

前 言

小球藻及其他单細胞綠藻，生长快、产量高、营养丰富、容易培养，它是一种很理想的精飼料，并具有很高的食用价值。在当前大力发展以养猪为中心的畜牧业生产中，利用藻类来解决精飼料問題，就具有特別重大的意义。

本書系統地闡述了小球藻大面积培养的一般操作技术，其中着重介紹了簡易可行的培养方法，以便适合于各地人民公社推广和应用。由于匆促付梓，搜集資料不足，加以編者水平的限制，書里面遺漏和不妥当的地方在所难免，希望讀者批評和指正。

本書承皖南大学王志稼教授热心审閱，特此致謝！

編 者 1960年5月

目 录

一、培养和利用小球藻的意义.....	(1)
二、小球藻的形态和繁殖.....	(4)
三、怎样培养小球藻.....	(5)
(一) 小球藻的室内培养方法.....	(6)
(二) 小球藻的大面积培养	(17)
四、小球藻的收获和利用.....	(22)
五、其他藻种的发掘利用和藻种的分离纯化.....	(23)
(一) 其他常见藻种	(23)
(二) 发掘利用其他藻种的意义及途径	(24)
(三) 藻种分离纯化的目的和方法	(26)

一、培养和利用小球藻的意义

小球藻是一种肉眼看不见的微小生物，在池塘、小河、沟渠、沼泽和潮湿土壤中，都可以找到。虽然小球藻是这样既普通、又渺小的生物，但它的经济价值却很高。现在，各国科学家都正在对它进行培养和研究。

小球藻所以能够这样日益广泛地吸引人们的兴趣，是由以下几方面的优点决定的：

第一，小球藻的营养价值很高，是人类珍贵的营养品和家畜家禽的精饲料：

小球藻含蛋白质很丰富，培养得好的可达到40—50%，几乎相当于鸡蛋的五倍或花生仁的二倍。不仅蛋白质的数量多，而且质量也很好，据有的单位试验，认为小球藻的蛋白质可以和奶粉媲美。小球藻的油脂含量约为10—30%，通过特殊的培养方法，含油量可以达到80%以上，因此，有人称小球藻为“水中猪肉”、“人造鸡蛋”。另外，小球藻还含有多种多样的维生素，只要100克小球藻的干粉，除丙种维生素以外，就足够供给一个人一昼夜所需要的维生素。

人们用小球藻来代替家畜、家禽和鱼类的饲料，收到了很好的效果。例如，用浓缩小球藻浆喂猪，40—50斤体重的猪每天在青粗饲料（革命草和白菜叶）中加喂3斤浓缩小球藻浆，每天增加体重为0.95斤，而光吃青粗饲料的猪每天只增重0.4

斤。据試驗，每1斤濃縮小球藻漿喂猪后，增加体重的效果，相当于2斤細糠，或1.5斤麸皮，或2斤豆餅粉的营养价值。

小球藻能够代替家畜家禽的精飼料，这在国民經济上有着重大的意义。就以我省养猪来說，省委号召是要达到一人一头猪和一亩地一头猪，以一人一头猪計全省約养三千五百万头猪，以每头猪每年需精飼料100斤計算，則一年就需要消耗35亿斤粮食，如果培养小球藻来作猪的精飼料，就可以节省一大批粮食。

小球藻具有很高的食用价值，把它掺到其他食品中，制成餅干、面包、馒头和糖果等，营养丰富，清香可口。例如安徽农学院在面粉中掺10%藻粉，制成馒头，据分析結果，蛋白質含量比未掺的提高22.3%，脂肪含量提高143.6%。

第二，小球藻生长繁殖快，产量高，容易培养：

小球藻是一种单細胞的生物。一个細胞，也就是一个生命的整体，每个細胞都能够进行光合作用。同时，小球藻繁殖很快，在适宜的条件下，一昼夜可以增加几倍到几十倍，一年可收获二、三十次。正是由于这些緣故，小球藻的单位面积产量很高，一亩面积的培养池，一年可采收干粉1万斤左右。以每头猪每天平均喂3斤小球藻濃縮液計算，一亩水面生产的小球藻能喂六百到八百头猪。若依蛋白質和脂肪含量推算，大約相当于4万斤小麦。这样高额的产量，是任何作物都比不上的。

小球藻还有一个优点，就是它对外界环境的适应性很强，用一般化学肥料、人粪尿、家畜粪便或污水就可以培养；同时可以利用一切不适合于种庄稼的荒地或空間来做培养池，因此，大規模培养小球藻的成本很低，又不会占用农业上的

