

# 浮式塑料薄膜袋培养海洋微藻的研究

张小葵, 张法忠, 张英珊, 苗艳丽, 孙 艳

(山东大学威海分校 海洋生物系, 山东 威海 264200)

**摘要:** 将塑料薄膜袋悬浮于水泥池中进行海洋微藻的三级培养。结果表明, 此方法既保证了藻种培养过程中的良好条件, 又能够有效地避免薄膜袋的破损漏水, 操作简单, 运用灵活, 生产效率大大提高。

**关键词:** 微藻; 聚乙烯薄膜袋; 三级培养; 浮式法

**中图分类号:** S963    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1000- 3096(2004)12- 0008- 03

在海珍品人工育苗中, 海洋微藻作为重要的生物饵料, 能否充足供应往往决定了苗种生产的成败。在微藻的生产性培养中, 一般采用玻璃瓶进行一级保种, 封闭性好, 能够较好地杜绝微生物的污染, 但二级扩种和三级生产性培养通常采用开放式的玻璃钢桶和大小水泥池, 即使对海水进行了彻底的消毒, 但在培养过程中, 由于空气中的细菌、原生动物及杂藻孢子仍会不断落入而污染藻种, 轻则生长缓慢, 收获时密度不高, 重则全军覆没, 颗粒无收。因此要解决二、三级培养污染的关键是尽量采用封闭式培养。缪国荣<sup>[1]</sup>采用聚乙烯薄膜袋封闭式培养海洋微藻, 具有受光面积大、保温性能好、污染机会小、成功率高、成本低、操作简单的优点, 在提高藻种的密度和纯度上取得了良好的效果, 但始终无法很好地解决薄膜袋的破损漏水<sup>[2]</sup>, 因此无法广泛应用。

作者利用育苗场的现有设备, 结合聚乙烯薄膜袋封闭式培养法, 将薄膜袋漂浮于水泥池之上进行单细胞藻的三级培养, 既保证了培养藻种的密度和纯度, 也有效地解决了薄膜袋的破损问题, 并且可以使很大的培养池的应用更加灵活, 取得了良好的生产效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 制袋的材料和方法

采用周长 200 cm, 长度约 450 cm 的农用聚乙烯透明塑料薄膜袋, 两边分别用绳封口, 同时各扎入长约 10 cm, 直径 6 cm 的聚乙烯硬管作出气孔, 一端通入 3 个充气石, 作充气用, 以此作为微藻培养的容器。将其漂浮在盛有水的原三级培养池 (长 × 宽 × 高 = 600 cm × 400 cm × 900 cm) 中, 两头出气孔用绳吊起, 以防袋口沉入水中, 向袋中注入 1.0~ 1.2 m<sup>3</sup> 的培养基并

接入藻种, 即可进行培养。每池吊袋 8 个。

### 1.2 水泥池

以水泥池开放式培养作对照, 水泥池的体积: 长 × 宽 × 高 = 600 cm × 400 cm × 900 cm, 培养水深为 65 cm, 均匀摆放 24 个充气石。

### 1.3 培养种类

新月菱形藻 (*Nitzschia closterium*), 亚心形扁藻 (*Tetraselmis subcordiformis*), 绿色巴夫藻 (*Pavlova viridis*), 等鞭金藻 (*Isochrysis galbana* Parke) 8701, 牟氏角毛藻 (*Chaetoceros muelleri*)。

### 1.4 培养方法

向漂浮于池面上的薄膜袋内注入用  $20 \times 10^{-6}$  的有效氯的 NaClO 消毒灭菌的海水, 24 h 后, 向一侧袋口加入适量 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 充气 5 min 后, 从另一侧袋口取水样监测余氯情况, 以确保彻底中和余氯, 然后加入营养盐制成培养基<sup>[3]</sup>, 最后直接接入一级藻种进行培养。营养盐的加入量为每立方水体 NaNO<sub>3</sub> 60 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 5 g, Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> 5 g, FeC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> 0.5 g, 绿色巴夫藻、等鞭金藻 8701 还须加入 VB<sub>1</sub> 100 mg, VB<sub>12</sub> 0.5 mg<sup>[4,5]</sup>。

以同样方法向水泥池接种培养。

收稿日期: 2003- 07- 10; 修回日期: 2004- 03- 11

基金项目: 山东大学威海分校 2003 年度校级资助项目

作者简介: 张小葵 (1966- ), 女, 河南南阳人, 副教授, 硕士, 主要从事海洋微藻等微生物的培养研究, 电话: 0631- 5693948; E-mail: xiaokui888@sina.com.cn

培养温度和光照时间、强度均随昼夜自然变化, 培养时通气。

每天在同一时间(8:00~10:00)测定藻种密度1次, 藻种密度用XB-K-25型血球计数板记数, 薄膜袋以水泥池中8个袋样品计数平均值作为结果, 水泥池在8个点均匀取样, 以平均值作为结果。以 $K = 3.322(\lg N_T - \lg N_0) / T$ 公式计算5d的相对生长率。 $N_0$ : 接种时微藻细胞数,  $N_T$ : 培养T天细胞数, T: 藻种培养天数。

表1 6株海洋微藻的培养结果和相对生长率

Tab. 1 The cell density and relative growth rate of 6 strains of marine microalgae

藻种名称	温度 (°C)	培养 方法	接种量 ( $\times 10^4$ 个/mL)	生长密度( $\times 10^4$ 个/mL)					相对 生长率
				1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	
新月菱形藻	18~23	薄膜袋	12	36	132	213	286	303	0.932
	17~22	水泥池	14	40	76	138	183	218	0.792
牟氏角毛藻	28~35	薄膜袋	23	50	128	197	251	288	0.729
	26~33	水泥池	25	51	82	103	98	74	0.313
绿色巴夫藻	22~26	薄膜袋	26	45	125	168	202	233	0.633
	22~25	水泥池	22	40	70	93	101	105	0.451
等鞭金藻 8701	7~18	薄膜袋	27	44	143	187	213	234	0.623
	8~16	水泥池	25	45	136	167	198	204	0.606
亚心形扁藻	22~26	薄膜袋	6	10	17	28	43	58	0.655
	22~25	水泥池	7	12	15	22	24	22	0.330

1d的密度几乎都增长了1倍, 然而, 随着培养时间的增加, 6株藻种在各自的温度范围内, 薄膜袋和水泥池的藻种密度出现了明显的不同, 6株藻种的相对生长率薄膜袋均高于水泥池, 其中以牟氏角毛藻的差距最明显, 薄膜袋藻种的相对生长率是水泥池的2.33倍。其次是亚心形扁藻, 1.98倍。而等鞭金藻8701的相对生长率几乎没有差别, 仅为1.03倍。

### 2.2 微藻的污染情况

镜检时发现, 水泥池出现污染原生动动物大大早于薄膜袋, 在高温季节尤为严重, 由表中可以看到, 牟氏角毛藻培养的前3天, 水泥池中牟氏角毛藻的密度是持续增长的, 但后2天密度下降, 这正是由于原生动物的污染造成的。在培养等鞭金藻8701的低温季节, 不论是水泥池还是薄膜袋, 原生动动物出现时间都很迟, 种类也少。

## 3 讨论

聚乙烯薄膜袋与水泥池培养出现上述结果的主

## 2 结果

### 2.1 微藻的生长

根据不同的藻种适宜温度范围分别在不同的季节进行一次性培养试验<sup>[5-7]</sup>, 以8:00~16:00测定的光照强度来确定其变化范围, 光照5000~20000 lx, 试验结果见表1。

由表1可以看出, 所有藻种不论是接入薄膜袋还是水泥池都不经延缓期, 直接进入指数生长期, 培养

要原因是: 接种初期, 细胞密度小, 光照在水中的衰减小, 薄膜袋和水泥池中的细胞生长几乎都不受光照限制, 两者间的差异较小。但随着细胞密度的增加, 光照成为单细胞藻生长的限制因子, 光照面积大的薄膜袋中的细胞生长速度与水泥池的差异就越来越大。其次, 原生动物的污染也是影响单细胞藻生长的重要因素, 这在高温季节表现更突出, 潮湿的空气中存在大量的原生动动物(或孢子), 是对敞开水泥池污染的重要原因, 薄膜袋可阻止原生动动物的落入, 如果对充入的空气过滤净化, 能够更加有效地避免污染。

聚乙烯薄膜袋浮式培养法在三级培养中除了具有塑料薄膜袋培养的所有特点外, 还具有以下优点: (1) 有效地避免了塑料薄膜袋的破损漏水问题。培养单细胞藻的塑料薄膜袋破损漏水的主要原因是因为装有藻液的薄膜袋内外压力不平衡, 薄膜受到了强大的张力, 操作中稍有不慎, 就会造成破漏。浮式法的薄膜袋内外压力均衡, 薄膜几乎不受张力, 且薄膜袋在水中漂浮, 自由度相对较大, 因而大大方便了操作过

程,由表面张力不均或操作不慎(只要不是有意的戳扎)造成的破损漏水几乎不存在。(2)能够更有效地使藻种分布均匀。在单细胞藻的生长中,往往会因为多种原因引起下沉,从而影响单细胞藻的生长状况和质量。充气的方法在帮助单细胞藻的上浮中具有一定的作用,但往往会受到充气量和充气面积的限制。薄膜袋浮式法可利用袋体在水中的自由漂浮,将其翻转晃动,结合充气使单细胞藻分布充分均匀。(3)具有良好的恒温性能。可以通过调节薄膜袋外的池水温度使袋内温度保持相对恒定,低温季节,浮式薄膜袋阻碍了池水的上下对流,其良好的保温性能使上层薄膜袋的温度明显高于开放的水泥池表层,且不影响水泥池底层暖气管升温向其传递的热量;高温季节,采取在薄膜袋上铺冰块或以较低温度的水循环促使薄膜袋降温。(4)可直接由封闭培养的一级藻种向三级培养的塑料袋中接种,避免了多次接种操作造成的污染和浪费机会。浮式薄膜袋培养由于能够有效地避免污染,因此单细胞藻的接种密度不必很高,培养周期可以适当延长,可以根据需要调整浮式薄膜袋的接种密度。在低温季节,也可用浮式薄膜袋进行二级培养,并在原池中接种进行三级培养<sup>[8]</sup>,生产效果好,且可大大降低生产成本。(5)化整为零、调控灵活。浮式薄膜袋培养法对于一些培养池过大的生产单位尤其适用。可根据培养池的情况选用不同大小的薄膜袋,再根据需要进行确定每池吊挂薄膜袋的个数,每个袋中培养的种类,

从而有效解决了因培养池过大,单细胞藻培养无法灵活掌握的弊端。

浮式薄膜袋法可以用于任何能够存水的池子,不论是室内池还是室外池,水泥池还是土池,只要能充气,固定袋口,就能进行培养,因此大大扩展了单细胞藻培养的空间。

#### 参考文献:

- [1] 缪国荣,官庆礼,王进和,等.单胞藻薄膜袋封闭式培养技术的研究[J].青岛海洋大学学报,1989,19(3):53-58.
- [2] 于瑞海,潘振球,王昭萍.用塑料薄膜袋进行一级藻种培养的研究[J].海洋科学,1990,4:62-63.
- [3] 湛江水产专科学校.海洋饵料生物培养[M].北京:农业出版社,1980.63-65.
- [4] 周汝伦,孙在仁,杨震,等.金藻 8701 的分离、培养和应用初报[J].海洋湖沼通报,1990,1:34-40.
- [5] 陈椒芬,潘永尧.等鞭金藻的生长及其主要营养成分的研究[J].海洋与湖沼,1987,18(1):55-63.
- [6] 王淑萍.海水驯化牟氏角毛藻(*Chaetoceros muelleri*)培养试验[J].水产科学,1992,11(9):20-21.
- [7] 周汝伦,孙爱淑,杨震,等.金藻 8701 培养的生态条件研究[J].青岛海洋大学学报,1994,24(2):181-186.
- [8] 张小葵,张法忠,宋春华.单细胞藻的薄膜袋浮式培养法在二级培养中的应用[J].齐鲁渔业,2002,19(5):7.

## Culture of the third stage marine microalgae with floating polyethylene bags

ZHANG Xiao-kui, ZHANG Fa-zhong, ZHANG Ying-shan, MIAO Yan-li, SUN Yan  
(Department of Marine Biology, Shandong University at Weihai, Weihai 264200, China)

Received: Jul., 10, 2003

Key words: microalgae; polyethylene film bag; third stage culture; floating method

**Abstract:** Floating polyethylene film bags were used in the third stage marine microalgal culture. Result showed that this method could ensure good condition for the algae culture and prevent the film bags from damage. It is simple and flexible for using. The production was apparently higher than used cement pond.

(本文编辑:张培新)