

# 土壤浸出液、維生素 B<sub>12</sub> 及鈷对新月尼氏藻

*Nitzschia Closterium* W. Smith

## 生长繁殖的影响

朱树屏 刘 卓 向葆卿 王紹然

(水产部海洋水产研究所海洋生产力研究室)

### 前 言

自1953年以来,本所对黄渤海区浮游植物与海水化学因子的研究中,发现除了 NO<sub>3</sub>及 PO<sub>4</sub> 在水中含量的变化对浮游植物的数量有显著的影响以外,还有一些其他化学因子和浮游植物的生长繁殖有密切关系。我们在近岸海水中加入适量的 NO<sub>3</sub> 及 PO<sub>4</sub>, 或再加上檸檬酸鉄, 培养浮游植物有时不能得到满意的结果。在英国 Plymouth 附近海水的培养中, 也曾发现同样情况, 但按照海水中 10 种主要盐类的含量所配成的人工海水中, 加适量硝酸盐和磷酸盐后, 1 公升水中再加 1 毫升含有 11 种盐类的微量元素剂, 则对有些浮游硅藻可以培养得很好 (Chu, 1946)。这种培养液通称为朱氏人造海水 Artificial sea water (Chu) (Harvey, 1957, pp.112—113;) 下称“人工海水 A”。以后把微量元素剂的盐类减为 3 种, 对少数浮游植物也可培养一定的时间 [Chu (朱树屏), 1949], 这主要是用作微量元素试验的基液; 此液下称“人工海水 B”。对数种浮游植物培养的结果, 表明前一种培养液中所含的微量元素, 至少在一定的时期内, 常可满足一些浮游植物的需要, 后一种就差些; 但加入含有微量元素及有机物质的土壤浸出液或維生素等物质后, 两种培养液都可使浮游植物生长得更好。显然, 还有一些上述“ A ”、“ B ”两液所未含有的微量元素及有机物质, 在海水中可能对浮游植物的生长有肯定的影响。最近其他学者的培养经验也表示这些微量物质的重要意义(如 Droop, 1962)。直到目前, 有关这方面的研究报导还很少。近数年来, 在海洋硅藻对有机物质的需要方面已进行了一些研究工作 (Droop, 1955, 1957, 1958, 1961, 1962; Lewin & Lewin, 1960; Provasoli, 1958, 1963; Belser, 1963)。但由于试验的种类在海洋生态方面, 多无重大意义, 或所用培养液及环境条件与海洋自然情况距离太大, 这些研究结果在研究自然生态的应用, 受到了一些限制。为了解决海洋浮游植物自然生态中的一系列迫切问题, 我们进行了一些微量元素与有机物质对浮游植物生长繁殖的试验。现在先报告有关土壤浸出液中微量物质、維生素 B<sub>12</sub> 及鈷的试验的部分结果。

## 一、土壤浸出液中所含无机微量元素及有机物质在自然海水中对浮游硅藻 *Nitzschia closterium* (新月尼氏藻) 生长繁殖的影响

**試驗 1** 这个試驗是重复著者之一 (朱树屏) 以前作过的土壤浸出液試驗 (尚未刊布), 結果和以前的基本一致。只因所用土壤性质不同和培养条件的差异, 不同培养实验間的差距略有不同。生长情况, 都是加土壤浸出原液的, 比加已除去有机物质的土壤浸出液为好, 而比两者都不加的海水更好。以下是这次試驗的情况。

### 1. 藻种

試驗的浮游硅藻新月尼氏藻, 系从青島附近海水中分离培养出来的。经过数年的培养, 体形已逐渐变小, 渐近 *Nitzschia closterium f. minutissima* (W. Smith) Allen & Nelsen 的体形; 但显然不是 *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin。在試驗以前, 經常貯养在补加 N、P、Fe 营养剂 [ $\text{NO}_3\text{-N}$ , 4 p.p.m.;  $\text{PO}_4\text{-P}$ , 0.4 p.p.m.;  $\text{Fe} (\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 3\text{H}_2\text{O})$ , 0.04 p.p.m.] 的灭菌海水中。

### 2. 培养液

用青島魯迅公园外海水, 热至  $80^\circ\text{C}$ , 冷后振盪使恢复气体溶解量, 再加 N、P、Fe 营养剂 [ $\text{NO}_3\text{-N}$ , 4 p.p.m.;  $\text{PO}_4\text{-P}$ , 0.4 p.p.m.;  $\text{Fe} (\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 3\text{H}_2\text{O})$ , 0.04 p.p.m.]。海水是 1962 年 1 月在高潮时采取的。

### 3. 土壤浸出液

大体按照朱树屏 (Chu, 1942, p. 300) 所用的方法制成。将土壤 1 公斤, 加自来水 2 升, 煮沸煎浓。把上部泥浆傾入烧杯中澄清, 靜置一昼夜后, 翌日吸取上层清液, 再煮沸煎浓。次日再如法煎煮, 最后傾入圓錐瓶中, 加棉花塞, 煎浓, 直至得到 100ml 的深黃褐色的土壤浸出液。每次用后, 即煮沸灭菌保存。

为了試驗土壤浸出液中的无机微量元素对这种硅藻生长的影响, 特将 25ml 土壤浸出液, 以  $540^\circ\text{C}$  高温灰化, 再加 25ml 的蒸餾水使灰分溶解。

### 4. 試驗安排

6 个圓錐瓶 (150ml) 各盛如上处理过的自然海水 (加 N、P、Fe 营养剂) 70ml。分为三組: 第一組加土壤浸出液 0.1%, 第二組加土壤浸出液灰水 0.1%, 第三組单纯海水作对照。每組两瓶 (A、B), 每瓶接种新月尼氏藻 659,400 个, 試驗开始时, 每 ml 有 9,420 个。温度控制在  $25^\circ\text{C}$ ; 光照: 用 4 支并行的 40 W 日光灯日照 10 小时, 光强約 1,000 Lux。

### 5. 試驗結果如表 1 所示:

由表 1 可看出, 自然海水加入适量的硝酸盐、磷酸盐和檸檬酸鉄 (第三組), 虽能維持所試驗的硅藻有一定的生长速度, 但第二組的生长情况表示, 再加入土壤浸出液经过高温除去有机物质后所剩余的灰分, 则可加速这种硅藻的生长繁殖速度。如不经过除去有机物质的灰化处理, 而将原土壤浸出液加入 (第一組), 則生长繁殖的速度更大。接种的細胞数量相同, 经过三天, 第一、二及三組培养平均每 1 細胞分裂的次数, 各組分别为 1.04, 0.89, 0.77。第一及第二兩組增加的細胞数目, 分别为第三組增加数目的 220% 及 147%, 第一組增加数为第二組的 150%。这表明自然海水在 N、P 及 Fe 不缺乏的情况下, 增加土壤浸出液中所含的无机微量元素可大大增强此試驗所用浮游植物的生长繁殖速度; 再加土壤浸出液中所含的有机

物质，則增加幅度更大。

表 1 土壤浸出液及其灰水在自然海水中对新月尼氏藻生长繁殖的影响(試驗1)

Table 1. Effect of soil extract and ashed soil extract on the growth of *Nitzschia closterium* in natural sea water

培 养 方 式 日期 培养 日期 日期	1		2		3	
	海水加 N,P & Fe 加土浸液 0.1 % Enriched sea water & soil extract		海水加 N,P & Fe 加土浸液灰水溶液 0.1 % Enriched sea water & ashed soil extract		海水加 N,P & Fe Enriched sea water	
	A	B	A	B	A	B
23/I 接种 Inoculum	9,420	9,420	9,420	9,420	9,420	9,420
26/I Cell no.	22,400	18,900	16,700	17,000	14,400	14,600
平均值(Average)	20,600		16,850		14,500	
实增細胞数(Cell no. actually increased)	11,180		7,430		5,080	

在自然情况下，土壤浸出液通常是由雨水或冰、雪融化冲洗到河流里，再向海中輸送的。在輸送过程中和入海以后，有些有机物质通过細菌及化学作用，可逐渐变为无机物质。同时有些有机物质，也可由生物形成(Provasoli, 1963, pp. 175—189)。现已确知海洋中的細菌，能产生維生素 B<sub>12</sub> 类的有机物质，这些有机物质在海中每因时因地而异(Provasoli, 1963, pp. 206—207, Tab. VI)。有些有机物质已經肯定能被浮游植物应用(Chu, 1946a; Harvey, 1953; Provasoli, 1963, pp. 191—193)。但关于它們在海水中含量的变化对浮游植物生长繁殖的影响，我們知道的还很少。有几种浮游植物，需要 B<sub>12</sub>，近年已証实(Droop, 1955, 1957, 1962; Johnston, 1964)。下述試驗 2 及 3 的目的，是初步探索 B<sub>12</sub> 含量的变化在人工海水和自然海水中对浮游植物生长繁殖的影响。

