

文蛤的種苗生產

陳鴻議、何雲達

一、前言

文蛤(*Meretrix lusoria*)屬二枚貝斧足綱，英文名hard clam.本省俗稱粉蜆、蛤仔、蜆仔、蚶仔，外型呈卵三角型。型態、色彩、斑紋隨環境不同而有差異，故種類辨識不易，依記載本省約有文蛤、朝鮮文蛤、中國文蛤、台灣文蛤、簾文蛤等五種，而其中以文蛤為主要養殖對象。1980-1981年間，水試所台西分所參考國、內外相關資料，將文蛤種貝催熟，採卵、採精、授精，而孵化成功。1981年民間業者首次推出沉著稚貝苗，人工苗始進入市場。1983-1984年間，在彰化、雲林、嘉義沿海，各種規模之人工繁殖場如雨後春筍般的設立，人工苗在市場上完全被接受。至1985年，人工苗幾乎已供過於求，文蛤魚塭養殖面積亦達顛峰。二十年來，文蛤人工繁殖技術大致已確立。然存活率仍然不穩定，可見其仍有很多問題，有待突破及努力。

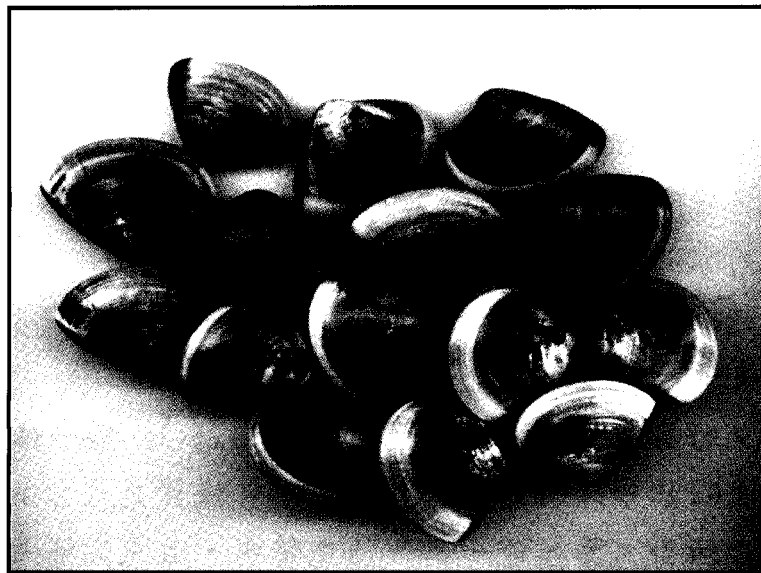


圖1.文蛤(*Meretrix lusoria*)

二、文蛤人工繁殖

本省文蛤產卵期，由其天然採苗期推測可能在農曆四至六月間，而以夏季最盛。其人工繁殖流程可分成幾個步驟：(一)繁殖前之準備(孵化池清洗及孵化設施之檢查、水質處理、稚貝育苗池之整理和種貝培育與成熟度之試驗)。(二)種貝處理(吐砂和洗淨)。(三)採卵、採精、授精(物理刺激、化學刺激)。(四)洗卵。(五)孵化。(六)浮游幼生之管理(投餌、水質管理、鏡檢)。(七)沈著稚貝之管理(投餌、水質管理、鏡檢)。

(一)繁殖前之準備

1. 孵化池清洗及孵化設施之檢查

孵化池可分硬池式及鋪砂式二種，不論何種型式繁殖前一定要清洗乾淨，將污物減少至最低，以免繁殖期間影響水質及沈底存活率，而鋪砂式的底砂，應選擇粒徑細者且不含泥沙及乾淨者最佳。池壁要保持平滑，若水泥漆有脫落則要重新補刷，以免對受精卵造成機械損傷在孵化設施方面，應注意供氣、動力及給排水等系統是否有問題。供氣系統方面必須檢查打氣機有否故障、管路有否漏氣、打氣石是否分佈平均、調節閥有否故障，以防孵化期間供氣系統出問題影響孵化率及活存率。在動力系統方面，要檢查發電機有否正常，油是否充足，以免停電造成損失。給排水系統方面要檢查排水管是否有阻塞或漏水，進水管路開關是否正常。另外，在大量繁殖時，用人工投餌是很不合乎成本的，因此可視各場經費自行設計一套給餌系統，將藻水利用動力抽送、過濾，再送至孵化池。

2. 水質處理

文蛤苗孵化用水鹽度適宜範圍在25-35 ‰，必須經過濾、沈澱，去除水中浮游動物，並讓水中有機質充分分解，以減少繁殖期間之污染。繁殖前一天，須先蓄水，並充分曝氣。蓄水前須將積存於管內過久之水排除，待無異味及異色後三分鐘方可開始蓄水。

3. 沈著稚貝育苗池之整理

由於文蛤苗浮游期約在7-10天後即行沈著，視水溫而定，因此稚貝育苗池於繁殖前就需整理好，稚貝育苗池之底質以純細海砂最佳，且愈細愈好，如果使用的底質是河沙，則必須將沙中之雜草、垃圾、石塊用文蛤採收機清除，並將其中之大量泥砂儘可能減至最少。過多之泥砂將會影響沈著稚貝之活動及生長。池底整平後，必須先行試水，檢查有否漏水及保水。

4. 種貝培育與成熟度之試驗

在繁殖季節時期，選擇殼長約在25公厘以上之文蛤種貝，一般在每年3、4月至10月間，皆可取得發育成熟之種貝。但有時生殖巢並非個個皆成熟飽滿，常會因大量注排水、颱風、下雨或池水異常攪動等等自然或人為因素，於池中自然排卵、排精。因此在做繁殖前應先行試驗其成熟度。其方法為：(1)逢機挑選40-60粒，以工具直接敲破，使軟體部份裸露，在斧足上方鼓起部位即為生殖巢，外觀雌雄不易分辨。以利器刮開生殖巢，取少許抹於載玻片上，以40倍解剖顯微鏡鏡檢精卵的成熟度（圖2）。(2)取2-3斤之文蛤種貝進行排卵、排精、授精觀察排卵量及孵化率，再決定是否使用，如生殖巢成熟度不夠飽滿，則可以人為方式，提供良好環境如餌料、水溫等，促進其成熟。



圖2.鏡檢精卵的成熟度

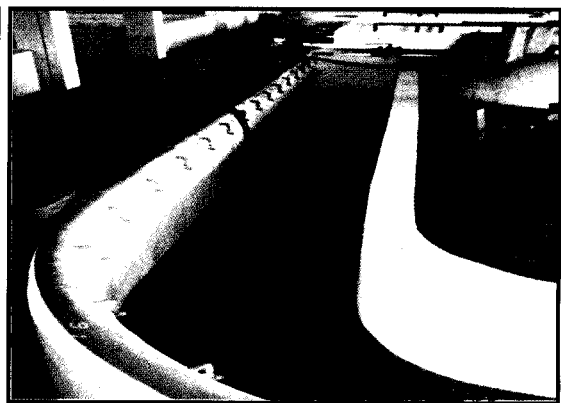


圖3.採卵採精前吐砂

(二)種貝處理

決定繁殖用之種貝取回後，要先放入蓄水池中，注入清澈海水，讓其吐砂1小時左右（圖3）。以減少誘發產卵排精期間，文蛤之排泄物及泥砂污染水質，吐完砂後的文蛤要以清水沖洗外表，去除表面可能之污染源，再進行分籃作業，儘量不要重疊，並予陰乾。

