

# 铁、氮、磷、维生素 B<sub>1</sub> 和 B<sub>12</sub> 对 海洋原甲藻的生长效应\*

朱从举 齐雨藻 郭昌炳

(暨南大学水生生物研究所, 广州 510632)

**提要** 4因子, 2水平(铁为4水平)正交试验表明: 络合铁和硝态氮对海洋原甲藻(*Prorocentrum micans*)的生长有极显著的促进作用( $P < 0.01$ ), 维生素 B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub> 混合液有显著促进作用( $P < 0.05$ )。络合铁和硝态氮为大鹏湾浮游植物生长的营养限制因子。而磷酸盐的作用不显著。

**关键词** 海洋原甲藻 正交试验 铁 氮 维生素 B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub>

海洋原甲藻是太平洋沿岸主要赤潮发生种之一(郑重等, 1984)。我国大连湾和朝鲜等沿岸均有海洋原甲藻赤潮报道(齐雨藻等, 1989; Park et al., 1987)。赤潮发生种的单因子试验研究已有广泛的报道(沈立光等, 1991; Iwasaki et al., 1973, 1984; Nishijima et al., 1987)。为进一步了解海洋原甲藻赤潮与营养盐及生长因子的关系, 我们应用正交试验设计研究 EDTA-Fe 等4因子对海洋原甲藻生长的交互作用。

## 1 材料与方法

**1.1 藻种及其培养** 海洋原甲藻(*Prorocentrum micans*)引自中国科学院海洋研究所。预培养基为“f/2”(f over 2 medium, Guillard, 1962), 温度  $23 \pm 3^\circ\text{C}$ , 光强 5 000 lx, 光暗比 12L:12D, 500r/min 磁力搅拌。将对数期藻种以  $0.45\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 洗净后接入无菌海水(以  $0.2\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤)。初始浊度调至 10—15NTU, 继续进行培养, 培养条件同上。

**1.2 实验装置及藻类生长速率测定** 以改进的浊度法测定藻类生长速率, 其特点是较其它常规方法简便, 快速, 准确, 并与培养装置配套。具体步骤见另文<sup>1)</sup>。

## 1.3 正交试验设计

**1.3.1 因子及水平的选定** 试验 EDTA-Fe (因子“A”), NaNO<sub>3</sub> (因子“B”), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (因子“C”), 维生素 B<sub>1</sub> + B<sub>12</sub> (因子“D”) 4因子对海洋原甲藻现存量及比生长速率的影响, 其中, A因子取4水平, 其余3因子分别取2水平。同时, 试验 A × B, A × C 的交互作用。水平的选定主要参照 Yamochi (1984)。各因子及水平列表如下:(水平单位:  $0.1\mu\text{g/ml}$ , NaNO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 为  $0.1\text{mg/ml}$ )。

\* 国家自然科学基金资助, 9389008号。

收稿日期: 1993年9月14日, 接受日期: 1993年12月1日。

1) 齐雨藻等 1994, 海洋原甲藻比生长速率的测定, 暨南大学学报 15(1)。(待发表)

表 1 试验因子及其水平

Tab. 1 Factors and levels of test

因 子	水平 1	水平 2	水平 3	水平 4
A(EDTA-Fe) $\left\{ \begin{array}{l} \text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \\ \text{EDTA} \cdot 2\text{Na} \end{array} \right.$	0	6.3	12.6	18.9
	0	8.7	17.4	26.1
B(NaNO <sub>3</sub> )	0	0.5		
C(K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	0	0.05		
D(V <sub>B<sub>1</sub></sub> + V <sub>B<sub>12</sub></sub> ) $\left\{ \begin{array}{l} V_{B_1} \\ V_{B_{12}} \end{array} \right.$	0	1		
	0	5		

1.3.2 正交表的选用 本试验是一个  $4 \times 2$  (一个 4 水平因子及 3 个 2 水平因子) 方案, 加之  $A \times B, A \times C$  的交互作用, 可选  $L_{16}(2^{15})$  而改成  $L_{16}(4^1 \times 2^{12})$ 。试验见表 2。