耕地面积，更不致于和粮棉争地。

第三，小球藻具备优越的工厂化生产条件，只要加以适当的控制，就可以摆脱自然条件的影响，使其长年不断地連續生产。同时，我們还可以主动控制它的营养、温度、光线等条件，加快它的成长速度，让它按照我們的需要生产各种养分，保证获得高额而稳定的产量。

第四，小球藻可以配合沼气发酵和污水利用，变无用为有用，变少用为多用：

培养小球藻，可以利用沼气发酵液做培养液。我們把家畜粪便、垃圾、枯枝落叶等废弃物质，先在沼气池中发酵，产生沼气（沼气可用来点灯、烧饭和开动机器）。发酵后的废液用来培养小球藻，小球藻再喂家畜，废弃的培养液再做肥料。这样循环利用，就可以充分挖掘自然资源的一切潜力，做到物尽其用。

城市里的污水过去是市政工作中一项重大的负担，因为处理污水很麻烦，很花钱。假如利用污水来培养小球藻，那么小球藻在生长过程中放出大量氧气，就起了净化污水的作用，这不仅解决了污水净化问题，而且还增加了巨大的物质财富。

此外，小球藻还是提取维生素、叶绿素、固醇及其它貴重药物的原料。

综上所述，培养小球藻，确实是一种投资少、成本低、产量高、质量好、收效大的办法，符合于多快好省的要求。小球藻的培养和大规模生产，具有远大的前途。在当前以养猪为中心、全面发展畜牧业生产中，需要大量的饲料，因此，怎样利用小球藻来解决精饲料问题，就更有它的经济意义和政治意义。

从1958年起，中国科学院水生生物研究所、上海水产学院等单位就开始进行了小球藻的培养試驗，1959年浙江温州专区农业科学研究所首先繁殖并利用小球藻喂猪，取得很大成績。我省水产試驗站、安徽农学院、安徽省农业科学研究所、皖南大学、安徽大学、各专区农校和安徽省粮食厅等单位也先后进行了这方面的試驗。安徽农学院在露天土池中培养小球藻已获得成功。最近小球藻的培育工作，更进一步地在不少县、社形成了广泛的群众性运动。例如我省肖县黄口公社，在安徽农学院下放师生的协助下，已建立小球藻培育場二百六十五个，日产量达7万5千多斤，满足了全社70%以上猪的飼料需要，每天可节省8千多斤作为精飼料的粮食。因此，完全可以預料，不要很久，小球藻就会在各地人民公社中普遍推广和应用。

二、小球藻的形态和繁殖

小球藻的身体很小，几千个小球藻連接起来才有一寸长，所以要用四百倍以上的显微镜才能看到。在显微镜下，我們可以看到它的身体是圓球形或者橢圓形的，外面有薄而光滑的細胞壁，內里有細胞核和杯状或带状的叶綠体。叶綠体里面含叶綠素，因此，小球藻能够吸收水和二氧化碳，在太阳光下进行光合作用，制造各种营养物質。有一些小球藻的叶綠体中，还有一个淀粉核（图1）。

小球藻通常不分泌粘液，各个細胞都互相分散而悬浮在水中。生长旺盛时，常使水变成綠色或黃綠色。但是，在生活条件比較差的时候，它就会分泌一些粘質而互相积聚，成块状或膜状下沉到水底。

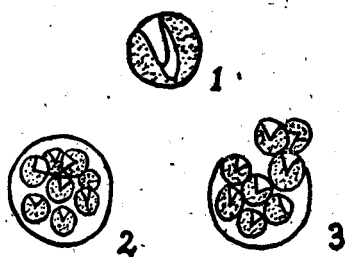


图1 普通小球藻

小球藻的繁殖能力很

1. 細胞 2, 3. 分裂产生8个似亲孢子

强，在繁殖时，成长的細胞內形成两个、四个、八个到十六个細胞，它們的形态构造与成长的細胞沒有多大差別，所以叫做“似亲孢子”。母細胞的細胞壁破裂后，这些似亲孢子就分散出来，形成新的个体。当环境条件适宜的时候，象这样的繁殖，一昼夜可以进行两到三次。但是，在培养过程中，如果培养時間太久，长期不采收，又不补充新的培养液，小球藻就会发生老化而停止繁殖。