(三)採卵、採精及授精

文蛤繁殖由於無法如牡蠣一樣直接從生殖巢取出卵和精子，再加以人工授精，且又因從外觀很難分辨出雌雄，因此採卵、採精之誘發皆在同一孵化池中進行。據研究指出，二枚貝於產卵誘發前以低溫飼育處理半日以上，可提高誘發之效果。

目前刺激文蛤排精之方法有化學刺激法及物理激法，現分述如下：

1.化學刺激法

將種貝置入孵化池中，加入過濾海水至淹沒表殼為止，再使用含氮25-28 %之氫氧化銨溶液，控制有效當量濃度在0.0015-0.003 N之氨水誘導排卵、排精，約30分鐘即可誘發產卵，60分鐘左右，即可排放完畢。使用化學藥劑誘導排卵、排精、授精後要迅速換水，控制不當則會造成胚胎中毒，發育畸型。

2.物理刺激法

物理刺激法是一般所採行，雖然其排卵率不能百分之百，但其孵化率較化學法為高，畸型率亦較少，常用的方法為：

- (1)陰乾變溫刺激法：種貝吐砂、洗淨後置於陰涼處，陰乾1-1.5小時，然後放入預先增溫3-4 °C的孵化池中，並充分打氣，約45-60分後即開始排精、排卵等，排卵量足夠時，即可取出種貝，排卵量之多寡，可由水色之濁度或或用燒杯取樣觀測卵粒數，判斷排卵量，此法排卵量一般可達八成左右（圖4）。
- (2)陰乾後精液誘導法：此法即將種貝陰乾後，置入沒有升溫之

孵化池中，充分打氣，取適量的精液加入孵化池中，誘導種貝排卵、排精（圖5），此法一般是要在雌貝相當成熟時才可。不過亦可和陰乾變溫法一同採用，尤其在加溫設備不足之場子，可以利用(1)法的精子、卵子在(2)法進行誘發排精、排卵。刺激排卵、排精後之種貝，再放回種貝池繼續蓄養，以待下次繁殖用。化學刺激法和物理刺激法各有其優缺點，用化學法時，其時效快，排卵率高，但化學濃度不易掌握，且所產劣質卵亦多，孵化率低，畸型率高，一有疏忽可能導致全池畸型。而物理刺激法則是操作簡便，所產卵質優良，孵化率及存活率皆高，惟時間較長，但衡量優缺點，仍以物理刺激法較佳。

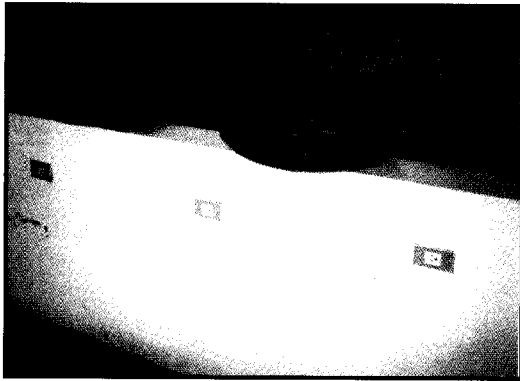


圖4.陰乾變溫刺激法

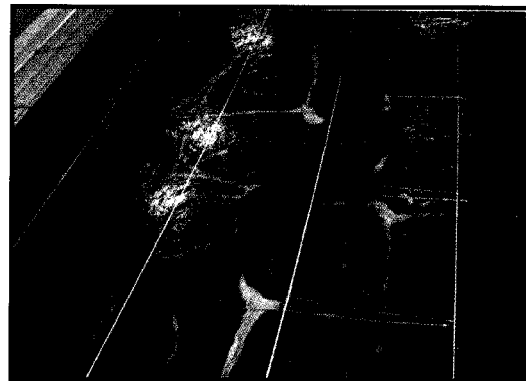


圖5.陰乾後精液誘導法

造成無法排精排卵之原因可能為:1.雌貝雖已成熟，但雄貝成熟度不足，無法先排精，喪失誘引雌貝排卵效果。2.已經自然排精排卵，遺留未熟之精卵。3.採卵用之水質條件不適合，雖經反覆刺激，亦無法排精排卵。

(四)洗卵

因為文蛤雌雄種貝辨識不易，因此排卵、排精誘發皆在同一池子中，故洗卵步驟常被忽略，除非精子濃度太高。如需進行洗卵，其方法為停止打氣讓受精卵下沉後，使用鑽孔排水管，套上浮游生物網，將上層未受精之卵、精子減少至最少，再注入經沈

澱、過濾處理過的乾淨海水，進行孵化。

(五) 孵化

文蛤受精卵孵化時間因水溫不同而異，在水溫 28°C 下，自受精至孵化成D型幼蟲約11-12小時。卵子受精後15-20分鐘左右，第一極體出現，40分鐘左右分裂成兩個細胞，80分鐘左右分裂成8個細胞期，依次為桑椹期、原腸期、擔輪子體、D型幼蟲（圖6-圖13）。

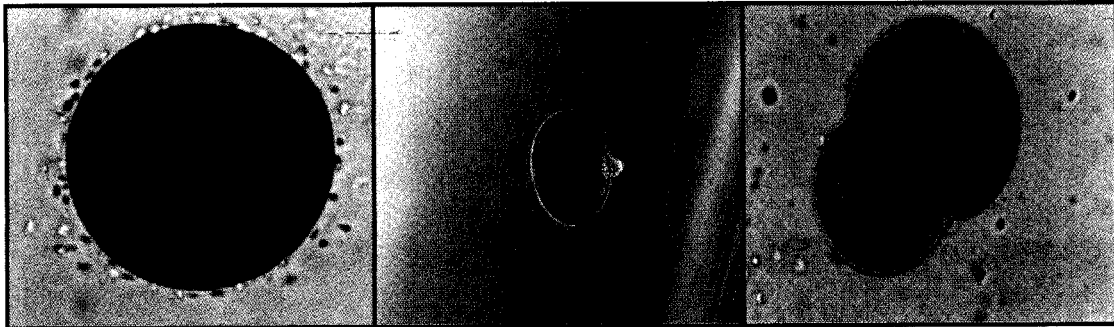


圖 6. 受精卵

圖 7. 極體出現

圖 8. 二細胞

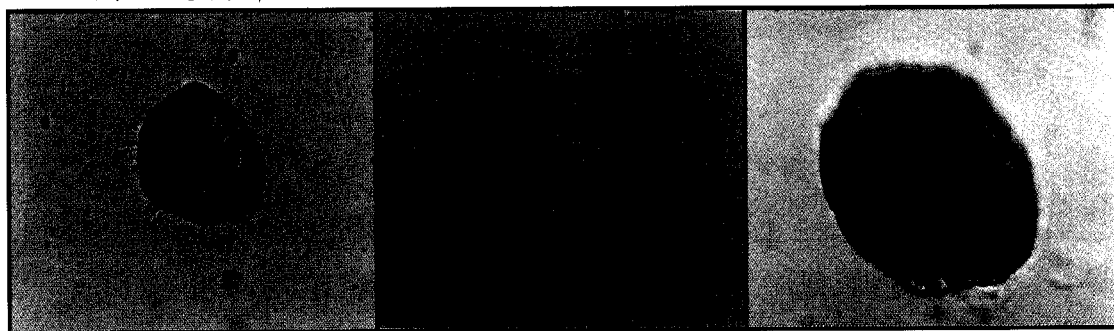


圖 9. 四細胞

圖 10. 八細胞

圖 11. 原腸期



圖 12. 擔輪子期

圖 13. D 型幼蟲

圖 14. 沉著稚貝

文蛤在原腸期時作緩慢旋轉運行，擔輪子體時開始行浮游生活。受精卵於孵化期間，打氣量要調至適中，以免打氣量過大對受精卵造成機械性損傷，影響受精卵之孵化率。

而受精後無法發育之原因可能為：1.雄貝排精過多造成多重受精，使受精卵無法分裂。2.雄貝排精過多造成水質惡化。3.種貝棲息於高水溫環境過長，使卵子過熟，所孵化出之胚胎成畸型而夭折。

