1})$
50	0.537	$0.556\ 7 \pm 0.023$	$0.185\ 2 \pm 0.005\ 1$	$0.332\ 6 \pm 0.009\ 5$
60	0.452	$0.401\ 7 \pm 0.021$	$0.132\ 2 \pm 0.004\ 5$	$0.329\ 2 \pm 0.01$
70	0.39	$0.336\ 7 \pm 0.011$	$0.110\ 2 \pm 0.003\ 9$	$0.327\ 2 \pm 0.01$
80	0.343	$0.308\ 3 \pm 0.015$	$0.100\ 3 \pm 0.004\ 1$	$0.325\ 4 \pm 0.012$
90	0.294	0.27 ± 0.014	$0.091\ 1 \pm 0.003\ 2$	$0.337\ 4 \pm 0.011$
95	0.289	0.26 ± 0.012	$0.084\ 6 \pm 0.002\ 3$	$0.325\ 3 \pm 0.008$
100	0.275	$0.236\ 7 \pm 0.01$	$0.076\ 9 \pm 0.002\ 5$	$0.324\ 7 \pm 0.009$
105	0.262	$0.226\ 7 \pm 0.013$	$0.077\ 4 \pm 0.003\ 1$	$0.341\ 3 \pm 0.011$
110	0.249	$0.223\ 3 \pm 0.009$	$0.072\ 8 \pm 0.002\ 9$	$0.326\ 1 \pm 0.011$
115	0.241	$0.218\ 3 \pm 0.007$	$0.070\ 4 \pm 0.001\ 9$	$0.322\ 4 \pm 0.007$

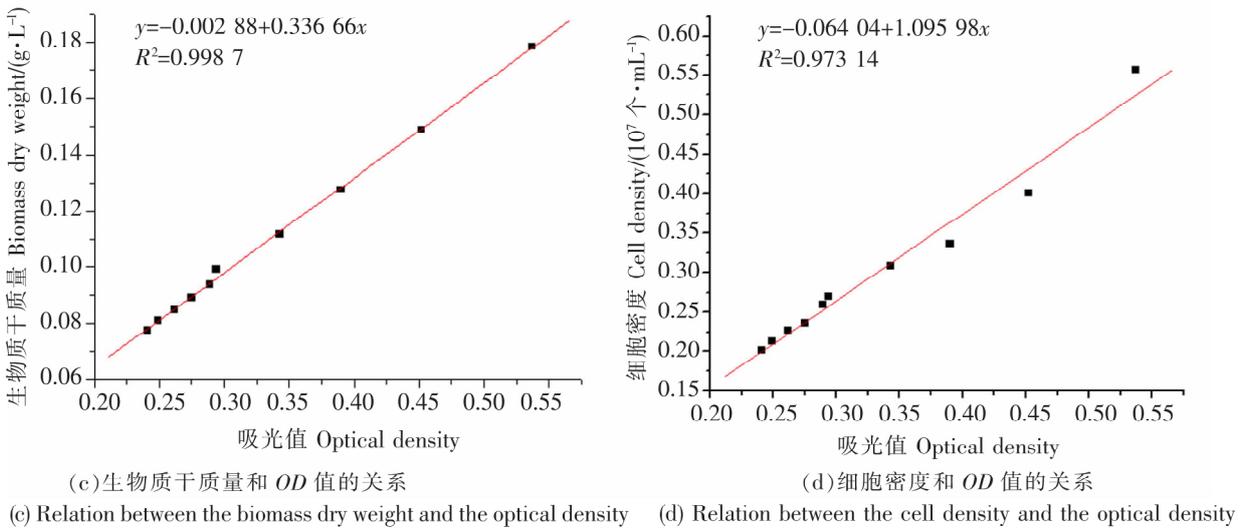
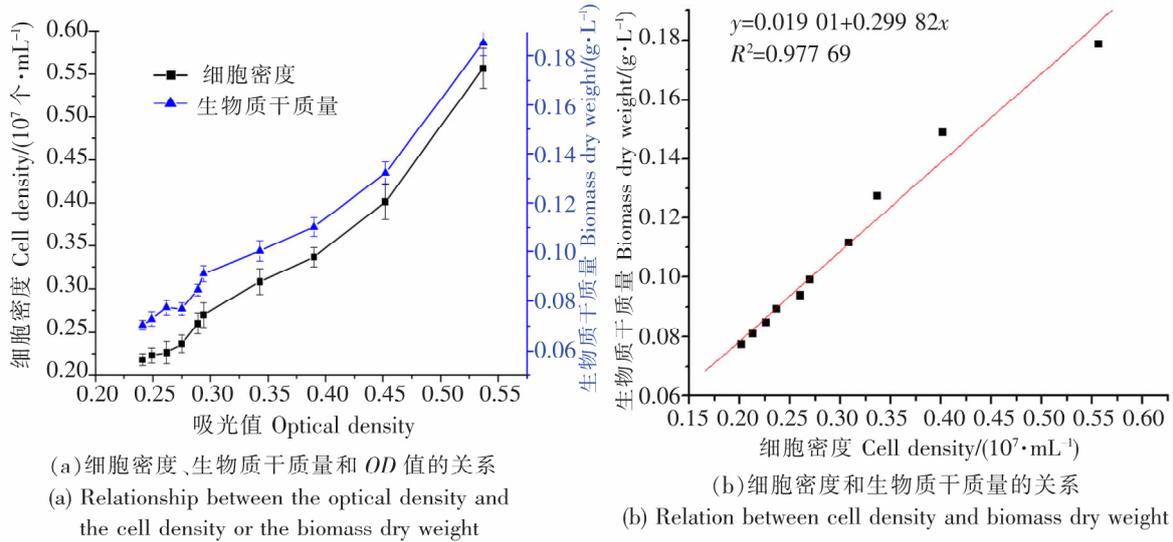