三、怎样培养小球藻

小球藻的培养方法，可以分为室内小規模培养和室外大面积培养两种。这里根据农村中現有的物質設備条件，本着土法上马、土洋結合的原則，来分別地把这两种方法介紹如下：

(一) 小球藻的室内培养方法

在室内培养小球藻的目的有二：一是保存和繁殖藻种，以供給室外大面积培养应用；二是进行試驗，以便为大面积生产摸索經驗。因此，室内培养是整个生产过程中不可缺少的一个环节。

藻 种

人民公社初次培养小球藻时，一般可向有关的学校或科学机关索取現成的藻种。藻种通常保存在試管中的固体培养基上，貯藏在温度比較稳定和光线不过分强烈的地方，試管口的棉塞要塞紧，防止污染。每隔半月到一月，应将藻种从一个試管移到另一个試管的培养基上，否則藻种如果长期固定在一个地方，不予移植，那么就会由于培养基干燥，养分不足，而引起藻种死亡。

移植藻种的方法是：用左手的拇指、食指和中指夹住两个試管的下端，右手拿着接种环在酒精灯火焰上烧紅再冷却，然后用右手无名指、小指和手掌拔去两个試管口的棉塞，將試管口在火焰上灭菌后，用接种环把試管内藻种挑取少許移到另一試管中，再用火烧試管口，塞好棉塞(图2)。

培 养 基

适宜于培养小球藻的培养基种类很多，培养基大致可以分为以下三类：

(1) 有机培养基：新鮮人尿培养液：将新鮮人尿加水稀

釋二十倍即可。

5% 腐熟
人糞尿：取腐
熟人糞尿（如
未腐熟，則加
0.2% 黃豆粉
漚制一天）煮
沸過濾，再兌
水稀釋到5%，

然後矯正酸鹼度到PH7—8。

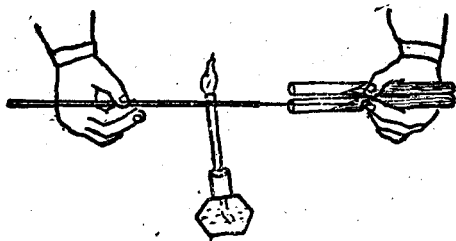


圖 2 藻種移植法

2% 鷄糞液：取半干鷄糞1斤，加冷水1斤泡制一天後，用
雙層紗布過濾，再兌水49斤，稀釋成2% 鷄糞液，然後矯正酸
鹼度到PH7—8。

其它污水、沼氣發酵液、豬糞液等都可培養。在有機培
養基上，藻種生長繁殖較快。

（2）無機培養基：用化學肥料和化學藥品配制而成，在
無機培養基上生長的藻種比較純淨，因此，最適宜於保存和
繁殖藻種。配方如下：

水生四號培養基：

硫酸銨	0.2克	氯化鉀	0.025克
過磷酸鈣	0.03克	1%三氯化鐵	0.15毫升
硫酸鎂	0.08克	土壤浸出液	0.5毫升
小蘇打	0.10克	清潔的水	1000毫升

克諾普培養基：

硝酸鈣	3克	磷酸二氫鉀	1克
硫酸鎂	1克	1%三氯化鐵	0.5毫升

硝酸鉀 1克 水 3000毫升

(3)混合培养基: 在1000毫升水中, 加新鮮人尿或腐熟人粪尿25克, 硫酸銨1克, 过磷酸鈣1克配制而成。

以上各种培养基, 都是液体的, 如果需要制成固体的(保存藻种用), 可在上述配方中, 每1000毫升加入15~18克洋菜(又名琼脂)。洋菜可用石花菜代替, 每100克湿石花菜約相当于洋菜4~5克。用法: 先将石花菜用溫水浸泡24小时, 加在煮沸的液体培养基中煮沸溶化即可。液体培养基在加石花菜前, 最好先調节到中性反应。用量: 每1000毫升液体加入400克湿重石花菜。此外, 洋菜也可以用龙須菜来代替。

配制培养基的水, 要求清洁无毒質, 一般可用自来水配制, 在沒有自来水的地方, 也可以用清洁的河水、井水、池塘水代替。因为在水中存在着許多其他的藻类和小动物, 为了减少污染, 应该将水經過夹有棉花的两层紗布过滤后再用。

配制培养基用的化学药品, 一般用化学肥料或用“工业用”的規格, 而不需要“化学純”或“分析試剂”的規格。例如硫酸鎂可用工业用的泻盐, 硫酸銨可用硫酸銨肥料(肥田粉)。

