



几种海洋浮游藻类的培养

解承林
(山东省水产学校)

海洋浮游藻类的培养,是第二次世界大战后才开展研究的。据报道,用于牡蛎、蛤、贻贝、扇贝、鲍鱼、海参、对虾及鱼类等幼体饲料的种类主要有:单鞭金藻(*Monochrysis lutheri*),等鞭金藻(*Isochrysis galbana*),小金藻(*Chromulina pleiades*),扁藻(*Platymonas* sp.),盐藻(*Dunaliella* sp.),小球藻(*Chlorella* sp.),衣藻(*Chlamydomonas* sp.),绿球藻(*Chlorococcum* sp.),小新月菱形藻(*Nitzschia closterium* f. *minutissima*),三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornerutum*),中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*),舟形藻(*Navicula* sp.),小环藻(*Cyclotella* sp.),及小型角毛藻(*Chaetoceros muelleri*, *Ch. simplex*)等三十余种微小型浮游藻类。自1958年以来,我国先后对扁藻、盐藻、小球藻、小新月菱形藻、三角褐指藻等都不同程度地进行过培养研究。俗话说:“鱼虾能养好,饵料无价宝”,“养殖关键在贝苗,贝苗关键在饵料”。饵料是动物幼体生长发育的物质基础,其种类的适宜,数量的多少,培养的好坏,决定着人工育苗中幼体培育的成败。现将近几年来对藻类培养工作的体会,并结合有关单位的培养经验综合介绍如下。

一、容器的消毒 培养用的各种容器、工具等,必须洗净用高压或加热煮沸消毒。小工具直接加热烧灼消毒。水族箱、培养池等多用50—60ppm漂白粉消毒。

二、培养液的制备 培养液为消毒海水加各种营养盐配制而成。培养用的海水要新鲜清洁。实验证明,含有铁锈、油污、杂质及微小生物的海水都是导致培养失败的原因。小量用水多用加热法(70—80℃持续10分钟即可);大量用水多采用网滤和砂滤。前者系用相当国际标准25号筛绢双层过滤,后者为砂滤池或砂滤缸过滤。

培养液用的营养元素,可根据不同藻类的需要而选配。常用的氮元素有硝酸钾(KNO_3),硝酸钠($NaNO_3$),硝酸铵(NH_4NO_3),硫酸铵 $[(NH_4)_2SO_4]$,氯化铵(NH_4Cl);磷元素有磷酸二氢钾(KH_2PO_4),磷酸二氢钠(NaH_2PO_4),磷酸氢二钾(K_2HPO_4),磷酸氢二钠(Na_2HPO_4);铁元素除用硫酸铁 $[Fe_2(SO_4)_3]$,三氯化铁($FeCl_3$)外,主要用有机铁,柠檬酸铁铵 $[Fe(NH_4)_3(C_6H_5O_7)_2]$,柠檬酸铁($FeC_6H_5O_7$);硅元素有硅酸钾(K_2SiO_3),

硅酸钠(Na_2SiO_3)。在微量元素中,常用的有硫酸锰($MnSO_4$),氯化锰($MnCl_2$),氯化钴($CoCl_2$),钼酸铵 $[(NH_4)_2MoO_4]$,钼酸钠(Na_2MoO_4),硫酸锌($ZnSO_4$),氯化锌($ZnCl_2$)等。营养物质如氨基酸、葡萄糖、维生素 B_{12} 及植物生长刺激素(920)等。室外水泥池大量培养,无机盐主要用硝酸铵和磷酸二氢钾,有机肥主要是发酵或经煮沸的人尿。值得提出的是:大量培养时合理施肥,无机和有机混合使用,其肥料利用率、肥效持久性都得到满意的效果。在小量培养中,加入一定量的海泥提出液(取肥海泥1市斤,加海、淡水各500毫升,经搅拌均匀后煮沸20—30分钟,冷却、静置沉淀,然后取上清液备用),用时,再经消毒,培养效果更为显著。

为了减少称量麻烦,可将营养盐配成水溶液,用时,按需要量加入。微量元素也可配成水溶液,用时按定量加入。

三、常用的培养液

(一)浮游绿藻方面

1.“海洋三号”培养液(扁藻)

硝酸钠	0.10 克
磷酸氢二钾	0.01 克
1%硫酸铁溶液	10 滴
柠檬酸钠($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 11H_2O$)	0.02 克
海水	1,000 毫升

2.常用培养液(扁藻、小球藻、盐藻)

硝酸铵	50—100 毫克
磷酸二氢钾	5 毫克
柠檬酸铁或柠檬酸铁铵	0.5 毫克
海水	1,000 毫升

3.有机培养液

发酵或经煮沸的人尿	5—10 毫升
海水	1,000 毫升

4.盐藻培养液

甲液:氯化钠($NaCl$)	5—10 克
海水	500 毫升
乙液:硝酸铵	50—100 毫克
磷酸二氢钾	5 毫克

柠檬酸铁或柠檬酸铁铵 1 毫克
海水 500 毫升

(用时,将甲、乙两液混合使用)

