

水試所微藻種原之收集與利用

蘇惠美

水產試驗所東港生技研究中心

微藻種原與分類

水試所自 1982 年開始，經由自行分離、師友提供以及種原交換等方式，取得微藻種原，加以保存並進行試驗研究，迄今，保存的活體種原共 71 藻株（表 1）。根據取得時的種原資料以及後續研究，依照 Guiry (2014) 藻類資料庫 (<http://www.algaebase.org>)，共歸類為 6 門 11 紲（表 2）。其中的綠藻門球鞭藻綱 (Chlorodendrophyceae)，也有人歸類為綠色鞭毛藻綱 (Prasinophyceae)。

一般稱為微藻的生物體，生物多樣且歧異度非常大，涵蓋原核生物 (Prokaryota) 及真核生物 (Eukaryota) 二域 (Empire)，真細菌 (Eubacteria)、原藻 (Chromista) 及植物 (Plantae) 三界 (Empire)（表 2）。分類準則包

括葉綠素、類胡蘿蔔素，儲藏物、生物活性成分、細胞壁、胞器膜構造、鞭毛、分裂、生活史及 DNA 序列等形態、生化及分生特徵。由此可見微藻成員複雜，其中有許多個體大小小於 10 微米，再加上早期分類不一致，導致鑑種困難。從已知種名的活體樣品，學習形態特徵，參酌文獻資料，是最佳研習途徑。基於此，筆者從文獻獲知對水產有用與有害藻種，經由參加國際研討會或請求來訪人士提供種原，或從魚塭分離等並加以保存。利用光學及電子顯微鏡觀察形態，分析色素及脂肪酸組成生化特性，18S rDNA 序列分析與親緣樹，確認及鑑定種原。有了養殖種原，進行量產技術研發，藻水濃縮，藻體成分及種苗養殖應用試驗等。

表 1 本中心保存的藻株一覽表（種名有*者其分類歸屬見內文）

綱	中 名	收 集序號	種 名	編 號	來 源
藍綠藻綱 (Cyanophyceae)	螺旋藻	TF-55	<i>Arthrospira maxima</i>	SP	臺灣
	聚球藻	TF-32	<i>Synechococcus</i> sp.	SC-9	臺灣
	聚球藻	TF-33	<i>Synechococcus</i> sp.	SC-10	臺灣
	聚球藻	TF-34	<i>Synechococcus</i> sp.	SC-11	臺灣
	聚球藻	TF-35	<i>Synechococcus</i> sp.	SC-U-1	臺灣
	聚球藻	TF-36	<i>Synechococcus</i> sp.	SC-U-2	臺灣
	聚球藻	TF-104	<i>Synechococcus</i> sp.	MN-41	臺灣
紅球藻綱 (Porphyridiophyceae)	銅綠紅球藻	TF-92	<i>Porphyridium aerugineum</i>	UTEX 755	臺灣
	血腥紅球藻	TF-93	<i>Porphyridium cruentum</i>	UTEX 161	臺灣