(六)浮游苗之飼育與管理

1.飼育

文蛤受精卵孵化時間受水溫之影響很大，在28℃下從受精卵至成為D型幼生約12小時。正常孵化後，浮游苗即開始攝餌，餌料以5微米-10微米之微細藻類為佳，如等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)、擬球藻(*Nannochloropsis oculata*)、海水綠藻等。投餌量以少量多餐為原則，而投餌量要如何判斷呢？在此提供一簡單方法供參考，投餌量以池水出現投餵藻水之顏色，並於4小時內消耗完為準，故開始投餌時量不可太多，需緩緩的增加投餵量。如投餌量過多，文蛤幼生會因過度攝食而沈底死亡或分泌出粘液將餌料以擬糞排出，無法充分被利用，而造成污染。藻水來源不論是純種培養或者是天然藻種培養，引用時皆須先鏡檢及15-20微米濾網過濾，以免引用到老化、死亡、受浮游動物、原生動物污染或粒徑太大之藻類。餌料生物投與，採兩種以上混合方式，較單一的投與效果為佳，因單一餌料投與極難供應全部的營養需求量，而兩種以上餌料混合則可以互補他方之不足，而達均衡充分供予所需之營養。

2.管理

浮游期間投餌後藻水的顏色變化可做為管理之參考，當投餌後水色於正常消耗時間過後仍沒有變化，或少許變化時，就需注意水質有否惡化，同時亦須鏡檢是否有沈底死亡現象，或

是餌料物性不被接受，當水質惡化時即須換水。此外可於夜間用手電筒照射池水，察看浮游幼生之密度變化，做為生長情形之判斷，為了維持良好之飼育水質，可降低孵化池的照明度，以減少附著物繁殖及水槽內浮游生物發生，而且要每隔2-3日定期採取100毫升水樣測定其中所含個體數及最大、最小體型，並記錄之，做為成長率、生存率之判斷，並觀察蛤苗色澤及消化管內之消化情形，做為幼生健康之辨別。另要注意的是，任何生物皆有死亡臨界點，而產卵量大的二枚貝更是明顯，所以在浮游期第3-4天時，常會自然淘汰一些卵質不佳及適應力差的文蛤苗，而有明顯死亡現象，故可於浮游期間提高鹽度、溫度淘汰不適之文蛤苗。

3.浮游苗變態前之處理:

當文蛤苗於浮游期間，若水質不適、餌料品質不佳、投餌過量、卵質不佳時，皆會提早沈底死亡。在正常溫度下，稚貝沈著時間一般在孵化後7-10天內，浮游幼生在變態沈著時，攝餌量會減少，此時投餌量應減少。當接近沈著期時，每天應抽底鏡檢是否開始變態，當有斧足伸出時，即表示開始變態(圖14)，應著手做外移之準備。如果是在沈著期間外移，可先排上層水，再用收集網收集，然後移至稚貝育苗池平均撒佈，不過因幼生外殼脆弱，在沖洗採集過程中，易造成機械性損傷。若孵化池為鋪砂式，則可以待其沈著後3-4天，再排乾池水，刮起表層之砂，平均撒佈於育苗池。

(七)沈著稚貝之管理與飼育

1.初期沉底稚貝之飼育管理

沈著稚貝的成長適溫在22-34.5 °C，鹽度在19-32 ‰之間，底質砂質愈高，泥愈少，存活率愈高，而砂粒徑在0.03-0.02公厘間最好。初期稚貝(圖15)對餌料種類之選擇範圍較廣，因此不一定要投餵純種藻類，只要粒徑合適稚貝攝取，相當低

濃度即可維持成長。除浮游性微藻外，亦可以小顆粒之有機碎屑為食物。

2. 紅點苗(大小在0.5公厘左右)之飼育管理

- (1) 保持較高之透明度：紅點苗（圖16）為肉眼可見之稚貝，此階段不再需要外加藻水，自然繁生之藻水若不足，仍不會影響其成長。養殖期間池水儘量保持較高之透明度。
- (2) 適量投餌：以非生餌為原則，投餌量以在目視下無明顯沉澱物，飼料可在水中懸浮或溶解，極微量在沉於底部後緩慢分解。除直接被稚貝利用外，亦可為微藻所利用。

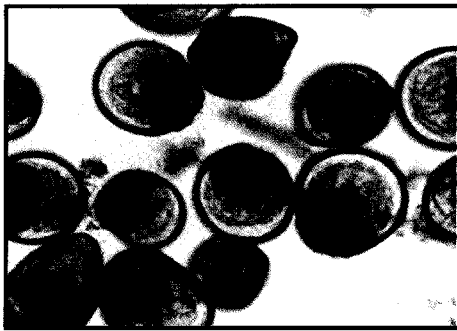


圖15.初期沉著稚貝

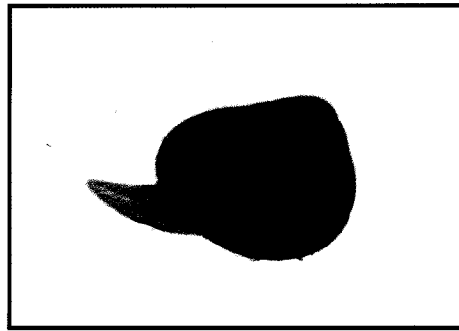


圖16.紅點苗

3. 黑砂苗(大小在0.5-1.0公厘左右)之飼育管理

黑砂苗稚貝殼表呈深色，其大小如砂粒般，由紅點苗養至黑砂苗約10-15天左右，管理方式與紅點苗相同，但個體成長有顯注差異。較大規格者成長愈快，因此，必需定期採補較大規格之蛤苗出售或移池。讓個體較小者有機會成長。

4. 育苗池之管理

沉底稚貝移出後，最要緊的就是防止絲藻產生，以免影響稚貝成長及活動。抑制絲藻生長之方法，如：1.提高水位。2.注入藻水降低透明度。3.使用甲基藍來造水色遮光。4.放養草食性魚類如臭肚魚、變身苦、虱目魚等。如透明度過低，則需進行排注水，以提高透明度。在注排水時，應防止肉食性及易破壞底床的魚蝦進入，故最好能於注排水口加一層網。

如池水鹽份過高時，則以漸進方式調至適當。沈著稚貝之餌料除可由海水中得到外，亦可適時引入藻水，而且每隔數日逢機抽底觀察其成長情形。稚貝放養一段時日後，應以蛤仔機沖鬆池底，使有機物上浮，並予以排出，才不會將稚貝覆蓋，阻礙濾食。當池中有扁虫發生時，即顯示池中有機質過高，應注意處理。