(二) 浮游硅藻方面

1. 一号培养液

硝酸铵 50 毫克
磷酸二氢钾 5 毫克
柠檬酸铁或柠檬酸铁铵 0.1—0.5 毫克
海水 1,000 毫升

2. 二号培养液

硝酸铵 50—100 毫克
磷酸二氢钾 5—10 毫克
硅酸钾 5—10 毫克
柠檬酸铁或柠檬酸铁铵 0.5—1 毫克
海水 1,000 毫升

3. 有机培养液

发酵或经煮沸的人尿 3—5 毫升
海水 1,000 毫升

四、藻种的分离 筛选优质藻种应要求:

(1) 个体微小(在 20 微米以下),易被幼体吞食;(2) 无论浮游或底栖,都必须与幼体分布一致;(3) 繁殖速度快,易培养。(4) 易消化吸收,营养价值高;(5) 代谢产物无毒,不影响水质。

分离藻种的水样,可取自港湾、蓄水池、水洼、盐田沟渠及培养动物幼体的水族箱、水泥池等。如分离底栖性小型硅藻,可刮取潮间带“油泥”,用密绢筛滤除大型藻类及杂质后再行分离。水样取回后应立即进行显微镜检查,如发现要有分离的藻种,且数量多时,应立即分离培养。否则应先丰富培养后再行分离。

分离的方法有:(1) 微吸管分离法:即利用微细吸管在解剖镜下逐个分离。此法多用于中、小型浮游藻类;(2) 水滴分离法:将丰富培养后的水样,用小吸管滴到载玻片上(每片 4—5 滴)镜检,直接吸取无其他生物混杂的所需藻种滴入培养液中;(3) 琼脂培养基分离法:取琼脂 10—15 克,剪碎加入培养液中,煮沸溶化,调节 pH7.5—8.5 后,即分装于试管和培养皿中,经高压蒸汽灭菌(或间歇灭菌)备用。用时将种液接种在培养基上或蘸取藻液在培养基上平行划线培养;(4) 滤膜分离法:选孔径 1—5 微米的滤膜,装入砂芯玻璃滤器中。抽滤前,先将水样经 25 号筛绢过滤,除去大、中型浮游藻类,再用真空抽气法通过滤膜过滤,微小生物即留在滤膜上。取下滤膜铺在琼脂培养基上培养,在条件适宜时,一周后滤膜上长出不同的生物群落,镜检后,挑选出要分离的藻种,重新加以培养。

五、藻种的培养 目前培养作饵料的种类有扁藻、盐藻、小新月菱形藻、三角褐指藻、骨条藻和舟形藻等,其个体大小,一般都在 25 微米以内,最小者为小球藻,约 4—6 微米。除扁藻、盐藻具有鞭毛能运动外,其

它均无鞭毛。且除骨条藻外,都以单个细胞生活不成群体。具有生长快,繁殖率高,容易培养的特点,为目前培养方法比较成熟的一些种类。

获得纯种后,再扩大培养供生产接种用。扩大藻种培养多用培养缸、水族箱或水泥池(池的大小为 0.5—2 立方米)。其位置应通风向阳,光线充足。室外培养池应搭棚遮盖。以防止阳光直射和雨水入池。

实践证明:选优接种和高比例接种,是培养成功的重要因素。目前生产中接种比例,一般为 1:5—1:10,在大量培养和生产需要的情况下,可提高到 1:2,甚至 1:1。在生产上,采用每日投喂半数,剩下半数加水施肥培养,第二天仍可继续投喂,这样既可保持藻类的生长和数量,也可抑制敌害生物的生长,并缩短了培养周期。

六、藻种的保存 经分离或生产选育出来的藻种,除作生产接种外,还应作较长时间的保存,通常是用固体和液体培养基保种。如在琼脂固体培养基上和常用的培养液中,在弱光低温下保存,或连续培养使其在缓慢生长过程中不断地淘汰、筛选而培养保存。

七、浮游藻类的定量 为及时了解藻细胞的繁殖密度和投喂的饵料密度,可用水滴视野计数法。

八、藻细胞生长指数的测定 可用个体计数法测定培养液中每毫升的细胞个数,然后按

$$n = \lg_2 \frac{N}{N_0} \text{ 公式计算}$$

式中: n 为细胞分裂次数

N_0 为开始接种时培养液中细胞数

N 为培养一段时间后培养液中细胞数

室内培养中测定:在光照、温度、营养盐适宜条件下,经 10 天培养,扁藻平均 18—20 小时繁殖一次,最快一天可繁殖两次。小新月菱形藻平均 16—18 小时繁殖一次,最快一天可超过两次。

九、影响浮游藻类生长繁殖的主要因素

(一) 光照:光照是光合作用能量的来源。目前培养藻类主要靠自然光,为补充阴雨天光照之不足,室内常设有日光灯人工光源。培养中,初步摸索出了几种浮游藻类的生长繁殖速度和光照强度、光照时间的关系,小新月菱形藻和三角褐指藻适光范围为 1,000—15,000 米烛光,最适 6,000—8,000 米烛光,一般不喜直射光照,特别是较长时间的直射光照。扁藻、盐藻适光范围 2,000—20,000 米烛光,最适 10,000—15,000 米烛光。在弱光下表现较强的趋光性,利用鞭毛运动而云集上浮,这时藻液呈鲜绿色云彩状,强光下则很快下沉和附壁。

