

海产植物性活饵料的比较培养*

王 渊 源

(厦门水产学院)

提 要

本文应用光密度对数,计算培养浮游植物的相对生长常数,并换算成繁殖间隔,连同培养繁殖高峰期的累计温度、生物密度,生物量作为培养结果的参数。浮游植物在四种不同的培养液中培养,根据所得培养参数的最优值,为各种浮游植物选配了合适的培养液。对在同种培养液中培养所收获的各种藻类的干样,进行氨基酸含量定性定量测定和营养价比较分析,结合浮游植物用于长毛对虾育苗的饵料效果,筛选出我国当前较优质的植物性活饵料种类。最后用斜面低温暗保种的办法,使得若干藻种能保存一年。

人工大量培养浮游植物作为海产动物幼体的活饵料来源,是海水育苗成功的关键之一。自 Allen 和 Nelson^[7], 1910 年报道培养海洋硅藻来作为动物幼体饵料的效果以来,这种方法已被广泛应用。据郑重(1980)^[8]报道,国外已成功地将培养了十多种浮游植物作为海产动物饵料;郑严(1977)^[7]对 28 种能培养成为经济海产动物幼体饵料的浮游植物作了概括介绍。

我国分离培养海产浮游植物的研究工作始于朱树屏(1942)^[10],此后,在五十年代分离培养的 3 种绿藻(郭季芳,1959;张德瑞,1964)^[1,2],至今仍被沿用作为经济动物育苗的饵料。此外,华汝成(1959)^[3]报道了小球藻的大面积培养,金德祥(1965)^[6]分离培养 3 种硅藻,陈明耀(1978)^[4]分离培养 1 种金藻,陈世杰(1977, 1979)^{[9](a)}报道了 3 种底栖硅藻的混合培养和 1 种黄藻的培养。金德祥(1965)和陈淑芬(1982)研究了光照、温度、盐度变化对培养藻类生长的影响;朱树屏(1964)^[4]和陈明耀等(1978)报道了营养盐的不同对藻类生长繁殖的影响。金娟等(1980)⁽²⁾报道的半封闭式的培养方法。

为了进一步解决海产经济动物育苗的饵料问题,有必要扩大植物性的活饵料的种类并且提高培养效果,为此需要筛选出物理、化学、生物学和经济性状良好的种类并改进其培养方法。本文就目前国内培养的 13 种海产浮游植物在四种不同培养液中进行比较培养,测定培养状态参数,分析了某些种类的氨基酸含量并将其与对虾肉氨基酸含量进行比

* 本文工作中承蒙上海水产学院张道南先生提供部分藻种,并协助完成培养藻类生物量测定,我院郑金宝同志协助完成对虾育苗试验工作,在此一并志谢。

(1) 陈明耀等,1978。湛江叉鞭金藻(*Dicrateria shanjingensis* Hu. var. sp.)的培养和育苗效果初报,水产与教育,(2)。

(2) 金娟等,1980。单细胞半封闭或高密度培养技术研究。山东海水养殖研究所。

(3) 陈世杰等,1977。一种海产微型金藻——异胶藻的大量培养。福建水产科技,1。

较,对它们的饵料效果作了讨论。本文还介绍了斜面保种方法。

材 料 和 方 法

1. 培养液

(1) 仿 *f/2* 培养液

NaNO ₃	74 毫克/升
KH ₂ PO ₄	4.9 毫克/升
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	23 微克/升
MnCl ₂ ·4H ₂ O	178 微克/升
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	7 微克/升
CoCl ₂ ·6H ₂ O	12 微克/升
CuSO ₄ ·5H ₂ O	10 微克/升
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	4.3 毫克/升
FeC ₆ H ₅ O ₇ ·5H ₂ O	3.9 毫克/升
维生素 B ₁₂	0.5 微克/升
维生素 B ₁	100 微克/升
过滤海水	1 升
煮沸冷却。pH = 7.5	

(2) 配方 I 培养液

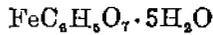
NaNO ₃	74 毫克/升
KH ₂ PO ₄	4.9 毫克/升
FeC ₆ H ₅ O ₇ ·5H ₂ O	5 毫克/升
过滤海水	1 升
煮沸冷却。pH = 7.8	

(3) 配方 II 培养液

NaNO ₃	74 毫克/升
KH ₂ PO ₄	4.9 毫克/升
FeC ₆ H ₅ O ₇ ·5H ₂ O	5 毫克/升
人尿(比重 1.007, 温度 28°C)	2 毫升
过滤海水	1 升
煮沸冷却。pH = 7.8	

(4) 配方 III 培养液

NaNO ₃	74 毫克/升
KH ₂ PO ₄	4.9 毫克/升



5 毫克/升

海泥提取液——取海泥 100 克(约为制备 1 升培养液的 1/10 重)用 200 毫升过滤海水(即泥:水 = 1:2)搅和煮沸,冷却澄清过滤后的全部清液。

煮沸冷却。pH = 7.9。

2. 生物种类

- 湛江叉鞭金藻(*Dicrateria zhanjiangensis*)
- 异胶藻(*Heterogloea* sp.)
- 隐藻(*Cryptomonas* sp.)
- 衣藻(*Chlamydomonas salina*.)
- 亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*)
- 盐藻(*Dunaliella salina*.)
- 卡氏藻(*Carteria* sp.)
- 小球藻(*Chlorella* sp.)
- 中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)
- 牟勒氏角毛藻(*Chaetoceros muelleri*)
- 简单角毛藻(*Chaetoceros simplex* var. *calcitrans*)
- 小新月菱形藻(*Nitzschia closterium* f. *minutissima*)
- 三角褐指藻(*Phaeodactylum tricorutum*)
- 长毛对虾(*Penaeus penicillatus*)

3. 测定仪器

pH 值用 25 型酸度计(上海甘泉五金厂出品)测定;光密度用 72 型分光光度计(浙江新安江仪器厂出品)测定;氨基酸含量用日立 835-50 型氨基酸自动分析仪(日本产品)测定;照度用农用照度计(北师大附属工厂出品)测定。

