

海洋维生素 B₁₂ 供求变化及其生态意义*

陈 皓 文

(中国科学院海洋研究所)

维生素 B₁₂ 是一类积极参与生理活动的物质, 在细胞营养和机体代谢中起着重要作用。人们长期缺乏 B₁₂, 会导致多种疾病。

B₁₂ 作为海洋中的一种生态因子, 活跃在海洋生物生产力和食物链中, 影响着海洋生物的盛衰和种群的连续。研究海洋中的 B₁₂ 也能加深理解海洋生物、物理、化学的某些现象及其相互关系。

海洋中的 B₁₂ 是由生物合成的, 其中又以细菌等微生物为主。海洋中有着丰富的各类 B₁₂ 产生菌。

本文主要从微生物角度论述海洋维生素 B₁₂ 的分布变化、B₁₂ 的供求以及某些环境因子对 B₁₂ 的影响。

一、海洋中 B₁₂ 的分布、变化及测定法

近几年来, 人们调查了太平洋北部、日本近海和欧美沿岸的大西洋及其内海等水的 B₁₂, 发现不同海区的 B₁₂ 浓度差异很大, 其范围是 0—26.0ng/l (如太平洋西北部)。在北海是 0.13—2.00ng/l (Cowey, 1956), 北极圈附近太平洋海域是 0—3.39ng/l, 日本福山湾是 0.42—6.43ng/l^[2], 而不列颠哥伦比亚沿岸水域则是 0—18.7ng/l (Cattell, 1973)。

近海 B₁₂ 浓度常高于外海。加利福尼亚沿岸水, 其 B₁₂ 浓度高达 0.4—6.5ng/l, 而大西洋中部表水 B₁₂ 浓度平均只有 0.1ng/l^[3]。不同

水域的悬浮颗粒和碎屑的 B₁₂ 浓度, 一般也是沿岸的高于外海的, 如美国乔治亚州 Sapelo 岛沿岸的大西洋和 Duplin 河一带, B₁₂ 的最高值出现在该河上游水中, 而此处正位于肥沃的 Spartira 沼泽地带。Doboy 海峡则次之。离岸较远的大洋水, 其悬浮颗粒和碎屑中的 B₁₂ 往往最低 (Starr, 1956)。

海底沉积物中 B₁₂ 含量常比海水的含量高。日本相模湾和骏河湾底泥, 有的样品含 B₁₂ 高达 1.14ng/g (湿泥), 日本舞鹤湾沉积物及其表层的 B₁₂ 含量比海水则高得多^[1]。

B₁₂ 在海水中的垂直分布趋势是上层少下层多。在透光层, B₁₂ 浓度非常低。如马尾藻海, 100 米以上的海水, B₁₂ 一般只 0.01—0.1ng/l; 200 米和 200 米以下, 则高于表层; 近 500 米处高达 1.5ng/l。

B₁₂ 浓度的分布还有一定的季节变化。日本相模湾表水中, B₁₂ 在初春最低, 夏季最高, 秋末冬初接近最低 (Cohwada 等, 1972)。这种状况因不同海区而异, 且与浮游植物密切相关。美国长岛海峡水, B₁₂ 浓度在冬季最高, 达 16.0 ng/l; 随着晚冬硅藻藻花的出现, B₁₂ 明显下降; 到初春时, 硅藻的繁殖激增, B₁₂ 最少, 仅 3.4ng/l; 从春至夏再增 (Vishniac 等, 1961)。

B₁₂ 浓度及其分布的变化首先决定于 B₁₂ 产生菌的种类和数量, 而这两者又受磷酸盐、温度、叶绿素和浮游生物等环境因子的制约。

* 本文承吴超元、纪明侯、孙国玉等同志热情指导, 谨致谢忱。

$$\delta_{(X-PDB)} = \delta_{(X-B)} + \delta_{(B-PDB)} + 10^{-3} \delta_{(X-B)} \delta_{(B-PDB)}$$
式中: X-PDB 为相对于“PDB”标准的样品 X; X-B 为相对于派生标准 B 的样品 X; B-PDB 为相对于“PDB”标准的标准样 B; δ 为以千分数表示 (‰)。

把氧同位素分析技术应用到古气候领域具有十分重要的意义。研究古气候不仅要给出定性评价, 而且还要求达到定量的目的, 这是科学家们的宿愿, 现在氧同位素分析技术给他们提供了解决这一问题的手段。