三、微細藻類之保種與培養

(一)餌藻選擇對貝類幼生之重要性

一般二枚貝的攝餌方式係濾食性，其餌料以環境周圍之浮游微細藻類及有機碎屑為主，但並非池塭內每種藻類皆具餌料效果，因此必須進行篩選，若能進行單種培養，對塭養二枚貝，如：文蛤及花蛤等，將可減少人工飼料之成本。1974年英國Wanle曾試驗各種之微藻對牡蠣育成效果，結果顯示等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)(圖17.1)及周氏扁藻(*Tetraselmis suecica*)(圖17.2)最具餌料效益，美國之沿岸牡蠣公司(Coast oyster company)則以矽藻類之*skeletonema* sp.、*Thalassiosira pseudonana* 及*Chaetoceros calcitrans*等為該公司之牡蠣苗及成貝餌料。日本則以牟氏角毛藻(*Chaetoceros muelleris*)(圖17.3)培育牡蠣苗。經全世界多年印證，適合水產養殖用餌藻以*Isochrysis*、*Chaetoceros*、*Thalassiosira*、巴夫藻(*Pavlova*)、扁藻(*Tetraselmis*)及擬球藻(*Nannochloropsis oculata*)(圖17.4)等六屬為主。

海水中之藻種很多但要成為餌料必須具備1.粒徑大小合適。2.營養價值高。3.便於養殖物攝取與消化。4.藻體生長代謝物或分泌物對養殖生物無毒。5.對環境適應力強且易於大量培養。因此，如何選擇適合的藻種，以利保種與培養，對文蛤等二枚貝養殖成敗與否至為重要。本文將簡介影響藻類生長之因子，再探討其生長模式與營養需求，進而介紹如何保種與培養，期能使養殖業者對藻類培養技術之提升有所助益。

(二)影響藻類生長之因子

藻類是利用光合作用將環境中之有機或無機物合成本身之營養物質以達增殖目的。因此，除藻類之營養需求外，環境中之光照、溫度、鹽度、二氧化碳含量及酸鹼值(pH)等，都與藻類增殖關係密切。

1. 光照

藻類與陸生植物一樣藉著行光合作用而生長，因此光照強度對其生長發育影響頗大。藻類之光合作用強度隨光照強弱而不同，當在某一光照強度下，藻類光合作用所產生之氧氣和生長代謝所耗之氧氣速率相等時，只能維持其基本代謝而不能生長，此時期之光照強度稱為補償光照。當光照強度大於補償光照時，隨光照度增強，藻類光合作用亦隨著增加；當光合作用或藻細胞增殖達到最高時，此時期之光照強度稱為飽合光照。同種藻類之補償光照及飽和光照，隨藻水深度、濃度、培養容器透光度、光照方向等培養條件不同而有異。

一般在低藻水濃度時所需之光照度較弱，而高藻水濃度時因藻細胞對光之吸收與散射，光照強度隨藻水深度增加而減弱甚至無光照，故所須光照度亦較高。不同藻種所需之光照度亦有異，如擬球藻喜歡強光照，增殖率隨照度增加而增加，至2000 lux-30000 lux增殖率最高。而周氏扁藻在光照500-10000 lux間，增殖率隨照度增強而增加，與擬球藻比較，周氏扁藻適合在較低光照環境下增殖，而不耐強光照。此外光照時間長短亦會影響藻類生長，不同藻類對光照的時間需求也不一樣，一般長光照環境下藻類成長較短光照快，但有些藻類卻是相反的，如粉核小球藻24 L>12 L/12 D。又因不同藻類細胞所含光合作用色素不一樣，因此對光之波長吸收亦有差別，如矽藻類以綠色光最好，其次為青光；粉核小球藻以紅光最好，綠光最差。

2. 溫度

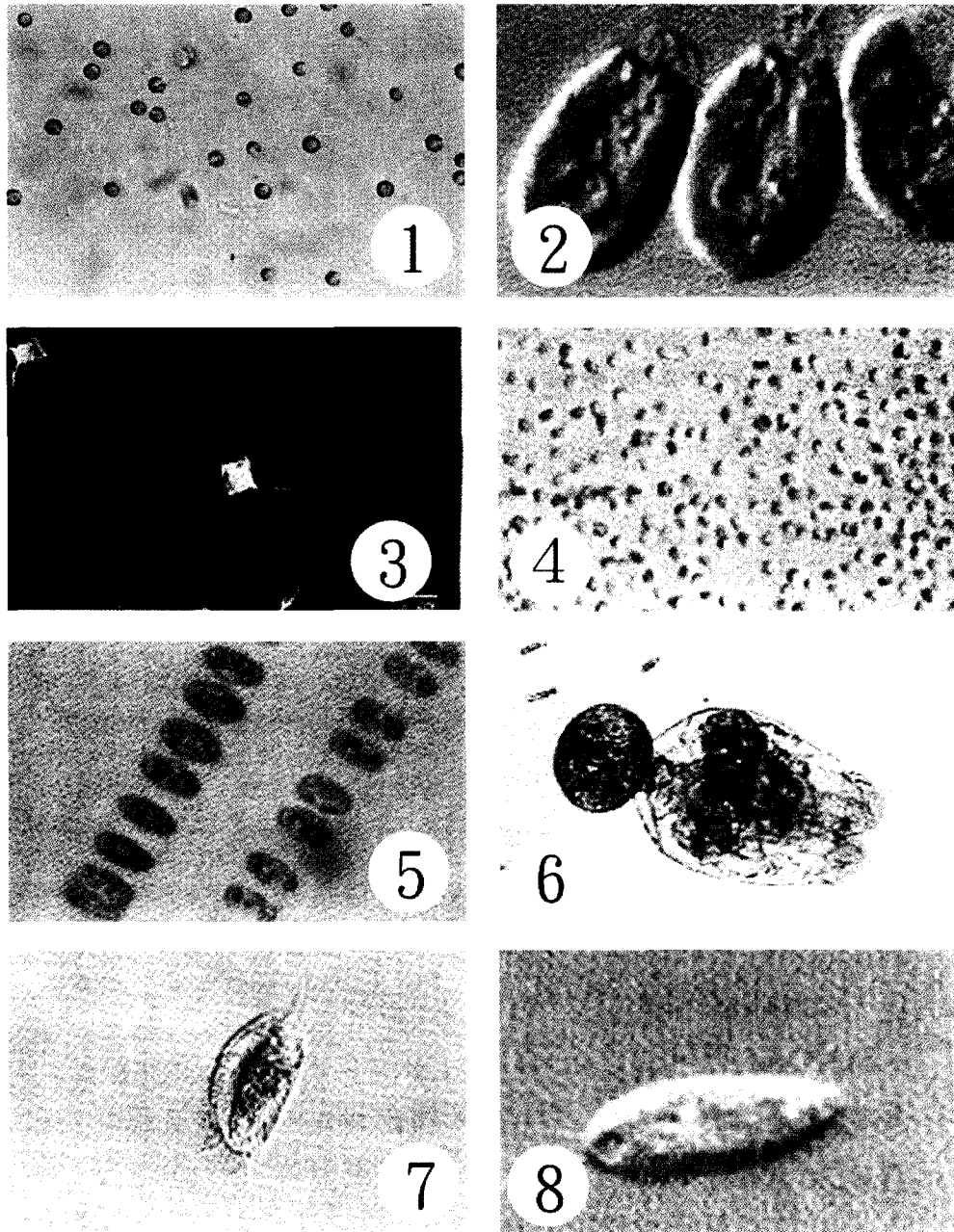


圖 17. 常見微藻與浮游動物

- | | |
|--|--|
| 1. 等鞭金藻(<i>Isochrysis galbana</i>) | 2. 周氏扁藻(<i>Tetraselmis suecica</i>) |
| 3. 牟氏角毛藻(<i>Chaetoceros muelleris</i>) | 4. 擬球藻(<i>Nannochloropsis oculata</i>) |
| 5. 台灣骨藻(<i>Skeletonema costatum</i>) | 6. 輪蟲(<i>Brachionus rotundiformis</i>) |
| 7. 游仆蟲(<i>Euplotes</i>) | 8. 纖毛蟲(<i>Uronema</i>) |