4. 计算公式

藻类细胞繁殖后所增加的倍数,用下式表示:

$$N_T/N_0 = 2^{KT}$$

N_T ——繁殖后细胞的个数

N_0 ——繁殖前细胞的个数

2——两分裂繁殖方式每次繁殖的数量

K ——单位时间繁殖的次数

T ——单位时间数

如果细胞数量改为光密度 (OD) 表示,即写成下式: $OD_T/OD_0 = 2^{KT}$ 。取十进对数,

即: $\lg OD_T / OD_0 = KT \lg 2$ 。相对生长常数 K 的计算式为: $K = \frac{\lg OD_T - \lg OD_0}{0.301T}$, 其中 $\frac{1}{0.301} \approx 3.32$, 为繁殖系数。如果细胞每天繁殖 1 次, 由 1 个细胞增加到 2 个细胞, 其十进对数的生长常数 $K' = \frac{\lg 2 - \lg 1}{1} = 0.301$ 。

当 $K' = 0.301$ 时, 细胞每天繁殖 1 次。因此, 可用光密度所求得的 K 值, 换算成 K' 时的细胞繁殖次数, 并用小时计算, 可得细胞的繁殖间隔计算式: $G = \frac{0.301}{K} \times 24$ 。

以上的 K 、 G 计算式, 为本文测定培养参数时所用的相对生长常数和繁殖间隔时间的计算式。

试验和结果

1. 浮游植物的培养结果

把每一藻种分置于 4 种不同的培养液中培养。培养期间, 日平均光照度为 849—1510 Lux。培养在常温(25—30°C)下进行。每隔 3 天测定一次光密度, 金藻、隐藻和硅藻用 440 毫微米波长, 异胶藻与绿藻用 660 毫微米波长, 电源 10 伏。用光密度读数的十进对数值绘制生长曲线。

光密度最大读数的培养时间定为培养的高峰期, 把高峰期以前每日的最高气温累加成为累计温度, 并由开始培养时的光密度和高峰期的光密度读数计算 K , 然后换算成 G ; 同时测定培养藻类高峰期的密度与生物量干重。

同一种类在 4 种不同的培养液中培养的比较结果, 择其最优值列于表 1。

表 1 浮游植物比较培养的最优结果

植物种类	高峰期累计温度 高峰期所需天数 (°C/天)	相对生长常数 (K)	繁殖间隔 (G :小时)	高峰时密度 (10^6 个细胞/毫升)	高峰时生物量 (干重:克/升)
湛江叉鞭金藻	664/21(II)	0.1575(II)	45.9(II)	83(II)	0.64(II)
异胶藻	374/12(仿 $f/2$)	0.3770(仿 $f/2$)	19.2(仿 $f/2$)	288(II)	0.77(II)
隐藻	277/9(II)	0.1590(II)	45.4(II)	5(II)	0.30(II)
衣藻	374/12(I)	0.2500(I)	28.9(I)	25(II)	0.52(II)
亚心形扁藻	568/18(II)	0.2086(II)	34.6(II)	7.5(II)	0.65(II)
卡氏藻	374/12(I)	0.3475(I)	20.8(I)	12.5(I)	0.68(I)
中肋骨条藻	181/6(仿 $f/2$)	0.3193(仿 $f/2$)	22.6(仿 $f/2$)	3.7(仿 $f/2$)	0.64(III)
牟勒氏角毛藻	664/21(仿 $f/2$)	0.1619(仿 $f/2$)	44.6(仿 $f/2$)	48(仿 $f/2$)	0.60(仿 $f/2$)
筒单角毛藻	664/21(仿 $f/2$)	0.1499(仿 $f/2$)	48.2(仿 $f/2$)	28(仿 $f/2$)	0.71(仿 $f/2$)

注: 表中括号内为取得数值的培养液代号。

湛江叉鞭金藻 其延缓期在仿 $f/2$ 培养液中比在其他三种培养液中明显, 在配方 III 培养液中的高峰期略短, 可是不能得到培养结果的最优值, 唯有在配方 II 培养液中所得的各项结果都是最优的(图 1)。

异胶藻 在配方III 培养液中,显得营养盐的不足和被过早消耗殆尽,表现在高峰期短且没有获得较大的生物数量,这是接种时藻种数量较多的光密度较大的缘故。在仿f/2 培养液中,没有明显的延缓期,藻类急速繁殖,指数生长期短,仅 12 天就已达达到高峰,因而可有最优的生长常数和繁殖间隔。从表 1 比较中可以了解到这种藻类的繁殖间隔时间是最短的,因此在培养其他藻类时,一旦有异胶藻的污染,常导致异胶藻的迅速繁殖取代所需培养的种类。在配方 II 培养液中,有不长的延缓期,而且高峰期的时间较长,但能获得最大的生物密度与生物量,这是在其他培养液中所得不到的(图 2)。

隐藻 从图 3 可以看出,不管把藻类置

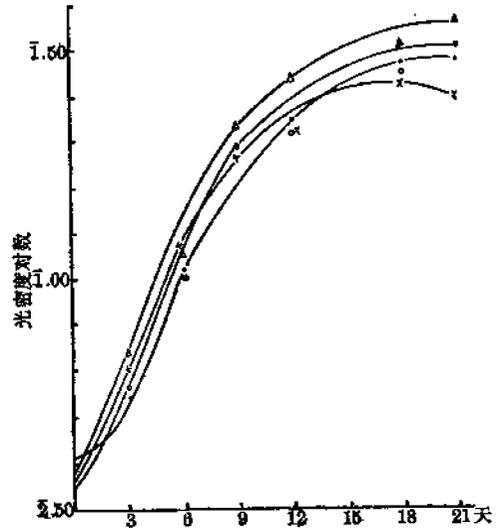


图 1 湛江叉鞭金藻的生长曲线

(● 仿f/2 培养液; ○ 配方I 培养液; △ 配方II 培养液; × 配方III 培养液。下同。)

