

再刊編號：16
Reprint No. 16

抽印自 臺灣水產學會刊
第16卷 第3期
Reprinted from
Journal of the
Fisheries Society of Taiwan
Vol. 16(3), pp. 189-195, 1989

16

不同氮源與鹽度對壇紫菜絲狀體生長之影響

江永棉·林秀華

Studies on the Effects of Nitrogen and Salinity on the Growth
of the Conchocelis of *Porphyra haitanensis* Chang
and Zheng in Culture

Young-Meng Chiang and Shio-Hua Lin

國科會補助計畫編號：

NSC-74-0407-B002a-02

— 205 —

不同氮源與鹽度對壇紫菜絲狀體生長之影響

江永棉¹·林秀華¹

Studies on the Effects of Nitrogen and Salinity on the Growth of the Conchocelis of *Porphyra haitanensis* Chang and Zheng in Culture

Young-Meng Chiang¹ and Shio-Hua Lin¹

(Received April 2, 1989)

The influence of NO_3^- , NO_2^- and NH_4^+ (0.4 mM, 1 mM, 2 mM, 4 mM and 10 mM) on the growth of the conchocelis of *Porphyra haitanensis* collected from Kinmen was examined. After 30 days of cultivation in the modified SWM III solution containing different concentrations of NO_3^- , NO_2^- and NH_4^+ under the condition of 20°C, 12:12 and 60 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, the conchocelis showed an optimum growth in the medium containing 1 mM NO_3^- . Under that condition it increased 20.12 fold and 33.25 fold in term of dry weight and original volume respectively. In general, NO_3^- was the most favorable N-source for the growth of conchocelis and NH_4^+ the least. It was also found that the growth of conchocelis decreased with increasing concentration of the N-salts. The influence of different salinities (20, 25, 30, 40, 45 and 50‰) on the growth of the conchocelis was also tested. Under 20°C, 60 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, 12:12 condition, the conchocelis grew well in the modified SWM III medium at all salinities tested, with optimum at salinity 30‰, at which it increased 4.93 fold in term of dry weight, or 17.65 fold in term of volume. The lowest growth rate was observed in the medium with salinity of 50‰, at which it increased only 1.14 fold and 8.40 fold in term of original dry weight and volume respectively.

Key words: Conchocelis, Cultivation of *Porphyra*, *Porphyra haitanensis*.

關鍵詞：紫菜絲狀體、紫菜培養、紫菜屬、壇紫菜。

前 言

紫菜為紅藻之一種，為食用海藻之一。我國，中國大陸，日本以及韓國皆有養殖。目前我國之紫菜養殖，通常在春天時從成熟紫菜葉狀體採取果孢子，使其著生於貝殼、發芽長成絲狀體開始。絲狀體在貝殼內生長經過夏秋兩季到秋末時便產生殼孢子囊。殼孢子囊在適當環境下產生並釋放殼孢子。人工育苗即收集殼孢子，使著生於養殖網上，再移往養殖場。這種傳統養殖方法需利用大量紫菜葉狀體收集果孢子。同時培養絲狀體的時間也長達九個月（三至十一月），財力及人力之花費頗大。由以往之研究 (Chiang and Chou, 1977) 我們發現紫菜養殖前段可利用游離絲狀體直接附著於貝殼上，以縮短培養絲狀體之時間並節省財力及人力。因此本計畫之目的為研究金門產壇紫菜絲狀體生

1. 國立臺灣大學海洋研究所 (Institute of Oceanography, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, Republic of China)

長所需之環境條件以期能大量繁殖絲狀體，以利紫菜之人工養殖。

材料與方法

絲狀體之分離與培養

依 Wang and Chiang (1979) 所做的方法取成熟紫菜葉狀體一株以過濾海水洗淨後陰乾，置於盛有去除 S-3 vitamin, soil extract 及 liver extract 之 SWMIII 培養液 (Chen *et al.*, 1969) 之培養皿內，待其果孢子放出後，取出紫菜葉狀體，將培養皿移置於 20°C 之培養箱，給以 60 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 之光照 12 小時，等絲狀體長大至肉眼可見時，挑出，投入含有 200 ml 培養液之 500 ml 三角瓶內培養，一個月後更換培養液一次，至第二個月內即有直徑約 0.5 公分的絲狀體羣體，再以消毒過之果汁機打碎後分裝於三或四支 500ml 三角瓶內，後移置於上述培養箱內，通氣培養，並反覆以同樣方法繁殖絲狀體，至有足夠量做實驗為止。