## 二、維生素 B<sub>12</sub> 对新月尼氏藻生长繁殖的影响

**試驗 2** 这个試驗是想在有足量 NO<sub>3</sub>、PO<sub>4</sub> 及 Si 并含微量元素 Fe 及 Mn 的人工海水中，观察土壤浸出液和 B<sub>12</sub> 的作用。

藻种及土壤浸出液同上試驗，藻种为单种培养，但有細菌。培养液用人工海水“B”(Chu, 1949)，配方見表 2 [表中 MgCl<sub>2</sub>，实用 MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O A.R.；应加量为 10.63472 g. 事后发现由于操作关系实加量为 13.46182 g.，相当于 MgCl<sub>2</sub> 6.291g.。此外，因利用了一部分进行 Mn 及 Co 試驗的剩余液体，Mn 量也比原配方稍多，并含 Co 約 4 μg/L]。

B<sub>12</sub> 是自从提取鏈霉素的废液中取得，本所加工研究室提供的。

将此人工海水“B” 60ml 分盛于 150ml 圓錐瓶中。分为 3 組，第 2 及第 3 組各有 A 及 B 两瓶，計数时取两瓶的平均值。第 1 組加入維生素 B<sub>12</sub> 5mμg/L (試驗 3 所表示的最适量)。第 2 組两瓶各加入土壤浸出液 0.05ml，第 3 組只用上述人工海水“B”。各培养瓶放在恒溫室內光柱 (10 支 40W. 日光灯束，与地面垂直) 周围，光强为 1,800 Lux，日照 10 小时。温度

表 2 人工海水“A”及“B”  
Table 2 Artificial sea water “A” and “B”

化学药品	mg/L	化学药品	mg/L
NaCl	23,477	SrCl <sub>2</sub>	24
MgCl <sub>2</sub>	4,981	NaF	3
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3,917	NaNO <sub>3</sub>	50
CaCl <sub>2</sub>	1,102	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5
KCl	664	Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O	10
NaHCO <sub>3</sub>	192	MnCl <sub>2</sub>	0.2
KBr	96	FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> ·3H <sub>2</sub> O	0.54
H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub>	26		
Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	3	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.04
BaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.09	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.01
LiNO <sub>3</sub>	1	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.025

为 24°C (有时低达 22°C, 最高达 25°C)。1963 年 6 月 12 日接种, 每 ml 硅藻 2400 个。第 9 及第 11 日检查计数, 结果如表 3。

表 3 在人工海水“B”中分别加维生素B<sub>12</sub>及土壤浸出液灰水时新月尼氏藻生长繁殖情况  
(表中数目系细胞个数/ml)

Table 3 Effect of Vitamin B<sub>12</sub> & ashed soil extract on the growth of *Nitzschia closterium* in artificial sea water “B”

培养方式 硅藻个数 日期	(1)	(2)	(3)
	加维生素B <sub>12</sub> 5mμg/L Artificial sea water “B” & B <sub>12</sub>	加土壤浸出液灰水 0.8% Artificial sea water “B” & ashed soil extract	对 照 Artificial sea water “B”
6月12日	2,400	2,400	2,400
6月21日	502,500	A 369,800	A 325,600
		B 357,400	B 275,000
		363,600(平均)	300,300(平均)
6月23日	836,000	607,200	634,800
		666,400	510,400
		636,800(平均)	527,600(平均)

这个试验清楚地显示了B<sub>12</sub>的作用。人工海水“B”加 B<sub>12</sub> 5mμg/L后, 硅藻繁殖数量显著地比不加和加土壤浸出液灰分的都好。同时也肯定了上一试验所表示的土壤浸出液中无机成分的作用。人工海水“B”中加入土壤浸出液灰水, 繁殖数量有明显的增加。试验所用硅藻在人工海水“B”中, 一般是生长繁殖得极缓慢(见下试验 6, 1,800 Lux光照下的对照组); 这次配制的人工海水“B”因含有少量的 Co, 繁殖情况就比较一些, 9 日間可裂殖三次以上。

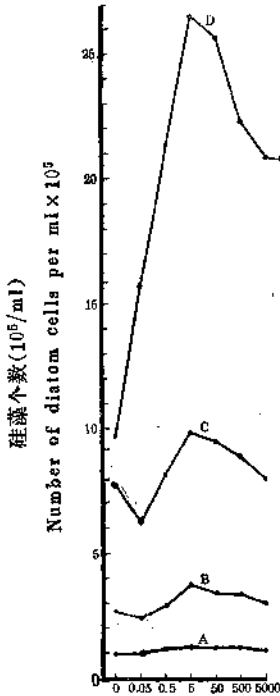
在人工海水“B”中只含少数微量元素(Mn、Fe), 除微量檸檬酸(檸檬酸鉄)外, 不含其他螯合剂, 但只加维生素 B<sub>12</sub> 5mμg/L 即有显著促进生长繁殖的作用。这表示细菌(或可能还有试验用的硅藻)制造的 B<sub>12</sub>, 远不能满足此硅藻的需要。B<sub>12</sub> 中所含 Co 量甚微, B<sub>12</sub> 所起的作用可能不是由于带入培养液中的微量 Co; 但 B<sub>12</sub> 对培养液中的 Co 及其他矿质

或能起有利的整合作用。和自然海水相比，人工海水“B”中整合剂极为缺乏；B<sub>12</sub> 的整合作用或许是对硅藻生长繁殖的主要有利因素之一。

試驗3 这个試驗是想探索在自然海水中維生素 B<sub>12</sub> 含量的变化对新月尼氏藻生长繁殖的影响。

藻种同試驗1，1962年3月2日每 ml 接种 9,380 个。进行試驗时，采自然海水灭菌加 N、P、Fe 营养剂，同試驗1。室温 10—13°C。光照用 4 支并列的 40W 日光灯管，日照 10 小时，光强 1,300(±)Lux (最大的可能变化范围为 1,000—1,600 Lux)。

試驗用 B<sub>12</sub> 是从提取鏈霉素的废液中取得，本所水产品加工研究室提供的。按照 B<sub>12</sub> 的浓度 (mμg/L) 分为 7 组：5,000、500、50、5、0.5、0.05、0 (对照)。



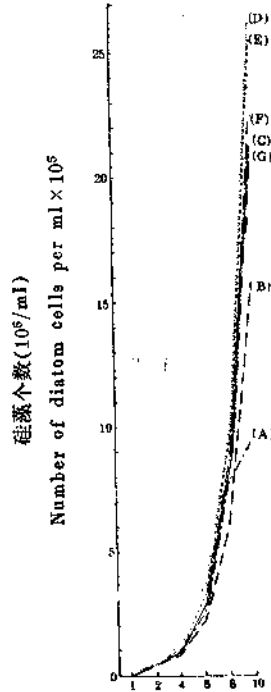
維生素 B<sub>12</sub> 的浓度, mμg/L

Concentrations of vitamin B<sub>12</sub>, mμg/L

图 1 自然海水 (有 N、P、Fe 营养剂) 中不同維生素 B<sub>12</sub> 含量对新月尼氏藻生长繁殖的影响

A、B、C 及 D 分别表示接种后第 4、6、8 及 10 天的生长繁殖情况

Fig.1 Effect of different concentrations of vitamin B<sub>12</sub> in natural sea water, enriched with N, P & Fe, on the growth of *Nitzschia closterium*; A, B, C & D showing the growths in 4, 6, 8 & 10 days respectively.



生长日数 Number of days

图 2 新月尼氏藻在自然海水 (有 N、P、F 营养剂) 里，維生素 B<sub>12</sub> 的不同含量中，生长繁殖的情况

(A)、(B)、(C)、(D)、(E)、(F)、及 (G) 分别表示維生素 B<sub>12</sub> 的浓度是 0、0.05、0.5、5、50、500 及 5,000 mμg/L 时，接种后 10 天期間内的生长繁殖情况。

Fig.2 Growth of *Nitzschia closterium* in natural sea water, enriched with N, P & Fe, with different concentrations of vitamin B<sub>12</sub>; (A), (B), (C), (D), (E), (F) & (G) indicating the growths in B<sub>12</sub> concentrations 0, 0.05, 0.5, 5, 50, 500 & 5,000 mμg/L respectively.

