

温度、盐度、光照强度和 pH 对 海洋原甲藻增长的效应*

王正方 张庆 吕海燕

(国家海洋局第二海洋研究所 杭州 310012)

摘要 采用微量移液稀释法对海洋原甲藻进行无菌培养,以研究温度、盐度、光照强度和 pH 对海洋原甲藻增长的效应。结果表明,海洋原甲藻最大增殖速率发生在温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、盐度为 31、光照强度为 3000lx、pH 为 8.0 的环境条件下。海洋原甲藻在温度 18—28 $^\circ\text{C}$ 、盐度为 25—34、光照强度为 1000—6500lx、pH 为 7.5—8.3 范围内适宜生长。这一结果与观测到的海洋原甲藻赤潮发生时环境条件相近,其中温度的效应最为明显。

关键词 海洋原甲藻, 赤潮, 物理环境

中图分类号 Q948.11

海洋原甲藻(*Prorocentrum micans* Ehrenb)是中国东南沿海的一种重要的、较为普遍的赤潮生物。在浙江沿海已多次发生以海洋原甲藻为主的赤潮(许建平,1992;Zhang *et al*, 1993)。在海洋原甲藻为主的赤潮发生现场,虽未发现死亡的鱼类等,但大气中散发浓重的腥味及赤潮后期海水中营养盐浓度急剧下降,足以说明海洋原甲藻是一种有害赤潮生物。因此,研究海洋原甲藻赤潮的成因,对于深入研究海洋原甲藻赤潮的预测、预报有着重要的意义。

赤潮的成因是相当复杂的,其机制仍在探索中。越来越多的研究表明,沿岸海域的海水自净能力已达饱和状况,当气候条件略有变化,就有可能发生赤潮(西洋一俊等,1979;Iwasaki,1971,1979;Nakamara,1983)。作者在研究浙江沿岸海域赤潮生物的化学环境时,探讨了化学因素氮、磷、铁和锰等微量金属元素、维生素 B12 和有关有机物对海洋原甲藻增殖的效应(Wang, *et al*, 1995),同时也研究了物理因素如温度、盐度、光照强度和酸碱度对海洋原甲藻增殖的效应。这一研究为深入了解海洋原甲藻赤潮的成因机制,进而研究赤潮的预报和防治,保护海洋环境提供了科学依据。

1 试验方法

本试验从 1993 年 3 月起,到 1993 年 11 月止,所用海洋原甲藻(*Prorocentrum micans* Ehrenb)藻种系从暨南大学引进。用微量移液稀释法,建立起无菌无性培养藻株(Wang *et al*, 1995)。培养载体采用改良的 H-介质(Nakamara, 1983)(表 1)。实验培养用 250ml

* 浙江省自然科学基金资助项目,493007 号。王正方,男,出生于 1940 年 4 月,研究员,硕士生导师,E-mail: wangzf@mail.hz.zj.cn

收稿日期:1999-09-05,收修改稿日期:2000-06-30

三角瓶,培养体积为 110ml。为了缩短实验周期,作者选用高于现场测得的海洋原甲藻赤潮发生时的微藻密度(Zhang *et al.*, 1993)进行模拟。本实验用对数生长期藻种接种,培养起始细胞密度为 2.8×10^4 个/ml(Wang *et al.*, 1995)。光照周期为 12:12。光照强度用 DH-2 型数字显示光度计(上海嘉定仪器厂)测定,盐度用 DDS-11A 电导率仪(上海第二分析仪器厂)测定,酸碱度用 pH-3 型酸度计(上海第二分析仪器厂)测定。细胞密度在 08:00—10:30 期间,用分光光度法测定、换算(张庆等, 1993)。实验设两个平行组,各采双样,取平均值。微藻增殖速率(μ)以下式计算(Nakamura, 1983): $\ln N_t = \ln N_0 + \mu t$ 其中 N_0 为培养起始时微藻细胞密度, N_t 为培养第 t 天时微藻细胞密度。

表 1 H-培养介质的组成¹⁾

Tab. 1 Composition of H-medium

成分	数量	成分	数量
蒸馏水(ml)	970	N-金属 ²⁾ (ml)	20
NaCl(g)	25	维生素 B ₁₂ (μ g)	0.2
MgSO ₄ ·7H ₂ O(g)	9	Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O(μ g)	10
KCl(g)	0.7	NTA(mg)	7.0
CaCl ₂ ·2H ₂ O(g)	0.3	TRIS(g)	1.0
NaNO ₃ (g)	25.5	Biotin(μ g)	1.0
NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O(mg)	2.34		