氮鹽及鹽度之實驗

本實驗採用 NaNO_3 , NaNO_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 三種氮鹽。培養液之配法為 SWM III 中所含之 NaNO_3 配為所需之濃度外，以 NaNO_2 及 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 取代 NaNO_3 並配成所要之濃度。每組濃度各為 0.4 mM, 1 mM, 2 mM, 4 mM, 10 mM，總共配成 15 種不同培養液。

實驗前先把擬做實驗之絲狀體投入不含任何氮鹽之變更 SWM III 之培養液中，在 20°C, 60 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, 12 小時照光之環境下培養 10 至 13 天，至絲狀體稍呈淡黃色，表示缺氮為止。然後打碎做為本實驗材料，以煮沸及加蒸餾水稀釋方式，製成不同鹽度 (20, 25, 30, 35, 40, 45, 50‰) 之海水，再製成變更 SWM III 培養液。

培養

自 20°C 培養瓶中取出數個絲狀體之球形羣體移入消毒過之果汁機中，加入海水至 800 ml，低速打 15 秒，使絲狀體長度約 1 mm 左右。然後將所有打碎之絲狀體移入消毒過之燒杯中，於磁拌器上攪拌混合均勻。每次吸取 20 ml 移入已配好各種濃度氮鹽之培養液 300 ml (鹽度培養液亦然)。這一切操作過程都在 Lamina flow 下進行。然後移入 (20°C, 60 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, 12:12) 下培養。

絲狀體培養 30 天，不換培養液，每天以手搖動數次。30 天後再測定各種條件下絲狀體之體積，乾重之變化。以上各種條件下培養，都有兩組重覆二次，所加入之絲狀體之體積，乾重，亦都加以事先測定之。乾重之測定則採用間接之方法，即先取十個樣品，先測其濕重，烘乾後求每一樣品之含水量，最後求其平均乾重。

體積之測定

絲狀體之體積測量乃仿照 Dring (1967) 之方法，以有刻度之血球沈澱管測量，血球沈澱管上下口徑一致約 0.3 公分，全長約 11 公分，每 mm 有一刻度。全管可裝 1 ml 左右之液體。因為各個管子之體積稍有差異，乃以微細吸管吸取 1 ml 蒸餾水裝入管內記下刻度。以後各取 1 ml 的濃縮絲狀體，注入血球沈澱管中，離心後，記下絲狀體於管內堆積的刻度。

絲狀體培養 30 天後，倒入果汁機中以低速打碎，移入燒杯中以磁拌器混合均勻。然後吸取 10 ml 於 15 ml 離心管中離心。去掉上層液，再加入 2 ml 過濾。然後以粗鐵絲攪拌，使絲狀體沈澱物均勻懸濁，再以微細吸管吸取 1 ml 裝入血球沈澱管，直到裝滿 1 ml 體積之刻度為止。裝入時，注意不要有氣泡產生，接著於 4000 rpm 下離心 30 分鐘並立刻記錄下沈澱之體積，以免耽擱太久，體積膨脹發生變化，以 1 ml 體積之刻度校正後，算出每瓶 (320 ml) 培養瓶內絲狀體之總體積 ($= \frac{\text{沈澱刻度}}{1 \text{ ml 體積刻度}} \times 2 \times 32 = \text{cm}^3/320 \text{ ml}$)，而每瓶絲狀體之體積增加倍數 = $\frac{30 \text{ 天後總體積}}{\text{最初加入體積}} - 1$ ，以上體積之測定，每瓶測定三次。