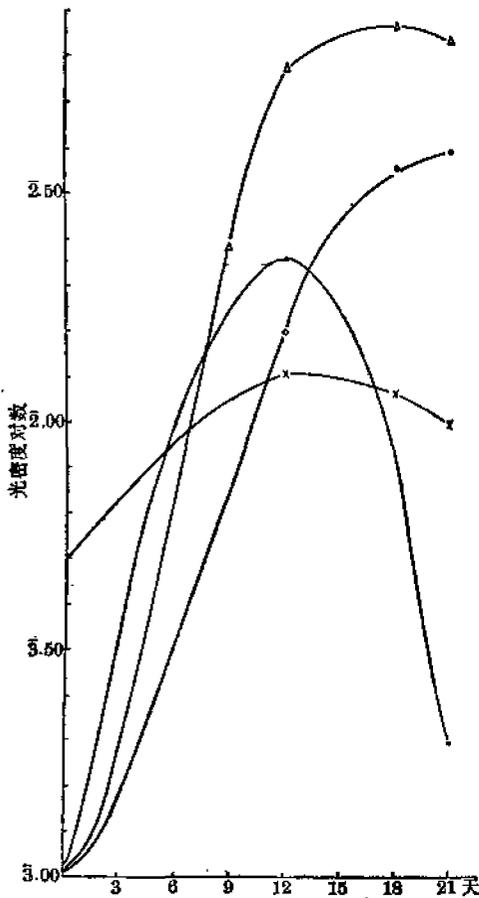


图 2 异胶藻的生长曲线

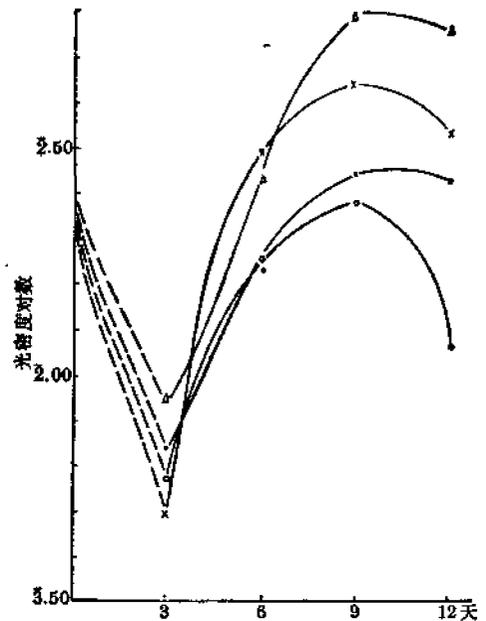


图 3 隐藻的生长曲线

于何种培养液中,开始时总有个光密度下降,这在对数函数关系中其底数小于1,显然对藻类繁殖情况是不切实际的。因此,用虚线表示。待过了下降的光密度后,数量即可增加。在表1列出的各项最优值和图3中在配方II培养液的生长曲线的情况是完全吻合的。

衣藻 除了在配方I培养液外,在其他3种培养液中都有光密度下降现象发生。获得最优的生物密度与生物量的是配方II培养液(图4)。

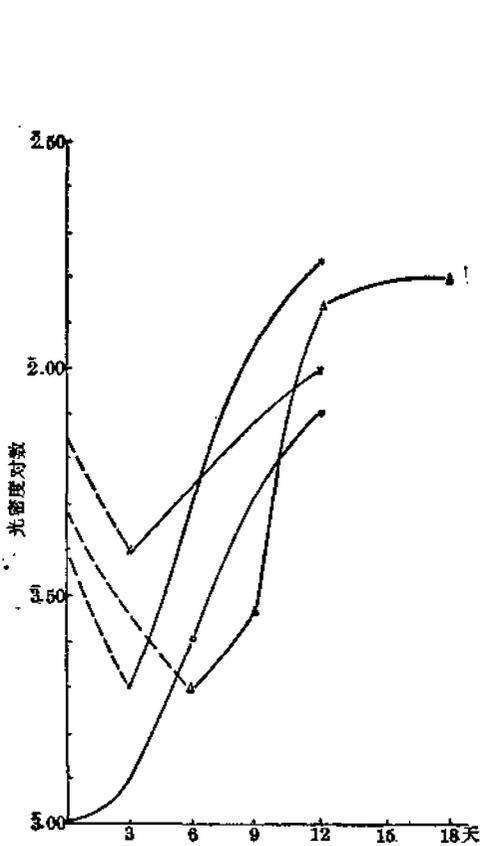


图4 衣藻的生长曲线

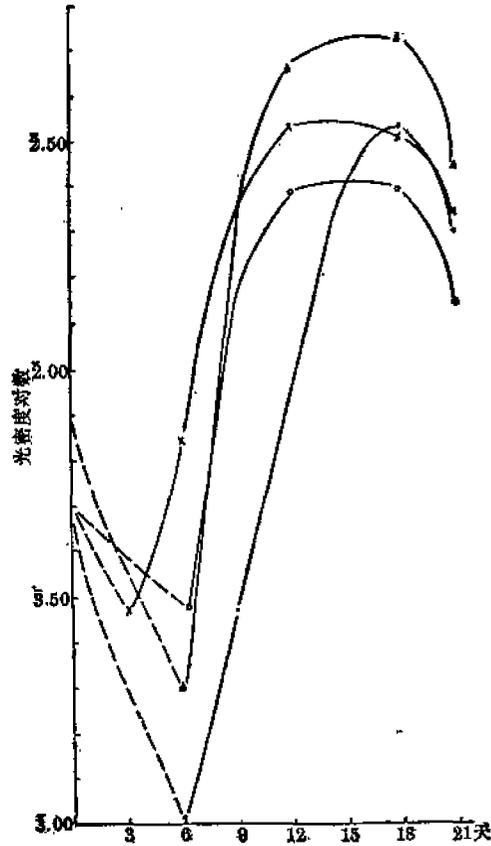


图5 亚心形扁藻的生长曲线

亚心形扁藻 开始培养的最初几天,光密度下降的现象同样存在。从表1与图5中都显示出获得最优结果是在配方II培养液中。虽然在配方III培养液中的高峰期较短,但没有能够获得最优值。

卡氏藻 这种藻类与其他藻类的显然不同之处,是在配方I培养液中能获得最优结果。虽然在图6中有两条曲线在配方I培养液之上,但其接种量远较后者多,因此其相对生长常数与繁殖间隔不如在配方I培养液中的好。

中肋骨条藻 在图7中显示出,在配方II、III培养液中的生长曲线在 $f/2$ 培养液的上方,但也因接种量略高,而培养的结果比起在仿 $f/2$ 培养液也略逊。应该指出的是,这种藻类在培养期间因气温偏高,其高峰期很短,过了高峰期藻类迅速沉淀结块,随即变白死亡。