共球藻綱 (Trebouxiophyceae)	淡水小球藻	TF-1	<i>Chlorella</i> sp.	CHL-F1	東港
	淡水小球藻	TF-91	<i>Chlorella vulgaris</i>	CV66	臺灣
	淡水小球藻	TF-94	<i>Chlorella sorokiniana</i>	SAG 211-31	臺灣
	淡水小球藻	TF-95	<i>Chlorella sorokiniana</i>	SAG 211-34	臺灣
	淡水小球藻	TF-103	<i>Chlorella vulgaris</i>	CHL-F2	日本
	海水綠球藻	TF-2	<i>Chlorella</i> sp. A	CHL-S1	東港
	海水綠球藻	TF-5	<i>Chlorella</i> sp. C	CHL-S3	泰國
	海水綠球藻	TF-6	<i>Chlorella</i> sp. E	CHL-S5	東港
	海水綠球藻	TF-15	* <i>Nannochloropsis oculata</i>	NPO-2	美國
	海水綠球藻	TF-19	<i>Chlorella</i> sp. french	CHL-S7	法國
	海水綠球藻	TF-43	<i>Chlorella</i> sp.	CHL-S8	東港
	海水綠球藻	TF-50	<i>Chlorella</i> sp.	CHL-S9	宜蘭
	海水綠球藻	TF-56	* <i>Nannochloropsis oculata</i>	NPO-3	中國
綠藻綱 (Chlorophyceae)	球形四鞭藻	TF-37	<i>Carteria globosa</i>	CAG	東港
	杜氏藻	TF-100	<i>Dunaliella primolecta</i>	LB1000	美國
	杜莎藻	TF-101	<i>Dunaliella salina</i>	LB1644	美國
綠色鞭毛藻綱 (Prasinophyceae)	周氏扁藻	TF-3	<i>Tetraselmis chui</i>	TC1	菲律賓
	周氏扁藻	TF-28	<i>Tetraselmis chui</i>	TC2	TC再分離
	周氏扁藻	TF-99	<i>Tetraselmis chui</i>	LB232	美國
球鞭藻綱 (Chlorodendrophycaceae)	扁藻	TF-46	<i>Tetraselmis R. Lewin</i>	TRL	美國
	亞心型扁藻	TF-45	<i>Tetraselmis subcordiformis</i>	TSC	中國
	司西扁藻	TF-23	<i>Tetraselmis suecica</i>	TS	澳洲
	四鞭扁藻	TF-18	<i>Tetraselmis tetrathele</i>	TT	夏威夷
圓石藻綱 (Coccolithophyceae)	東港株等鞭金藻	TF-12	* <i>Isochrysis galbana</i> tml I	Iman-1	東港
	東港株等鞭金藻	TF-13	* <i>Isochrysis galbana</i> tml II	Iman-2	東港
	大溪地等鞭金藻	TF-17	* <i>Isochrysis aff. galbana</i>	TISO	夏威夷
	美國株等鞭金藻	TF-29	* <i>Isochrysis galbana</i>	UISO	美國
	中國株等鞭金藻	TF-31	* <i>Isochrysis galbana</i> 3011	CISO-1	中國
	中國株等鞭金藻	TF-44	* <i>Isochrysis galbana</i> 8701	CISO-3	中國
	等鞭金藻	TF-60	* <i>Isochrysis galbana</i>	IISO	印尼
	湛江叉鞭金藻	TF-30	* <i>Dicrateria zhanjiangensis</i>	CDIC	中國
巴夫藻鋼 (Pavlovophyceae)	綠色巴夫藻	TF-24	<i>Pavlova viridis</i>	PV-1	中國
	鹽生巴夫藻	TF-27	<i>Pavlova salina</i>	PS	東港
真眼點藻綱 (Eustigmatophyceae)	擬球藻	TF-4	* <i>Chlorella</i> sp. B	CHL-S2	東港
	擬球藻	TF-7	* <i>Chlorella</i> sp. F	CHL-S6	東港
	擬球藻	TF-11	* <i>Nannochloropsis oculata</i>	NPO-1(Nan J)	日本
	擬球藻	TF-20	* <i>Chlorella ellipsoidea</i>	CELL(Nan C)	韓國
	擬球藻	TF-21	* <i>Nannochloris oculata</i>	NO(Nan N)	韓國
	擬球藻	TF-57	* <i>Nannochloropsis oculata</i>	NPO-4(Nan W)	臺西
	擬球藻	TF-61	* <i>Nannochloropsis oculata</i>	Nan I	印尼

	擬球藻	TF-102	* <i>Chlorella minutissima</i>	LB2341(Nan U)	美國
	鹽生擬球藻	TF-14	* <i>Ellipsoidion</i> sp.	ELL-II(Nan E)	美國
圓盤藻綱 (Coscinodiscophyceae)	牟氏角毛藻	TF-16	<i>Chaetoceros gracilis</i>	CG-1	夏威夷
	牟氏角毛藻	TF-22	<i>Chaetoceros gracilis</i>	CG-2	澳洲
	牟氏角毛藻	TF-47	<i>Chaetoceros gracilis</i>	CG-3	日本
	牟氏角毛藻	TF-48	<i>Chaetoceros gracilis</i>	CG-4	宏都拉斯
	牟氏角毛藻	TF-58	<i>Chaetoceros gracilis</i>	CG-5	臺西
	骨藻	TF-41	<i>Skeletonema costatum</i>	SKE	臺灣
	魏氏海鏈藻	TF-39	<i>Thalassiosira weissflogii</i>	CY	臺灣
羽紋藻綱 (Bacillariophyceae)	巴拉曲殼藻	TF-76	<i>Achnanthes parvula</i>	N7	臺灣
	曲殼藻未知種	TF-83	<i>Achnanthes</i> sp.	N8	臺灣
	潛艇曲殼藻	TF-89	<i>Achnanthes submarina</i>	N14	臺灣
	細小雙眉藻	TF-78	<i>Amphora exigua</i>	N5	臺灣
	清晰眉藻	TF-82	<i>Amphora luciae</i>	N3	以色列
	扁圓卵形藻多孔變種	TF-84	<i>Cocconeis placentula</i> var. <i>euglypta</i>	N9	臺灣
	鏡舟形藻	TF-81	<i>Navicula cf. lenzii</i>	N2	以色列
	馬氏舟形藻	TF-90	<i>Navicula margalithii</i>	N15	臺灣
	麩皮菱形藻	TF-86	<i>Nitzschia palea</i>	N11	印尼
	半舟形藻未知種	TF-77	<i>Seminavis</i> sp. 1-1	N4	臺灣
	半舟形藻未知種	TF-85	<i>Seminavis</i> sp. 2	N10	印尼
渦鞭藻綱 (Dinophyceae)	小亞歷山大藻	TF-40	<i>Alexandrium minutum</i>	AM-6	臺灣
	小亞歷山大藻	TF-49	<i>Alexandrium minutum</i>	AM-7	臺灣