1) 培养基的盐度为 30.2; pH 为 8.0, 用稀盐酸调节

2) 1000ml N-金属液内含: Na₂EDTA·2H₂O 1.0g, H₃BO₃ 1.14g, FeCl₃·6H₂O 63mg, CoSO₄·7H₂O 0.94mg, ZnSO₄·7H₂O 12mg, MnCl₂·4H₂O 32mg, CuSO₄·5H₂O 0.17mg, NaMoO₄·2H₂O 0.21mg

2 结果

2.1 温度效应

采用改良的 H-培养介质,在盐度为 30.2、pH 为 8.00 和光照强度为 3000lx 条件下,测定不同温度(10—32℃)对海洋原甲藻增殖的效应。结果表明(图 1a),在 10℃ 条件下,海洋原甲藻增殖缓慢,接近零;在 18℃ 条件下,海洋原甲藻增殖最大速率为 0.27/d,培养第 9 天的细胞密度为 18.9×10^4 个/ml。在 20—28℃ 条件下,海洋原甲藻增殖明显,培养第 4 天的增殖速率分别为 0.38/d(20℃)、0.43/d(25℃)和 0.42/d(28℃)。而当温度高达 32℃ 时,海洋原甲藻增殖速率较低,培养第 9 天只有极少量藻细胞存活。

2.2 盐度效应

采用改良的 H-培养介质,通过改变主要成分(NaCl、MgSO₄·7H₂O、KCl 和 CaCl₂·2H₂O)的总量而不改变这些成分的比例获得不同盐度的培养介质。在温度为 25℃ 和光照强度为 3500lx 条件下,测定海洋原甲藻在不同盐度培养介质中的增殖速率。结果表明(图 1b),在盐度为 21—42 范围内,海洋原甲藻培养第 9 天后到达相同量级的细胞密度。其中,在盐度为 34 培养介质中,达到最大细胞密度。而增殖速率则在盐度为 25 和 34 培养介质中基本相同,在盐度为 31 中稍高,为 0.42/d。

2.3 光照强度效应

采用改良的 H-培养介质,在温度为(25±1)℃、盐度为 30.2 和 pH 为 8.0 条件下,

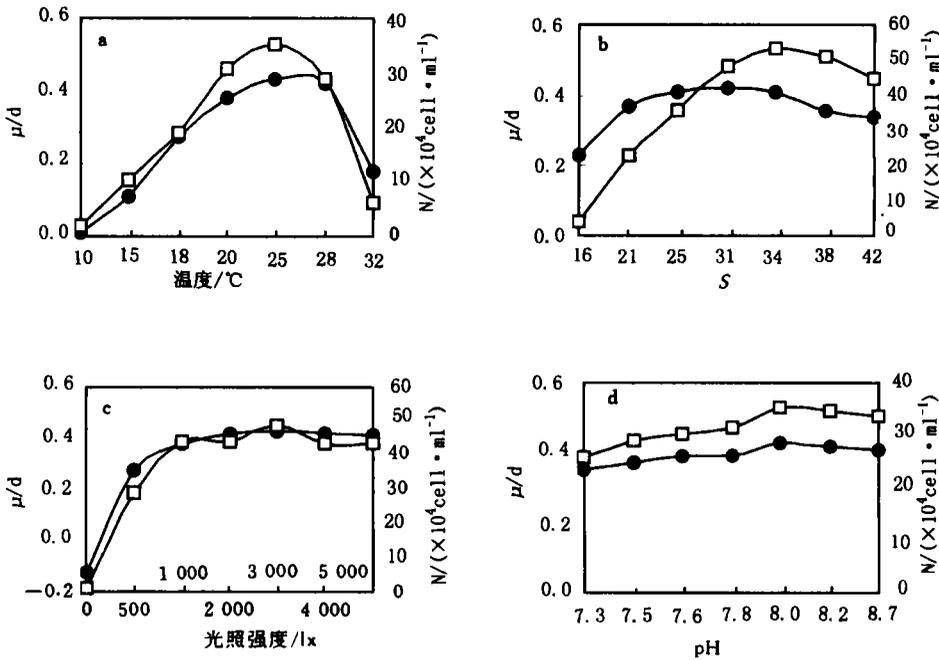


图1 温度(a)、盐度(b)、光照强度(c)及 pH(d)对原甲藻的增长效应
(●为培养第4天时增殖速率,□为培养第9天时细胞密度)

Fig. 1 The effect of temperature (a), salinity (b), light intensity (c) and pH (d) on the growth of *Prorocentrum micans*

(● is the growth rate at 4th day of culture, □ is the cell density at 9th day of culture)