乾重量之測定

乾重量測定前，先將 $0.8 \mu\text{m}$ 濾紙放於乾燥箱中一天，然後在除濕房間內以電動天平秤重。測定乾重時，自每瓶打碎之絲狀體均勻混合液吸取 20 ml，用秤過重量之 $0.8 \mu\text{m}$ 之濾紙過濾，收集樣品，再以等量之蒸餾水沖洗過濾，然後將樣品連同紙放在培養皿中。同時做三個空白試驗，取 20 ml 過濾海水，用秤過重量之 $0.8 \mu\text{m}$ 濾紙過濾。再以等量之蒸餾水沖洗過濾，然後與絲狀體樣品同時放入 $60^{\circ}\sim 70^{\circ}\text{C}$ 下烘乾 24 小時，再移入乾燥箱中待涼後秤重，由空白試驗，可知濾紙本身烘乾前後重量之差異。

$$\text{每瓶絲狀體總乾重量} = [(\text{烘乾後濾紙絲狀體總重量} - \text{烘乾前濾紙重}) + \text{烘乾後空白試驗濾紙減輕重量}] \times 16$$

$$\text{每瓶絲狀體乾重量之增加倍數} = \frac{\text{30天後每瓶之總乾重}}{\text{最初加入之絲狀體乾重}} - 1$$

每瓶測量二次。絲狀體烘乾之溫度不可太高（一般不超過 100°C ）否則藻體氧化會影響乾重。

絲狀體之 C/N 值測定

絲狀體放入不含氮鹽培養液前及在其中培養 10 至 13 天後之 C/N 值則以 Perkon-Elmer 240 Elemental analyzer 測定。

結 果

氮鹽對絲狀體生長之影響

培養一個禮拜後，在含有 10 mM NO_2^- 及 10 mM NH_4^+ ，絲狀體生長不太好，顏色稍退，呈淡綠色。生長於其他各條件下之絲狀體生長都很好，呈淡褐色。

二個禮拜後，在 10 mM 之 NO_2^- 及 NH_4^+ 培養下之絲狀體顏色變淡生長很差。在其他培養條件者，絲狀體均正常生長，其中以 0.4 mM NO_3^- 之絲狀體最多， 1 mM NO_3^- 及 NO_2^- 者次之。

30 天後，經測定其乾重及體積，結果如圖 1，圖 2 所示，以 1 mM NO_3^- 生長量最高，乾重增加 20.12 倍，體積增加 33.25 倍，而以 10 mM NH_4^+ 者生長量最高，乾重增加 6.85 倍，體積只增加 2.88 倍。三種鹽度中，以在 NO_3^- 者生長最好，其五種濃度之生長量分別為 $1 \text{ mM} > 0.4 \text{ mM} > 2 \text{ mM} > 4 \text{ mM} > 10 \text{ mM}$ 。 NO_2^- 次之，其五種濃度下之生長量為 $1 \text{ mM} > 2 \text{ mM} > 0.4 \text{ mM} > 4 \text{ mM} > 10 \text{ mM}$ ； NH_4^+ 生長最差，其順序為 $0.4 \text{ mM} > 1 \text{ mM} > 2 \text{ mM} > 4 \text{ mM} > 10 \text{ mM}$ 。大致上，氮鹽之濃度超過 1.0 mM 時，不論其種類為 NO_3^- ， NO_2^- 或 NH_4^+ ，絲狀體之生長量皆隨氮鹽濃度之增加而減少（圖 1 及 2）

鹽度對絲狀體生長之影響

於 20°C ，以 $60 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 照光 12 小時之環境下，不同鹽度對絲狀體生長之影響以 30‰ 最好（圖 3），體積增加 17.65 倍，乾重增加 4.93 倍，35‰ 次之，絲狀體體積增加 17.27 倍，乾重增加 4.3 倍與 30‰ 很接近。7 種鹽度對生長量之影響呈 $30\text{‰} > 35\text{‰} > 25\text{‰} > 40\text{‰} > 20\text{‰} > 45\text{‰} > 50\text{‰}$ 之順序，而以 50‰ 之生長最差，乾重只增加 1.14 倍，體積增加 8.40 倍，其他各鹽度生長量均相差不多。

討 論

早期的研究 (Lapointe and Ryther, 1979) 發現健康的 *Gracilaria foliifera* var. *angustissima* 植物體培養在流動的天然海水中 10 天後，其體色由深紫—褐色變為淡黃色。他們認為此種顏色的改變表示植物體之缺氮現象，因其 C/N 值由 6:1 變為將近 30:1。Rosenberg and Ramus