牟勒氏角毛藻 在四种培养液中,以在仿 $f/2$ 培养液为最优(图8)。

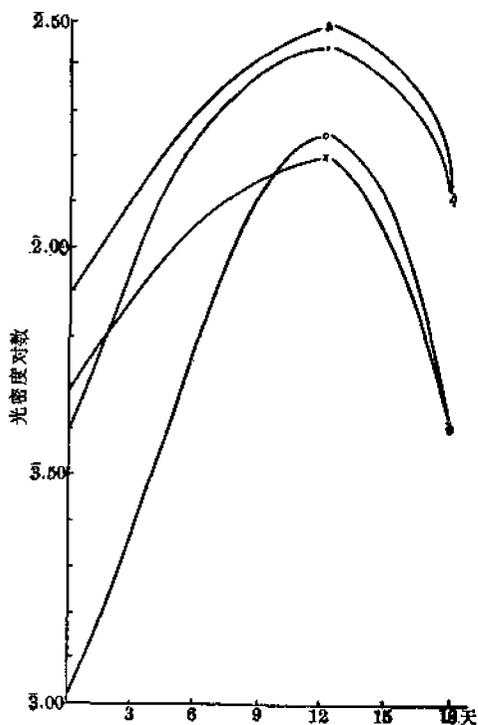


图6 卡氏藻的生长曲线

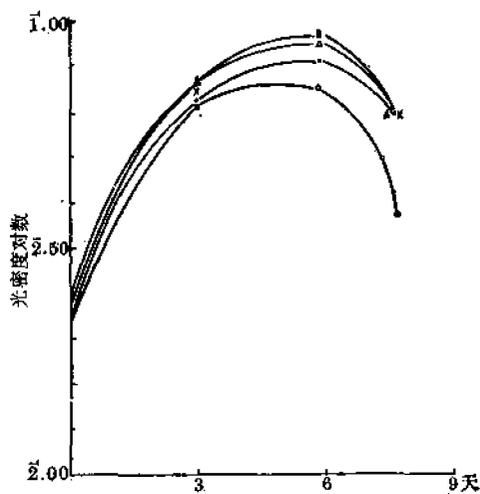


图7 中肋骨条藻的生长曲线

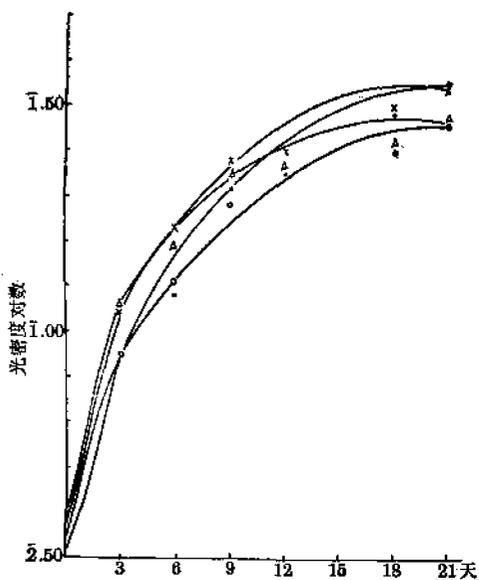


图8 牟勒氏角毛藻的生长曲线

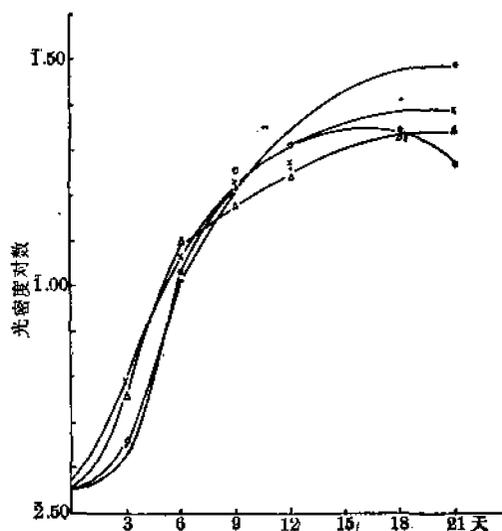


图9 简单角毛藻的生长曲线

简单角毛藻 除了在配方 I 培养液中显得营养不足,高峰期较早到来未能获得较高的生物量外,在其他三种培养液中以在仿 $f/2$ 培养液较合适,能得到其他培养液所不能获得的结果(图 9)。

2. 浮游植物的氨基酸含量

各种藻类皆用仿 $f/2$ 培养液培养,待繁殖高峰后用真空抽滤而获得湿样,经 100°C 烘干,研末后再烘至恒重,称样分装入水解管,加进十倍于干样重量的 $6N$ 的 HCl ,把水解管抽成真空后封闭,置于 110°C 烘箱中经浓酸高温水解 28 小时,后倾入蒸发皿真空旋转蒸发使水解物结晶,加进 2 毫升 $0.01N$ 的 NaOH ,让半胱氨酸氧化为胱氨酸,最后用 $0.02N$ 的 HCl 收集成试样。试样适当稀释后上柱分析,以茚三酮为显色剂,根据仪器记录作藻类蛋白的水解最终产物氨基酸的定量计算。

氨基酸的分析鉴定中,除了半胱氨酸转化成胱氨酸,色氨酸因酸法水解受破坏,天冬酰胺与谷氨酰胺分别包括在天冬氨酸和谷氨酸里面外,其他常见的氨基酸种类都作了定量测定。另外用同样方法测定长毛对虾肉的氨基酸含量,结果列于表 2。

表 2 浮游植物与长毛对虾的氨基酸含量
(微克/毫克干样)