表 2 正交试验设计

Tab. 2 Scheme for orthogonal designed test

试 管 号	EDTA- Fe( $\mu\text{l}$ ) “A” (1')	A			NaNO <sub>3</sub> ( $\mu\text{l}$ ) B 4	A × B			K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ( $\mu\text{l}$ ) C 8	A × C			V <sub>B<sub>1</sub></sub> +V <sub>B<sub>12</sub></sub> ( $\mu\text{l}$ ) D			
		1	2	3		5	6	7		9	10	11	12	13	14	15
1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1
2	0	1	1	1	0	1	1	1	10	2	2	2	10	2	2	2
3	0	1	1	1	10	2	2	2	0	1	1	1	10	2	2	2
4	0	1	1	1	10	2	2	2	10	2	2	2	0	1	1	1
5	10	1	2	2	0	1	2	2	0	1	2	2	0	1	2	2
6	10	1	2	2	0	1	2	2	10	2	1	1	10	2	1	1
7	10	1	2	2	10	2	1	1	0	1	2	2	10	2	1	1
8	10	1	2	2	10	2	1	1	10	2	1	1	0	1	2	2
9	20	2	1	2	0	2	1	2	0	2	1	2	10	2	1	2
10	20	2	1	2	0	2	1	2	10	1	2	1	0	1	2	1
11	20	2	1	2	10	1	2	1	0	2	1	2	0	1	2	1
12	20	2	1	2	10	1	2	1	10	1	2	1	10	2	1	2
13	30	2	2	1	0	2	2	1	0	2	1	1	10	1	2	1
14	30	2	2	1	0	2	2	1	10	1	2	2	0	2	1	2
15	30	2	2	1	10	1	1	2	0	2	1	1	0	2	1	2
16	30	2	2	1	10	1	1	2	10	1	2	2	10	1	2	1

1.4 接种 将上述预培养藻种接入 500ml 大鹏湾过滤海水中 (以 0.2 $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤), 浊度调至 4NTU, 按每支浊度管 30ml 分装, 再按表 2 所列计划加入相应量营养液。

## 2 结果

图 1 为正交试验的结果分析。可见, 因子 B 的 1 水平与 2 水平间的藻类现存量的差异极显著; 因子 A 的 1 水平与 2—4 水平间的差异亦十分显著 (均为  $P < 0.01$ ); 因子 D 两水平间的差异显著 ( $P < 0.05$ ); 因子 C 两水平间的差异不显著。方差分析结果见表 3 (指标为最大现存量)。

在研究比生长速率时, 进一步可见维生素 B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub> 混合液对海洋原甲藻生长的影响, 图 2a—d 是试验管号 C<sub>3</sub> 与 C<sub>4</sub>, C<sub>7</sub> 与 C<sub>8</sub>, C<sub>11</sub> 与 C<sub>12</sub> 及 C<sub>15</sub> 与 C<sub>16</sub> 的生长曲线比较。

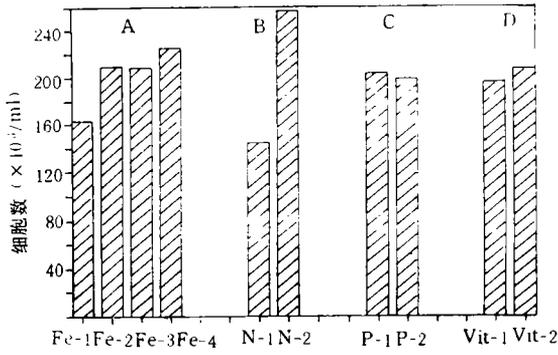


图 1 4 因子不同水平间藻类现存量比较

Fig. 1 Comparison of standing crops under 4 factors between different levers

表 3 方差分析

Tab. 3 Analysis of variance

变 量	SS	DF	MS	F
A	8 543.51	3	2 847.84	56.91**
B	52 257.96	1	52 257.96	1044.31**
C	66.75	1	66.75	1.33
D	589.76	1	589.76	11.79*
A × B	966.61	3	322.20	6.44
A × C	176.75	3	58.92	1.18
e	150.12	3	50.04	