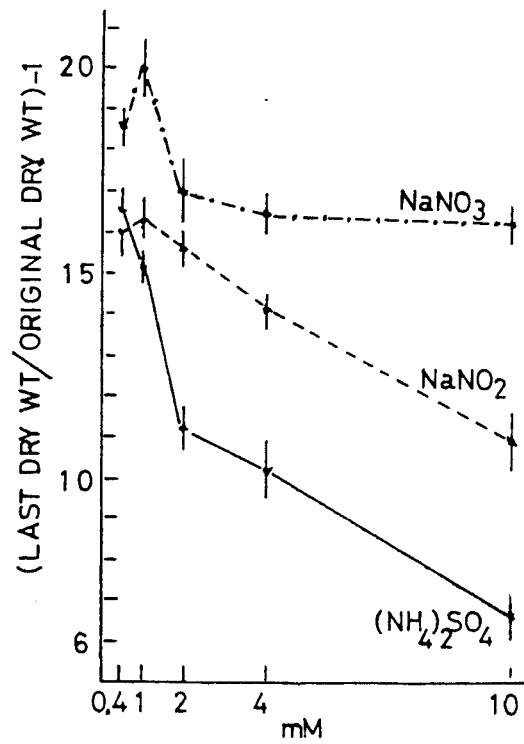


Fig. 1. Effect of different nitrogen salts on the increase in dry weight of conchocelis.

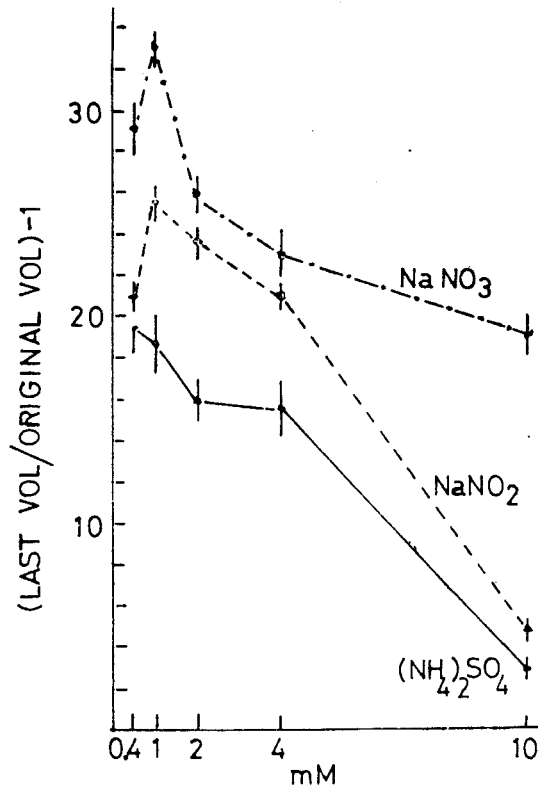


Fig. 2. Effect of different nitrogen salts on the increase in the volume of conchocelis.

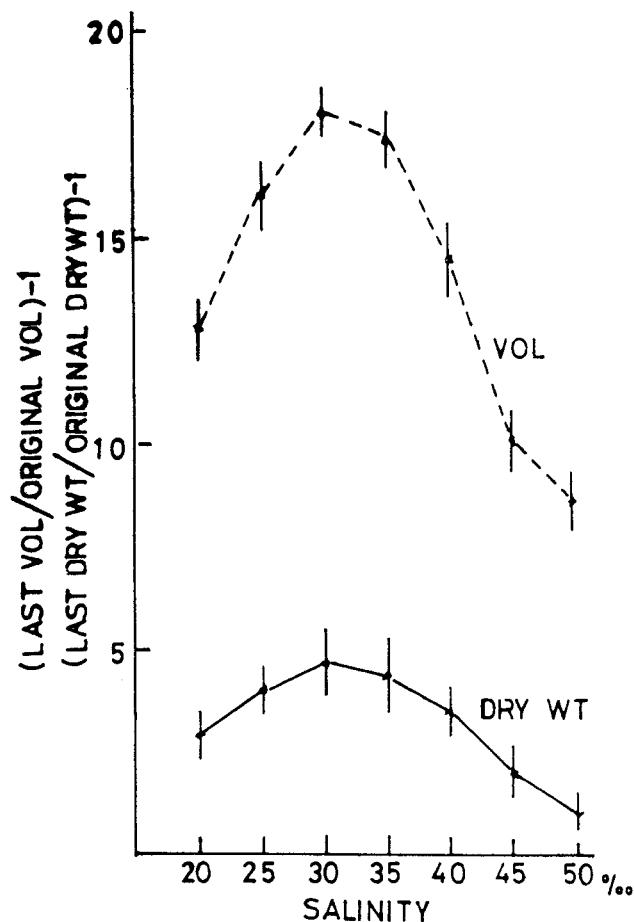


Fig. 3. Effect of salinity on the growth in term of dry weight and volume of conchocelis.

