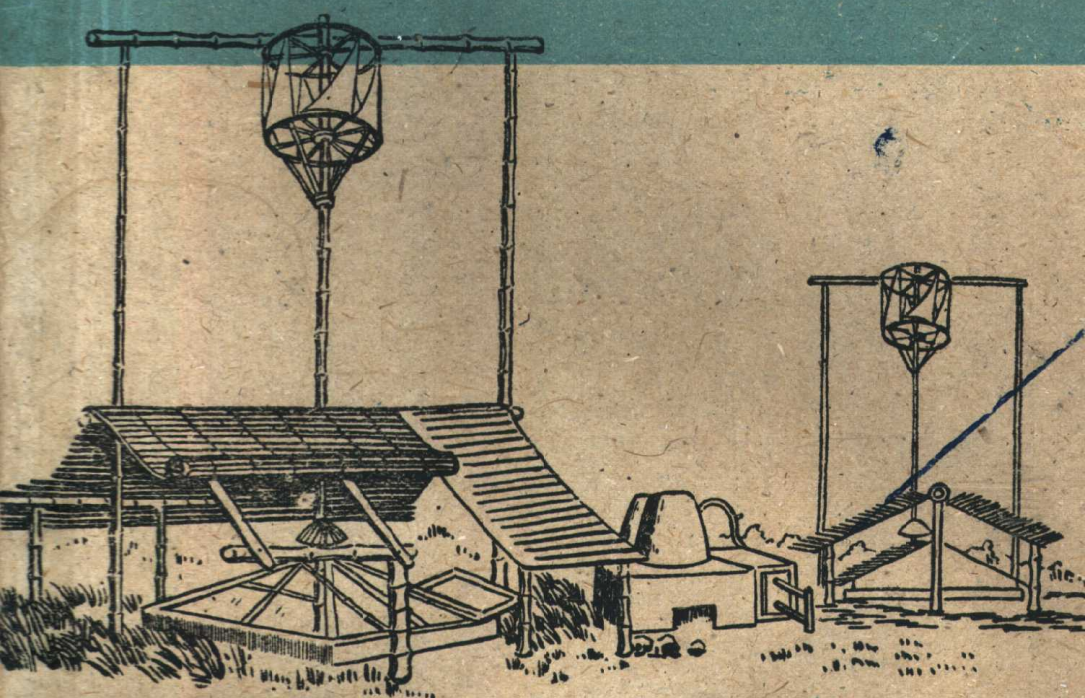




上海水产学院
华汝成 編著

小球藻的大面积培养

上海科学技术出版社

小球藻的大面积培养

上海水产学院

华汝成 編著

上海科学技术出版社

內 容 提 要

小球藻是藻类植物的一种,含有丰富的蛋白質、脂肪和維生素甲、乙、丙等。对小球藻的大面积培养和綜合利用,是水产科学中新的課題,目前世界上許多国家在研究,我国各地研究的单位也不少。

本书主要介紹上海水产学院师生發揮革命創造精神,对小球藻从实验室培养发展到大面积生产的一系列措施和方法;对于小球藻的分类、特征及国外培养小球藻的情况和方法,本书也有介紹。

本书可供水产工作人員、研究人員和教学人員参考。

小 球 藻 的 大 面 积 培 养

上 海 水 产 学 院

华 汝 成 編 著

*

上海科学技术出版社出版

(上海市京西路 2004 号)

上海市书刊出版业营业許可証出 093 号

新华书店上海发行所发行 各地新华书店經售

大众文化印刷厂印刷

*

开本 550 × 1168 1/32 印張 3 4/32 字數 71,000

1959 年 5 月第 1 版 1960 年 5 月第 2 次印刷

印數 12,501—27,500

統一書号: 16119 · 336

定 价: (十二) 0.46 元

目 录

緒 言	1
第一章 小球藻的分类和分布	3
第一节 小球藻的分类	3
第二节 小球藻的分布	3
第二章 小球藻的特征和利用	6
第一节 小球藻的特征	6
第二节 小球藻的利用	14
第三章 小球藻的培养以及培养方式	21
第一节 小球藻的培养意义	21
第二节 小球藻的培养方式	23
第四章 小球藻的室内培养	30
第一节 設備	30
第二节 方法	35
第三节 产量	54
第五章 小球藻的大面积培养	58
第一节 設備	58
第二节 方法	69
第三节 产量	79
第四节 存在的問題	82
第六章 小球藻的采收和加工	90
第一节 小球藻的采收	90
第二节 小球藻的加工	91
参考文献	98

緒 言

藻類 (Algae) 是植物界中最低等的植物, 其中包括許多種類, 廣泛地分布在全世界的海水和淡水中, 以及土壤里面, 岩石和建築物的上面; 有些種類, 還和菌類結合在一起而構成地衣。這種數量極大而分布極廣的藻類, 如果我們能夠把它很好地利用, 一定對人類的經濟方面能起很大的作用。

世界各國包括我國在內, 自古即已利用某些藻類, 尤其是島國或半島國, 對於海產的藻類, 如: 石蓴、海苔、紫菜、海帶、裙帶菜等作為經常的食用品; 我國雖是大陸國家, 可是因為海岸綫很長, 所以早即把鸕鶿菜、麒麟菜、海苔、紫菜、黑菜等作為醫藥用或食用。

最近幾十年來, 各國非但對於海產藻類加以利用, 即對淡水藻類和土壤藻類, 也逐漸重視起來, 努力研究利用的方法。例如: 蘇聯、英、美、荷蘭、德、日等國對於淡水產的小球藻 (*Chlorella*) 大量培養, 作為代用食糧; 印度對稻田里面的藍藻固氮作用, 積極研究, 並進行大量繁殖, 使成為稻田的肥料。

我國在解放之後, 才開始重視藻類的培養和利用; 在黨的領導下, 于短短的幾年內, 海藻的研究和培養, 如海帶、紫菜等已有很大的成就。在淡水藻類方面, 我院在黨的領導與鼓舞下, 從 1958 年 5 月起即籌劃小球藻的大面積培養。為了要掌握小球藻的繁育規律起見, 先從事室內的培養, 經過一個月的時間, 得到很顯著的成功, 于是從七月中起, 建造大面積的培養池, 八月中進行第一次大面積培養, 獲得很好的成績。九月上旬直到目前為止, 還在繼續培養, 收穫都大, 最高的產量, 折合每畝每年可達 12,000 市斤。

在黨的領導下, 我院從 1958 年 5 月分開始了小球藻的培養

究,逐步地把小球藻,从室内培养移到室外培养,已得到了初步的效果。在研究过程中助教楊亦智、李秉道、張道南及同学林久明、張秋香等同志也参加了具体的研究工作。目前正在进一步的进行。本书所介绍的内容有些尚系初步结果,还要深入研究,同时希望各有关单位,予以指正。

第一章 小球藻的分类和分布

第一节 小球藻的分类

小球藻(綠粒藻)属于綠藻門(Chlorophyta)綠藻綱(Chlorophyceae)綠球藻目(Chlorococcales)的綠球藻科(Chlorococcaceae)。綠球藻科里面,除了小球藻一个属外,还有綠球藻属(*Chlorococcum*)、共球藻属(*Trebouxia*)等属。

小球藻属在我国常见的种类有两种,即淀粉核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa* Chick)和普通小球藻(*Chlorella vulgaris* Beijerinck)。此外还有椭圆形小球藻(*Chlorella ellipsoidea* Gerneck)、杂色小球藻(*Chlorella variegatus* Beijerinck)、寄生小球藻[*Chlorella parasitica* (Brandt) Beijerinck]等种类。这些种类的区分,主要根据细胞的外形。

有些植物学者,把小球藻属归在卵胞藻科(Oocystaceae)里面。共球藻属和綠球藻属同属于綠球藻科*。

第二节 小球藻的分布

小球藻是淡水产的綠藻类,分布在温带和热带地方。在温带地方,从春季至秋季,无论池塘、河流或沟渠、沼泽以及水槽、水缸里面,都会产生小球藻;在小球藻繁殖旺盛时,水色变为鲜绿色。在自然环境下,小球藻能适应的水温范围是比较大的,可以从10°C左右至36°C左右。

小球藻一般都是独立生活的,并且在正常的状态时,是悬浮在

* Smith: Fresh-water Algae of the United States(1950)。

水中的。多数的单细胞绿藻类，常集合而成群体，可是小球藻属的种类，是单独存在不形成群体。小球藻属里面，也有生存在水螅、变形虫、草履虫等无脊椎动物的组织或细胞中的；象这种关系，可以

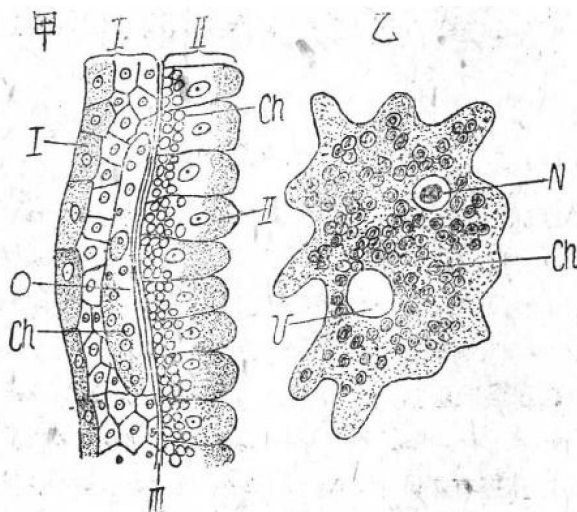


图 1 小球藻和动物的共生

甲、綠色水螅(*Hydra viridis*)

体壁部纵断面

I 外层； II 内层； III 隔膜； O 卵子； Ch 小球藻

乙、綠色变形虫(*Amoeba viridis*)

N 核； V 伸缩泡； Ch 小球藻

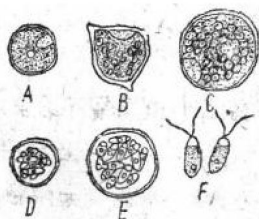


图 2 *Chlorococcum humicola*

A~C 营养细胞；

D~E 繁殖细胞(内有游泳孢子)；

F 游泳孢子

×800

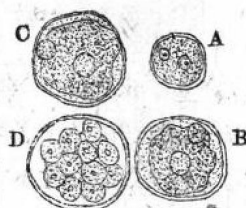


图 3 *Trebouxia Cladontae*

A~C 营养细胞；

D 一个细胞，含有似亲孢子

×1950

从偶然的共生 (accidental commensalism) 变为真的寄生 (parasitism)。

小球藻在生活条件不良时,例如光照不足、水温低或水中养分缺乏,就会沉到水底,互相結集而成块状或皮膜状,不再浮起,在人工培养中,如果培养得不好,就会发生这种现象。

綠球藻的一属,虽是可以单独生存,但是也可能集合而成粉末状的块 (pulverent masses),或埋沒在胶质块中。

共球藻属通常只能在地衣的叶状体内见到;构成地衣的单細胞綠藻,虽并非限于共球藻一个属,然而它是地衣的体内最常見到的一个属。

第二章 小球藻的特征和利用

第一节 小球藻的特征

小球藻的形态构造 小球藻是单細胞的綠藻，一般的形状，是球形至橢圓形。細胞的大小，依其种类而有不同，例如：淀粉核小球藻的細胞直徑 3~5 微米 (μ)，普通小球藻的直徑 5~10 微米 (μ)；但是在人工培养的结果，往往使小球藻的細胞縮小。据欧美学者的意見，小球藻在人工培养时的縮小，是不可避免的；然而我們用适当的方法去培养淀粉核小球藻，可以从原有的直徑 2.8 微米 (經過长期的培养，已縮小至 2.8 微米)，增加至 5.6~6.8 微米。可見欧美学者的研究并不充分，我們作科学研究时，切不可迷信，而要解放思想。

根据我們的实际試驗，小球藻的細胞大小，即使在同一的生活条件下，也是有差异的，例如下表所示：

大形的細胞	小形的細胞
4.90 微米	1.90 微米
5.04 微米	2.80 微米
5.60 微米	3.00 微米
6.80 微米	3.20 微米

这种差异，或許由于細胞的生长时期不同，即已充分成长的当然比尚未成长的大。还有剛剛分散的似亲孢子 (Autospore)，細胞一定是小的。

小球藻的細胞壁比較薄，但是比較老的細胞，細胞壁也要厚一些。細胞壁部一般不分泌粘液 (胶质)，所以通常是单独浮游在水

中;可是小球藻在生活条件较差时,往往会沉到水底,分泌胶质互相结合而成块状或膜状。

小球藻的细胞外表,没有任何突起或棘刺,也没有鞭毛或纤毛,因此小球藻只能悬浮在水中而不能游动。

小球藻的细胞内都有1个靠近壁部的叶绿体(含叶绿素的载色体),通常呈杯状,不过在普通小球藻有时呈板状,又在杂色小球藻呈新月形即弯曲的带状。叶绿体内含有大量的叶绿素,因此细胞呈鲜绿色。小球藻的叶绿素成分和分量,跟了环境的情况而有不同。根据我们的试验结果,知道在无机盐类培养液中的小球藻呈青绿色,在大草堆肥液中的小球藻呈鲜绿色或黄绿色,这种现象,即由于前一种含有较多的叶绿素 α ,而后一种含有较多的叶绿素 β 。小球藻在营养较差的时候,叶绿素的分量减少,所以呈淡绿色或黄绿色,甚至于几乎不现出绿色来。

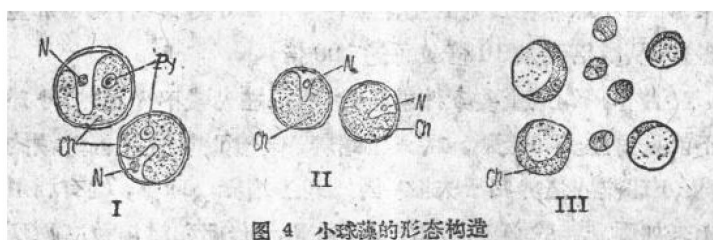


图4 小球藻的形态构造

- | | | |
|--------------|-----------|-----------|
| I 淀粉核小球藻; | II 普通小球藻; | III 染色小球藻 |
| N 核; Py 淀粉核; | N 核; | Ch 载色体 |
| Ch 载色体 | Ch 载色体 | |

小球藻常缺少淀粉核(Pyrenoid),但是淀粉核小球藻却有一个球形的淀粉核,包含在杯状的叶绿体中,因此就称为淀粉核小球藻。普通小球藻(*Chlorella vulgaris*)和淀粉核小球藻主要区别点,就是不经常见到淀粉核。

小球藻在细胞内有核一个,要用固定剂固定后才能现出。

小球藻的营养 小球藻有叶绿体和丰富的叶绿素,所以它能在阳光下进行光合作用,造成醣类和其他有机物质;它再把这些有

机物质，和从水中吸收到的无机盐类化合而成蛋白质和脂肪。小球藻就依靠这些自己造成的有机物质而生长、发育。

小球藻的光合作用 小球藻在进行光合作用时，对可见的光，有比较更大的利用率。现在把小球藻和其他植物对于太阳光能的利用率，作一比较，如下表所示：

植物的种类	对太阳光能的利用率(%)
一般的栽培植物	0.5~2
单细胞藻类	3~11
小球藻	30以上(在人工扶助条件下)

由于小球藻的光合作用特别强，所以它在进行光合作用后，能造成大量的酯类和其他有机物质。小球藻在造成大量有机物质后，它得到丰富的养分，所以就能迅速地生长和繁殖。据实地试验的结果，如果小球藻在良好的生活条件下，24小时以内，可增加重量许多倍(从数倍至数十倍或可达100倍)。

光合作用的最重要条件就是光，所以在光线不充足时，小球藻就不能好好生长和繁殖。在人工培养小球藻时，往往因连续的阴雨，使小球藻的培养归于失败；因此人工培养小球藻，就有利用人工光来加强光照的必要。相反地，在天气晴朗和温度较高的状况下，就能使小球藻迅速地繁育起来。

光合作用的条件，除了光线外，还要有充分的二氧化碳。据实地试验的结果，培养小球藻时，培养液内的二氧化碳含量需要有水中混合气体总含量的1~5%。二氧化碳的含量过少，那么光的强度尽管加强，可是光合作用并不能相应地增强，这就说明一种植物在进行光合作用时，对光能的利用率是有限度的，这叫做光的饱和度。如果要提高光能的利用率，即扩大它的饱和度，那就非同时补充其他条件不可，在这些条件里面，首先就是二氧化碳。二氧化碳虽是对光合作用有帮助，可是过度的供给，使水中二氧化碳的含

量超过 5%，那又足以抑制小球藻的呼吸作用。我們知道任何生物体的发育与生长，完全要依靠体内物质的代謝作用，这种代謝作用就是同化和异化的两个作用，就植物来講，光合作用是同化作用，呼吸作用是异化作用。假使小球藻的呼吸作用受到抑制，那么物质的代謝作用就发生障碍，这就是說光合作用也受到抑制。因此对于小球藻的二氧化碳的补給，一定要掌握适当的分量；同时为了要加强小球藻的呼吸作用，还要使小球藻常得到充分的氧，在培养小球藻时，利用搅拌的装置，使培养液內得到足够的氧。不过据迈尔氏 (Jack Myers) 的研究，小球藻的光合作用强度 (率) 超过呼吸作用 10~100 倍，所以小球藻对于 CO_2 的需要量是比较大的。

小球藻的营养和温度也有密切关系，前面已經講过小球藻对于温度的适应范围是很大的，据实地試驗的結果，知道在夏天，昼夜气温的变化，一般从 $18\sim 24^\circ\text{C}$ ，在比較炎热的白昼，短時間的气温可升达 $30\sim 35^\circ\text{C}$ ；又在夏秋季比較冷的晚上，气温可下降至 $10\sim 12^\circ\text{C}$ ；这种温度的升降变化，对于小球藻的生长并无什么大影响。小球藻培养者柯克 (Cook) 氏、史博尔 (Spoehr) 氏等都有同样的意見。不过人工培养时，气温在 30°C 左右时，小球藻的生长最好，一降到 20°C 左右，就大大减少繁育的速度。有些植物学者，认为小球藻的最适宜生长温度，是 $25\sim 26^\circ\text{C}$ ，这和实际情况不尽符合。

小球藻除了靠光合作用合成必需的养分外，还要吸收水中养分。因此在含有丰富的有机质和无机盐类的水中，就会发生大量的小球藻。在自然環境內，凡是含有动、植物排泄物和腐敗物质的沟渠、池塘中，以及和下水道相通的小河或池沼中，就含有丰富的养分，适合小球藻的生长。在人工培养时，就要考虑培养液的成分；到现在为止，其他国家，都使用含有氮、磷、鉀、鈣、鎂等元素的无机盐类溶液，作为培养液。这种培养液，对于小球藻的生长是适宜的，可是不含有鉄和其他微量元素，所以还要作适当的补充。根

据我国广东、湖北襄阳等处大草养鱼的經驗总结,知道草类的堆肥液或浸出液,也适合低等藻类的生长;因此我院就运用大草养鱼的方法,来做小球藻的培养液,结果比无机盐类培养液好;它的优点是:含有的养分比较全面,小球藻的发育迅速,藻体大而健全,在实验过程中小球藻的生产量比无机盐类培养的大3倍以上,还有在培养中不易老化,因此不大发生沉淀或附着在器壁上。用大草培养液虽有許多优点,但是也有相当大的缺点,首先是大草所含的养分非但十分复杂,并且依了草的种类、生长时间及外界条件如何(例如:气温、湿度等等)而发生很大的差异;所以在制备大草培养液时,往往不易掌握条件,而使培养液不适合小球藻的生长。其次大草培养液有臭气,所以在小球藻收获后,若是不充分洗涤,那就带着这种臭气,不适于食用。还有大草培养液在使用时,必须过滤和煮烧,在人工方面也比較繁重;此外,已做好的大草培养液,不可长久暴露在空气中,否则就会失去肥效。我院为了要利用大草堆肥液的优点和除掉它的缺点,将进一步的进行试验和研究,我们相信,不久就可达到目的。

小球藻的繁殖 小球藻的繁殖方法多数学者认为只有1种,即个体分裂而发生孢子。个体内部分裂,是一个细胞内原生质分裂为2,4,8……个孢子,这是最简单的一种繁殖方法;不过已老化的个体,就失去分裂的力量,又在营养情况较差的时候,也不能迅速地分裂。这种孢子的发生,是在一个细胞内,发生和原来的细胞同样的细胞,在形态上和母细胞没有什么不同,所以称为似亲孢子(Autospore)(见图5)。多数的绿藻类,在无性繁殖时产生具有2条鞭毛能游动的游泳孢子(Zoospore),又在有性繁殖时,产生配偶子;可是小球藻不产生游泳孢子和配偶子,这是小球藻的特点。至于小球藻能否由细胞分裂进行繁殖,虽过去没有明确的记述,但是在显微镜下,确乎见到由细胞的横分裂而增加个体数量。

由于小球藻用似亲孢子来繁殖,所以每1个体同时可产生几

一个新个体，一昼夜内只要分裂两、三次就可增加几十倍的个体，这就说明小球藻的繁殖是非常迅速的。已老化的细胞，失去分裂的力量，所以在培养小球藻时，若是长时期不采收，那么由于个体的

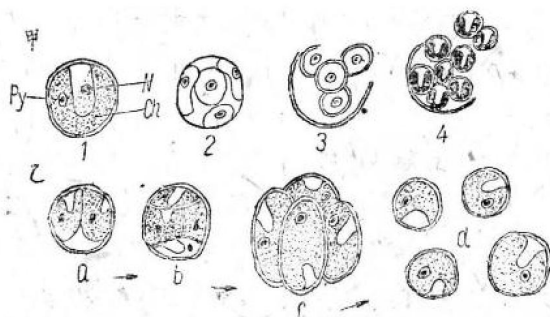


图 5 甲、淀粉核小球藻似亲孢子的形成（模式图）

1, 2, 3, 4 形成的顺序

N 核； Py 淀粉核； Ch 载色体（叶绿体）

乙、淀粉小球藻在培养液中进行迅速的繁殖

a, b, c, d 细胞分裂形成似亲孢子的过程

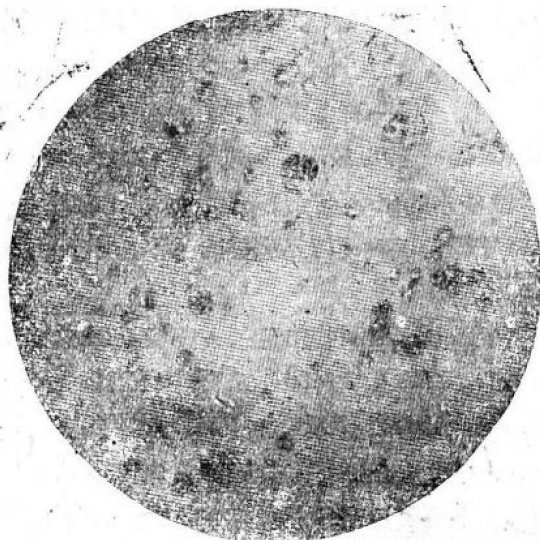


图 6 淀粉核小球藻的显微镜照相 ×400

小球形……个体 大球形……似亲孢子

老化,就不再繼續繁殖,因此小球藻的产量也不能增加了。

小球藻和其他浮游生物間的关系 在自然環境內,小球藻总是和其他浮游生物混在一起的。小球藻和其他浮游生物在一处生活,那么会不会发生种間斗争呢?据我們和其他学者試驗的結果,知道这种斗争是不可避免的,至于勝負屬誰,却要看势力的大小和其他因素方能決定。

据萊菲佛雷 (Lefevre) 氏 (1948) 的研究,綠藻类中的栅連藻 (*Scenedesmus*) 能产生一种抗生素,抑制其他藻类的生长,所以把培养栅連藻的水去培养另一种綠藻,如板星藻 (*Pediastrum*),板星藻就不能繁育。假使把这种培养液用蒸餾水冲淡和煮沸,即能把栅連藻的抗生素消除,其他藻类就能生存。又普辣脫 (Pratt) 氏 (1943) 用一种綠藻叫做实球藻 (*Pandorina*) 的培养池中的水,去培养小球藻和一种矽藻——菱形矽藻 (*Nitzschia*),都不能繁育,这就是由于实球藻能产生一种抗生素来抑制其他藻类发育的緣故。浮游植物在繁育旺盛时,就能抑制浮游动物的生长,这是在 1900 年已知道的了。哈迭氏 (Hardy) (1936) 对于浮游植物排挤浮游动物的原由,提出一种“排挤动物”的假說 (Hypothesis of animal exclusion); 他以矽藻为例來說明,他認為矽藻生长过密的时候,就会改变水的化学性如含氧量和氫离子濃度 (pH) 等,使环境条件不适于浮游动物如橈足类等的生存,因此浮游动物就减少了。

普辣脫氏 (Pratt) (1944) 和尼尔辛氏 (Nielsen) (1955) 都認為小球藻能产生一种抗生素叫做小球藻素 (*Chlorellin*),抵抗細菌,即对細菌有抑制的作用。列苏氏 (Ryther) (1954) 以为小球藻产生的抗生素,对淡水大型水蚤 (*Daphnia magna*) 有抑制作用。如果用衰老而不起分裂作用的小球藻来給这种水蚤吃,那就能使它生长很慢并且停止生殖,經過 11~13 天后,水蚤即死亡。

根据以上的研究,小球藻和其他浮游生物生活在一起时,只要

小球藻占优势,就能产生大量抗生素,抑制其他浮游生物的繁育。我院在实地试养小球藻的结果,可以证明这种研究是正确的。例如我们在大面积培养小球藻时,在第二天水中的小球藻尚未大量繁殖,所以出现了许多原生动物中的纤毛虫类和绿藻类中的单胞藻(*Chlamydomonas*)以及几种蓝藻和矽藻;可是再隔两天,小球藻大量繁殖,水色变绿,其他浮游生物就大大减少,几乎等于消灭了。关于小球藻与其他浮游生物间的斗争,在大面积培养小球藻时有很大的关系,这因大面积培养小球藻,水中就不免混入其他浮游生物,若是小球藻能战胜其他浮游生物,那就能繁育旺盛起来,否则小球藻即为其他浮游生物所排挤。在大面积培养时,要使小球藻战胜其他浮游生物,只要小球藻占优势就可以了。这样看来,大面积培养小球藻的关键问题,就是使小球藻占优势。

有些学者认为栅藻对于原生动物的抵抗力,比小球藻强,所以考虑把栅藻和小球藻培养在一起,使小球藻不受到原生动物的侵害。但是栅藻虽能抵抗原生动物,而它所产生的抗生素对

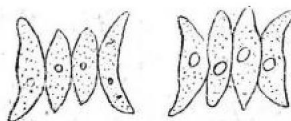


图 7-I 斜生栅藻的群体 (共同体 Coenobium)

[*Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kutz]

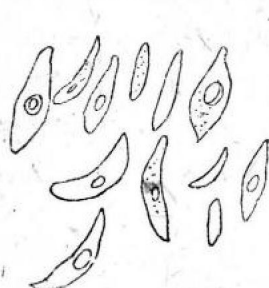


图 7-II 在培养液中斜生栅藻的单体

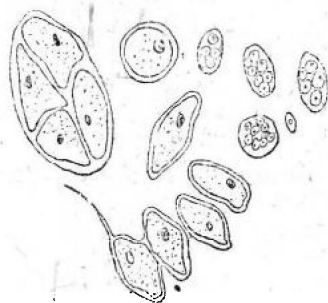


图 7-III 斜生栅藻在培养液中的繁殖 (不动孢子的形成)