图 2 OD 与细胞密度、生物质干质量的关系

Fig.2 Relationship between the optical density and the cell density or the biomass dry weight

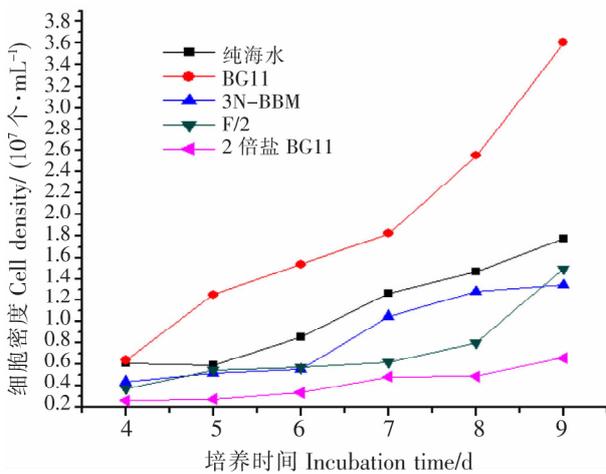


图 3 *Desmodesmus* sp.WC08 在不同培养基中的生长曲线
Fig.3 Growth curve of microalgae *Desmodesmus* sp.WC08 with different culture media

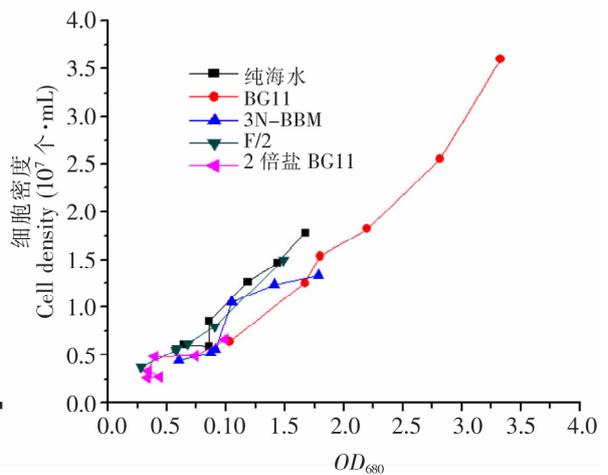


图 4 不同培养基下 OD 值与细胞密度的关系
Fig.4 OD value and cell density under different culture medium