B₁₂ 菌产生的 B₁₂ 溶至海洋又受季节、河流、潮汐、底质等因子的作用, 互为影响。因此, B₁₂ 浓度及分布的问题是复杂的。

对 B₁₂ 的测定, 除对非生物材料可用同位素法外, 一般常用微生物法。其原理是借专性需 B₁₂ 的微生物对微量 B₁₂ 灵敏的生长感应来推断 B₁₂ 浓度。针对海洋特点, 须排除高盐度的干扰作用。不少学者采用了各种脱盐法, 但回收率低且操作烦难。近几年开始寻找耐盐微生物, 国际间常用 *Cyclotella nana* 13-1^[3]、*Amphidinium arteri* (Cattell, 1973), 还有采用赖氏乳杆菌^[2]、大肠杆菌突变株 (Propp, 1970) 等。它们在对 B₁₂ 的灵敏度、耐盐性及操作上都有其优越性。Heed (1972) 的方法则在测定 B₁₂ 的速度和精度上更有提高。

二、海洋生物对 B₁₂ 的需要

1953年, Darken 所研究的534株细菌中有8% 依赖 B₁₂ 生活。海洋细菌纯培养的研究揭示, 它们常需一种或多种族维生素^[4]。Burkholder (1963) 从海水、海泥分离的1,272株菌中有12% 需 B₁₂; 1968年, 他与同事又证实有20% 以上的菌株需 B₁₂^[4]。1976年, Berland 等分离的海水细菌有3.2% 需 B₁₂。一些海洋酵母、自营菌也需 B₁₂。一些低等真菌如 *Thraustochytrium globosum* 只是在有 B₁₂ 时才能生长, 当浓度高达100ng/l时, 其生长则显著加快。

从五十年代起, 一些学者研究了 B₁₂ 活性化合物在许多藻类的生理上的作用, 指出 B₁₂ 是其生长因子^[5]。1963年, Provasoli 试验了属于不同门类的海藻, 发现57% 需 B₁₂, 其中如扁藻 *Platymonas tetrathele*、中肋骨条藻、塔形冠盖藻、金藻 *Monochysis lutheri*、隐藻 *Hemiselmis virescens*、兰藻的伊朗席藻、甲藻的多边膝沟藻等。1971年, Rheinheimer 指出很多海藻不能合成维生素, 需由其它生物提供。试验表明, 有50% 的海洋兰藻需 B₁₂ 等多种维生素, 25% 的海洋硅藻需 B₁₂。浮游植物的培养研究表明, 它们之中有的必须有 B₁₂ 才能生存, 有的则需 B₁₂ 刺激生长, 另一些则在营

养上起补助作用。B₁₂ 对保障某些大洋植物如颗石藻类 (Coccolithophorids) 的外壳 (coccolith) 正常结构也是不可缺少的。此外, B₁₂ 对一些不需它的浮游植物之生长还会有某种抑制作用 (Carlucci, 1974)。

在大尺度生态系统中, B₁₂ 如同别的活性物一样, 也是周围生物重要的一种环境因子。在某些水域, 当下层滞水带释放 B₁₂ 补充给透光层时, 常伴随有双鞭藻、硅藻和绿藻生物量的增加, 而当透光层 B₁₂ 浓度最低时, 兰藻生物量增加了^[6]。一些海洋硅藻的单位细胞数及马尾藻海的浮游植物消长、种群组成、移栖现象均与 B₁₂ 密切相关。

有些较高等的海洋动植物虽能贮存一些 B₁₂, 但本身并无合成能力, 要由 B₁₂ 生产者供给, 其生长和分布都受 B₁₂ 制约。于是海洋维生素 B₁₂ 生产、贮存、消费三个环节包括的如共生和寄生等关系就要建立起来。许多海洋经济动物从饵料、消化道内的 B₁₂ 微生物区系或从两者兼得 B₁₂,^[7] 微生物和鱼、特别和幼鱼是密切相连的。一些渔场 (如舟山渔场等) 的 B₁₂ 浓度和 B₁₂ 产生菌数量、种类较为丰富。用 B₁₂ 等维生素或其产生菌同其它饵料饲养经济动物已越来越被人们所重视。可见, B₁₂ 是各类海洋生物重要的一种生态因子。

三、海洋中 B₁₂ 的微生物生产

自1948年分离到 B₁₂ 以来, 人们就其生物合成进行了广泛的研究, 很快于五十年代初从土壤、有机肥料、池塘等环境中筛选过大量 B₁₂ 产生菌 (Smith, 1960), 指出放线菌和细菌在 B₁₂ 生产上较有希望 (Durton 等, 1951; Lochhead, 1957)。简单棒杆菌在每升正链烷中产 B₁₂ 0.6mg (Koichi, 1966)。反硝化假单胞杆菌在厌氧条件下产 20mg/l, 而有名的薛氏丙酸杆菌则产高达 58mg/l 以上的 B₁₂。此外, 一些光合细菌、浮游藻类也是 B₁₂ 的生产者 (依姆歇涅斯基, 1978; Nishijima 等, 1979)。