有时, 某些化学药品脫銷时, 也可用另一种药品代替。例如磷酸二氢鉀可用磷酸氢二鉀代替, 或用同等数量的磷酸氢二鈉和氯化鉀代替。在土法生产时, 也不妨用2克过磷酸鈣和0.5克草木灰来代替1克磷酸二氢鉀。

少量药品称法: 例如要称0.2克药品, 可以先称1克药品, 加10毫升蒸餾水, 配成10%溶液, 再吸取2毫升即可。

培养基酸硷度的調节

小球藻一般在酸硷度为中性到微硷性的环境中生长較好

(即PH7~8), 太酸太鹼都不适宜, 所以培养液配好后, 还必须测定它的酸硷度。最簡捷的测定方法, 是用“广泛PH試驗紙”或“精密PH試驗紙”。测定时, 取試紙一条, 浸入培养液, 半秒鐘后取出和标准顏色紙板比較, 如酸硷度小于7, 可逐漸少量加入氢氧化鈉(或用草木灰浸出液代替), 如酸硷度大于8, 可加入粗盐酸, 直到培养液的酸硷度达到PH7~8时为止。

此外, 矫正培养基的酸硷度还可以用比色箱、溴麝香草酚蓝指示剂、酚紅指示剂、石蕊試紙或酚酞指示剂等进行, 現分別介紹如下:

比色箱法: 用精密PH比色测定箱进行, 操作步骤如下:

(1) 取二支与标准比色管粗細相同的小試管, 其中一管加培养基 5 毫升及指示剂 0.25 毫升, 分別搖勻。

(2) 按下图将各管插入比色架中, 对光观察(图3)。

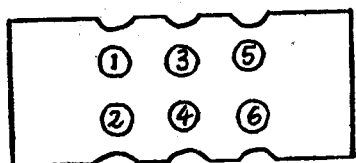


图 3 比色試管架

(3) 如培养基过酸, 可在第 4 試管内徐徐滴加 $\frac{N}{20}$ 氢氧化鈉, 如过鹼, 則滴加 $\frac{N}{20}$ 盐

- ①⑤培养基5毫升
- ②⑥标准比色管
- ③蒸餾水
- ④培养基5毫升指示剂0.25毫升

酸, 至兩側孔內表現的

色泽一致时为止。在缺乏氢氧化鈉的情况下, 可用草木灰浸出液代替。草木灰浸出液是用充分燃烧后的草木灰, 加入二倍的水煮沸 1 小时, 用滤紙过滤后, 即成透明的液体, 可以

裝瓶貯存备用。

(4) 計算：根据1毫升培养基校正PH时所消耗的 $\frac{N}{20}$ 氢氧化鈉数量，求出全量培养基中需要加入 1N 或 6N 氢氧化鈉的数量。

例如：已知校正 1 毫升培养基需用 $\frac{N}{20}$ 氢氧化鈉 0.1 毫升，求 2000 毫升培养基应加入 1N 氢氧化鈉数量。

設 2000 毫升培养基应加入 1N 氢氧化鈉量为

$$1:0.1=2000:X \quad X=\frac{2000 \times 0.1}{1}=200 \text{ 毫升}$$

∴应加入 1N 氢氧化鈉为 $\frac{200}{20}=10$ 毫升

比色法注意事項：

(1) 比色法測定PH，只能无色或顏色浅的液体中应用，如果培养基渾浊或色澤較深，應該先用蒸餾水稀释。

(2) 琼脂培养基可用溫蒸餾水稀释十倍，再进行測定，这样冷却时不致成为固态。

(3) 煮沸的培养基应在稍冷后測定，以減少溫度誤差。

(4) 培养基經高压蒸气灭菌后，通常 PH 略有降低，因此，校正PH时，应比需要的PH高0.2—0.4。此外，在校正培养基后，最好再煮沸半分鐘，待冷后再重新測定PH。

(5) 由于琼脂培养基在校正PH时凝固，因此，可在液体培养基未加琼脂前就校正 PH。琼脂本身近于中性反应，它对培养基PH影响不大。

溴麝香草酚蓝指示剂法：取溴麝香草酚蓝指示剂一滴，培养基二、三滴，在白磁板(或白磁碟代替)上混合均匀，观

察顏色变化，如呈黃色，則为酸性（PH6.5以下），深藍色为硷性（PH7.6以上）；呈淡藍色，則近中性。如偏酸或偏硷，可逐漸加入酸硷中和，直到呈中性或微硷性反应的色泽为止。但应注意，此种指示剂变色范围限于 PH 6.0—7.6，当大于 PH 7.6 时，仍显深藍色，因此，加硷中和时必须逐渐少量加入，以免培养基誤被矫正过硷而不易发觉。