溫度是限制單胞藻體內生理機制反應之主要因子，並且能限制其分布範圍。在生長及繁殖速度最快之適溫範圍，稱之為最適溫度範圍。當溫度低於適溫範圍時則生長停滯或呈休眠狀，甚至死亡。高於適溫範圍時則易死亡。一般生物於適溫範圍內溫度每增加 10°C 時，體內生理代謝速率約增加2~4倍。綠藻類一般適溫範圍上限為 35°C 左右，最適溫範圍為 $24-28^{\circ}\text{C}$ 。矽藻類最適溫在 $10-20^{\circ}\text{C}$ 左右。而金藻類最適溫在 25°C 左右，擬球藻的適溫範圍為 $10-35^{\circ}\text{C}$ ，而以 $25-31^{\circ}\text{C}$ 間增殖率最高，在 37°C 時仍能活2-4小時。周氏扁藻的適溫範圍為 $15-35^{\circ}\text{C}$ ，而以 25°C 增殖率最高， 15°C 增殖最差。臺灣骨藻(*Skeletonema costatum*) (圖17.5)最適溫範圍為 $10-34^{\circ}\text{C}$ ，而以 $20-30^{\circ}\text{C}$ 間增殖率最高。一般藻類對低溫之忍受性較強，在低溫條件下其生理活力較低，因此，常藉此特性進行藻種之保存。

3. 鹽度

單胞藻類有淡水種、狹鹽性種及廣鹽性種，不同種有其不同之鹽度適應範圍，例如擬球藻適合範圍為5-77 ppt，而以20-35 ppt增殖最佳。周氏扁藻在10-40 ppt均能生殖，而以20-30 ppt間增殖最佳。臺灣骨藻是以7-50 ppt為適合範圍，但以15-30 ppt間最適。等鞭金藻以5-60 ppt較適合生殖，並以15-40 ppt間最合適。

4. 水中二氧化碳含量

單胞藻行光合作用時要吸取水中 CO_2 ，因此，要供應 CO_2 才能維持其生存。水中二氧化碳(CO_2)以各種方式存在，分別有游離之 CO_2 、碳酸氫鹽及碳酸鹽，游離之 CO_2 和水(H_2O)水解成氫離子和碳酸氫根離子，極少數碳酸氫根離子再解離成氫離子及碳酸根離子，當水中之 CO_2 被藻類吸收後，氫離子和碳酸氫根離子會結合成 H_2CO_3 放出 CO_2 供藻類利用。當白天光合作用旺盛時，水中之氫離子大量減少，使得pH值增加，夜間光合作用停止，呼吸作用增加， CO_2 被大量釋出和水(H_2O)水解成氫離子和碳酸氫根離子，造成pH值下降，當池水藻類濃度高時，日夜間池水之氫離子變化可達100000倍。一般海水中之 CO_2

含量是充足的，但人工培養單胞藻時，因藻類密度高，在光和作用旺盛時CO₂往往不足。而成為藻類增殖時之限制條件，目前在國外已有CO₂補充之技術，可提高藻類之生產量。

5. 酸鹼值(pH)

各種藻類均有一定之pH值適應範圍，如擬球藻在培養初期pH值與增殖率的關係呈拋物線，其增殖最好之範圍在7.5-8.8之間，而周氏扁藻在7.0-8.5間，超過或低於該適應範圍將會造成死亡。天然海水之pH值約在8.3左右，但在人工培育情況下，單位容積藻體密度可高達每毫升1千多萬個藻細胞，由於藻細胞迅速生長、繁殖，大量吸收水體中之CO₂及利用重碳酸鹽結果，引起水中pH值增加，若無適時降低pH值，最後將造成藻類死亡，既俗稱之倒藻或倒水。

(三)單胞藻類之生長模式

單胞藻類在一次培養過程中，有一定之生長模式曲線，可分成五期，概述如下：

1. 延緩期

此期為新接種後，藻類為適應新環境，而進行生理與代謝之調節，此時外觀顏色無變化，細胞數目變動不大，生長繁殖不明顯。此期形成可能原因為：1.接種到已老化中之藻種，即大部份細胞已無增殖能力，僅少數具有增殖能力，增殖能力和死亡率相近。2.接種到發育中之藻種，尚不能立即進行分裂。3.接種量不足，致藻類生長過程中所需藻體本身特殊分泌物質在培養液中不足所引起。4.接種環境差異過大，藻體須重新調整生理與代謝之適應能力。縮短延緩期之方法，可採取下類措施：1.接種之藻體必須處於指數期細胞，此期細胞生長旺盛，分裂繁殖快速。2.接種時藻種量要大，除可保持優勢種外，藻類生長過程所需藻體本身特殊分泌物質濃度亦較高。3.防止新舊培養液環境條件(如pH值)差異過大。

- 2.指數生長期:此期細胞迅速生長及繁殖，細胞數目呈幾何級數增加，培養之藻種開始佔優勢，其它藻種不易成長。
- 3.相對生長下降期:指數生長期到了一定程度後，細胞增殖減緩，然後不再增加，相對指數生長期已明顯下降。本期形成原因可能為:1.營養鹽不敷生長需求，生長受抑制，甚至停止生長。2.二氧化碳與氧氣供應不足，無法供應光合作用及代謝活動。3.培養液環境巨幅改變。4.藻類濃度過高，增殖空間不足且光照強度受細胞間相互遮避，無法穿透，大部分細胞如同生活在黑暗中。5.代謝分泌物自體抑制，如：小球藻(*Chlorella vulgaris*)在生長過程，其代謝作用產生一些分泌物，當分泌物濃度增加至某種程度時，會對本身產生一些毒性或抑制生長。
- 4.靜止期或高原期:此期藻細胞數目維持不變，並持續一段時間，其時間長短視藻種不同而異，時間越短表示越不能忍受惡劣環境。
- 5.死亡期:此期細胞開始自我分解死亡，數目急速下降。

(四)藻類之營養需求

單胞藻生長過程中之必需元素有碳(C)、氫(H)、氧(O)、氮(N)、鈣(Ca)、磷(P)、鉀(K)、鎂(Mg)、鐵(Fe)、硫(S)等10種，此外還需要一些微量元素，如錳(Mn)、鋅(Zn)、銅(Cu)、硼(B)、鋁(Al)、碘(I)、矽(Si)、鉬(Mo)、銦(Sr)及鈷(Co)等，在生長過程中需求量較大者有碳、氫、氧、氮、磷及鐵等6種。

1. 氮之主要來源與效用

氮為構成單胞藻類蛋白質主要成分，為不可缺少之元素。除水中含有少量外，生產上常添加下列幾種化合物 KNO_3 、 NaNO_3 、 NH_2CONH_2 、 NH_4NO_3 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、 NH_4Cl 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 或有機發酵液，這些化合物中之氮鹽以 $\text{NO}_3\text{-N}$ 及 $\text{NH}_4\text{-N}$ 型態存在。在不同環境下，其利用之情形亦不同，中性時 $\text{NH}_4\text{-N}$ 利用率大於 $\text{NO}_3\text{-N}$ ，弱酸時 $\text{NO}_3\text{-N}$ 利用率大於 $\text{NH}_4\text{-N}$ ；低光照時， $\text{NH}_4\text{-N}$ 利用率大於 $\text{NO}_3\text{-N}$ 。有研究發現，海洋中之 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量比 $\text{NH}_4\text{-N}$ 及 $\text{NO}_2\text{-N}$ 含量