試驗結果如图 1 及 2 所示。

在增加  $B_{12}$  5 及  $50 \mu\text{g/L}$  的两組培养中，試驗用的这种浮游植物生长繁殖特別旺盛(图 1 及 2)，与其他各組培养的差距随着日数的增加而愈显著(图 1, A, B, C 及 D 綫)。在 10 天内，細胞增殖数目(图 1, D 綫)各为对照組的 164% 及 170%。显然，在試驗条件下所用自然海水再加  $B_{12}$ ，能使这种硅藻繁殖得更好，最好的浓度是  $B_{12}$  5— $50 \mu\text{g/L}$ 。

近十年来，海水中維生素  $B_{12}$  的含量已有些調查(Lewin, 1952; Droop, 1955; Cowey, 1956; Kashiwada et al., 1956; Dairlay and Fisher, 1958; Burkholdes & Burkholdes, 1958; Tomiyama, 1959; Vishniac & Riley, 1959, 1961; Rythes & Guillard, 1962)。含量每因海区、水层及季节而异，并有垂直变化及昼夜变化。实测数值为 0— $26 \mu\text{g/L}$ 。貯存在室內的海水， $B_{12}$  含量可达 30— $200 \mu\text{g/L}$ (Provasoli & Pintner, 1953)。上述  $B_{12}$  的含量有的包括真  $B_{12}$  以外的其他  $B_{12}$  类的物质，但用 *Throustochytrium globosum* (只对真  $B_{12}$  有反应)所测定的海水  $B_{12}$  含量也不太低，春季浮游植物高峰后为 4.5— $11.4 \mu\text{g/L}$ ，冬季为 12— $14.6 \mu\text{g/L}$ (Vishniac & Riley, 1959, 1961)。可見，不少自然海区中的  $B_{12}$  在有些时候是能达到本試驗表明的最适浓度范围(5— $50 \mu\text{g/L}$ )的。同时， $B_{12}$  含量很低或不存在时，显然，至少在有些情况下，对某种浮游植物是限制因素。在  $B_{12}$  的浓度高于  $50 \mu\text{g/L}$  时，有抑制生长的作用(图 1)。但这种抑制作用，在海洋浮游植物生态中并不重要，因为海水中  $B_{12}$  的含量一般达不到試驗 3 中产生抑制作用的高浓度(500— $5,000 \mu\text{g/L}$ )。如果能同时把  $B_{12}$  看作一种螯合剂，則此試驗結果，还表示螯合剂超过最适量时，可有不利的作用(如  $B_{12}$  高于  $5 \mu\text{g/L}$  的浓度)。

各种浮游植物对  $B_{12}$  的需要情况，或有所不同。看来进一步研究海水中  $B_{12}$  和其他微量物质的含量，对各种有生态价值的浮游植物种类生长繁殖的影响可能有助于了解海洋生产力的变化原因。这类微量物质可从陆地大量冲洗到海里去，也可由冲洗到海中的物质經過生物及化学作用而产生；它們的含量有时可用来标志水体(Belser, 1959, 1963)。

### 三、鈷对新月尼氏藻生长繁殖的影响

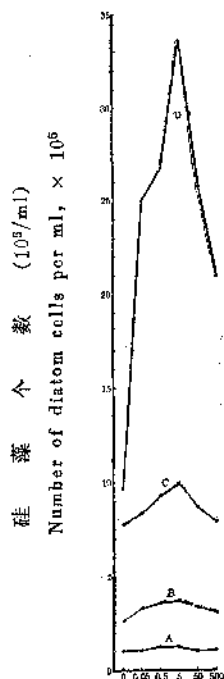
海水中氮、磷、鉄、錳、硅的含量对浮游植物的影响，現已肯定(Harvey, 1957, pp. 138—149; Rayment, 1963, pp. 147—183)但鈷在海水中对浮游植物的作用，尚未确知。試驗 3 的結果已肯定了維生素  $B_{12}$  对新月尼氏藻的作用。但  $B_{12}$  中含微量的 Co，它的作用是否由于 Co，或一部分是由于 Co，尙值得探索。为了探索 Co 的作用，进行了以下几个試驗。

**試驗 4** 此試驗与試驗 3 同时进行，目的是要了解自然海水中鈷量的变化对新月尼氏藻生长繁殖的影响。

藻种同以上試驗。自然海水加 N、P、Fe 营养剂同以前試驗。分为 6 組，分別加入不同量的 Co [用  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ]：(1) 0 (对照)，(2) 0.05，(3) 0.5，(4) 5，(5) 50，(6)  $500 \mu\text{g/L}$ 。每組两瓶(500ml 圓錐瓶，各盛培养液 200ml)。接种的細胞数量全为 9,388 个/ml。1962 年 3 月 2 日接种，此后第 4，第 6，第 8 及第 10 天分別取样固定計数，每組取两瓶的平均值。光照及溫度条件同試驗 3。光照期間各瓶每 2 小时搖动一次，补充水中的气体。試驗結果如图 3 所示。

很明显, Co 5 μg/L 及 50 μg/L 两组生长最好, 与其他各组细胞数量的差距随着天数的增加而日益显著 (图 3, A、B、C 及 D 线)。第 4 天检查时 (图 3, A 线) 0.5 μg/L 组细胞数较 5 μg/L 组略多, 此后则 5 μg/L 组逐渐赶上 0.5 μg/L 组 (图 3, B 线, 6 天; C 线, 8 天)。最后 5 μg/L 组生长情况最好 (图 3, D 线, 10 天)。

**试验 5** 这个试验是在地下恒温室进行, 基本上是重复试验 4。同时, 为了解光照强度的影响计, 试验分为强光 (4,500 Lux) 及弱光 (1,800 Lux) 两组, 光照 10 小时 (8 至 18 时)。都按照 Co 浓度分为 5 组: 0、0.05、0.5、5、50 μg/L。强光组的温度为 16 ± 1°C, 弱光组为 15 ± 0°C。光源为 10 支日光灯 (40W) 集成的一个与地面垂直的中心灯管柱。培养瓶列周围。强光圈, 正对灯管柱的中部, 距光源近。弱光圈, 则距光源较远。每个培养瓶位

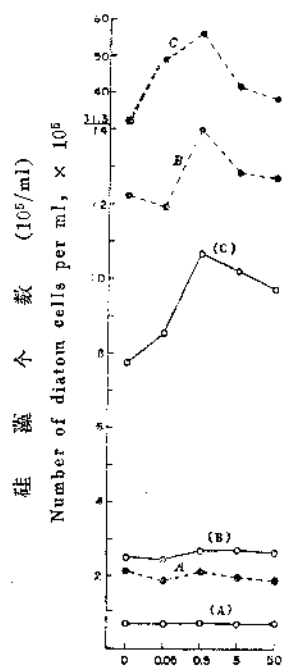


钴离子浓度, μg/L  
Concentrations of Co, μg/L

图 3 自然海水 (有 N、P、Fe 营养剂) 里, 不同的钴离子浓度对新月尼氏藻生长繁殖的影响。

A、B、C 及 D 分别表示接种后第 4、6、8、10 天繁殖情况。

Fig. 3 Effect of different concentrations of cobalt in natural sea water enriched with N, P & Fe, on the growth of *Nitzschia closterium*; A, B, C & D showing growths in 4, 6, 8, & 10 days respectively.



钴离子浓度, μg/L  
Concentrations of Co, μg/L

图 4 不同强度的光照下自然海水 (有 N、P、Fe 营养剂) 里, 不同的钴离子浓度对新月尼氏藻生长繁殖的影响。

(A)、(B)、(C) 表示, 1,800 Lux 光照下接种后第 4、6、8 天的繁殖情况。  
A、B、C 表示, 4,500 Lux 光照下, 接种后第 4、6、8 天的繁殖情况。

Fig. 4 Effect of different concentrations of Co in natural sea water enriched with N, P & Fe, on the growth of *Nitzschia closterium*, under different light intensities; A, B & C showing growths in 4, 6 & 8 days respectively, 4,500 lux; (A), (B) & (C), in 4, 6 & 8 days, 1,800 Lux.

置的光强, 都經实测。每圈中各个培养瓶所受的光强相同。光照期間, 各瓶每 2 小时搖动充气一次。結果如图 4 所示。这个試驗重复过 3 次, 結果大体一致, 都是  $\text{Co } 0.5 \mu\text{g/L}$  組生长最好,  $5 \mu\text{g/L}$  及  $0.05 \mu\text{g/L}$  兩組次之。且都是随着細胞繁殖数量的增多, 差距逐渐显著。

强光組中  $\text{Co}$  各种浓度的培养, 都較弱光組同浓度的培养生长繁殖得快。

試驗 4 的結果, 表示  $\text{Co } 5 \mu\text{g/L}$  的浓度最后比  $0.5 \mu\text{g/L}$  的浓度生长得略快些。这与試驗 5 的結果 ( $\text{Co } 0.5 \mu\text{g/L}$  浓度中的繁殖数量大于  $5 \mu\text{g/L}$ ) 略有不同。試驗 4 中把各組培养直綫依次并列在日光灯管的照射下,  $\text{Co } 5 \mu\text{g/L}$  組适在日光灯的中央, 光照比  $0.5 \mu\text{g/L}$  組略强。这可能是結果有所不一致的原因。試驗 5 已証明, 光較强时生长較快。此外, 各試驗所用自然海水采取的时间不同, 有机物质和微量元素的含量可能不完全相同, 因为它们的含量可随时间而有所变化; 这可能是使各次重复試驗結果略有差异的原因之一。在以下試驗中, 我們用人工海水来試驗  $\text{Co}$  的作用。