2.3 不同藻种间生物量监测结果的差异 5 种藻种在光自养分批模式培养下吸光值与细胞密度分别见表 4 ,

表 4 5 株藻的吸光值和细胞密度
Tab.4 The optical density and cell density of five different microalgae

藻种 Algal species	指标 Index	第 4 天 Day 4	第 5 天 Day 5	第 6 天 Day 6	第 7 天 Day 7	第 8 天 Day 8	第 9 天 Day 9	第 10 天 Day 10
C67	OD_{680}	0.1	0.199	0.334	0.936	1.492	1.956	2.616
	Cell density	0.115	1.234	1.464	6.354	8.957	10.2	14.07
C29	OD_{680}	2.052	2.462	3.012	3.632	4.524	4.978	5.36
	Cell density	1.425	1.995	3.002	3.433	4.864	5.765	6.12
C74	OD_{680}	0.879	1.14	2.184	2.624	3.16	3.954	4.74
	Cell density	0.78	1.243	2.76	3.521	4.67	5.22	6.81
WC08	OD_{680}	0.418	0.609	0.739	1.21	1.236	1.468	1.667
	Cell density	0.31	0.582	0.698	1.231	1.212	1.382	1.775
QH	OD_{680}	0.086	0.181	0.28	0.513	0.708	1.024	1.37
	Cell density	0.155	0.325	0.685	1.23	1.455	2.245	2.925

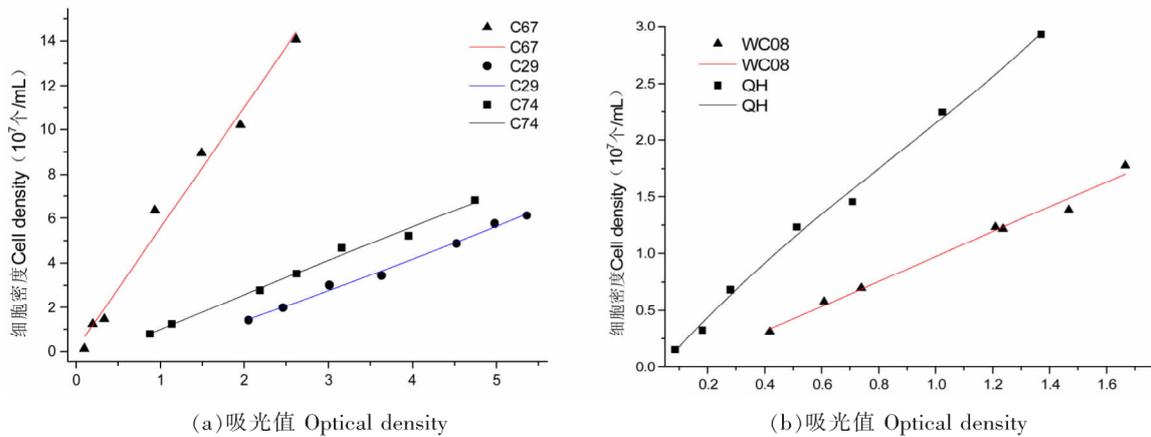


图 5 5 种藻吸光值与细胞密度关系

微藻细胞密度和 OD 值具有良好的线性关系^[11-12]。由图 5 可知,在波长为 680 nm 时,微藻的细胞密度与 OD 值具有较高的线性拟合度。5 种微藻在 680 nm 处细胞密度($y, 10^7$ 个 $\cdot L^{-1}$)与 OD 值(x)的直线方程如下:

- (a) *Micractinium* sp. C67: $y = -1.49926 + 1.42578x$ ($R^2 = 0.99304$)
- (b) *Monoraphidium* sp. C29: $y = 5.45291x + 0.11028$ ($R^2 = 0.98383$)
- (c) *Chlorella* sp. C74: $y = -0.51513 + 1.5315x$ ($R^2 = 0.99172$)
- (d) *Desmodesmus* sp. WC08: $y = -0.1208 + 1.09373x$ ($R^2 = 0.98798$)
- (e) *Chlorella* sp. QH: $y = 0.01007 + 2.15029x$ ($R^2 = 0.99449$)

不同藻种间在 OD_{680} 下细胞密度与 OD 值的关系都可以很好地用二项式方程描述,通过关系图和线性方程可以发现不同藻的 OD 值和细胞密度均表现出较强的线性关系,这表明光密度法监测生物量并不局限于测量某一种藻株,且其他藻株也可以适用光密度法,这种方法的适用性强。

3 讨论

1) 在微藻生物量的测定中显微计数法人为误差较大,重现性较差^[15],干质量测试法操作复杂,耗时长,其与显微计数法一样容易掺杂人为误差^[16],光密度法则具有快速、简便、误差小的特点。本实验的全波长扫描发现微藻最大吸收峰集中在680 nm处,与目前大多数研究结果一致^[3-8]。

2) 通过3种测定方法之间的线性相关性分析,采用光密度法测定微藻生物量与干质量测定法和显微计数法之间均存在较好的一致性,采用光密度法测得的吸光值可以较好地反映微藻的生长速度^[13-14]。在5种不同藻种的细胞密度和 OD_{680} 测量结果的分析中,发现不同藻种细胞密度与 OD_{680} 值均具有较高的线性拟合度,表明藻液 OD_{680} 和细胞密度存在一定的线性关系。在5种不同培养基的细胞密度与 OD 值的结果分析中, OD 值和生物量之间的关系表现出了差异,数学模型结果表明,光密度法可以替代其他2种方法。光密度法操作步骤简单且由仪器测定,实验结果的误差受人为误差的干扰比较小,其误差会小于显微计数法和干质量测试法。

3) 显微计数法和干质量测试法是2种传统的测量方法,近年来被广大研究者使用的光密度法,具有其独特的优势,而光密度法作为一种较新的方法需要更多的实验来进行验证^[17]。本研究的实验在这2种传统方法的基础上进行,在一定程度上验证说明了光密度法是一种简便的、误差小的生物量测量方法。同时通过实验发现在不同培养基培养下,微藻 OD 值和生物量反应有所差异,所以在不同培养基培养的微藻生物量测定其 OD 值和生物量的计算中不能使用同一个曲线方程。

综上所述,光密度法在一定条件下,且 OD 值与生物质干质量具有极强的线性关系,可以准确计算藻体生物质干质量,反映微藻生长速度状况,这种方法简便、耗时短、结果准确可靠,且适用性强,可以替代显微计数法和干质量测试法。

参考文献:

- [1] 欧阳峥嵘,温小斌,耿亚红,等. 光照强度、温度、pH、盐度对小球藻(*Chlorella*)光合作用的影响[J]. 武汉植物学研究, 2010(1): 49-55.
- [2] 黄美玲,何庆,黄建荣,等. 小球藻生物量的快速测定技术研究[J]. 河北渔业, 2010(4): 1-3, 14.
- [3] SANTOS-BALLARDO D U, ROSSI S, HERNÁNDEZ V, et al. A simple spectrophotometric method for biomass measurement of important microalgae species in aquaculture[J]. Aquaculture, 2015, 448: 87-92.
- [4] 沈萍萍,王朝晖,齐雨藻,等. 光密度法测定微藻生物量[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2001, 22(3): 115-119.
- [5] 郝聚敏,郑江,黎中宝,等. 3种微藻在特定波长下的光密度与其单位干重·细胞浓度间的关系研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 28: 17399-17401.
- [6] 孙欣,王华然,杨忠委,等. 三种藻类生物量测定方法比较[J]. 解放军预防医学杂志, 2012, 30(5): 350-351.
- [7] 梁芳,鸭乔,杜伟春,等. 微藻光密度与细胞密度及生物质的关系[J]. 生态学报, 2014, 34(21): 6156-6163.
- [8] 刘学铭,余若黔,梁世中. 分批异养培养小球藻光密度值与干重的关系[J]. 微生物学通报, 1999, 26(5): 339-341.
- [9] 陈思嘉,杨芳,郝文杰. 硒剂量对钝顶螺旋藻的生理生化影响[J]. 海洋学报(中文版), 2007, 29(6): 87-92.
- [10] 梁颖,冯俊丽,徐方娇,等. 一株产油微藻——小球藻的纯化鉴定与培养基的筛选[J]. 科技通报, 2013, 29(3): 40-46.
- [11] 梁芳,杜伟春,鸭乔,等. 绿藻分批培养过程中细胞大小及密度与生物质干重的关系研究[J]. 可再生能源, 2016, 34(1): 152-158.
- [12] 温小斌,梁芳,耿亚洪,等. 两株产油微藻分批培养过程中细胞密度、干重及总脂含量变化[C]//中国海洋湖沼学会藻类学分会. 中国藻类学会第八次会员代表大会暨第十六次学术讨论会论文摘要集. 中国海洋湖沼学会藻类学分会, 2011.
- [13] 吕旭阳,张雯,杨阳,等. 分光光度法测定小球藻数量的方法研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(23): 11104-11105.
- [14] 董正臻,董振芳,丁德文. 快速测定藻类生物量的方法探讨[J]. 海洋科学, 2004, 28(11): 1-2, 5.
- [15] 涂波,曹敏,黄茜,等. 分光光度法与显微计数法测定微小绿藻生物量的比较研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2014, 36(8): 44-50.
- [16] 冯唐锴,江雪,王炳山,等. 混合藻体溶液中藻体浓度检测方法优化的研究[J]. 科技创新与应用, 2017(20): 20-21.
- [17] 蔡卓平,段舜山,朱红惠. 光密度法与计数法测定3种能源微藻细胞生长的相关性及其验证[J]. 南方农业学报, 2012, 43(10): 1480-1484.

An Optimal Method for Biomass Measurement of Microalgae

LIU Jiguang^{1,2}, LI Ang², LIU Pinghuai²

(1. Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China;

2. Department of Materials and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: Five microalgae species, i. e. *Desmodesmus* sp. WC08, *Chlorella* sp. C74, *Monoraphidium* sp. C29, *Micractinium* sp. C67 and *Chlorella* sp. QH were batch cultured under photo-autotrophy with blue-green (BG-11) medium as a basic medium, and their biomasses were measured during their growth. The microalgae cultures were gradient diluted to determine their optical density (OD), cell density (CD) and dry weight (DW), with which mathematical relations with the biomass of the microalgae were established. At the maximum absorption wavelength of 680 nm, the CD and the OD of the microalgae at the exponential growth stage had a linear relation, which was expressed as $y = 0.33666x - 0.00288$, $R^2 = 0.9987$; the DW was linearly related with the OD in a linear equation of $y = 1.09598x - 0.06404$, $R^2 = 0.97314$. The difference between the OD and the CD using *Desmodesmus* sp. WC08 on five different mediums and the difference of five different microalgae species cultured on the same medium between the OD and the CD were compared and analyzed. The results showed that the OD was the best index for calculating of biomass, dry weight and cell density of the microalgae. The OD determination is hence the best method for biomass measurement of the microalgae during the culture.

Keywords: Growth monitoring; optical density; cell count; dry weight

(责任编辑: 叶 静)