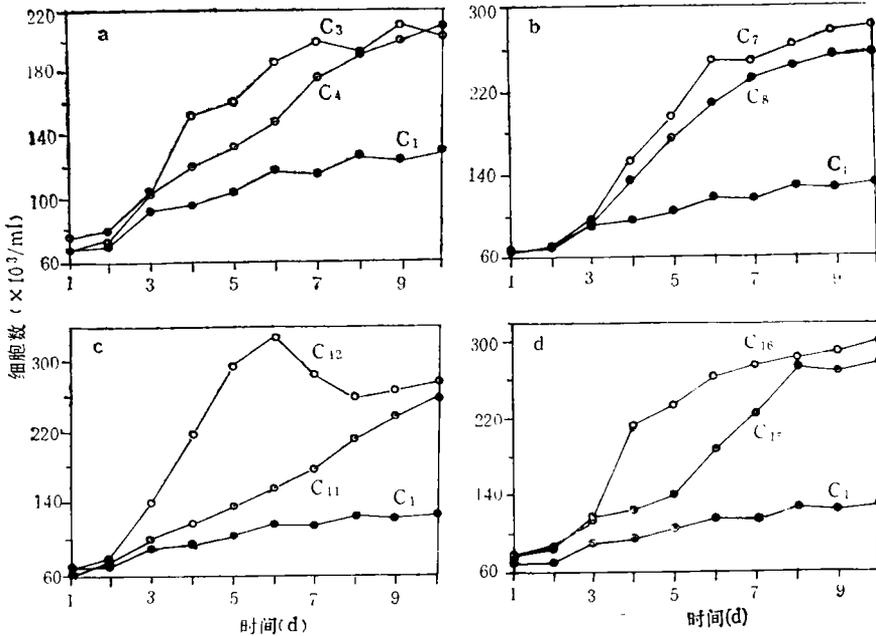


图 2 不同维生素浓度下生长曲线比较

Fig. 2 Comparison of growth curves under different V<sub>B1+B12</sub> concentrations

从表 2 可知, 所列上述每对试验号的差别在于加 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 及 V<sub>B<sub>1</sub>+B<sub>12</sub></sub> 的水平, 由于在本试验中 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 的作用不显著, 故每对指标的差别主要在于 V<sub>B<sub>1</sub>+B<sub>12</sub></sub> 的水平。

### 3 讨论与结语

硝态氮对海洋原甲藻的生长效应的极显著差异与较早证实的大鹏湾海域硝酸盐为营养限制因子的结论是一致的(沈立光等, 1991)。另外, 海洋原甲藻本身对环境中硝酸盐变化是极为敏感的, 它具体表现在两个氮吸收动力学常数的量值(即最大吸收速率  $V_m$  及半饱和常数  $K_s$ )<sup>1)</sup>。据以上分析, 硝态氮在该海域的浮游植物种群动力学中亦与其他海区(Eppley et al., 1969; Dugdale, 1967) 一样, 占居重要地位。

络合铁(EDTA-Fe)对海洋原甲藻增殖的极显著影响与日本 Osaka 湾的情形相似(Yamochi, 1984), 但在 Yamochi 的研究中, 加氮, 磷及维生素都未能促进海洋原甲藻的生长, 这可能与不同的水体有关。本试验应用正交设计比起单因子试验结果更具说服力。铁对浮游植物重要性的研究始于上个世纪, 有关铁的促生长作用有多种解释, 除了生长限制因子之外, 从生理学上讲, 铁为多种酶系的辅助因子, 光合作用依赖于铁(Oquist, 1971; Mueller, 1985)。另外, 在硝酸盐还原过程中, 铁为还原酶系的一个组分, 它对增强藻类对亚硝态氮的还原, 作用十分显著。海洋中, 有关铁为营养限制因子已有很多报道(Menzel et al., 1960; Daivis, 1970; Glover, 1977; Brand et al., 1983)。河流及地面径流带来的铁与当地赤潮的发生有明显的关系(Kim et al., 1974; Glover, 1978)。Yamochi (1984) 也提出络合铁在富营养的海水水体中是触发赤潮暴发的因子之一。

Swift (1984) 认为, 维生素在决定藻类种群结构中起主要作用, 包括海洋原甲藻在内的 80% 的甲藻的生长需要 V<sub>B<sub>12</sub></sub>。Yamochi (1984) 亦认为, 在有足够的络合铁存在的情况下, 维生素对海洋原甲藻的增殖有显著的影响。从本实验的显著性分析及不同试验组的生长曲线比较来看, 维生素 B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub> 是大鹏湾海域甲藻生长的重要因素。

大鹏湾海域的氮/磷比约在 3 左右, 这只有 Redfield 值 (Redfield, 1958) 的 1/5, 说明磷在该海域远不能成为营养限制因子, 本试验的结果也证明了磷对海洋原甲藻的生长无显著影响。