表2 本中心保存的藻種歸類

域	界	門	綱
原核生物	真細菌界	藍綠藻門 (Cyanobacteria)	藍綠藻綱 (Cyanophyceae)
植物界	植物界	紅藻門 (Rhodophyta)	紅球藻綱 (Porphyridiophyceae)
			共球藻綱 (Trebouxiophyceae)
		綠藻門 (Chlorophyta)	綠藻綱 (Chlorophyceae)
			球鞭藻綱 (Chlorodendrophyceae)
真核生物	原藻界	定鞭藻門 (Haptophyta)	圓石藻綱 (Coccolithophyceae)
			巴夫藻綱 (Pavlovophyceae)
			真眼點藻綱 (Eustigmatophyceae)
		金褐藻門 (Ochrophyta)	圓盤藻綱 (Coscinodiscophyceae)
			羽紋藻綱 (Bacillariophyceae)
		渦鞭藻門 (Dinophyta)	渦鞭藻綱 (Dinophyceae)

餌料生物種原申請與利用

目前保存的擬球藻、綠球藻、螺旋藻、等鞭金藻、扁藻、角毛藻及動物性餌料生物(輪蟲 2 種 9 株及橈足類 1 種)，已應用於石斑魚苗、觀賞魚苗、海水及淡水蝦苗、牡蠣苗及鳳螺苗養殖產業。1992 年起，提供種苗繁殖業者登錄後取用；2003 年 9 月在本所網站開放申請及宅配服務；2005 年 7 月開始，經所務會議通過，以國外收費半價標準，實施餌料生物種原申購辦法。前 12 年，年平均取用 369 人次 (170–630)，2005 年 7 月至 2013 年略為減少，年平均 237 件 (158–451)。近年來，微藻在固碳及生質燃油課題上，受到全球重視，國內相關微藻的研究也增多，尤其是工學院及環境、生技等非水產相關的研究，因此申請者不再侷限於水產養殖業者，藻種增加淡水小球藻、杜氏藻、鹽生巴夫藻及小亞歷山大藻，共 10 種，約佔保存種類的 1/4。申請者分為二大類：水產養殖業者、大學研究所與生技業研發人員。一般對養殖微藻的概念，認為就如同養殖魚蝦，買回種苗放入水中就可養藻，卻不知養藻擴培，有一定程度及必要的技巧。

美國 The Provasoli-Guillard National Center 在 2005 年舉辦「Phytoplankton Culturing Techniques Course」訓練課程，招收 10 名學員 (研究生、研究人員及水產養殖人員)，7 天的密集課程 (分離、培養、凍結) 收費 \$2,730 美元。今年 (2014) 6 月將在葡萄牙召開「5th Practical Short Course」，議程涵蓋：選擇對的藻種作對的產品，大型及微藻養殖技術，下游製造技術，藻食品、飼料及

保健營養食品新生物產品與市場。課程內容凸顯藻類養殖技術、藻種及產品市場，仍有許多的挑戰，但也有極大的潛力。因此建議申請者，應先研讀本所出版的「餌料生物之培養與利用 (1999) 手冊」，有基本概念且做好養殖所需的準備，再申購藻種。此外，也開辦結合理論與實務之短期訓練課程「農民學院/漂鳥營-水產餌料生物」，教導藻種特性，養殖上須有的設施，保種與擴大培養程序，以及可能遭遇的問題及克服的方法。

微藻種原收集過程與相關研究

在撰寫 CRC 出版的海水蝦養殖手冊之「海水蝦苗餌料生物」(Liao 等, 1983) 過程中，第一次知道骨藻 (*Skeletonema*) 對斑節蝦苗人工繁殖成功具臨門一腳之功，並得知角毛藻 (*Chaetoceros*) 及扁藻 (*Tetraselmis*) 也是蝦苗良好的餌料。但查閱藻類書籍卻找不到 *Tetraselmis* 屬於那一藻門或藻綱，而後得知藻學界稱為 *Platymonas*，引發收集保存微藻之想法。為瞭解當時使用的骨藻之外，是否有其他微藻可作為草蝦苗餌料，自台南分所 (現改稱為海水繁養殖研究中心) 取得 *Spirulina platensis*，高雄港分離 *Skeletonema*，菲律賓帶回 *Tetraselmis chui*，大溪地引入 *Chaetoceros gracilis* 及 *Isochrysis aff. galbana*，美國引入 *Dunaliella* 等，以單一種或混合餌料投餵草蝦苗，觀察其生長與活存，結果確認 *Skeletonema*、*Chaetoceros*、*Tetraselmis* 及輪蟲對草蝦苗的餌料效益 (雷與蘇, 1985)。另外，確認 *Isochrysis* 在二枚貝幼生之營養價值，帶動文蛤、西施貝及血