近年来, 人们已把注意力放到海洋。海洋也是产维生素 B₁₂ 微生物的一个天然场所。如

前所述,海洋中的 B_{12} 主要由细菌等微生物活动所产生。这在大洋中尤其如此, B_{12} 主要由异养细菌合成和排泌^[8]。

运用由普通氮、碳源和某些无机盐类组成的培养基能筛选出许多 B_{12} 菌^[1,4],但应尽量减少培养基中的干扰成分,以无机盐代替复杂有机物或根据测定生物感应范围来选择。但以这些技术分离纯培养较麻烦,从高浓度营养基上长出的细菌转至较低浓度培养基上时,微生物的生长和合成能力可能降低。因此,有人提出新法并成功地从入海口、沿岸区和大洋中分离到 B_{12} 菌^[9]。

凭借不同方法,人们从海洋的不同样品中分离到大量 B_{12} 菌。1953年,Ericson 等发现海水和海藻表面的34株细菌中有24株是 B_{12} 菌,即11株假单胞杆菌,8株无色细菌,2株黄杆菌,2株芽孢杆菌和1株欧氏植病杆菌。Starr 等^[7]发现他们所研究的海洋细菌有30—70%是 B_{12} 菌,对地中海几种鱼的消化道之异养菌调查后,确证68株细菌中有28株能合成 B_{12} ,它们是杆菌、假杆菌、假单胞杆菌、弧菌、芽孢杆菌、微球菌、八叠球菌等属中的16个种。最大 B_{12} 活力的菌是嗜盐杆菌和 *Bacillus oligotrophillus*^[10]。1976年,Berland 等从普通表层海水中分离的232株细菌中得到26%的 B_{12} 菌。在1968、1970年,仓田等调查了海洋 B_{12} 产生菌及其分布,指出海洋底质的 B_{12} 菌比海水中的多。对我国大陆架、沿岸区和海湾的调查也表明, B_{12} 菌种类多、数量大。

研究工作表明,微生物产生的 B_{12} 大致分两种方式进入培养基或周围环境,主要是在对数生长期后大量细胞代谢并排泌 B_{12} ;其次是在衰亡期,由死亡细胞解体而游离出 B_{12} 。这样海洋 B_{12} 需求者就源源不断地取得了 B_{12} 。

四、若干环境因子与 B_{12}

生产的关系

海洋微生物合成 B_{12} 的能力首先决定于本身,有些仅能满足自身所需,有些则合成过剩

的 B_{12} 或自身非必需的 B_{12} 。Ericson 等测定的菌种, B_{12} 产率是5— 1.40×10^5 ng/l。Starr 等所研究的366号菌产 B_{12} 约 1.84×10^5 ng/l。这说明海洋中有些 B_{12} 菌的生产能力可与陆生菌相匹敌。

细菌给予环境的 B_{12} 水平是有变化的,这与它们的区系,特别是活力指数如细菌群体的生长速度变化有关(Vacelet, 1975),而后者又与环境条件息息相关。从细菌合成 B_{12} 的能力看,一个突出的方面就是与钴离子的关系。大量实验工作证明,钴离子是合成 B_{12} 的要素之一,能明显影响 B_{12} 生产(Hodge 等, 1952; Berry 等, 1966; Wagmen 等, 1969)。1975年, Nishio 等以克氏杆菌101作试验,发现无钴时,不合成 B_{12} ;当钴浓度从0.02 ng/l增至2.0 ng/l时, B_{12} 产量从23 μ g/l增至75 μ g/l。我们的工作也证实了这点。研究还表明,无论是混合培养还是纯培养,适当添加钴离子对 B_{12} 生产确有益。

B_{12} 浓度与钴离子的这种密切关系,在 Benoit 等(1957)对 Linsley 池塘的调查也得到证实。 B_{12} 浓度在表水中低,最明显的原因就是所提供的钴很有限。通常,钴,特别是在溶解状态时,下层滞水带常多于温跃层。深水中钴的含量常较丰富。Gillespie 等(1972)指出, Klamath 湖的水-沉积物界面处, B_{12} 浓度高。Kinnert 湖40米深处的水中 B_{12} 浓度最大,该处为下层滞水带^[6]。一些近海沉积物表层有较多 B_{12} 菌,可能反映了它们与钴离子的密切关系。

水-沉积物界面 B_{12} 浓度高,还可能与丰富的营养、较高的静水压和厌氧的环境有关。在那里, B_{12} 菌的种类不同于一般表水, B_{12} 菌数量和合成能力较大,而耗用量相对较少,于是 B_{12} 有可能积聚起来。Szontagh 等在1972年指出,污泥的混合细菌厌氧发酵 B_{12} 试验表明,加压和控制通气是获得高产 B_{12} 的手段。这与从某些高等动物粪便和肠含物分离出 B_{12} 高产的厌氧微生物情况相吻合(Uphill 等, 1977)。由此启示我们,实际应用海底 B_{12} 菌时必须考

虑到这些条件。

在许多自然生态系统中,本地的微生物区系有极高的生产速率,这是经混合培养得出的估计。培养一周,将生产高达23ng/ml的 B_{12} ,比纯培养高出30倍(Gillespie等,1972)。显然 B_{12} 菌的适当混合培养既能较客观地反映现场 B_{12} 生产,又有实际的应用价值。

实验表明, B_{12} 菌在不同培养基上有不同的合成能力。Lebedeva等^[10]证实,经特殊射线辐射的无 B_{12} 培养基,其上的9种17株 B_{12} 菌,包括蜡状芽孢杆菌、嗜盐杆菌等比在未经辐射的培养基上有较高的维生素合成能力。一些烃化物是细菌合成 B_{12} 的基质,如 C_{11} - C_{14} 的直链烷、乙醇、 α -酮戊二酸酯、苹果酸、苯甲酸酯和Fumarate等是棕色芽孢杆菌积累 B_{12} 所要同化的基质,尤其是 C_{16} - C_{18} 的直链烷是该菌 B_{12} 生产的最好基质。一些石油产品的微生物降解过程伴随有 B_{12} 的产生。经受石油等污染的一些海、湾, B_{12} 菌的数量仍不低,可能说明其本身就是石油等的降解者或是它们对环境适应的结果。以廉价而普通的烃化物作微生物生产 B_{12} 等的唯一碳源是近年来制取维生素的新动向,这在环境微生物领域中也具实际意义。

产 B_{12} 的嗜冷细菌是高纬度或低温水域 B_{12} 的主要供应者,也是它们长期适应低温的结果。

由微生物等产生的 B_{12} 与海洋初级生产力有密切关系。Menzel等(1962)证明,海水光亮带 B_{12} 浓度与浮游植物碳吸收基本上是平行的,这是 B_{12} 积极影响浮游植物组成和群体碳吸收的反映。 B_{12} 浓度的变化是海洋初级生产力的一个有用参数。

由于浮游生物与 B_{12} 的关系密切, B_{12} 也是水体营养程度的一个指标。近几年来,人们研究了沿岸区、海湾等水域的赤潮问题,发现引起赤潮的原因复杂,并指出其中的一些赤潮浮游植物常常是 B_{12} 需求者。因此,人们可以根据调查海区的 B_{12} 分布状况和需 B_{12} 浮游植物的组成情况,估计水体富营养化过程和发生赤潮的可能性。

综上所述,多年来,各国学者对海洋中的 B_{12} 作了广泛研究,基本搞清了世界主要海区的 B_{12} 状况。在我国,这一课题也于1972—1977年间初步开展,对东、黄、渤海三海区及相关海湾的 B_{12} 产生菌数量分布、 B_{12} 产生菌培养基和培养条件作了调查研究,取得了一定成果,并在1978年11月的全国海洋湖沼学会学术讨论中以摘要形式发表。要把这一工作继续深入下去,必须对 B_{12} 测定方法作改进,现今仍沿用陆上方法测海洋样品有一定缺陷,要采用灵敏简便的方法。 B_{12} 产生菌的筛选和培养方法也需改进,以适应进一步开展海洋 B_{12} 菌普查的需要。目前国内生产的 B_{12} 主要从生产抗菌素发酵液中提取,质和量都不能满足日益增长的需要。开展 B_{12} 产生菌的海洋调查,可能发掘出高效 B_{12} 菌种。应用先进技术设备对 B_{12} 等在海洋环境及各级营养水平中的循环和作用的调查研究将会推动海洋科学的深入发展。

主要参考文献

- [1] 倉田 亮, 1969. 日本海洋学会誌 25 103—108.
- [2] Inoue, A. et al., 1973. J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ. 12:13—20.
- [3] Cerlucci, A. F., 1970. Bull. Scripps. Inst. Oceanogr. 17:23—31.
- [4] Burkholder, P. R. et al., 1968. Can. J. Microbiol. 14:537—543.
- [5] Droop, M. R., 1955. J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 34:229—231.
- [6] Cavari, B. et al., 1977. Appl. Environ. Microbiol. 134:120—124.
- [7] Starr, T. J. et al., 1957. Limnol. Oceanogr. 2:111—119.
- [8] Provasoli, L., 1963. The Sea 2. Interscience, pp. 165—219.
- [9] Haines, K. C., 1974. J. Phycol. 10:367—368.
- [10] Lebedeva, M. N. et al., 1972, Comm. Int. Explor. Sci. Mer. Mediterr. Monaco 21:245—246.