高， $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量成為矽藻之限制因子，而在培養液中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 比 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 較易被矽藻吸收利用。尿素在培養液中不直接被利用，而是被分解成 NH_4HCO_3 及 NH_4OH ，因不會造成培養液之pH值變化，為其優點。由於餌藻是用來培育養殖生物，為避免氮對養殖生物之影響，故以 KNO_3 、 NaNO_3 最常被利用。

2. 磷主要來源與效用

藻類利用磷在體內合成磷化物，存在於原生質與細胞核中，為組成核酸與能量轉換物質如ATP、ADP、脂類及維生素等的不可缺乏之物質，對生命活動具有重要之意義。培養液中磷的來源，主要有下列幾種：磷酸二氫鉀(KH_2PO_4)、磷酸二氫鈉(NaH_2PO_4)、磷酸氫二鉀(K_2HPO_4)、磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4)及過磷酸鈣等。磷在不同條件下，其利用情形亦不同，如新月菱形藻在光照下比在黑暗中對磷之吸收大；有些藻類可以預先吸收過量之磷，以便在缺磷時使用。磷與氮對藻類生長與發育皆具作用，但兩者之吸收利用有一定比例關係，合理的氮源供應有利於磷的利用。常用之磷鹽為過磷酸鈣，但過磷酸鈣不可和石灰共同使用，以免形成不溶性之物質。

3. 鐵之主要來源與效用

自然界中鐵存在量很多，但在pH值7以上易於氧化沉澱。因此，如依靠天然水以滿足此種需要更為困難。鐵對藻類之葉綠素合成有促進作用，並且是許多氧化酵素必備之元素，對體內氧化還原作用具有調節功能。常用之鐵鹽有氯化鐵、硫酸亞鐵及檸檬酸鐵等，使用時可以添加EDTA- Na_2 使其不發生沉澱，或者使用有機鐵來代替無機鐵。

4. 矽之主要來源與效用

單胞藻類中，特別是矽藻類，不但細胞壁合成需要大量的矽，且整個生長發育過程更是不可缺少，無法被其他元素取代。根據分析，矽藻類細胞壁之組成成分，矽酸佔96.5%，但隨種類不

同，需要量亦有差異，培養液中矽之含量，影響矽藻最後之產量。在生產上，常用之矽源為矽酸鈉，而更高度聚合形成之矽化合物，已證明不能為矽藻所用。

5. 鉀、鈣、鎂、硫之主要來源與效用

鉀能使藻細胞保持一定程度之膨脹，這對細胞內部新陳代謝及其他生活機能的運作是必需的。此外，植物行光合作用時對碳水化合物合成，具有轉移與儲存，並對蛋白質合成有促進作用。鈣能調節藻細胞內部酸鹼反應，把有毒之代謝產物如合成之草酸鈣結晶，以減少環境過酸之毒害。同時對碳水化合物和蛋白質之合成有促進作用。鎂是葉綠素的組成物質，硫則是蛋白質組成物質。

6. 微量元素

微量元素在培養液中需要量很少，但又不可或缺。如錳對單胞藻類光合作用、呼吸作用及氮代謝有一定之影響。鉬在單胞藻類蛋白質合成，具供應氫原子及能量轉體之作用。鈷為維生素B₁₂的成分，而維生素B₁₂又是單胞藻類生長之重要維生素，所以鈷對單胞藻類生長是有相當成效。

7. 維生素

單胞藻類之生長除了上述礦物質營養外，還需吸收某些維生素，其中以維生素B族群影響較顯著。如維生素B₁₂及B₁對於等鞭金藻的培養非常重要。

(五) 藻類之培養方式

藻類之培養方式，依培養之目的要求與採收之方式，可分成下述多種方式。

1. 依培養基之型態

(1) 固體培養：將培養液配好後，加入洋菜粉(Agar)1.5~2.0%，分裝滅菌冷卻後接種，主要用於藻種之分離保存。

(2) 液體培養：在滅菌消毒之海水中加入某種藻類所需之營養鹽，

接種培養，用於保種及量產。

2.依培養純度不同

- (1)單種培養：指排除雜藻的單一藻種培養，不排除細菌之存在，一般大量培養指此種。(圖18.1)
- (2)純種培養：指排除一切生物存在條件之單種培養。
- (3)混種培養：指直接施肥於水中，讓其自然繁衍之藻種。

3.根據藻液與外界接觸程度

- (1)封閉式：培養過程是把培養液密封在透明之培養瓶中，使用人工光源及二氧化碳並利用抽水機使培養液不斷循環。
- (2)開放式：指培養過程是把培養液在開放容器或水池中，又分成循環式與通氣式二種。

4.依據藻液採收方式之不同

- (1)一次培養：在培養容器或水池中，根據培養藻類所需之營養鹽配成培養液，然後接種適量之藻種,經一段時間後，當藻類進入指數生長末期時進行一次採收。採收後一部分做種源，接種至新的培養池或容器，舊有之培養池或容器則進行清洗及消毒，做為重新培養用。
- (2)連續培養：此種方式是在特製之容器中,新的培養液不斷注入，使達到一定濃度之藻液不斷流出。亦即為經由人為控制，使藻類維持在指數生長期,這種方式所需的培養條件及藻類濃度要保持穩定，因此也要有較高之自動化程度要求。
- (3)半連續培養：此培養方式是在一次培養的基礎上，當藻液達一定濃度之後，每天收穫一部分，並補充新的培養液,繼續培養。

5.依據培養規模大小和目的

- (1)小型培養：又稱一級培養,主要是在保種室進行。目的在進行分離及藻種培養與研究。一般採一次培養。
- (2)中繼式培養：又稱二級培養，目的在培養較多量高濃度藻液，供大量培養用，一般多在室內進行，採一次培養或連續式培

養。(圖18.2-18.3)