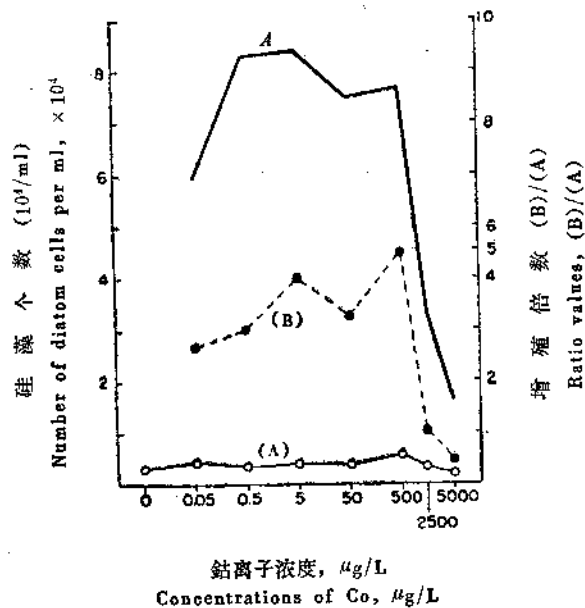


图 5 380 及 4,500 Lux 光照下, 人工海水 "B" 中不同的钴离子浓度对新月尼氏藻生长繁殖的影响。

(A) 表示 380 Lux 光照下, 接种后, 第 11 天各浓度中的繁殖情况;

(B) 在 4,500 Lux 光照下在接种后, 第 11 天加入土壤浸出液 0.1% 后第 4 天 (接种后第 15 天) 的繁殖情况。

A. 加土壤浸出液后第 4 天硅藻的增殖倍数 [各钴离子浓度中硅藻个数等于接种后第 11 天 (A) 加土壤浸出液时的倍数]。

Fig. 5 Effect of different concentrations of  $\text{Co}$  in artificial sea water "B" on the growth of *Nitzschia closterium*, under different light intensities, (A) showing growths in artificial sea water "B" (380 Lux), on the 11th day after inoculation, when 0.1% soil extract was added to each culture and the light intensity was changed from 380 to 4,500 lux; (B) growths, 4 days after addition of soil extract (15 days after inoculation), 4,500 lux; A (scale on right side of Fig. 5), ratio values, (B)/(A) [Diatom no. in cultures of (B)/Diatom no. in cultures of (A)].



**試驗 6** 目的是想在人工海水中探索鈷对新月尼氏藻生长繁殖的影响。藻种同以上各試驗。接种試驗前,先在人工海水“B”中連續移植二次,各生长3日。試驗时接种个体数为2,934/ml。光照条件同試驗5。室溫为24°C。培养液用人工海水“B”(Chu, 1949)代替自然海水。分盛于150ml瓶中,每瓶70ml。光照分为380 Lux及1,800 Lux两组。各光强組Co的各种浓度,为0(对照)、0.05、0.5、5、50、500、2,500及5,000μg/L。至第11日(1963年6月1日),因生长甚慢,Co作用不显著,在培养液中各加土壤浸出液0.07ml。又因380 Lux組生长太慢,加土壤浸出液后改用4,500 Lux。

380 Lux 組的結果(图5):在人工海水“B”中,这种硅藻生长甚慢[图5,(A)綫,第11天],在接种后11日(21/V—1/VI)的期間,在不加Co和加Co 5,000μg/L的培养中,完全没有繁殖,在其他浓度的培养基中,个数最多者(5,133个/ml; Co, 500μg/L)亦仅有37%的个体分裂一次,多数个体并未分裂。与試驗4的結果比較,显然人工海水“B”中除Co外,还缺乏其他重要必需物质。

6月1日在每种培养液中加前述土壤浸出液0.07ml(即1%)后,則繁殖旺盛[图5,(B)綫,第15天],4日間(1—5/VI)Co 0.05—5,000μg/L各种浓度的培养基中,个体数分別增加至加土壤浸出液时个体数的6.9、9.3、9.4、8.4、8.7、3.3及1.6倍(图5,A綫)。加土壤浸

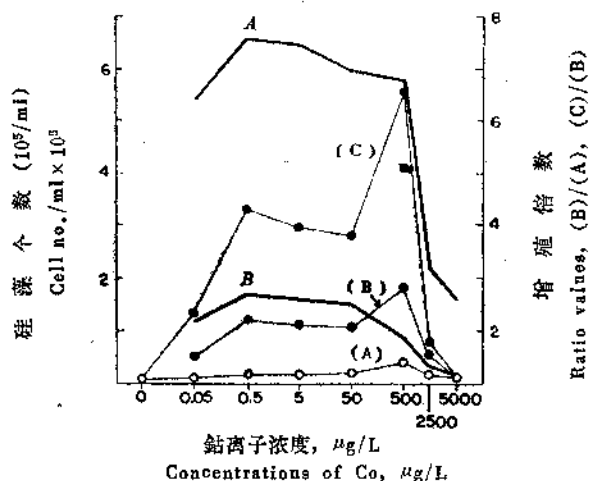


图 6 1,800Lux光照下,人工海水“B”中不同的鈷离子浓度对新月尼氏藻生长繁殖的影响。

- (A) 表示接种后第11天各种浓度中的繁殖情况;
- (B) 在接种后第11天加土壤浸出液0.1%以后,第4天的繁殖情况;
- (C) 加土壤浸出液后第7天(接种后第18天)的繁殖情况。
- A. 加土壤浸出液后,1—4天的增殖倍数;
- B. 加土壤浸出液后第5—7天内的增殖倍数。

Fig. 6 Effect of different concentrations of Co in artificial sea water "B" on the growth of *Nitzschia closterium*, 1,800Lux; (A) showing growths in artificial sea water "B" 11 days after inoculation, when 0.1% soil extract was added to each culture; (B) growths, 4 days after addition of soil extract (15 days after inoculation); (C) growths, 7 days after addition of soil extract (18 days after inoculation), A (scale on right side of Fig.6), ratio value, (B)/(A); B, ratio values, (C)/(B).

出液后,以  $\text{Co}$  为  $0.5\mu\text{g/L}$  及  $5\mu\text{g/L}$  两组繁殖最快,在四日間,每个細胞都平均分裂三次以上。这与以上所述自然海水培养試驗結果相符。

此試驗結果表示:(1)人工海水“B”加  $\text{Co}$  后,尚缺乏自然海水中所含有的,为試驗用硅藻生长繁殖所需的一些物质。(2)在这些物质缺乏的情况下, $\text{Co}$  的需要量較高,浓度  $500\mu\text{g/L}$  时最好[图 5(A)綫]。(3)这些物质存在时, $\text{Co}$  的最适含量是在  $0.5-5\mu\text{g/L}$  左右(图 5, A 綫)。(4)  $\text{Co}$ ,  $0.05\mu\text{g/L}$  或更少时,显然尚感不足;自  $2,500\mu\text{g/L}$  以上,則对生长繁殖有显著的抑制作用。

1,800 Lux 組的結果(图 6):同浓度的  $\text{Co}$  一般都較在 380 Lux 时个体数多,較在 4,500 Lux 时个体数少。加土壤浸出液后四日間亦都大有增殖[图 6,(B)綫],只是增长幅度一般不及 4,500 Lux 組。对照組无显著增加, $\text{Co}$  为  $0.05-5,000\mu\text{g/L}$ ,各組的个体数分別增到加土液时的 6.4、7.6、7.5、7.0、6.8、3.2、2.6 倍(图 6, B 綫)。 $\text{Co}$ ,  $0.5\mu\text{g/L}$  及  $5\mu\text{g/L}$  两组繁殖最快,其次为  $\text{Co}$ ,  $0.5$ 、 $50$ 、 $500\mu\text{g/L}$  3 組。 $\text{Co}$  的浓度 2,500 及  $5,000\mu\text{g/L}$  ( $2.5\text{mg/L}-5\text{mg/L}$ ) 有显著的抑制作用。

此后 3 天 (5-8/VI) 以上,各組又增殖到 5/VI 的 2.2、2.7、2.6、2.5、1.9、1.4、1 倍(图 6, A 綫), 2-5 組中,平均每一个体裂殖一次以上; $\text{Co}$  为  $500\mu\text{g/L}$  不及者一次。 $2,500\mu\text{g/L}$  者,只有一半不到的个体裂殖一次, $5,000\mu\text{g/L}$  者則未进行裂殖; $\text{Co}$  浓度过高有显著的抑制作用。

从以上 4,500 和 1,800 Lux 这两种光强的試驗結果中,可以肯定:

(1) 在人工海水“B”中沒有  $\text{Co}$ , 不能使硅藻繼續繁殖。 $\text{Co}$  的浓度以  $0.5-5\mu\text{g/L}$  对生长繁殖为最好,次为  $0.05$ ,  $50$  及  $5,00\mu\text{g/L}$ 。 $2,500$  及  $5,000\mu\text{g/L}$  两浓度始終有显著的抑制作用。

(2) 試驗所用土液中,并不含有,或含得极少可利用的  $\text{Co}$ , 因未加  $\text{Co}$  的培养液,加土液后,大部分个体仍不繁殖。

(3) 除了因  $\text{Co}$  的缺乏与过多,使分裂繁殖停止或几乎停止的培养外,在强光下的,比在弱光下的繁殖快。在鈷的最适浓度 ( $0.5$  及  $5\mu\text{g/L}$ ), 光强时 ( $4,500\text{ Lux}$ ), 4 日間平均每个体裂殖三次以上,而光弱时 ( $1,800\text{ Lux}$ ) 則只裂殖两次半。在人工海水“B”的培养中(不加土液),在 11 日內,  $1,800\text{ Lux}$  的裂殖总个体数,在  $\text{Co}$  为  $0.05$ 、 $0.5$ 、 $5$ 、 $50$ 、 $500$  及  $2,500\mu\text{g/L}$  的培养中,各为  $380\text{ Lux}$  的 2、3、4、4、8 及 5 倍。

(4) 人工海水“B”中所含的  $\text{NaCl}$ 、 $\text{MgCl}_2$ 、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{CaCl}_2$ 、 $\text{KCl}$ 、 $\text{NaHCO}_3$ 、 $\text{KBr}$ 、 $\text{H}_3\text{BO}_3$ 、 $\text{SrCl}_2$  及  $\text{NaF}$ , 与海水中一般的含量同 (Fleming, 1940), 再补充无机 N、P、Si、Fe、Mn 及  $\text{Co}$  后,所試驗的硅藻尚需要一些其他微量物质,才能繼續生长繁殖。土壤浸出液中,常可含有这些微量物质,或至少是其中的主要部分。

(5) 必須在这些微量物质得到一定数量的滿足后,  $\text{Co}$  才能有效地發揮作用,在未加土壤浸出液时,即使在  $\text{Co}$  的最适浓度中,生长繁殖得也不好。

(6) 在  $\text{NO}_3$  及  $\text{PO}_4$  最适的浓度范围内,土壤浸出液中所含的这些物质,随着硅藻的吸收而减少到一定程度时,繁殖速度即行下降。比較图 6 中的 A 綫(加土壤浸出液后前 4 天的增殖倍数)和 B 綫(加土壤浸出液后第 5 至第 7 天的增殖倍数),可以看出加土壤浸出液后前 4 天的繁殖速度,比以后时期为大。

十年來黃河口附近海区調查的經驗，明顯表示，通過河流洗刷到海中的自然土壤浸出液所含的這類微量物質的總量，對浮游植物的繁殖有顯著的影響。根據以上人工土壤浸出液的有關實驗，可進一步肯定這一點。在室內培養中，很早就有人發現土液對生長有幫助 (Allen & Nelson, 1910)，近來並已證明土壤液中的 Fe、Mn、Si 及有些有機物質，是對浮游植物生長的有效因子 (Harvey, 1957, Chapter IX; Rayment, 1963, pp. 175—183, 229—238; Droop, 1962)。以上試驗又肯定了 Co 是必需的，並且除了 Fe、Mn、Si 及 Co 外，尚有其他一些土壤浸出液中所含的微量物質也是必要的。

試驗7 目的同試驗6。只在此試驗的基礎上培養液改用人工海水“A”。此液是在人工海水“B”中再加入多種的微量元素(見表2)而成。這種人工海水“A”因受當時藥品供應情況的限制，較原配方 (Chu, 1946; Harvey, 1957, p. 113) 缺(1)  $\text{RbHCO}_3$ ，(2) KI 及(3)  $\text{As}_2\text{O}_3$  另外增加了  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 。同時也進行了兩種溫度 (15°C 及 25°C) 的試驗。

藻種同以上試驗。試驗前先連續兩次移植於人工海水“A”中培養3日。15°C 組分為7組，所用 Co 的濃度為：0、0.05、0.5、5、50、500、5,000  $\mu\text{g/L}$ 。25°C 組依 Co 的濃度分為：0、0.5、5、50、500  $\mu\text{g/L}$  5組。光照為 4,500 Lux 及 1,800 Lux 兩組。結果(圖7—10, 表4)表示：

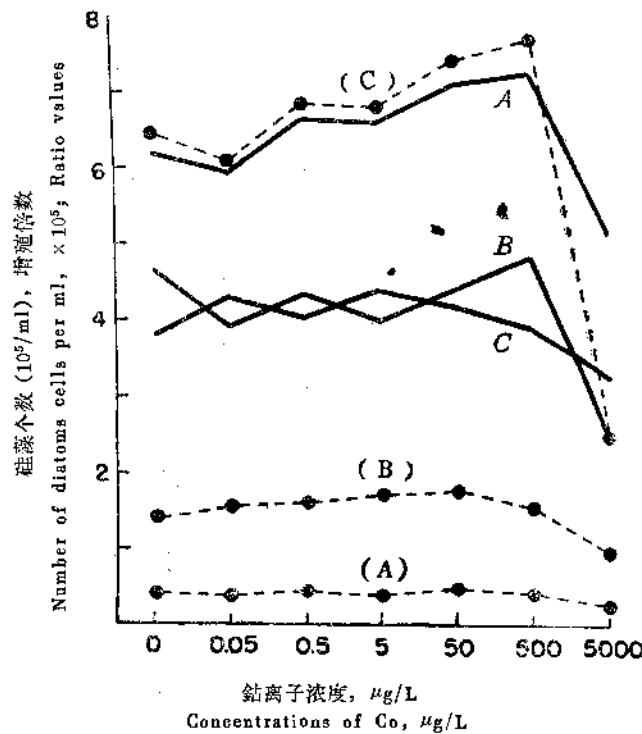


圖7 水溫 15°C, 4,500 Lux 光照下，人工海水“A”中不同的鈷離子濃度對新月尼氏藻生長繁殖的影響。

(A)、(B)及(C)分別表示接種後第3、5、7天的繁殖情況。A、B及C為接種後前5天、中2天，及後2天的增殖倍數

Fig. 7 Effect of different concentrations of Co in artificial sea water "A" on the growth of *Nitzschia closterium*, 15°C, 4,500 Lux; (A), (B) & (C) showing growths in 3, 5 & 7 days respectively; A, B & C, ratio values, (A)/inoculum, (B)/(A) & (C)/(B) respectively.

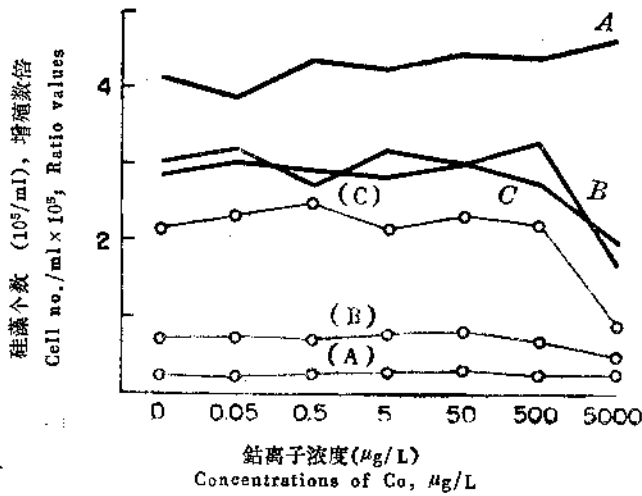


图 8 水温 15°C, 1,800 Lux 光照下, 人工海水“A”中不同的钴离子浓度对新月尼氏藻生长繁殖的影响。

(A)、(B)及(C)分别表示接种后第3、5、7天的繁殖情况。  
A、B及C为前三天、中2天、后2天的增殖倍数

Fig.8 Effect of different concentrations of Co in artificial sea water “A” on the growth of *Nitzschia closterium*, 15°C, 1,800 Lux; (A), (B) & (C) showing growths in 3, 5 & 7 days respectively; A, B & C, ratio values A/inoculum, (B)/(A) & (C)/(B) respectively.

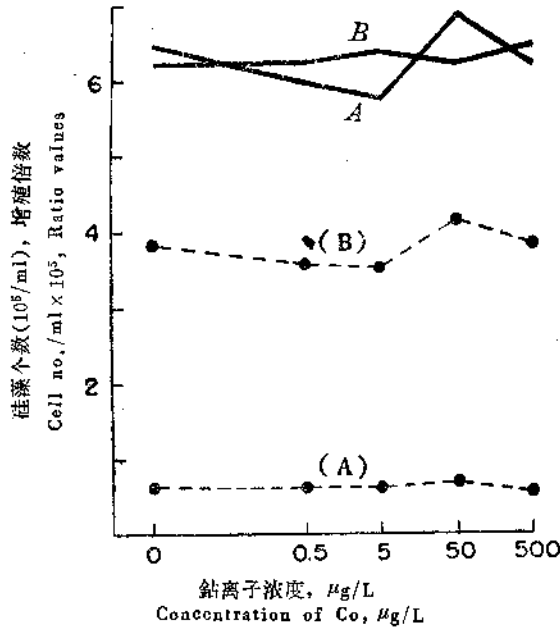


图 9 水温 25°C, 4,500 Lux 光照下, 人工海水“A”中不同的钴离子浓度对新月尼氏藻生长繁殖的影响。

(A)及(B)表示接种后第3及第5天的繁殖情况  
A及B表示前三天及后2天的增殖倍数

Fig.9 Effect of different concentrations of Co in artificial sea water “A” on the growth of *Nitzschia closterium*, 25°C, 4,500 Lux; (A) & (B) showing growths in 3 & 5 days; A & B, ratio values (A)/inoculum & (B)/(A) respectively.