氨基酸	符号	小新月 菱形藻	三角褐 指藻	简单角 毛藻	中肋骨 条藻	湛江叉 鞭金藻	异胶藻	亚心形 扁藻	盐藻	小球藻	对虾肉
门冬氨酸	Asp	41.28	32.24	37.78	25.94	13.53	21.29	23.56	21.26	20.90	64.13
苏氨酸	Thr	18.17	14.31	15.66	11.05	6.75	11.34	11.70	10.62	9.70	23.44
丝氨酸	Ser	16.22	13.05	18.29	11.39	5.79	8.54	10.75	8.75	8.83	21.56
谷氨酸	Glu	45.94	38.66	39.25	23.18	13.74	27.15	39.65	30.87	26.40	99.25
脯氨酸	Pro	26.00	17.85	10.49	8.19	4.62	17.33	11.56	11.42	40.36	40.65
甘氨酸	Gly	21.89	15.10	18.67	13.43	7.06	12.18	14.85	12.46	11.62	53.25
丙氨酸	Ala	28.33	21.60	26.50	13.96	9.18	17.14	24.60	19.64	16.58	35.87
胱氨酸	(Cys) ₂	8.94	8.29
缬氨酸	Val	26.61	20.30	20.42	14.70	8.53	14.75	16.40	14.60	14.13	33.39
蛋氨酸	Met				0.74	0.54	1.02		0.78	0.66	
异亮氨酸	Ile	15.27	13.31	16.04	9.99	5.44	9.59	10.55	9.79	8.23	24.86
亮氨酸	Leu	22.06	21.13	24.43	15.71	9.31	18.41	20.33	16.63	16.83	41.48
酪氨酸	Tyr	14.33	8.03	4.41	4.18	1.89	4.29	6.69	4.85	4.46	16.67
苯丙氨酸	Phe	20.61	14.70	12.46	15.90	8.74	11.75	12.20	11.25	10.47	21.63
赖氨酸	Lys	14.78	11.84	10.70	3.77	3.64	10.55	10.76	8.69	10.49	46.95
组氨酸	His	5.17	4.28	3.54	2.72	1.37	2.93	4.31	2.94	3.64	11.20
精氨酸	Arg	21.06	13.39	11.69	9.25	5.47	12.05	11.84	12.08	11.60	66.44
总量		346.66	259.79	270.33	183.50	105.60	200.31	229.75	196.63	214.90	609.06

注:表中虚线表示极微量,空白表示没有含量。

比较表 2 的总量,藻类中氨基酸的含量由高至低的顺序是:小新月菱形藻氨基酸为 34.6%,简单角毛藻 27.0%,三角褐指藻 25.9%,亚心形扁藻 22.9%,小球藻 21.4%,异胶藻 20.0%,盐藻 19.6%,中肋骨条藻 18.3%,湛江叉鞭金藻 10.5%。对虾肉达 60.9%。

各种藻类的蛋白质所含的氨基酸种类,和氨基酸含量的比例也不同。用对虾肉氨基酸含量作为基数,使各种藻类所含的氨基酸营养价值为对虾的相对百分率(表 3)。由于对虾肉缺少必需氨基酸的蛋氨酸,因此使中肋骨条藻、湛江叉鞭金藻、异胶藻、盐藻、小球藻

表3 浮游植物同对虾肉的氨基酸比价(为对虾肉氨基酸含量的百分率)

氨基酸	小新月 菱形藻	三角褐 指藻	简单角 毛藻	中肋骨 条藻	湛江叉 鞭藻	异胶藻	亚心形 扁藻	盐藻	小球藻	对虾肉
门冬氨酸	64	50	59	40	21	33	37	33	33	100
苏氨酸	78	61	67	47	29	48	50	45	41	100
丝氨酸	75	61	85	53	27	40	50	41	41	100
谷氨酸	46	39	40	23	14	27	40	31	27	100
脯氨酸	64	44	26	20	11	43	28	23	99	100
甘氨酸	41	28	35	25	13	23	28	23	22	100
丙氨酸	79	60	74	39	26	48	69	55	46	100
胱氨酸	108									100
缬氨酸	80	61	61	44	26	44	49	44	42	100
蛋氨酸				>100	>100	>100		>100	>100	100
异亮氨酸	61	54	65	40	22	39	42	39	33	100
亮氨酸	53	51	59	36	22	44	49	40	41	100
酪氨酸	86	48	26	25	11	26	40	29	27	100
苯丙氨酸	95	68	58	74	40	54	56	52	48	100
赖氨酸	31	25	23	8	8	22	23	19	22	100
组氨酸	46	38	32	24	12	26	38	26	33	100
精氨酸	32	20	18	14	8	18	18	18	17	100
总量	1039	708	728	612	390	635	617	623	672	1700

的价值有所提高(图10)。

值得指出的是,能促进动物幼体发育与生长的赖氨酸,在各种藻类中的含量的价值顺序是:小新月菱形藻、三角褐指藻、简单角毛藻与亚心形扁藻、小球藻与异胶藻、盐藻、中肋骨条藻与湛江叉鞭金藻。

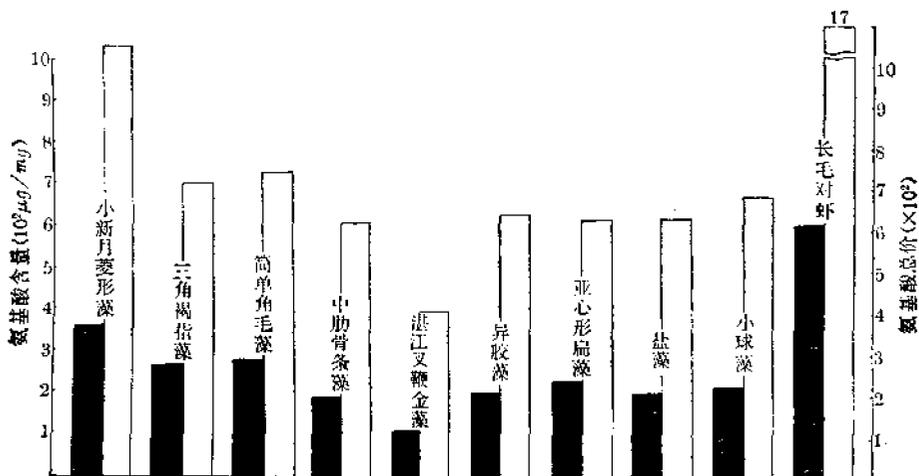


图10 藻类与对虾氨基酸总含量与总价

3. 浮游植物的饵料效果

饵料效果试验,是在过滤海水的水温、比重,光照条件与幼体密度都相同,只是长毛对虾幼体不是同一雌体所产的条件下进行的。当幼体过了无节幼体期 (nauplius),从溞状期(joea)开始施以不同种类的浮游植物饵料,每天换水量为培育池的 2/3,并补充饵料使饵料浓度维持在一定水平,培育期未经充气增氧,培育至糠虾幼体期(mysis)时成活率列于表 4。

表 4 用浮游植物培育长毛对虾苗的饵料效果
(育苗水温: 27—29℃,比重: 1.016)

项 目	饵 料 组 别								
	湛江叉鞭金藻	中肋骨条藻	三角褐指藻	牟勒氏角毛藻	简单角毛藻	小新月菱形藻	亚心形扁藻	混合 I	混合 II
对虾幼体密度(个/升)	52	52	52	52	52	52	52	52	52
日平均饵料密度 (10^6 个细胞/毫升)	14	4.9	7.1	10	12	7.1	6.9	8.9	13
至糠虾期成活率(%)	0	10.5	1.5	3.0	42	4.0	9.0	14.5	29.5

注: 混合 I 组——湛江叉鞭金藻:中肋骨条藻:三角褐指藻 = 1:1:1

混合 II 组——牟勒氏角毛藻:简单角毛藻:亚心形扁藻 = 1:1:1

从育苗的饵料效果不难看出,单种饵料试验结果,以简单角毛藻最好,其次是中肋骨条藻,再次是亚心形扁藻。然而各组单种饵料的平均成活率仅 10%,混合组的平均成活率可达 22%,而且混合饵料中,以简单角毛藻与亚心形扁藻为主的一组比另一组的效果好,这和单种饵料实验的结果是一致的。

应该指出的是,小新月菱形藻、三角褐指藻的营养价值要比其他藻类高,但在育苗实验中气温突然上升高于 25℃,超越了这两种藻类生活忍受的最高温度界限,使藻类的质量受到影响而没有能够显示出应有的饵料效果。

4. 浮游植物的斜面保种

在春季,用两倍仿 $f/2$ 培养液的浓度配成 1.2% 的琼脂,过滤后分装入试管,常规消毒 (15 磅, 30 分钟) 后制成斜面,于无菌条件下在斜面上分别接种各种藻类,放置于保种室作斜面培养,当斜面上繁殖至可见颜色的藻群后,用塑料薄膜把棉塞扎紧防止干燥,把保种的斜面分成两组。一组仍放在保种室为常温组,用自然光光照,年室温范围 8—34℃;另一组放进冰箱为低温组,无光照,偶然几次移出箱外曝光,年常温 10℃。比较保种一年后,在保种试管中加进仿 $f/2$ 培养液,至藻类繁殖时检查藻类生长情况,其结果列于表 5。

从斜面保种的结果可以看出:小新月菱形藻、三角褐指藻、湛江叉鞭金藻采用斜面保种时必须保持低温,才能保种;而异胶藻、衣藻、小球藻、盐藻采用斜面保种时,只需常温即能保种一年。

表 5 浮游植物的斜面保种结果

植物种类	保种的成功率(%)		群落形状
	低温组	常温组	
洪江叉鞭金藻	50	0	密集星落
异胶藻	100	100	弥散延伸
衣藻	100	100	弥散延伸, 鞭毛脱落
亚心形扁藻	100	未作试验	蛇形延伸
盐藻	50	50	散在星落
小球藻	100	100	弥散延伸
小新月菱形藻	100	0	弥散延伸
三角褐指藻	100	0	弥散延伸

讨 论

1. 浮游植物在适宜的培养条件下, 细胞生长到一定程度时, 即行无性分裂繁殖, 其数量的增加按 2^x (x 为分裂次数) 指数增加。Karsten(1928)^[11] 推荐 Hensen 用于计算枯腐菱形藻 (*Nitzschia puterida*) 繁殖率的公式是 $\lg W = (\lg O - \lg A) / n$, 而 Г. Г. Винберг (1957)^[10] 用 $K = 1/b \cdot \lg(N/N_0)$ 求得小球藻的生长率, G. E. Fogg (1953, 1965)^[12, 13] 都介绍小球藻相对生长常数计算公式的来源和应用, B. Fott (1971)^[14] 在专著中也同样使用公式: $K = \frac{\ln N - \ln N_0}{T}$, 并且都把自然对数换成十进对数, $K = \frac{\lg N - \lg N_0}{T}$, 然后由

相对生长常数换算成繁殖间隔 (小时): $G = \frac{0.301}{K}$ 。

应该指出的是, 以上 K 的计算没有乘进繁殖系数。

根据相对生长常数的关系式, 一般可用于细胞繁殖 (包括微生物) 的种群生长情况, 或依据已知的常数计算出培养时间的细胞数量。这个关系式中细胞数量虽然是用对数值表示的, 但是对数的底数由自然对数改换成十进对数后同细胞繁殖的实际情况有很大的差别。因为藻类的无性繁殖可能是两分裂的也可能是似亲孢子方式的, 要由此来决定对数的底数是取 2 还是取大于 1 的某自然数。因此, 这个关系式是理论值, 或是接近于实际情况的理论值, 是培养细胞的比较参数。

计数细胞的数量是件很繁琐的工作。J. M. Kain 等 (1958)^[15] 曾用光密度的对数绘出球等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 的生长曲线。金德祥 (1965) 采用光密度与细胞个数对照的办法绘出中肋骨条藻的生长曲线。在光电分光光度计测定仪中, 测样颜色浓度与透光率成反比, 即颜色愈浓, 光密度愈大, 表示藻类的细胞也愈多, 根据这种关系用光密度与细胞数量关系的标准曲线可由光密度求得细胞的数量。那么采用光密度的对数代替细胞量的对数也成为有可能的, 进而由光密度对数求得的相对生长常数也可作为培养藻类的参数, 然后再把相对生长常数换算成具体的繁殖间隔。繁殖间隔的意义与相对生长常数相反, 数值越小为最优值。

有鞭毛的种类在培养开始后先是光密度下降, 产生这种现象的原因, 可能是实验材料

与测定仪器的不协调。由于有鞭毛藻类能浮动,当其数量很少时,吸收光的量子不足以使仪器显示出稳定的读数,因此光密度下降期间的读数都是波动的,待至有一定浓度时光密度才能正常显示,且和藻类数是成比例。另一个产生光密度下降的原因是刚接种的藻类需要有一段适应的时间,在适应期中藻类附于壁上而光密度下降。本文计算生长常数时,规定采用开始的光密度(OD_0)与高峰期的光密度(OD_T),能得到比较好的结果。

除此之外,培养藻类高峰期的累计温度是浮游植物适应温度的生物学特性。因为在温度适宜其他培养条件相同时,温度条件对培养有明显的影响,即高温季节高峰期短,低温季节的高峰期长,然而同一季节里累计温度较小时的培养条件是藻类优良培养条件的参数,即高峰期前的时间短。培养的最终目的,是要获得尽可能多的藻类细胞,因此高峰期的藻类密度与生物量也当然地是比较培养的参数。