(1982) 認為缺氮的海藻會利用 pigment-protein 做為細胞分裂所需的氮，而導致植物體之色素減少，體色變淡。本實驗之絲狀體在缺氮之培養液中培養 10 天後，呈淡黃色，其 C/N 值亦由 5:1 變為將近 20:1，此乃表示絲狀體因缺氮導致色素體含量降低之故。亦即表示，氮鹽吸收實驗所用之絲狀體，確實呈缺氮狀態。這種現象在 Ryther *et al.* (1982) 及 Chiang and Lin (1989) 所用之 *Gracilaria* spp. 亦呈現過。

氮鹽為所有自營植物生長所必需之營養鹽類當中最重要且需要最多者。Iwasaki (1967) 發現甘紫菜 (*Porphyra tenera*) 之絲狀體不但能够利用硝酸鹽，亦能利用一些有機氮，如尿素和數種氨基酸，但不能夠利用空中之氮。很顯然地，我們所用的氮鹽都能被該種紫菜絲狀體所利用，而以硝酸鹽比亞硝酸鹽及氨鹽為佳。這一點和 Iwasaki (1967) 及 Chapman and Graigie (1977) 之發現相符合。Iwasaki (1967) 在他所使用的 10 餘種氮源中，以硝酸鹽最適合甘紫菜絲狀體之生長，而氨鹽及尿素則次之，但須要在低濃度才能促進絲狀體之生長。本實驗的結果亦顯示低濃度的氮鹽總比高濃度者適合本種紫菜絲狀體之生長。

本實驗發現該種絲狀體所需要的 NO_3^- 和 NH_4^+ 的最適宜濃度都比他種紅藻，*Goniotrichum* 和 *Nemalion* (Fries, 1963) 和褐藻 *Ectocarpus* (Boalch, 1961) 為高，甚至亦比甘紫菜絲狀體者高 (Iwasaki, 1967)。這些差異應該是因藻種之不同和其他環境因子之相互作用而引起的 (McCarthy, 1980)。

鹽度對藻類生長的影響依種類而異，*Chondrus crispus* 的孢子發芽與生長之鹽度範圍很廣，從

15‰至 45‰都可適合 (Burns and Matheson, 1972), Ogata (1960) 發現若海水稀釋至原來一半鹽度時所培養之紫菜絲狀體生長情形比用正常海水培養者差。杉葉紫菜亦有類似的結果，其果孢子萌芽及初芽之生長在 32‰最好 (Wang and Chiang, 1979)，絲狀體之生長在 35‰最好，但在 5‰和 15‰則全部死亡 (Liaw and Chiang, 1979)。最適合於本種紫菜絲狀體生長之鹽度則為 30‰，太高或太低鹽度都不好。從本實驗及其他研究結果，我們知道接近天然海水鹽度的培養鹽最適合於一般紫菜絲狀體之生長。

謝 辭

本研究承獲行政院國家科學委員會之經費補助 (NSC 74-0407-B002a-02)，金門水產試驗所吳慶賀先生採集紫菜，並承臺大海洋研究所 401 室同仁之協助，得以順利完成，在此表示最誠摯的謝意。