### 参 考 文 献

- 齐雨藻等, 1989, 中国沿海的赤潮, 暨南大学学报, 赤潮研究专刊, 10—21。  
沈立光等 1991, 海洋原甲藻的生理生态研究, 海洋信息, 10: 29。  
郑重等, 1984, 海洋浮游生物学, 海洋出版社(北京), 75。  
Brand, L. F., et al., 1983, Limitation of marine phytoplankton reproductive rates by zinc, manganese and iron, *Limnol. Oceanogr.*, 28: 1 182—1 198。  
Daivis, A. G., 1970, Iron chelation and the growth of marine phytoplankton, *J. Mar. Biol. Associ. U. K.*, 50: 65—86。  
Dugdale, R. C., 1967, Nutrient limitation in the sea: dynamics, identification and significance, *Limnol. Oceanogr.*, 12: 685—695。  
Eppley, R. W. et al., 1969, Comparison of halfsaturation constants for growth and nitrate uptake of marine phytoplankton, *J. Phycol.*, 5: 375—79。  
Glover, H. E., 1977, Effects of iron deficiency on *Isochrysis galbana* and *Phaeodactylum tricoratum*, *J. Phycol.*, 13: 208—12。  
Glover, H. E., 1978, Iron in marine coastal waters; seasonal variation and its apparent correlation

1) Qi and Zhu, 1994, *Asian Marine Biology*. (待发表)

- with a dinoflagellate bloom, *Limnol. Oceanogr.*, **23**: 534—537.
- Guillard, R. R. L. et al., 1962, Studies of marine planktonic diatoms I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran., *Can. J. Microbiol.*, **8**: 229—239.
- Iwasaki, H., 1973, The physiological characteristics of neretic red tide flagellates, *Bull. Plankton Soc. Jap.*, **19**(2): 104—114.
- Iwasaki, H., 1984, Growth physiology of red tide microorganisms, *Microbiolo. Sci.*, **1**(7): 179—181.
- Kim, Y. S. et al., 1974, Interrelationship of pease river parameters as a basis of the iron index; a predictive guide to the Florida red tide, *Water Res.*, **8**: 607—616.
- Menzel, D. W. et al., 1960, Nutrients limiting the production of phytoplankton in Sargasso Sea with special reference to iron, *Deep-Sea Res.*, **7**: 276—81.
- Muellar, B., 1985, Some aspects of iron limitation in a marine diatom, Master thesis. Univ. of British Columbia Vancouver, B. C. 104pp.
- Nishijima, T. et al., 1987, The dynamics of vitamin B<sub>12</sub> and its relation to the outbreak of *Chattonella* red tides in Harima Nada, the Seto Inland Sea, *In Red Tide*, ed. by Okaichi, T. et al. Elsevier Sci. Pub. Co., Inc. pp. 257—260.
- Oquist, G., 1971, Changes in pigment composition and photosynthesis induced iron-deficiency in the blue-green alga: *Anacystis nedulaus*, *Plant Physiol.*, **25**: 188—191.
- Park, J. S., et al., 1987, Studeis of red tide phenomena in Korean coastal water, *In Red Tides*, ed. by Okaichi, T. et al., Elsevier Sci. Pub. Co., Inc., pp. 37—40.
- Redfield, A. C., 1958, The biological control of chemical factors in the environment, *Am. Scient.*, **46**: 205—221.
- Swift, D. G., 1984, Algal Assays for Vitamins, *In Algae as Ecological Indicators*, ed. by Shubert, L. E. Academic Press, pp. 281—313.
- Yamochi, S., 1984, Nutrient factors involved in controlling the growth of red tide flagellates: *Prorocentrum micans*, *Eutresphella* sp. and *Ghastonella marina* in Osaka Bay, *Bull. Plankton Soc. Jap.*, **31**(2): 97—106.

## THE EFFECT OF IRON, VITAMINS B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub>, NITROGEN AND PHOSPHORUS ON THE GROWTH OF *PROROCENTRUM MICANS*\*

Zhu Congju, Qi Yuzao, Guo Changbi

(Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632)

### ABSTRACT

Seawater was collected from Dapeng Bay, South China Sea, in Oct., Nov., 1991 and Jan., 1992. Growth promoting nutrients were examined by using AGP (Algal growth potential) test procedure. Inorganic nitrogen, phosphorus, chelated iron and vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub> mixture were supplemented at various combinations and concentrations according to the orthogonal designed scheme.

The results showing that the maximum standing crop of *Prorocentrum micans* was enhanced very remarkably ( $P < 0.01$ ) by nitrate and chelated iron and remarkably ( $P < 0.05$ ) by a mixture of vitamin B<sub>1</sub> and B<sub>12</sub> but that phosphate had no remarkable effect suggested that in Dapeng Bay the former three factors are crucial in triggering red tide in the area.

**Key words** *Prorocentrum micans* Orthogonal designed Scheme Iron Nitrate Vitmin B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub>