

单细胞藻类培养中存在的问题及解决方法

吕红霞

(蛟河市水产技术推广站)

闫瑞红

(吉林农业大学动物科技学院)

摘要:本文综述了目前单细胞藻类培养中存在的主要问题,并针对存在的主要问题提出了解决方法。

单细胞藻类具有利用太阳光效率高、营养丰富、生长繁殖速度快、对环境适应性强、易培养等诸多优点,因而极具利用开发价值。它可以改良水质,作为水产动物及畜禽饲料的添加剂,也可利用为人类的营养食品,在水产动物育苗过程中,单细胞藻类的好坏直接影响到育苗的成败。目前,我国单细胞藻类的培养技术已达到一定的水平,但在大规模生产性培养过程中,仍然经常出现许多问题,给生产造成一定的困难。

1 单细胞藻类培养中存在的问题

1.1 藻种的选择

藻种的品质直接关系到其培养的成败,只有选取纯净无污染增殖快的优质藻种才能保证后期培养的成功。选择时要注意藻种退化问题。例如螺旋藻易受外界环境因素的影响而发生变异,在敞开放式培养条件下,负变异大于正变异。负变异主要表现在藻丝变直,不正常螺旋或藻丝变小,螺旋紧密等。此类变异常伴随着藻体下沉,生长缓慢,蛋白质含量偏低,影响培养的成功。

1.2 育苗的时间和单细胞藻类培养时间衔接不上

单细胞藻类作为水产动物的开口饵料,在时间上必须与育苗的需要紧密配合,如有任何差错,则会造成饵料供求脱节,很可能给育苗生产带来巨大的损失。

1.3 技术设备不完善

目前在单细胞藻类培养过程中,因设备落后,很难保证藻类不受污染。且对光、温度、水质控制能力不强,经常影响培养效果。当出现连续阴雨、水质恶

化等情况就会给培养造成一定困难。

1.4 藻类营养成分不均衡

单细胞藻类和其它绿色植物一样,都需要从外界吸收无机营养来制造有机物及必要元素,它分为大量元素和微量元素。但由于培养过程中理化环境的影响和营养盐的添加量比例不适当,藻类营养不是很全面均衡,影响藻类的生长繁殖,也直接关系到水产动物的生长情况。

1.5 管理水平尚待提高

严格的管理和细心的操作是单细胞藻类成功培养的关键。操作稍有不慎或未能及时发现问题解决问题,使敌害生物进入培养容器中很可能使培养藻类在很短的时间内衰败。

1.6 品种的推广工作应继续加强

我国幅员辽阔,不同地区自然条件差异显著。虽然近年来我国分离的单胞藻种类不少,如三角褐指藻、小新月菱形藻、角毛藻、等边金藻 3011、等边金藻 8701、湛江叉鞭金藻、小球藻、扁藻等,但仍不能满足不同地区的生产需要,所以应继续加强这方面的工作。

1.7 单胞藻类潜力尚未完全发挥

单细胞藻类不仅在水产上有重要作用,在食品等工业中的应用前景也十分广泛。目前我国这方面开发利用尚刚刚起步潜力很大。

2 针对单细胞藻类培养中存在问题的解决方法

2.1 选择高品质的藻种

藻种可直接从保种单位购进,也可自己分离。购买藻种应尽量选择技术力量雄厚、信誉好的科研院所,以保证藻种的质量。另外,同一藻种由于其来源不同它们对环境的要求,增殖速率等方面亦有差异。所以,选种应将多家保种单位购进的藻种进

行比较,选出最适合自己实际情况的藻种。同时针对出现藻种退化问题的企业,应进行藻种筛选,在生产中挑选单藻丝培养,然后进行形态、浮性、生产速度、蛋白质含量、对温度及肥料适应性等项目比较,筛选优良藻株供生产使用。

2.2 做好扩大培养的计划安排

要与育苗技术人员做好沟通。再根据天气,设备情况确定好二级培养的时间。三级培养一般在供饵前一周左右开始。在接种二级藻种前必须镜检,保证藻种纯净并处于指数生长期。接种一般在上午8:00—9:00进行。日扩种量一般应高于日供饵量。投喂池必须提前3天停加营养盐,喂前镜检,达到投喂标准后方可投喂(新月菱形藻和等鞭金藻8701达300万/mL以上;等鞭金藻3011达200万/mL;扁藻40万/mL;原生动物<1个/视野)。另外,应研究一种效果理想、简单易行的藻细胞短期或较长期的贮存方法以保证饵料供应充足。例如液体保存,通过采取减少接种量、加大氮素浓度、液体低温保存等措施可以延长接种周期的间隔时间。

2.3 改善目前培养设备,并应用与之适应的培养方法

大胆改进和完善目前的设备,并应用与之适应的培养方法,创造出更适合藻类生长的人工小环境,有效地控制光照、温度、水质,更好地预防敌害生物的污染,使藻细胞的密度更大,生长更快。单胞藻类培养设备一般包括工作室、培养室、培养容器、培养池、水处理系统、充气系统等。日本ST公司从2002年1月开始采用生物技术培养单胞藻类可使生产性能提高到500倍。

2.4 提高藻类的营养价值

通过改变培养的理化条件和营养条件能改变藻细胞体物质数量,从而提高藻类的营养成分。如在培养基中添加游离的脂肪酸,藻细胞即进一步合成长链多不饱和脂肪酸。我们可以利用这一点达到有目的的定向控制,朝着更符合人类需要的条件发展,也可以根据不同需要选育相应的藻株,如Alonso等人分离得到59株等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)的单克隆藻株,发现不同藻株之间不饱和脂肪酸含量变化很大,有的EPA达6%,DHA达2%,这说明等鞭金藻的单克隆分离对于EPA的大规模生产有巨大的应用价值。Alonos等人又用连续克隆化分离的方法不断提高等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)不饱和脂肪酸

的含量。原种EPA含量高达6.6%,第二代7.8%,DHA在第二代中的含量由0.9%提高到3.8%。

表1 海水动物育苗中的饵料单胞藻生长与温度的关系

饵料微藻	生长低限 温度(℃)	生长适宜 温度(℃)	生长高限 温度(℃)
牟氏角刺藻	10	28—32	40
三角褐藻	5	15—20	25
中肋骨藻	5	20—25	30
底栖舟形藻	10	20—25	30
底栖卵形藻	5	15—20	28
等鞭金藻8701	0	13—18	25
等鞭金藻3011	10	25—30	40
亚新形四片藻	5	20—28	35
海水小球藻	8	20—28	38
钝顶螺旋藻	12	28—35	42

2.5 加强培养过程中的管理及敌害的防治

二级培养用水应煮沸消毒。二、三级培养用水通常用次氯酸钠消毒处理8小时以上,一般有效氯含量应达 $15-20 \times 10^{-6}$,敌害生物较多的水体和6—9月份敌害生物危害严重时,应加大药量,使有效氯达到 30×10^{-6} 以上,中和后最好当天使用,防止二次污染。使用的工具、容器(如水泵、胶管、气石、烧杯、舀子)在使用前均要根据不同情况用次氯酸钠、酒精或者煮沸消毒。车间的过道也应该经常用消毒液冲洗。车间内应严禁非工作人员进入。工作人员必须穿水靴,水靴需经次氯酸钠水(有效氯100ppm以上)浸泡消毒方可入内。扩种、分瓶、搅池子、加营养盐等操作之前,手要用75%酒精消毒处理。水泥池台、地沟、地板随时用盐酸、漂白液消毒之后再用消毒海水处理。保持水体温度在藻类生长最适温度(如表1);注意调节光照强度,以保证光合作用高速率进行。每天早、晚两次镜检,观察数量变化及生长情况。如发现敌害生物,应及时杀死。注意观察水色,一般生长良好的叉鞭金藻为金黄色,新月硅藻黄褐色,小球藻鲜绿色,扁藻深绿色。注意调节水体pH值,pH过高或过低可分别用NaOH和HCl调节。每天至少搅拌3次,每次持续1分钟,不能按一个方向搅拌,必须时常更换方向,搅拌不能