藻细胞的光合作用率,在适光范围内随光强成正比,当达到最适强度时,光合作用率也达最高值。光合作用率随深度而变化,一般表层强,随深度而减弱。光透入深度的大小取决于藻细胞密度,在高密度下,仅表

层行光合作用，底层常处于“黑暗状态”。所以培养池水深以30—40厘米为宜。光合作用率以每日上午10时到下午3时为最强，一年中春末夏初最强，冬季最弱。但不同种类对光有不同的要求，海洋中蓝、绿藻为长光照耐高温种类，金黄、硅、甲藻等一般喜短光照较低温种类，所以，硅藻的光合作用率最强是在5月份，6月减弱，而绿藻则在夏季，培养中其数量高峰在硅藻之后。

(二)温度：温度是影响藻细胞光合作用率、生长率和繁殖率的重要因素。硅藻适温范围4—23℃，最适16—18℃，一般耐低温力较强，当水温超过23℃以上时，颜色很快变淡，藻体相继死亡，原生动物大量增生。

扁藻、盐藻、小球藻对温度的适应比硅藻高，其适温范围6—30℃，最适20—24℃。北方的6月份正是它生长繁殖的好时候，这时由于温度高，硅藻不易培养，所以在人工育苗中绿藻起了一定的作用。

(三)营养盐类：是影响产量的主要因素之一。培养液中的氮、磷、钾、钠、硅和铁、镁、锰、钴、钼等元素及营养物质等的含量，都会直接影响到培养的效果。这些元素，自然海水中虽有一定量，但在培养过程中由于藻细胞的消耗利用，一般是缺乏的。培养中，我们加入氮、磷、铁的比例一般为 $N:P:Fe=10:1:0.1$ 或 $10:0.5:0.1$ ，从需要量看，浮游绿藻比硅藻高，其氮的用量范围，常为50—200毫克/升，最低20—30毫克/升，高达500毫克/升。磷的用量范围为5—20毫克/升，铁的用量范围1—1.5毫克/升，超过2毫克/升以上时，就有抑制作用。

在培养过程中，由于藻细胞不断地消耗利用，常使营养盐含量降到最低量以下，所以在培养过程中，要不断施肥加以补充来维持其生长繁殖，为稳产高产创造有利的条件。

(四)溶解气体：主要是二氧化碳和氧气。二氧化碳是光合作用的原料，在自然海水中，其总量是充足的，但在人工培养中，由于藻细胞密度过大，白天光合作用增强，二氧化碳往往不足，成为光合作用的限制因子。实践证明：培养中经常搅动，通入空气或少量二氧化碳，都能促进光合作用的增强，提高水体产量。

(五)生物污染：培养过程中，敌害生物污染是经常发生的，有时会导致培养的失败。造成污染的原因很多，如藻种本身的污染；水质的污染；容器、工具不消毒，不专用；肥料不清洁及空气、尘埃的污染等。当敌害生物(如原生动物的纤毛虫、腹毛虫等)大量繁殖时，会在短时间内使培养的藻细胞下沉死亡。因此，培养工作必须随时防止污染，做好藻种的保存及供应工作，高比例接种，保持藻细胞的生长优势和数量优势，保证培养工作的顺利进行。

十、管理工作 必须认真负责，作到“四勤”：

勤检查：除每天定时测温、记录天气情况、巡池观察水色变化及藻体上浮、沉淀等现象外，还必须用显微镜检查一次，以了解藻细胞生长情况及有无敌害生物污染等，发现问题及时解决。同时，每隔1—2天进行一次密度的测定。

当扁藻密度达30—40万个/毫升，小新月菱形藻、三角褐指藻密度达70—80万个/毫升时，即可投喂。投喂后培育池的饵料密度，可随动物幼体的不同发育阶段而增减。一般扁藻、盐藻可保持6,000—8,000个/毫升，小新月菱形藻、三角褐指藻保持在10,000个/毫升左右为宜。其每日投喂次数和投喂量视池中藻类密度而定或根据上述密度要求来补充，随着幼体长大，可逐增投喂量。

勤搅动：搅动对藻细胞生长繁殖大有好处。可增加二氧化碳的溶解量，促进光合作用的增强，减少藻细胞的沉淀和附壁，有助于藻体上浮，使藻液上下混合，防止水表面产生菌膜。因此，在培养过程中，一般每天需搅动5—6次。

勤施肥：培养浮游藻类，经施肥接种后，一般可维持5—6天。为保持营养充足，每隔3—4天应施肥一次，其施肥量视藻体繁殖情况和天气好坏而定，生长期细胞繁殖迅速时可多施，天气晴、水温适宜时可多施，反之少施，在一般情况下以勤施为好。

勤清理：在培养过程中，保持环境清洁，防止污染物入池。对严重污染者，应及时清除，以防蔓延扩大。清除消毒后，应重新接种培养。