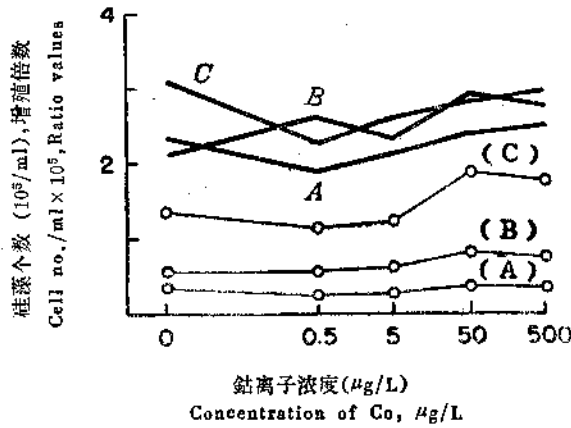


图 10 水温 25°C, 1,800 Lux 光照下,人工海水“*A*”中不同鈷离子浓度对新月尼氏藻生长繁殖的影响。

(A)、(B)、(C)分别表示接种后第 3、5、7 天的繁殖情况  
A、B 及 C 为前 3 天、中 2 天及后 2 天的增殖倍数

Fig.10 Effect of different concentrations of Co in artificial sea water “*A*” on the growth of *Nitzschia closterium*, 25°C, 1,800 Lux; (A), (B) & (C) showing growths in 3, 4 & 7 days respectively; A, B & C, ratio values (A)/inoculum, (B)/(A) & (C)/(B) respectively.

(1) 4,500 Lux 光照下,生长繁殖速度都大于 1,800 Lux(图 7—10)。这一点与試驗 5 及 6 的結果相同。

(2) 光强相同时 在 15°C 的繁殖速度,接种后的前三天内,大于在 25°C 的(表 4; 图 9, A 綫与图 9, A 綫; 图 8, A 綫与图 10, A 綫)。在 25°C 的生长繁殖速度,开始时虽較在 15°C 时小,但能維持在較多的天数內,不呈十分下降的現象(表 4, 图 9—10, A、B 及

表 4 不同光强及不同温度下, Co 含量在 0—500 µg/L 范围内的培养液內, 新月尼氏藻在不同期間增殖的倍数

光强 (Lux)	溫度 (°C)	期間 (日/月)	天数 (天)	倍 数	平均 值
4500	15	6/I-- 9/I	3	6.0—7.2	6.6
4500	15	9/I--11/I	2	3.8—4.3	4.1
4500	15	11/I--13/I	2	4.0—4.7	4.3
1800	15	6/I— 9/I	3	3.9—4.5	4.2
1800	15	9/I—11/I	2	2.7—3.3	3.1
1800	15	11/I—13/I	2	2.8—3.1	2.9
4500	25	23/I—26/I	3	5.8—6.9	6.3
4500	25	26/I—28/I	2	6.2—6.5	6.3
1800	25	23/I—26/I	3	1.8—2.1	2.2
1800	25	26/I—28/I	2	2.1—2.8	2.4
1800	25	28/I—30/I	2	2.2—3.0	2.6

C 綫)。

(3) Co 5,000  $\mu\text{g/L}$  仍有显著的抑制作用 (图 7)。这一点与試驗 6 結果相似,但抑制作用較在人工海水“B”中为輕,仍有明显的增殖 (图 7、8),三日內可增殖到接种量的 4.6 倍 (1,800 Lux, 15°C)至 5 倍 (4,500 Lux, 15°C)。

(4) Co 含量在 0—500  $\mu\text{g/L}$  的范围内,生长情况都很好,各組間的差距远不象在人工海水“B”中那样大 (图 7—10, 表 4)。生长繁殖的一般情况都与上試驗中 Co 的最适浓度相近。加 Co 500  $\mu\text{g/L}$  的結果,和加 Co (即 Co=0) 相差不大。

“A”液所用的葯品中,可能夹杂极微量的 Co,但在 Co=0 的培养中,绝对不可能帶入接近 0.5  $\mu\text{g/L}$  的 Co (試驗 6 中的最适量),然而生长情况与上述試驗中的 0.5—5  $\mu\text{g/L}$  相同。看来,“A”液中或有一种至数种微量元素能代替 Co 的作用。同时,“A”液中的微量元素,也略有減輕或中和 Co 过量时的抑制作用,因 Co 含量为 5,000  $\mu\text{g/L}$  时的抑制作用显著地較在人工海水“B”中为輕。

(5) 此試驗 (图 8) 中低温 (15°C)、低光强 (1,800 Lux) 的第 1 組 (不加 Co), 接种后 3 日內,增殖为接种量的 4.2 倍。在自然海水中,与此相近的情况下 (試驗 3, 10—13°C, 1,300 Lux), 在最适量的 B<sub>12</sub> 浓度 (5  $\mu\text{g/L}$ ) 中,接种后 4 日內,增殖到接种量的 4.4 倍。可見試驗所用硅藻,在人工海水“A” (未加 Co) 中的繁殖速度,在此試驗条件下,并不低于补充最适量 B<sub>12</sub> 并有足量 NO<sub>3</sub>、PO<sub>4</sub>、Fe 的自然海水。人工海水“A”中多种微量元素的存在,已可补充或显著減輕了此硅藻对 B<sub>12</sub> 的需要。

試驗 4—7 的結果表示自然海水、土壤浸出液、人工海水中所含的微量物质,都能以不同程度影响到 Co 对試驗所用硅藻生长繁殖的作用。下一試驗表示人工海水中有适量維生

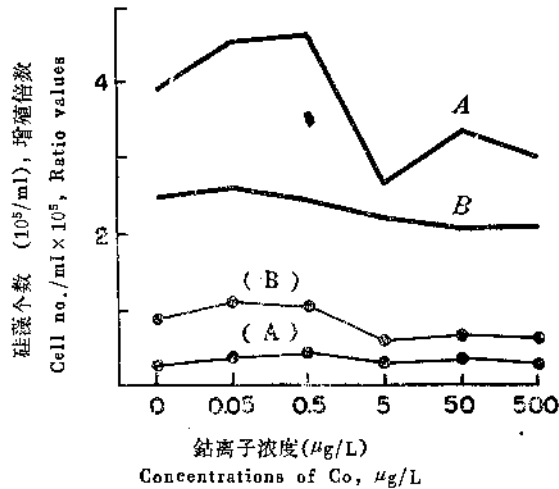


图 11 水温 25°C, 4,500 Lux 光照下,人工海水“A”中有維生素 B<sub>12</sub> 5 $\mu\text{g/L}$  时,不同的钴离子浓度对新月尼氏藻生长繁殖的影响。

(A)及(B)表示接种后第 3、5 天的繁殖情况;  
A 及 B、前 3 天、及后 5 天的增殖倍数。

Fig.11 Effect of different concentrations of Co in artificial sea water "A" with vitamin B<sub>12</sub> 5  $\mu\text{g/L}$  on the growth of *Nitzschia closterium*, 25°C, 4,500 Lux; (A) & (B) showing growths in 3 & 5 days; A & B, ratio values (A)/inoculum & (B)/(A) respectively.

素 B<sub>12</sub> 時，在不同濃度的 Co 中，硅藻生長繁殖的情況。

**試驗 8** 目的是探索有足量維生素 B<sub>12</sub> 時，Co 對這種硅藻生長繁殖的影響。在人工海水“A”中，加入 B<sub>12</sub> 5m $\mu$ g/L。按照 Co 的濃度分為 6 組：(1) 0 (對照)，(2) 0.05，(3) 0.5，(4) 5，(5) 50，(6) 500 $\mu$ g/L。光強，4,500 Lux；溫度，25°C。每組兩瓶，用 250ml 圓錐瓶各盛培養液 100ml。藻種同上各試驗，1964 年 1 月 23 日接種 9,420 個/ml；1 月 26 日及 28 日檢查計數。結果 (圖 11) 表示：

(1) 第 1、2 及 3 組 (Co 為 0, 0.05 及 0.5 $\mu$ g/L) 生長繁殖最好。第 4、5 及 6 組 (Co 為 5、50 及 500 $\mu$ g/L) 次之。這和以上各試驗 (4—7) 的結果有所不同。主要是在有 B<sub>12</sub> 5m $\mu$ g/L 時，不加或少加 Co (<5 $\mu$ g/L)，可生長得最好；顯然，在這種情況下，Co 已不是必需的了。但此現象不能用 B<sub>12</sub> 中已含有 Co 來解釋。因為 Co 在 B<sub>12</sub> 中的含量，僅為 58.94/1,355。B<sub>12</sub> 5m $\mu$ g/L 只含 Co 0.2m $\mu$ g/L，這是除對照組外，各試驗所用最低濃度 (Co, 0.05 $\mu$ g/L) 的 0.4%，為最適濃度 (0.5—5 $\mu$ g/L，試驗 4) 的 0.04—0.004%。

(2) 在 4,500Lux, 25°C 時，人工海水“A”中加入 B<sub>12</sub> 5m $\mu$ g/L (試驗 8) 與不加時 (試驗 7, 圖 7) 相比，可以看出 B<sub>12</sub> 普遍有抑制作用，在 Co 濃度較高的各組 (5—500 $\mu$ g/L) 更為顯著 (表 5)。

表 5 人工海水“A”中不加 B<sub>12</sub> 及加 B<sub>12</sub> 5m $\mu$ g/L 時，接種後三日內  
增殖到接種量的倍數 (4,500Lux, 25°C)

三日 增殖 倍數 試驗	Co 濃度 ( $\mu$ g/L)	0	0.05	0.5	5	50	500
8 (加 B <sub>12</sub> 5m $\mu$ g/L)		3.9	4.5	4.6	2.6	3.3	2.9
7 (無 B <sub>12</sub> )		6.3	—	6.8	5.8	6.9	6.3

## 結 論

從以上 8 個試驗的結果，可以歸納為下列各點：

(1) 自然海水，除了 NO<sub>3</sub>，PO<sub>4</sub>，Fe 外，一般尚缺乏浮游植物生長繁殖所需要的一些微量無機元素和有機物質。良好的田園土壤的浸出液，一般含有這些無機元素和有機物質。從土壤浸出液中，除去有機物質後所餘無機物質，加入海水中仍可使生長繁殖速度顯著增加，但無機及有機物質二者都加入時，則增加速度更顯著 (試驗 1, 表 1)。這顯示在自然情況下，自大陸沖洗到海中的土壤浸出液的質與量對浮游植物產量有重要意義。河水入海的流量、河流的沖洗面積及沖洗地面的土壤性質都能影響入海土壤浸出液的量及質，因而必然影響到海中基礎餌料的生产力和與此有關的漁業資源。

(2) 以維生素 B<sub>12</sub> 代替這些土壤浸出液中的有機物質，也可顯著地增加生長繁殖速度 (試驗 2, 表 3)。自然海水中 B<sub>12</sub> 含量的變化，可影響浮游植物的生長繁殖速度 (試驗 3, 圖 1、2)。加入 B<sub>12</sub> 量為 5m $\mu$ g/L 時，增加的繁殖速度最大，10 日內可增加到接種個體數的

282 倍。随着  $B_{12}$  加入量渐少或渐多, 硅藻的生长繁殖速度亦跟着降低 (試驗 3, 图 1、2)。自然海水中  $B_{12}$  类物质的含量, 因时因地而异, 变动范围常可达  $0-26\text{mg/L}$ , 有时可达最适浓度, 但在广大海区中, 浮游植物的生长繁殖难免不断受到  $B_{12}$  不足的影响。

(3) 在自然海水中, Co 的加入量达  $0.5\mu\text{g/L}$  (試驗 5; 图 4) 至  $5\mu\text{g/L}$  (試驗 4, 图 3) 时, 可使浮游植物生长繁殖速度达到最高。在含有大洋中 10 种主要大量盐类, 并有足量  $\text{NO}_3$ 、 $\text{PO}_4$ 、Fe、Si、及 Mn 的人工海水“B”中, Co 的最适量也是  $0.5-5\mu\text{g/L}$  (試驗 6, 图 5、6)。Co 的含量为  $2.5$  及  $5\text{mg/L}$  ( $2,500$  及  $5,000\mu\text{g/L}$ ) 时, 对生长繁殖有显著的抑制作用 (图 5、6)。人工海水“B”加入 Al、Li、Ba、Cu、Mo 及 Zn 的盐类 (表 2) 所配成的人工海水“A”中, 再加入不同浓度的 Co, 则在 Co 为  $0$  至  $500\mu\text{g/L}$  的范围内, 硅藻生长繁殖速度的差别不大 (試驗 7, 图 7—10)。这表示在此人工海水“A”中, Co 对試驗用硅藻的生长繁殖已非必需。同时, Co 含量为  $5\text{mg/L}$  ( $5,000\mu\text{g/L}$ ) 时, 对生长繁殖的抑制作用已大为降低 (图 7、8), 并随着培养时间的加长与细胞的增殖而日益减轻 ( $15^\circ\text{C}$ ,  $4,500\text{Lux}$ ; 图 7) 或逐渐消失 ( $15^\circ\text{C}$ ,  $1,800\text{Lux}$ ; 图 8)。显然, 在人工海水“A”中多种微量元素的存在, 一方面可补充試驗用硅藻对 Co 的需要; 另一方面又可中和或缓冲过量的 Co 对生长繁殖的毒性或抑制作用。也可能中和或缓冲其他元素或物质过量时的不利影响。显然, 多种微量物质存在时的这种弥补和中和或缓冲等作用, 对自然海区的生产性能有重要的意义。

Co 在海水中的含量测定得很少, 就现有资料, Co 在海水中的含量为  $0.5\mu\text{g/L}$  (Kyanskopf, 1956; Goldbag, 1957) 至  $100\mu\text{g/L}$  (Noddack, I & Noddack, W., 1940)。在海底沉积中普遍分布的铁锰矿中平均含量为  $0.3\%$  (重量) (Goldbag, 1963, p. 17)。铁锰矿对 Co 的吸聚量可受制于海水中的氧化还原势能 (Redox potential)。可见 Co 在海水中含量可不断变化, 从不足满足浮游植物的需要到过多 (如  $100\mu\text{g/L}$ ) 能对浮游植物的生长繁殖略有不利的影响。因此 Co 含量的变化有时可能影响到自然海区中基础饵料植物的生长繁殖。就試驗所用青島近海的自然海水看, Co 的含量是不足的, 加入  $0.5-5\mu\text{g/L}$  始能满足所用硅藻最高繁殖速度的要求。严重的抑制作用发生在自  $2,500\mu\text{g/L}$  以上的浓度中, 这种浓度在一般海水里是不存在的。

当有足量的多种微量元素存在时, Co 量不超过  $500\mu\text{g/L}$ , 则所用硅藻的生长繁殖可不受 Co 含量变化的影响 (試驗 7, 图 7—10)。但一般自然海水中, 不常含这样足量的多种微量元素。同时, 自然海水中所含微量元素的种数及数量, 可能影响到 Co 的不同浓度在海水中的作用。

(4) 人工海水“A”中多种微量元素的存在, 可弥补或至少减轻硅藻对  $B_{12}$  的需要。 $5\text{mg/L}$  的  $B_{12}$  在自然海水中虽为最适量 (試驗 3, 图 1、2), 在此液中已对生长繁殖略呈抑制作用, 在 Co 的含量较高时 ( $5-500\mu\text{g/L}$ ) 更为明显 (图 11 及表 5)。

维生素  $B_{12}$  (試驗 2 及 3) 类有机物质、土壤浸出液 (試驗 1)、多种微量元素的存在 (試驗 7) 可能起弥补作用和中和或缓冲作用, 以及土壤浸出液及  $B_{12}$  类有机物质在海水中的螯合作用, 即一方面能使微量矿质在海水中呈可溶的化学状态, 能使浮游植物利用, 另一方面又能缓和过量物质在海水中的不利作用, 这对自然海区基础饵料生物的生长繁殖, 显然有关键性的控制能力。直到现在, 我們对此認識得还很不够。自然海区中这些具有螯合作用、弥补作用及中和或缓冲作用的物质, 都存在于从陆地上洗刷来的土壤浸出液及悬浮物中, 并可