酚紅指示剂法：操作方法和注意事项与溴麝香草酚藍相同，它在酸性时呈淡黃色，硷性时呈深紅色，中性时則呈淡粉紅色。现将这两种指示剂的色泽变化列表如下：

PH \ 指示剂	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5
溴 麝 香 草 酚 藍	←	黃	黃綠	綠黃	淺藍	藍	深藍	→
酚 紅			←	淡黃	粉紅	紅	→	→

石蕊試紙測定法：在培养基中加入酸硷，直到把一滴培养基放在紅色石蕊試紙上稍显藍色为止，因紅色石蕊試紙变藍，即表示硷性。这种方法虽很简单，但不很准确可靠。

酚酞指示剂滴定法：培养基稀释后，量出20毫升，加酚酞指示剂两滴，徐徐滴入酸或硷，不断搖幌，直到培养基呈現淡粉紅色（一分鐘內不消失）为止。然后根据20毫升培养基所消耗的酸或硷，計算出全量培养基所应加入酸或硷的数量。值得注意的是：酚酞的变色范围（灵敏界限）是 PH 8.3—11，因此，必須在稍呈淡粉紅色时，即作为滴定終点，以免过硷。如果掌握得好，培养基反应可矫正到 PH 8 左右，以适宜于藻类的生长。

培养基的分装和灭菌

室內培养液体藻种，一般用标本缸、广口瓶、三角瓶等

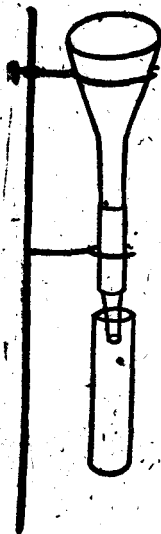


图4 培养基分装法

玻璃仪器做容器，培养量增大时，也可用20000毫升蒸馏水瓶、玻璃水族箱、木盆或水缸等进行培养。液体培养基可以直接倒入容器中，但要注意不要装得太深太满，否则小球藻生长不好。在一般情况下，250毫升的瓶盛100毫升培养液，500毫升三角瓶盛200毫升培养液，比较大的容器盛培养液的深度最好不超过20厘米。

室内培养固体藻种，需要用固体培养基。固体培养基装瓶时操作要比较细心，具体做法是：取大玻璃漏斗一只，装在漏斗架上，其下连接一个带有玻璃管嘴的橡皮管，橡皮管中间用自由夹（弹簧夹）控制（图4）。分装时，漏斗内装满培养基；将玻璃管嘴伸入管内或瓶内（注意勿沾瓶口），

然后放开自由夹，让培养基流入。冬季培养基很易凝固，可用双层漏斗（夹层中置热水）进行分装。分装后，应塞上棉塞。棉塞要松紧适度（图5）。

大量培养小球藻时，培养基可以不经过消毒灭菌，但在培育和保存藻种时，培养基仍然需要灭菌。比较简易的灭菌方法，是将装有培养基的瓶子或试管，放在蒸笼内或锅中蒸煮1~2小时（当温度升到100℃时开始计算时间）。最彻底的灭菌方法，是用高压蒸气灭菌器（高压消毒器）进行灭菌，具体操作方法如下：

（1）在锅中注入水分到指定的刻度，并将灭菌物品放入锅内，盖上锅盖，按对角线扭紧螺旋。

(2) 將頂部氣門打開，將其他部分開關都關閉，然後點火加熱，讓鍋內水分沸騰，當有水蒸氣從氣門通暢地竄出時，關閉氣門。

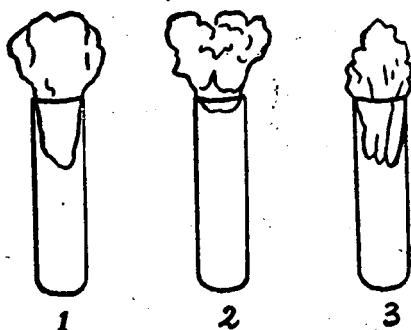


圖 5 塞棉塞的方法

1. 正確 2. 3. 不正確

(3) 關閉氣門後，壓力表指針開始上升，到15磅時 (121°C)，開始計算時間，維持此壓力20到30分鐘，然後滅火。

(4) 壓力表指針退回到零磅時，先打開下部氣門，再打開頂部氣門，然後揭蓋取出滅菌物品。

注意事項：

(1) 使用前，須先檢查鍋中是否有水，否則鍋底焊錫部分會燒熔而致損壞。

(2) 使用時，務必將鍋中空氣完全排除（即有大量水蒸氣排出），否則達不到滅菌效果。

(3) 滅菌後，務必等壓力表指針降到零磅，再打開氣門。如為爭取縮短時間，也應等指針降到5磅，先徐徐打開下部氣門，然後再打開頂部氣門。否則，鍋內蒸氣壓突然降低，試管燒瓶內液體猛烈沸騰，會沾濕棉塞，或將棉塞沖脫。嚴重時，甚至能將滅菌器或器皿損壞。

(4) 滅菌後，應將鍋蓋敞開一定時間，以防橡皮墊圈

损坏。

液体培养基灭菌后，待冷却到30—40°C左右，就可以进行接种。固体培养基試管灭菌后，应该趁热斜倚在桌面上，使冷却凝固后形成斜面，再接入藻种。

接 种

初次培养时，首先要將試管中固体培养基上的藻种扩大繁殖，具体操作方法如下：用鉑金絲、电爐絲或鎳絲制的接种环，在酒精灯火焰上烧紅后，稍稍冷却，把試管中固体培养基上的藻种刮下少許，移入到装有1—2毫升培养液的試管中。一支試管的藻种，可以足够几十支液体培养基試管接种之用。接种后，試管口塞住棉塞，放在朝南房間窗口或玻璃溫室中，每天保持4—8小时以上的光照，阴雨天光照不够，可用电灯照明。每天把試管用手搖盪4—5次。培养到第4天，管内开始变綠色。到第7天，顏色深綠，可补充培养液3—4毫升。第8天，再加5毫升培养液。第10天，从試管中移到250毫升三角瓶內，以后每隔4—5天即扩大移植一次，并逐步从玻璃瓶移植到木盆中。另外有一种比較簡便的方法，是将試管中的固体藻种，直接用冷开水洗下，接种到100毫升左右的培养液中繁殖。

培养量較大时，用液体培养的藻种扩大繁殖，接种量为5—10%，也就是每100斤培养液加5—10斤藻液。

管 理

接种以后，要注意加强管理，主要应掌握以下几个关键：

(1) 溫度适宜：小球藻适宜的溫度是24—28°C，溫度

超过 35°C 或低于 20°C ，生长都很缓慢。所以天气冷时，最好把小球藻放在溫室內培养，或者生煤炭爐或沼气爐保温。夏天为避免晒到很强的阳光，可以加盖帘子遮蔭。在培养期間，最好每天測量水的溫度，以便随时加以調节。

(2) 光照充足：培养小球藻，每天至少应有4—8小时以上的光照。冬天光照時間可以长些，夏天溫度高，光照時間可以短些，阴雨天最好用电灯或沼气灯补充光照。

(3) 經常攪拌：每天要用玻璃棒或木板条将培养液攪拌3—4次。如果不攪拌，小球藻得不到充分的光照和空气，培养液表面容易結成細菌性的薄膜，并发生沉淀現象。

(4) 检查酸硷度：小球藻生长繁殖旺盛时，培养液的酸硷度可能发生变化，如果不及时調整，往往会妨碍小球藻生长繁殖，因此，最好每天測定一次培养液的酸硷度。

(5) 保持清洁卫生：培养室內要經常洒扫，玻璃瓶的瓶口要复盖紗布，防止落入灰尘和昆虫。培养液表面产生薄膜时，应该用細布网捞出，以免引起小球藻沉淀。

檢 查

培养期間，除了观察藻液顏色变化外，有条件时，还要用显微镜进行检查，以便了解藻体的生长，藻液浓度大小和有无其他生物污染。測定藻液浓度可以用血球計数仪，在显微镜下进行計数；也可以用比色比浊法，根据藻液的綠色深度和渾浊度确定藻液浓度。

因为随着培养液中藻体大小的不同，它所呈現的綠色深度和渾浊度也有差別，所以只要配制一套代表不同浓度的标准比色管，把要測定的未知浓度藻液和标准比色管对照一