(3)大量培養：又稱三級培養，為生產性培養，可在室內或室外進行，採一次培養或開放通氣式半連續式培養，以生產大量藻液作為餌料用。

(六)藻種之分離與培養

天然海水中有很多種藻類生長在一起，但並非每種藻類皆有餌料效果，因此，在培養藻類前必須進行分離篩選，以利單種培養，

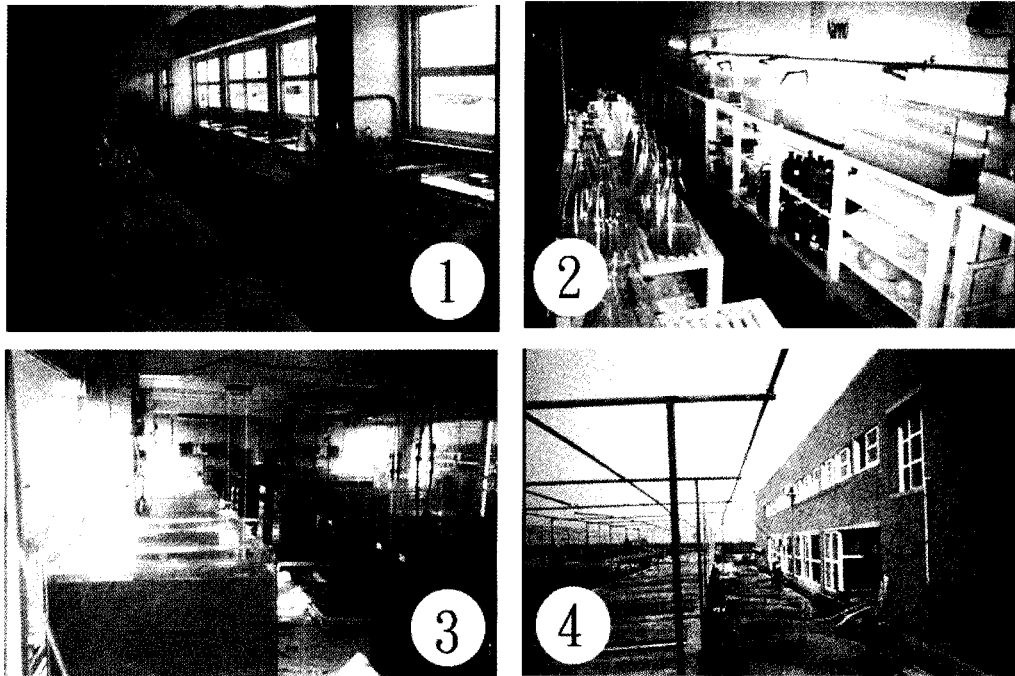


圖 18.藻類培養方式

1.恆溫水槽保種培養
3.室內擴大培養

2.室內放大培養
4.室外量產培養

並有助於降低成本。而在分離前須確定標的種，並利用該藻種之生物特性，如有無趨光性、游動能力及對營養是否有特別需求等來決定。在分離藻種前應先進行預備培養，首先將含有該標的藻種之水樣取回，以20微米之網目過濾雜質、原生動物及大型微藻等，再將過濾後之樣品水，分裝至預備培養瓶中，並添加營養鹽，放在光照

適宜之環境下培養。待標的藻種呈優勢種後，就可進行分離。若取回之標的藻種，在樣品水已是優勢種，於經過濾後，既可進行分離。分離之方法有：

- 1.微吸管分離法:此方法為利用微吸管的自吸原理，將試水滴於凹載玻片上，於顯微鏡下用微吸管挑選欲分離之藻種，挑選後需再進行一次鏡檢，以確定無雜藻，後再可移入滅菌培養液中培養。
- 2.稀釋分離法:取預備培養之試水一毫升，加入事先準備好裝有十毫升滅菌水之試管中，充分振盪後，再取出一毫升，加入裝有滅菌水之試管中，反覆操作4-5回。再取各試管試水一毫升，注到固態培養基板上，前後傾斜數回後倒出多餘之試水，靜置培養。或以滅菌噴霧器垂直方向將試水噴霧移植至培養皿上。另可以白金耳沾取各試管之試水，以蛇形方式在固態培養基板上畫線接種。將上述處理後之培養皿密封後，置於光照1000 lux左右，溫度20~25 °C培養1-2週，待藻落長出後篩選所欲之藻種進行純種保種。
- 3.運動能力分離法:有些藻類具有鞭毛，游泳能力強，且常有趨光性，可利用此特性將其分離。

(七)藻種之保存

藻種保存之目的為 1.將分離出之藻種或從其他單位取得之藻種保存下來。2.是為生產後續培養提供足夠量之優質種。保存方法係在低溫弱光照環境下，以固態培養或液態保存。固態培養保存法，是將無污染之藻種，接種於固態培養基上，使細胞慢慢生長繁殖，可保存 6-12 個月。液態保存法，則採分批式繼代培養。保種用之容器以有蓋之試管或三角瓶為佳，試管先裝八分滿海水，在1.25 大氣壓下以 120 °C滅菌 15 分鐘，待冷卻後使用。接種時以滅菌吸管接種活力佳之藻種，並加入適量之營養鹽，約 1-2 個月就定期移植，接種至新試管，以確保活力，並可隨時作為擴大培養用。另可以不同大小之三角瓶進行保種，作法如同試管保種處理，約

4-5 天既可移植一次。

(八)大量培養

- 1.單種培養：可分成室內恆溫保種培養及室外大量純種培養(圖 18.4)，由於室內保種培養設備費用較高，本文只就室外大量培養做介紹。海產微細藻類的培養最廣泛使用的培養液為 Walne 配方表二、綠色藻培養用肥料配方如表三，褐色藻培養用肥料配方如表四，培養步驟如下：先利用 700 公升 FRP 桶，注入沈澱過濾後之海水 450 公升，再以 300 毫升漂白水消毒 12 小時後，添加中和用海波 40 公克並暴氣 1 小時，再接種中繼培養之藻水 200 公升之後，加入 200 毫升之營養液，並充分打氣，待透明度達 20-15 公分時，移入更大型之水泥池(高 120 公分×長 200 公分×寬 180 公分)注入過濾海水。接種前以 50 ppm 漂白水消毒 12 小時，再用 60 ppm 海波中和，並暴氣 1 小時，以殺死池水中浮游動物或原生動物。每次注水量以能保持藻水 20-30 公分之透明度，每注水 10 公分高，加營養液 400 毫升。由於此法在低透明度時能維持的時間並不穩定，最好適時分池繼續培養，以維持某一生長密度，如無法分池，則應於高濃度時，排出部份藻水，再注入新水及營養液，就可持續較長培養時間。當持續培養過久常會出現老化現象，如起泡沫、結塊、變色，及浮游動物、原生動物污染，將造成藻類全部死亡。
- 2.天然藻類培養：一般養殖池中常可發現成長較穩定，且可維持高濃度之藻種。主要有褐色及綠色兩系，但褐色藻系雖然效果佳，但也較不穩定。天然藻類雖有容易取得的優點，但因其對營養鹽添加的不確定性，常有變種及受原生動物，如輪蟲(圖 17.6)、游仆虫(圖 17.7)、纖毛虫(圖 17.8)、橈腳類污染之困擾。一般利用沒有放養魚、蝦的空池，注入過濾海水，以魚粉、大豆粉、魚漿、下雜魚等有機肥，或使用尿素、過磷酸鈣、硫酸銨、石灰等化學肥料，任其自然長出水色，再鏡檢其粒徑大小，以進行篩選及培

養，然此法較不易控制質與量。

(九)日常管理

在大量培養藻類過程中，有下列幾點是日常管理時應注意的：

- 1.攪動與通氣：攪動與通氣是十分必要的，因可增加藻水與空氣接觸，使空氣中之二氧化碳溶解至水中，補充光合作用所耗之二氧化碳，並能幫助底層之藻細胞上浮而獲得光照，又可防止水表產生菌膜，及使上下層水溫一致。常用之方法為以鼓風機、水車或水中增氧機造成水流。
- 2.調節光照：適合的光照，對於藻類生長影響很大，強光照是藻類大量生產的必要條件之一，但在高溫時過強之光照則可能對藻類造成危害。一般在室內近窗口培養之藻類，於中午強光照時應適度遮光，室外小型池亦可以遮光網蓋上。在陰雨天時，光照通常不足，室內可以人工光源增加光照。
- 3.控制溫度：溫度是限制單胞藻類體內生理機制反應之主要因子，在適溫範圍內可以生長及繁殖，如能控制在此溫度下培養，當然最理想。一般高溫對藻類生長不利，夏天室內培養應保持室內通風，也可使用降溫設備降溫或降低光照率。
- 4.pH 值之變化：當白天藻類光合作用旺盛時，水中之二氧化碳大量減少，pH 值增加。夜間光合作用停止，呼吸作用增加，二氧化碳大量被釋出水解成氫離子和碳酸氫根離子，pH 值下降，當池水藻色濃度高時，日夜間池水之氫離子變化可達 100000 倍。因此可於培養液中添加緩衝劑，以減少 pH 值之變化。
- 5.生長情況之觀察與檢查：藻類生長情況之觀察與檢查十分重要，可瞭解藻類生長情形。生長良好之藻類可由其顏色變化、細胞活動能力與是否有沉澱、附壁、菌膜、泡沫、動物性敵害及池水黏度變化來觀察。現簡述如後：
 - (1)顏色之變化：生長良好之扁藻，培養液顏色由嫩綠到深綠色，如變黃則表示生長不良，若變清表示死亡，若有其它顏色出現