太急,防止藻液溢出。

2.6 进一步加强选种、育种工作

应继续开展分离新种的工作,分离出更多更理想的优良藻种,以适应不同环境的条件,不同品种水产动物的营养需要。同时对新分离和原有的优良藻种的形态、分类、生态条件、营养成分、培养液配方、培养方法和应用效果进行深入研究。另外,不同品系的藻类其生理特性,如最适温度、光照强度、蛋白质和色素含量以及营养价值都不同。如 Fatma 等人报道了螺旋藻的四个品系,其中有 *S. Platensis* CFTRI 257.80、*S. maxima* 84.79 和 *S. (axissima)* 256.80 营养成分的差异。他们测定了不同品系蛋白质含量及氨基酸组成,粗脂肪含量和脂肪酸组成,蓝藻蛋白、 β -胡萝卜素含量和 γ -亚麻酸含量,*S. Platensis* 257.80 粗脂和 β -胡萝卜素含量较高。

表2 螺旋藻与几种食品蛋白质含量比较

食品种类	蛋白质含量(%)
小麦	6—10
大米	7
大豆	33—36
牛肉	18—20
蛋	18
螺旋藻	60—70

表3 螺旋藻与浙江鱼粉中氨基酸含量比较

	螺旋藻中的 含量(%)	浙江鱼粉中的 含量(%)
异亮氨酸	4.1	3.11—3.10
亮氨酸	5.4	3.67—4.84
赖氨酸	4.4	3.41—4.90
精氨酸	4.3	3.27—4.20
胱氨酸	0.3	0.38—0.75
苯丙氨酸	2.8	1.99—2.80
苏氨酸	3.2	2.12—2.60
色氨酸	1.2	0.67—2.60
缬氨酸	4.4	2.59—3.29
组氨酸	1.0	0.91—1.93

表4 螺旋藻(100g)的维生素、矿物质含量

成分	含量	成分	含量
维生素类(mg)		矿物质(mg)	
VA	100—200	Ca	400
VC	21—30	Fe	100
VB ₁	1.5—4	Zn	3
VB ₂	3—5	Mg	300
VB	14—15	Cu	1.2
VB ₆	0.5—0.7	P	900
VB ₁₂	0.05—0.2	色素类(g)	
VE	5—20	叶绿素	0.8—2
肌醇	40—100	胡萝卜素	0.2—0.4
泛酸	0.1—0.5	藻蓝色素	15—20
叶酸	0.05	脂肪酸(g)	
烟酸	305	油酸	970
γ -亚麻酸			1350
小分子多糖			3

2.7 单细胞藻类的应用潜力及前景

单细胞藻类营养价值高,蛋白质含量丰富,螺旋藻中含有人和动物所必需的氨基酸,不仅种类齐全,含量也相当丰富(见表2、3)。螺旋藻中维生素、矿物质、色素等种类繁多,含量丰富(见表4),不仅可以作为饵料,也可因其具有保健作用很多国家把它作为婴儿食品、老年保健品及人体的营养补品。而且又因其具有多种生物活性物质,可作为治疗多种疾病的药物和辅助药物。螺旋藻由于其营养丰富、有护肤、润肤效果,同时能起到防皱、防晒、抗辐射、祛斑、抗衰老的作用。藻类中能提取岩藻黄素,它是天然类胡萝卜素的主要存在形式之一,类胡萝卜素的种种作用大家已是很清楚(着色剂、色素添加剂、增强免疫功能、预防青光眼、心血管疾病、抗癌功效等等),螺旋藻应用废水的二级处理等例子也均可证明单胞藻类是极具有发展前景的。