通过改变光源强度和光源距离获得不同光照强度的培养条件,以测定光照强度对海洋原甲藻增殖的效应。结果表明(图1c),光照强度大于500lx就能观测到海洋原甲藻增殖;光照强度大于1000—6000lx,海洋原甲藻增殖速率和培养第9天的细胞密度基本相同。在光照强度为3000lx时,测得最大增殖速率(0.43/d)和培养第9天的最高细胞密度(48.4×10^4 个/ml)。

2.4 pH 效应

采用改良的 H-培养介质,在温度为(25 ± 1)°C、盐度为30.2和光照强度为3500lx条件下,通过添加稀盐酸或稀氢氧化钠改变培养介质的酸度,在 pH 为7.5—8.7范围内测定酸度对海洋原甲藻增殖的效应。结果表明(图1c),当酸度大于 pH 为8.4,培养介质出现白色絮状物。实验结果表明,在 pH 为7.5—8.3范围内,培养第4天的海洋原甲藻增殖速率和细胞密度无明显差异。

3 结语

虽然许多沿岸海洋浮游植物都是广温性生物,海洋原甲藻对温度变化还是较为敏感。本研究确定海洋原甲藻最佳增殖温度为(25 ± 1)°C,这与1991年6月在浙江南部北麂列岛海域发生海洋原甲藻赤潮时测得的25.2°C的水温一致。

绝大多数赤潮鞭毛藻是广盐性的(Iwasaki, 1979),海洋原甲藻在盐度为25—34范围内均有明显增长,最适增长盐度是31。在低盐环境中,海洋原甲藻增长速率下降幅度明

显比在高盐环境中大。

海洋原甲藻在光照强度大于 1000lx 时才有增长;当光照强度为 3000lx 时,增长速率最大;若光照强度大于 6000lx,增长速率则明显下降。

海洋原甲藻在 pH 为 7.5—8.3 范围内,均有明显增长;当 pH 为 8.0 时,获得最适增长速率。显然,上述 4 项物理化学因素中,海洋原甲藻的增殖对温度的反应最为敏感;可见温度在海洋原甲藻赤潮爆发中起着重要的作用。海洋环境是复杂多变的,诸多物理化学因子并不是单一发生效应的,物理化学因子的综合效应将进一步分析、研究。

参 考 文 献

- 西洋一俊,千原兴雄,1979. 藻类研究. 共立出版株式会社,278—286
- 许建平,1992. 浙江沿岸的赤潮灾害及防治对策. 东海海洋,10(3):30—37
- 张 庆,钱树本,1993. 植物生长调节剂对几种饵料微藻的影响. 青岛海洋大学学报,23(1):92—100
- Iwasaki H, 1971. Studies on the red tide flagellates - IV. On *Eutreptella* sp. and *Exuviaella* sp. appeared in Bingo - Nada, the Seto Inland Sea in 1970. J Oceanogr Soc Japan, 27:152—157
- Iwasaki, H, 1979. Physiological Ecology of Red Tide Flagellates. In: Levandousky M, Hutner S H ed. Biochemistry and Physiology of Protozoa. Vol. 1. Academic Press, New York, 357—393
- Nakamura R, 1983. Growth characteristics of *Chattonella antiqua*, Part I. Effects of temperature, salinity, light intensity and pH on growth. J Oceanogr Soc Japan, 39:89—93
- WANG Zhengfang, ZHANG Qing, GONG Min, 1995. The effects of nitrogen, phosphorus, vitamins and trace metals on the growth of the red tide organism *Prorocentrum micans*. Chin J Oceanol Limnol, 13(4):338—342
- Zhang Qing, Wang Zhengfang, 1993. The preliminary study on the Red Tide around the Beiji Islands in China. In: David Hopley, Wang Ying ed. Pacific Congress on Marine Science & Technology. James Cook University of North Queensland, Australia, 421—429

EFFECTS OF TEMPERATURE, SALINITY, LIGHT AND pH ON THE GROWTH OF RED TIDE ORGANISMS *PROROCENTRUM MICANS*

WANG Zheng - Fang, ZHANG Qing, Lü Hai - Yan

(Second Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Hangzhou, 310012)

Abstract *Prorocentrum micans* Ehrenb which has caused heavy red tides in the costal sea area of China was placed in aseptic clonal culture by micropipette washing. Experiments showed that the growth of the red tide organism *P. micans* required suitable environment like temperature, salinity, irradiance, pH. and other chemical factors. *P. micans* could grow from 18°C to 28°C, 25 to 34 salinity, irradiance from 1000lx to 6500lx and 7.5 to 8.3 pH. The highest growth rate was observed at temperature (25 ± 1)°C, salinity 31, irradiance 3000lx and pH8.0. The results and field observations indicated that the development of the *Prorocentrum micans* red tide is strongly dependent on the temperature.

Key words *Prorocentrum micans*, Red Tide, Physical environment