表示有雜藻或敵害出現。矽藻類生長良好時呈褐色，當水色轉淡，表示生長不良。金藻類呈金褐色，當水色由深轉淡，表示生長不良。

- (2)細胞活動能力：具有活動能力之藻類，培養液靜止時，常會呈雲霧狀在水中聚集或上浮。
- (3)是否有沉澱：有沉澱但還保有正常藻色，表示尚未死亡，若顏色變淡或白色，表示死亡。
- (4)附壁：生長良好之藻類不會附壁，如有表示生長不良。
- (5)菌膜、泡沫：水面出現菌膜，表示細菌大量增生，出現泡沫表示藻類以已經大量死亡。
- (6)動物性敵害：動物性敵害包含原生動物、輪蟲、橈腳類，此等動物性敵害，增殖快速，藻類很快就會被吃光。

四、常用之藻類培養液配方

藻類培養液配方很多，最常使用的有 f/2、Walne、K、GPM、綠色藻肥料、褐色藻肥料及骨藻培養用肥料等配方(表 1-表 7)。Walne 配方可用在大多數種類，f/2 配方為美國國家海洋微藻收集中心所使用之基本配方，K 配方為其衍生配方，GPM 配方為澳洲 CSIRO 微藻收集中心所使用之基本配方，綠色藻肥料為綠色藻保種及大量培養配方，褐色藻肥料則為褐色藻類大量培養配方，骨藻培養用肥料則用來為培養骨藻。

五、問題及未來展望

本省文蛤人工繁殖技術，雖已有20餘年歷史了，且繁殖技術大致已完備，但存活率不穩定仍是事實，有待克服之問題仍然不少，今後發展的趨勢為：

- (一)選種、育種：目前所使用之繁殖種貝，大都來自同一養殖場，出現近親繁殖劣勢，遺傳機率相當高，因此開發族群判斷方法，運用種間雜交技術，培育耐高溫、抗高鹽度、

成長快速及抗病力強之文蛤，為今後發展目標之一。

- (二)生物技術之利用：台灣文蛤產卵季節每年從4-11月，長達八個月之久，而此期間下雨或颱風機率相當高，對池水改變蠻大，常會誘發文蛤於養殖池中自然排卵或排精，耗費不少能量，造成體質衰弱，甚且死亡。因此能運用多倍技術，培育出不會成熟或成熟較慢之文蛤，以增加成長時間，提高餌料效率，促進成長減少因自然排卵、排精後所造成之死亡，將可提高經濟效益。
- (三)餌料生物之培養技術及藻種開發：目前文蛤人工繁殖遭遇到較大困難之一是餌料生物培養穩定性不夠，因此對培養技術上有需更進一步探討，如：藻類的生理、對環境條件的要求與培養液成份等。此外，開發更多的藻種，並充分研究其營養組成以探尋最佳餌料物。
- (四)研究文蛤幼苗之營養需求，開發人工微粒子飼料，減少對餌料生物的依賴性。
- (五)繁殖技術之開發：期以利用成本最低、佔用空間最小之設備及最簡便之技術，繁殖出量最多的健康文蛤苗。如：洗卵技術、種貝人工催熟技術等。
- (六)加強文蛤病毒疫苗之開發及貝類疾病診斷技術如單株抗體、核酸探針之研發。

表 1.f/2 配方(Guillard, 1975)

	每公升加入量	單位	
NaNO ₃	75	毫克	*矽藻培養 時使用
Na ₂ HPO ₄	1.411	毫克	
Na ₂ iO ₃ *	6.59	毫克	
維生素			
B ₁	100	微克	
B ₁₂	0.5	微克	
H(Biotin)	0.5	微克	
微量金屬			
EDTA(Na ₂)	2.36	毫克	
FeCl ₃ .6H ₂ O	3.16	毫克	
MnCl ₂ .4H ₂ O	0.18	毫克	
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.023	毫克	
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.01	毫克	
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.01	毫克	
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.006	毫克	

表 2. Walne 培養液配方(Walne, 1974)

		每 1000 公升加入量	單位	
貯備液 A	NaNO ₃	100.00	公克	使用時每 1 公升海 水加貯備 液 A 1 毫 升, 貯備 液 C 0.1 毫 升。 培養矽藻 時每 1 公 升海水加 貯備液 A 1 毫升, 貯備液 C 0.1 毫升貯 備液 D 1 毫升。
	NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	20.00	公克	
	EDTA(Na ₂)	45.00	公克	
	H ₃ BO ₃	33.60	公克	
	FeCl ₃ ·6H ₂ O	1.30	公克	
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.36	公克	
	貯備液 B	1	毫升	
	蒸餾水到	1	公升	
貯備液 B	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	4.4	公克	貯備液 A 1 毫升, 貯備液 C 0.1 毫升貯 備液 D 1 毫升。
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	2.0	公克	
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	2.0	公克	
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0.9	公克	
	蒸餾水到	100	毫升	
貯備液 C	維生素 B1	200	毫克	
	維生素 B12	10	毫克	
	蒸餾水到	100	毫升	
貯備液 D	Na ₂ IO ₃	6.589	公克	
	蒸餾水到	1	公升	

表 3. 綠色藻肥料大量培養配方

硫酸銨	60-80	公克/每噸水
尿素	30	公克/每噸水
過磷酸鈣	30	公克/每噸水

表 4.褐色藻肥料大量培養配方

尿素	30	公克/每噸水
過磷酸鈣	30	公克/每噸水
氯化鐵	2.7	公克/每噸水

表 5.K 培養液配方(Keller et al, 1987)

	每公升加入量	單位	
NaNO ₃	75	毫克	*只用於矽藻
β-a ₂ .glycero.PO ₄	3.061	毫克	
Na ₂ IO ₃ .9H ₂ O *	15	毫克	
維生素			
B ₁	100	微克	
B ₁₂	0.5	微克	
H(Biotin)	0.5	微克	
微量金屬			
EDTAFe	4.295	毫克	
MnCl ₂ .4H ₂ O	0.18	毫克	
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.022	毫克	
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.010	毫克	
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.0025	毫克	
EDTA(Na ₂)	37.22	毫克	
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.006	毫克	
TRIS(ph7)	121.1	毫克	
NH ₄ Cl	2.675	毫克	
Na ₂ SeO ₃	0.00173	毫克	

表 6.骨藻培養用肥料(公克/噸水)(廖等,1991)

	使用例組合				
	1	2	3	4	5
硝酸鉀	2	50-100			
尿素	20		30	12	4
硫酸銨			20	4	4
磷酸氫二鈉	3	10			
過磷酸鈣			15	4	4
氯化鉀			15	4	2
矽酸鈉		2-5			
硫酸亞鐵				0.25	
氯化鐵		0.25			
EDTA(Na ₂)				5-10	

表 7.GPM 培養液配方(Loeblich, 1975)

	每公升加入量	單位
KNO ₃	202	毫克
K ₂ HPO ₄	35	毫克
維生素		
B ₁	1011	微克
B ₁₂	2	微克
H(Biotin)	1	微克
微量金屬		
Na ₂ EDTA	48.4	毫克
FeCl ₃ .6H ₂ O	1.45	毫克
MnCl ₂ .4H ₂ O	4.31	毫克
ZnCl ₂	0.312	毫克
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.22	毫克
H ₃ BO ₃	34.19	毫克
土壤抽出液	15	毫克