藻类在相同的温度与光照条件下培养,培养液的营养成分、数量及其相互比例是藻类生长的限制因素。可是,当培养液相同时,改变温度与光照也会影响藻类的生长。因此,在比较培养效果时,各种藻类高峰期的最小累计温度,最大的相对生长常数,最短的繁殖间隔时间,最高的生物密度,以及最大的生物量,是求得最佳培养参数的依据。表1就是以此为依据制出的。

2. 在 J. R. Stein(1973)^[16]介绍了 Guillard(1962) 在配方“*f*”培养液的基础上研制的 *f/2* 培养液配方。本文的仿 *f/2* 培养液作了如下一些更动:省略其配方中的硅酸钠 0.054—0.107 毫克分子、氨基钴维生素 0.5 微克、维生素 H 0.5 微克,而增添了维生素 B₁₂ 0.5 微克,其他营养元素与含量未作改变。原 *f/2* 培养液需用甘氨酸将 pH 缓冲调整到 7.4,仿 *f/2* 培养液不需调整其 pH 即为 7.5。

仿 *f/2* 培养液虽然比 *f/2* 培养液作了一些更动,但其中的微量元素与络合物的配制还是繁琐的,而且成本高昂,不利于推广。因此在比较培养液配方时,把微量元素与络合物省掉成为只有氮、磷、铁元素的配方 I 培养液,或像配方 II 与配方 III 培养液那样,改用有机肥料代替微量元素。

根据培养结果的参数最佳值比较,中肋骨条藻、牟勒氏角毛藻、简单角毛藻用仿 *f/2* 培养液较合适,卡氏藻可用配方 I 培养液,湛江叉鞭金藻、异胶藻、隐藻、衣藻、亚心形扁藻用配方 II 培养液合适。

由于仿 *f/2* 培养液的营养全面,有螯合物质使培养液调和,营养放散缓慢,适用于液体或固体保种培养。

3. 蛋白质是藻类细胞的基本物质,而蛋白质是由各种氨基酸组成的,在追溯蛋白质的来源时,优先追溯氨基酸的来源。藻类细胞的氨基酸来源是同化环境营养的结果。如 Fowden(1962)介绍 Catch(1954)⁽¹⁾对小球藻做了 C¹⁴ 的试验,指出叶绿体中丙氨酸、丝氨酸、门冬氨酸、谷氨酸是由碳还原循环的中间产物所形成的。Syrett(1962)引述 Hattori(1958)^[17]等试验普通小球藻、椭圆小球藻氨基酸的形成,结果是铵态氮的同化作用在最初 15 分钟内,使丙氨酸、谷氨酰胺(Glutamine)等显著增加,而精氨酸形成量较少。在后期,谷氨酸、门冬氨酸、赖氨酸、脯氨酸大量增加。硝基氮也有同样的效果。Sy-

(1) In "Physiology and Biochemistry of Algae" A. P., 1962, 189—205.

rett 还认为氨被结合为氨基酸的主要反应是酮戊二酸转化为谷氨酸的还原性胺化作用。显然,培养液的营养差别将影响藻类同化产物与含量的不同。

本文的各种藻类皆在仿 $f/2$ 培养液中培养,其培养液的差别已被消除,而能比较各种藻类对营养的利用率,即其含有的氨基酸的种类和含量比例的不同,从而确定其营养价值。

在筛选经济海产动物育苗的活饵料时,不仅要考虑其形态与大小,更重要的要考虑其营养价值。影响长毛对虾育苗的成活率的因素是多方面的,如果撇开其他因素不谈,只从饵料的营养价值来考虑,那末目前国内较高质量的植物性活饵料有小新月菱形藻、三角褐指藻、中肋骨条藻、简单角毛藻、亚心形扁藻。按照它们的生长季节,在春秋育苗时可采用前 3 种,在初夏育苗时可采用后面 2 种。

4. 藻类在保种期间,仅要求它能维持生活状态而并不要求它尽快繁殖。因此降低温度减少光照是保种的基本措施。采用低温保种时,既要使其降低其代谢率,又要注意不致损坏藻类细胞。本文实验中选用 10°C 的结果,是较合适的保种温度。

藻类在光照条件下进行同化作用,在暗条件下,不仅进行呼吸作用,也同样进行微弱的同化作用,甚至有异养代谢,因此也进行细胞分裂。Tamiya(1953)^[19] 把小球藻在光照条件下分裂的细胞称为光细胞,在暗条件下分裂的细胞称暗细胞,前者大于后者,且两者可以互相转化。本实验暗保种的结果,一年中藻类在斜面上占有的面积,比开始移入冰箱前也略有扩大,证明了这种暗分裂作用确实存在。J. C. Lewin (1958)^[19] 在列举新月菱形藻与三角褐指藻形态特征不同时,指出三角褐指藻有广椭圆形、三叉状、纺锤形的多型个体,这些现象在我们实验中都同时存在。

结 论

1. 各种藻类在不同条件下的培养效果,可用培养参数来鉴别。这些参数是:高峰期间的累计温度、相对生长常数、繁殖间隔、高峰时的生物密度与生物量。其中相对生长常数的计算可用光密度的对数算法,这样可避免计算细胞数的对数的繁琐。

2. 在四种不同的培养液中,根据培养结果参数比较,中肋骨条藻、牟勒氏角毛藻、简单角毛藻适用仿 $f/2$ 培养液,卡氏藻用配方 I 培养液,湛江叉鞭金藻、异胶藻、隐藻、衣藻、亚心形扁藻适用配方 II 培养液。仿 $f/2$ 培养液可作为多种藻类保种用的培养液。

3. 藻类与对虾肉干样的氨基酸百分含量:小新月菱形藻 34.6%,简单角毛藻 27.0%,三角褐指藻 25.9%,亚心形扁藻 22.9%,小球藻 21.4%,异胶藻 20.0%,盐藻 19.6%,中肋骨条藻 18.3%,湛江叉鞭金藻 10.5%,对虾肉 60.9%。各种藻类氨基酸种类的含量折算为对虾肉同种氨基酸含量的营养价,一般都小于对虾的营养价值。但是中肋骨条藻、湛江叉鞭金藻、异胶藻、盐藻、小球藻含有对虾所没有的蛋氨酸而相对地提高其营养价值。含有较高的赖氨酸种类的是小新月菱形藻、三角褐指藻、简单角毛藻、亚心形扁藻、中肋骨条藻。

4. 以植物性活饵料的营养价值为根据,结合长毛对虾育苗的饵料效果,筛选出小新月菱形藻、三角褐指藻、中肋骨条藻、简单角毛藻、亚心形扁藻为较优质的种类。利用活饵

料时,施以混合种类比单种类的活饵料的效果好。

5. 在春季用两倍仿 $f/2$ 含量的培养液配成1.2%琼脂斜面,接种藻类繁殖后,在10°C冰箱中,湛江叉鞭金藻、异胶藻、衣藻、亚心形扁藻、盐藻、小球藻、小新月菱形藻、三角褐指藻可保存一年,其中异胶藻、衣藻、盐藻、小球藻在常温下也可保存一年,而小新月菱形藻、三角褐指藻、湛江叉鞭金藻需要低温下保种。

参 考 文 献

- [1] 郭季芳,1959. 一些可供海产动物幼体饵料的单细胞绿藻及其培养方法初报. 科学通报,(11):368—369.
- [2] 张德瑞等,1964. 青岛产扁藻及其形态变异. 植物学报, 12(1):109—117.
- [3] 华汝成,1959. 小球藻的大面积培养. 上海科技出版社.
- [4] 朱树屏,1964. 土壤浸出液、维生素 B₁₂ 及钴对新月尼氏藻(*Nitzschia closterium* W. Smith)生长繁殖的影响. 水产学报 1(1—2):19—38.
- [5] 金德祥等,1965. 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, 7(4):373—384.
- [6] 陈世杰等,1977. 鲍苗的饵料——底栖硅藻培养试验初报. 动物学报, 23(1):47—53.
- [7] 郑严,1977. 海洋饵料生物培养概况. 海洋科学,(2):55—60.
- [8] 郑重,1980. 海洋浮游动物的培养研究. 自然杂志, 3(2):134—138.
- [9] 陈淑芬等,1982. 光照时间、强度和温度对角毛藻增殖率的影响. 海洋科学,(2):38—40.
- [10] Chu. S. P (朱树屏), 1942. The influence of the mineral composition of the medium on the growth of planktonic algae. Part. I, methods and culture media. *Jour. Ecol.*, 30(2):284—325.
- [11] Karsten, G., 1928. Bacillariophyta (Diatomeae) Englar, A. Pflanzenfamilien, 2 Bd, 105—303.
- [12] Fogg, G. E., 1962. The Metabolism of Algae. London & New York, 1—49.
- [13] —, 1965. Algae cultures and Phytoplankton ecology. University of wisconsin Press, Madison, 1—12.
- [14] Fott B., 1971. Algenkunde, veb Gustav Fische Verlag.(罗迪安译),上海科技出版社, 428—43.
- [15] Kain J. M. and G. E. Fogg, 1958. Studies on the growth of marine Phytoplankton II. *Isochrysis galbana*. Parke. J. B. A. 37(3):781—788.
- [16] Stein, J. R., 1973. Handbook of phycological methods: Culture methods & Growth Measurements, Cambridge at the University press. 31—47.
- [17] Syrett, P. J., 1962. Physiol. and Biochem. of Algae, Nitrogen Assimilation, Academic Press, 171—188.
- [18] Tamiya, 1953. Biochem. et Biophys. Acta (12):23—40.
- [19] Lewin, G. C., 1958. The Taxonomic Position of *Phaeodactylum tricorutum*. *J. Gen. Microbiol.*, (18):427—432.
- [20] ВИНБЕРГ, Г. Г. 1957., Успехи современной ологий. Ио. 3, СТР. 332—351.

STUDIES ON COMPARATIVE CULTIVATION OF THE MARINE FOOD PHYTOPLANKTON

Wang Yuanyuan

(Xiamen Fisheries College)

Abstract

1. In the culture of phytoplanktons the accumulative temperature at the climax of multiplication, the relative growth constant, the generative interval, the biological

density at the climax and the biomass may be used as raising parameters. Among them, the relative growth constant has been calculated through the logarithm of the optical density.

2. The solutions for raising phytoplankton were chosen from the best value of the raising parameter. *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros muelleri* and *Chaetoceros simplex* var. *calcitrans* would be raised in the imitation f/2 solution. *Carteria* sp. would be raised in the solution of prescription No. 1. And *Dicrateria zhanjiangensis*, *Heterogloea* sp., *Cryptomonas* sp., *Chlamydomonas* sp. and *Platymonas subcordiformis* would be raised in the solution of prescription No. 2. The imitation f/2 solution can also be used for reserving some phytoplanktons.

3. The amino-acid contents of the phytoplankton and the dried flesh of *Penaeus penicillatus* are as follow: *Nitzschia closterium* f. *minutissima* 34.6%, *Chaetoceros simplex* var. *calcitrans* 27.0%, *Phaeodactylum tricornerutum* 25.9%, *Platymonas subcordiformis* 22.9%, *Chlorella* sp. 21.4%, *Heterogloea* sp. 20.0%, *Dunaliella salina*. 19.6%, *Skeletonema costatum* 18.3%, *Dicrateria zhanjiangensis* 10.5%, and *Penaeus penicillatus* 60.9%. The nutritive value of the phytoplankton is lower than the dried flesh of the prawn. But *Skeletonema costatum*, *Dicrateria zhanjiangensis*, *Heterogloea* sp., *Dunaliella salina*. and *Chlorella* sp. contains methionine, which was absent in the dried flesh of the prawn, and *Nitzschia closterium* f. *minutissima*, *Phaeodactylum tricornerutum*, *Chaetoceros simplex* var. *calcitrans*, *Platymonas subcordiformis* and *Skeletonema costatum* are rich with lysine.

4. By analysing the nutritive value of the phytoplankton and the practical effect in rearing fry of the prawn, it is found that *Nitzschia closterium* f. *minutissima*, *Phaeodactylum tricornerutum*, *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros simplex* var. *calcitrans* and *Platymonas subcordiformis* are excellent foodstuffs in aquaculture.

5. In spring a double concentration of the imitation f/2 solution is used for cultivation, and kept at the temperature under 10°C. The phytoplankton of the species *Dicrateria zhanjiangensis*, *Heterogloea* sp., *Chlamydomonas* sp., *Platymonas subcordiformis*, *Dunaliella salina*., *Chlorella* sp., *Nitzschia closterium* f. *minutissima*, and *Phaeodactylum tricornerutum* can be reserved a year.