參 考 文 獻

- Boalch, G. T. (1961). Studies on *Ectocarpus* in culture II. Growth and nutrition of a bacteria-free culture. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 41: 289-304.
- Burns, R. L. and A. C. Mathieson (1972). Ecological studies of economic red algae. II. Culture studies of *Chondrus crispus* Stackhouse and *Gigartina stellata* (Stackhouse) Bathers. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 8: 1-6.
- Chapman, A. R. and J. S. Craigie (1977). Seasonal growth in *Laminaria longicurvis* relations with dissolved inorganic nutrients and internal reserves of nitrogen. *Mar. Biol.*, 40: 197-205.
- Chen, L. C. M., T. Edelstein and J. McLachlan (1969). *Bonnemaisonia hamifera* in nature and in culture. *J. Phycol.*, 5: 221-220.
- Chiang, Y. M. and Y. H. Chou (1977). Culture studies on the *Porphyra dentata* Kjellman.—Conchocelis cultivation and conditions for conchospore liberation. *J. Fish. Soc. Taiwan*, 5: 91-97.
- Chiang, Y. M. and J. L. Lin (1989). Nitrate uptake by the red alga *Gracilaria tenuistipita* var. *liui* (Rhodophyta). *Jap. J. Phycol.*, 37: 187-193.
- Dring, M. J. (1967). Effect of daylength on growth and reproduction of the *Conchocelis*-phase of *Porphyra tenera*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 47: 501-510.
- Fries, L. (1963). On the cultivation of axenic red algae. *Physiol. Plant*, 16: 695-705.
- Iwasaki, H. (1967). Nutritional studies of the edible seaweed *Porphyra tenera*. II. Nutrition of *Conchocelis*. *J. Phycol.*, 3: 30-33.
- Lapointe, B. E. and J. H. Ryther (1979). The effects of nitrogen and seawater flow rate on the growth and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* var. *angustissima* in mass outdoor cultures. *Bot. Mar.*, 22: 529-537.
- Liaw, J. P. and Y. M. Chiang (1979). Culture studies on the conchocelis of *Porphyra angusta* Ueda. *J. Fish. Soc. Taiwan*, 6: 59-65.
- McCarthy, J. J. (1980). Nitrogen. In *The Physiological Ecology of Phytoplankton* (I. Moris ed.). Blackwell Scientific Publ., 191-233.
- Ogata, E. (1960). Studies on the growth of conchocelis. IV. Effects of some environmental factors on the vertical growth. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 26: 393-396.
- Rosenberg, G. and J. Ramus (1982). Ecological growth strategies in the seaweeds *Gracilaria foliifera* (Rhodophyceae) and *Ulva* sp. (Chlorophyceae): Soluble nitrogen and reserve carbohydrates. *Mar. Biol.*, 66: 251-259.
- Ryther, J. H., N. Earwin, T. A. DeBusk and L. D. Williams (1982). Nitrogen uptake and storage by the red algae *Gracilaria tikvahiae*. *Aquaculture*, 26: 107-115.
- Wang, J. C. and Y. M. Chiang (1979). Studies on the germination of carpospores and the growth of germ tubes of *Porphyra angusta* Ueda. *Natl. Sci. Counc. Month., R. O. C.*, 7: 285-290.

不同氮源與鹽度對壇紫菜絲狀體生長之影響

江永棉·林秀華

本實驗研究氮鹽及鹽度對金門產壇紫菜測離絲狀體生長之影響。在溫度 20°C，光照 12 小時，和光線強度 60 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 之環境下，把絲狀體培養於三種氮鹽 (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+) 及五種濃度 (0.4 mM, 1 mM, 2 mM, 4 mM, 10 mM) 之變更 SWM III 培養液 30 天後，測定其乾重量及體積，發現以 1 mM NO_3^- 之生產量最高，其最後乾重量比原先乾重量增加 20.12 倍，最後體積比原先體積增加 33.25 倍。三種氮鹽中，以 NO_3^- 之生長最好， NO_2^- , NH_4^+ 者依次遞減。又隨著濃度之增高，生長量有遞減現象，以 10 mM NH_4^+ 者最低，其最後乾重量只比原先乾重量增加 6.85 倍，最後體積比原先體積增加 2.88 倍。在培養二個禮拜後，10 mM NO_2^- 與 10 mM NH_4^+ 者顏色變淡，生長很差。培養於不同鹽度之變更 SWM III 培養液與前者相同之溫度，光照，時間和光線強度的結果以培養於鹽度 30% 者最佳，其最後乾重量比原先乾重量增加 4.93 倍，最後體積比原先體積增加 17.65 倍。以 50% 生長最差，最後乾重量增加 1.14 倍，最後體積比原先體積增加 8.40 倍。鹽度對生長之影響相差不大，但是鹽度由 20% 至 30%，其生長量遞增，30% 至 50% 則有遞減現象。