蚶之繁養殖業。可惜當時礙於知識及技術之不足，除 *T. chui* 外，其他藻種並未保存下來，以下簡述部分重要藻株。

一、Marine *Chlorella* 及 *Nannochloropsis*

日本學者 Watanabe 等 (1983) 報導含有 EPA 之 marine *Chlorella* 對嘉鱲魚苗活力及活存具關鍵影響，因此筆者於 1983–5 年及 1995 年自東港養殖池分離 5 株型態似 *Chlorella* 藻株，另，廖一久院士於 1985 年及 1991 年分別自泰國及法國帶回 2 株。1996 年大葉大學研究生陳俊興分析上述 7 株海水 *Chlorella* 之脂肪酸，發現僅 CHL-S2、CHL-S6 藻株含有 EPA，其餘 5 株則缺。自日本取回之 marine *Chlorella* (1987) 以及美國 (1990 年江永棉教授提供)、韓國 (1991 年許聖範教授郵寄) 等藻株也含 EPA，驗證 EPA 為金褐藻門之生化特徵。2002 年以來，多所大學研究生進行微藻生質及固碳研究，發現有些藻株可馴化為耐高溫、可有效應用於煙道固碳，有些含高油量，但因藻體小可能感染，同樣有 Marine *Chlorella* 及 *Nannochloropsis* 種名之混淆。本研究室與工研院合作微藻生質燃油產製技術開發時，發現不同名 (表 1) 之 9 株擬球藻，缺氮下均呈黃褐色，油含量介於 20–47%；以 18S rDNA 序列及親緣樹分析，*Ellipsoidion* 與 *N. salina* (現為 *Monallantus salina* 之同種異名) 較相近，其他則與 *N. oceanica* 較近。雖然 1987 年自日本取回 *N. oculata* (Maruyama et al., 1986) 藻株，2002 年日本學者 Suda & Miyashita 發表九州沿岸分離新種 *N. oceanica* sp. nov.，中國學者 Cao 等 (2013) 發表魚苗養殖場用於養輪蟲之微藻油含量高，為新種 *N. oceanica*

var. *sinensis* var. nov。因此本中心收集之 Marine *Chlorella* 及 *Nannochloropsis* 之應用與生物資源潛力值得繼續研究。

二、*Isochrysis*、*Chaetoceros* and *Alexandrium*

Walne (1974) 在「養殖二枚貝 50 年經驗」一書中，報導第 1、2 次大戰期間，試驗 7 藻綱 20 藻株對牡蠣苗之養成，認為等鞭金藻及扁藻最有營養效益，混合 3 種 (加角毛藻) 之任 2 種，育苗成果較單一種佳。因此筆者 1989 年分離本土等鞭金藻 (*Isochrysis galbana* TK1)，建立養殖技術，確認在牡蠣、海參、海膽等無脊椎幼生飼育之效益。但因分類不易，等鞭金藻、茵蔓金藻 (*Imantonia*) 及叉鞭金藻間無法區別，因此陸續引入夏威夷、美國、中國及印尼稱為 *I. galbana* 種原，DHA 約佔脂肪酸組成之 12% (陳, 1996)。最近 Bendif 等 (2013) 發表，熱帶種之大溪地等鞭金藻 *Isochrysis* aff. *galbana* 歸類為 *Tisochrysis lutea* 與 *I. galbana* 不同屬，但都有鱗片 (scales)；沒有鱗片的名 *Isochrysis nuda*，而 *I. zhangjiangensis* 則為其同種異名，因此這些藻株等待以分生特性來歸類。大溪地引入之 *Chaetoceros gracilis* 未能保存下來，鑑於在海水蝦苗之應用性，引入夏威夷、澳洲、日本 (珍珠苗養殖場)、宏都拉斯及台西又稱 *C. mulleri* 藻株。為探討 1986 年西施貝含毒原因，在西施貝養殖池水域分離出小亞歷山大藻 (*Alexandrium minutum* 誤名為 *A. tamarense*)，證實含有麻痺性貝毒 (PSP)，會使濾食的西施貝、文蛤及牡蠣含毒，研究期間收集 9 株，迄今僅保存 2 株，含有防曬的化合物-類蕈孢素胺基酸 MAAs (王, 2008)。