以此為基礎，在海水中經過生物和理化作用而形成。可見有效地利用陸地上的降水，合理調節入海流量來解決海中生物資源的問題，是值得深入研究的。

### 參 考 文 獻

- [1] Allen, E.J. and Nelson, E.W., 1910. On the artificial culture of marine plankton, organisms. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 33: 149.
- [2] Belser, W.L., 1959. Bioassay of organic micronutrients in the sea. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 45: 1533—1542.
- [3] —————, 1963. Bioassay of trace substances. In "The Sea" Hill, M.N. (edit) Inters. Pub. N.Y., 220—231.
- [4] Burkholder, P.R. & Burkholder, L.M., 1953. Studies on B vitamins in relation to the productivity of the Bahia Fosforescente. *Puerto Rico. Bull. Mar Sci Gulf & Caribbean*, 8: 201—223.
- [5] Chu, S.P., 1942. The influence of the mineral composition of the medium of the growth of planktonic algae. Part I. Methods and culture media. *J. Ecol.*, 30: 284—325.
- [6] —————, 1946. The utilization of organic phosphorus by phytoplankton. *J. Mar Biol. Assoc. U.K.*, 26: 285—295.
- [7] —————, 1946a. Note of the technique of making bacteria-free cultures of marine diatoms. *Ibid.*, 26: 296—302.
- [8] —————, 1949a. Experimental studies on the environmental factors influencing the growth of phytoplankton. *Sci. & techn. China*, 2: 37—52.
- [9] Cowey, C.B., 1956. A preliminary investigation of the variation of Vitamin B<sub>12</sub> in oceanic and coastal waters. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 35: 609—620.
- [10] Daisley, K.W. & L.R. Fisher, 1958. Vertical distribution of vitamin B<sub>12</sub> in the sea. *J. Mar. Biol. Assoc.*, 37: 633—636.
- [11] Droop, M.R., 1955. A suggested method for the assay of vitamin B<sub>12</sub> in sea water. *Ibid.*, 34: 435—440.
- [12] —————, 1955. Auxotrophy and organic compounds in the nutrition of marine phytoplankton. *J. gen. Microbiol.*, 16: 286—293.
- [13] —————, 1957a. Vitamin B<sub>12</sub> in marine ecology. *Nature*, 180: 1051—1042.
- [14] Droop, M.R., 1961. Some chemical considerations in the design of synthetic culture media for marine algae. *Botanica Marina*, 11: 231—246.
- [15] —————, 1962. Organic Micronutrients. In "Physiology and Biochemistry of Algae". (edit. R.A. Lewin) *Acad. Press.*, 141—159.
- [16] Goldberg. E.D., 1957. Biogeochemistry of trace elements. *Geol. Soc. Amer. Mem.*, 67: 345—358.
- [17] —————, 1963. The oceans as a chemical system. In "the Sea" pp. 3—25.
- [18] Harvey, H.W., 1953. Note on the absorption of organic phosphorus compounds by *Nitzschia closterium*. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 31: 475
- [19] —————, 1953a. Synthesis of organic nitrogen and chlorophyll by *Nitzschia closterium*. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 31: 447.
- [20] Harvey, H.W. 1957. The Chemistry and fertility of sea waters. Cambridge University Press.
- [21] Johnston R., 1964. Sea water, the natural medium of phytoplankton II. Trace metals and chelation, and general discussion. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 44: 87—109,

- [22] Kashiwada, K., D. Kakimoto, T. Morita, A. Kanazawa & K. Kawagoe, 1957. Studies on vitamin B<sub>12</sub> in sea water. II. On the assay method and the distribution of this vitamin B<sub>12</sub> in the ocean. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries*, 22: 637—640.
- [23] Kauskupf, K.B., 1956. Factors controlling the concentrations of thirteen rare metals in sea water. *Geochim. et Cosmochim. Acta*, 9:1—33.
- [24] Lewin, J.C. & R.A. Lewin, 1960. Auxotrophy and heterotrophy in marine littoral diatoms. *Can. J. Microbiol.*, 6: 127—134.
- [25] Noddack, I. & Noddack, W., 1940. Die Häufigkeiten der Schwermetalle in Meerestieren. *Archiv für Zoologie*, 32: 1, 1.
- [26] Provasoli, L., 1958. Nutrition and ecology of protozoa and algae. *Ann. Rev. Microbiol.*, 12: 279—308.
- [27] ———, 1958a. Growth factors in unicellular marine algae. In *Perspectives in Marine Biology* (edit. Buzzati-traverso). *Univ. Calif. Press*, 385—403.
- [28] Provasoli, L., 1963. Organic regulation of phytoplankton fertility. In "The Sea" (edit. M.N. Hill). Interscience Publishers, New York.
- [29] Provasoli, L. and I.J. Pintner, 1953. Ecological implications of *in vitro* nutritional requirements of algae flagellates. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 56: 839—851.
- [30] Raymont, John E.G., 1963. Plankton and productivity in the oceans. Pergamon Press, Oxford.
- [31] Ryther, J.H. and R.R.L. Guillard, 1962. Studies of marine planktonic diatoms. II. Use of *Cyclotella nana* for assays of vitamin B<sub>12</sub> in seawater. *Can. J. Microbiol.*, 8: 437—446.
- [32] Tomiyama, T., 1959. Preliminary report of the determination and distribution of vitamin B<sub>12</sub> in the sea. *Preprints Intern. Oceanog. Congr.*, New York, pp. 941—942.
- [33] Vishniac, H.S., and G. Riley, 1959. B<sub>12</sub> and thiamine in Long Island Sound, patterns of distribution and ecological significance. *Preprints Intern. Oceanog. Congr.*, New York, pp. 942—943.
- [34] ———, 1961. Cobalamin and thiamine in the Long Island Sound, patterns of distribution and ecological significance. *Limnol. Oceanog.*, 6: 36—41.

EFFECTS OF SOIL EXTRACT, ITS MICROELEMENTS  
AND DIFFERENT CONCENTRATIONS OF VITAMIN  
B<sub>12</sub> AND COBALT ON THE GROWTH OF  
*NITZSCHIA CLOSTERIUM* W. SMITH

S.P. CHU, C. LIU, P.C. HSIANG, S.J. WANG

ABSTRACT

The results of eight experiments on the effects of soil extract and its microelements as well as of the different concentrations of vitamin B<sub>12</sub> and cobalt on the growth of *Nitzschia closterium*, in natural and artificial sea water, are presented. The influences of different temperatures and light intensities are also studied.

1. The growth of *Nitzschia closterium* in natural sea water, enriched with N (NO<sub>3</sub>) 4 p.p.m., P (PO<sub>4</sub>) 0.4 p.p.m. and Fe (citrate) 0.04 p.p.m., is greatly improved (Table 1, 2nd column) by the addition of ashed soil extract, and further improved by the addition of the organic contents of soil extract as well (Table 1, 1st column). This shows that the natural sea water used is deficient in microelements and organic substances, both of which can be supplemented by proper soil extract.

2. The addition of vitamin B<sub>12</sub> 5mμg/L [Table 3, (1)] to enriched natural sea water gives better growths than the addition of ashed soil extract [Table 3, (2)]. In different B<sub>12</sub> concentrations in enriched natural sea water, best growth occurs in B<sub>12</sub> 5mμg/L (Fig. 1 & 2), noticeable deficiency appears in lower concentrations and inhibitory effect increased in higher concentrations.

3. Optimum growth is obtained in cobalt concentrations 0.5–5μg/L (Fig. 3–5) in enriched natural sea water, while deficiency is observed in lower concentrations and inhibitory effect in higher concentrations.

4. In artificial sea water without Al, Li, Ba, Cu, Mo & Zn, only slight growth can be obtained in various cobalt concentrations and growth is comparatively better in Co 500μg/L, being less in lower as well as in higher concentrations [Fig. 5 & 6, (A)]. The addition of 0.1% soil extract makes a remarkable difference [Fig. 5 & 6, cf. (A) with (B)], and here best growth occurs in Co 0.5–5μg/L (Fig. 5, A; Fig. 6, A & B).

5. Inhibitory effect is very remarkable in cobalt concentrations 2,500–5,000 μg/L (Fig. 7 & 8); but with the addition of microelements (Al, Li, Ba, Cu, Mo

& Zn) the inhibitory effect is greatly lessened (cf. Fig 5 & 6, A & B with Fig. 7 & 8, A, B, C), and may disappear under certain conditions (Fig. 8, A). Thus the presence of various microelements, such as in artificial sea water "A", may have an effect of neutralizing the inhibitory or harmful effects due to high concentrations of cobalt, or of other metals as well. At the same time, the presence of various microelements in sufficient quantities may also relieve, in one way or another, the demand or the effect of deficiency of Co (Fig. 7-10), or of some other metals as well.

6. At the presence of sufficient various microelements (such as in artificial sea water "A"), the optimum concentration of  $B_{12}$ ,  $5\text{m}\mu\text{g/L}$  (Fig. 1) may have an inhibitory effect (cf. Fig. 11, A with Fig. 9, A) on growths in all the cobalt concentrations tested (Fig. 11) and the inhibitory effect is greater in higher cobalt concentrations ( $5-500\mu\text{g/L}$ ).

7. In natural sea water, the contents of  $B_{12}$  and Co vary from very deficient quantities to within the optimum range shown by these experiments. The presence of various microelements and organic substances in various quantities may have various influences on the effect of  $B_{12}$ , Co or some other substances on the growth of phytoplanktonic organisms. All these substances are continuously enriched in natural sea water, in the form of natural soil extract washed to rivers and hence to the sea, as land drainage. They are also continuously produced in the sea by living organisms and chemical activities using substances contained in this natural soil extract. Thus the mechanism controlling the growth of marine phytoplankton is very complicated and further research in this field is urgently needed.