

赤潮异弯藻 *Heterosigma akashiwo* 的生长特性^{*}

颜 天 周名江 钱培元[‡]

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

[‡](香港科技大学生物系 香港)

提要 采用多因子实验设计,经三维 ANOVA 统计分析(Tukey Test),研究了温度、盐度和光照强度对鱼毒类赤潮藻——赤潮异弯藻 *Heterosigma akashiwo* 生长的影响。结果表明,在实验范围温度(12℃、19℃、25℃、32℃),盐度(10、18、25、30、35)和光照强度 0.02×10^{16} 、 0.08×10^{16} 、 0.3×10^{16} 、 1.6×10^{16} quanta/(cm²·s)内,各温度和光照强度、以及低盐度(10、18)和高盐度(35)之间,藻生长率有极显著差异($P < 0.001$)。光照强度和温度、盐度和温度以及这三个因子之间存在极显著的相互作用($P < 0.001$),而光照强度和盐度之间无显著的相互作用($P = 0.074 > 0.05$),藻生长的最适温度、光照、盐度条件分别为 25℃、 1.6×10^{16} quanta/(cm²·s)、10—35,这时生长率为 $0.85d^{-1}$ 。

关键词 赤潮异弯藻,赤潮,生长特性

中图分类号 X55

针胞藻 Raphidophyte 赤潮异弯藻 *Heterosigma akashiwo* (Hada) 是一种能形成有害赤潮的主要藻种,在世界南北半球的许多国家都发生过赤潮,引起了大量的鱼类死亡,造成过很大的经济损失(Chang *et al.*, 1990; Taylor *et al.*, 1993),因此科学家们曾调查了在该藻赤潮形成时的环境条件,初步研究了赤潮发生机制(Black *et al.*, 1991; Honjo, 1993; Yoshinaga *et al.*, 1998)。由于识别上的困难,在我国对这种藻的研究报道一直较少。1985—1987年,在我国大连湾,均发生了赤潮异弯藻赤潮,郭玉洁和王惠卿等采集和鉴定了样品并进行了生态观察(郭玉洁, 1994; 王惠卿, 1989)。近年来,在青岛胶州湾和广东沿海也发现了该藻的分布(邹景忠等, 1999; 齐雨藻, 1995)。为保护我国海产养殖业和渔业资源,研究这种鱼毒类赤潮藻——赤潮异弯藻的生长特性,以探讨赤潮异弯藻赤潮的形成机制及在我国的分布规律是十分必要的。温度、盐度和光照强度是影响藻类生长的主要环境因子,并进而会影响藻类的分布和丰度。本文将报道以一株分离于胶州湾的赤潮异弯藻为研究对象,利用多因子实验设计进行温度、盐度和光照强度及这三个环境因子之间的相互作用对赤潮异弯藻的生长特性的研究结果。

^{*} 国家重点基础研究项目, 2001CB409709号; 国家自然科学基金资助项目, 49906007号, 39950001号, 20177023号; 中国科学院知识创新工程资助项目, KZCX2-206号; 香港特区政府 PREP 项目资助。颜 天, 女, 出生于 1969年1月, 副研究员, E-mail: tianyan@ms.qdio.ac.cn

收稿日期: 2000-10-06, 收修改稿日期: 2001-02-26

1 材料与方法

1.1 材料

赤潮异弯藻 [*Heterosigma akashiwo* (Hada)] 于 1995 年采集于青岛胶州湾, 实验室分离后单种培养。实验用海水为不同盐度的人工海水与自然海水按体积比 2:1 混合配成, 以保持实验用海水的稳定性和必要的自然微量营养物质。用 ATAGO 手持式盐度计测量盐度。人工海水和培养液配方选用 Harrison 等(1980), 为避免高压灭菌过程中营养盐易形成结晶沉淀而不利于藻的生长, 所有培养液都用 316 型不锈钢过滤系统(直径 142mm) 在重力作用下经 0.2 μ m 滤膜过滤除菌。光源选用白色冷荧光灯管, 光暗比为 14h:10h, 测量光照强度的照度仪型号为 Loor Model LI185 meter, 2 π collector, 培养箱型号为 Powers Scientific SD 33SE。

1.2 方法

实验设计采用三因子实验设计, 包括 4 个温度水平(12、19、25、32 $^{\circ}$ C), 5 个盐度水平(10、18、25、30、35) 和 4 个光照水平 [0.02 \times 10¹⁶、0.08 \times 10¹⁶、0.3 \times 10¹⁶、1.6 \times 10¹⁶ quanta/(cm²·s)], 共 80(4 \times 5 \times 4) 个条件组合, 设三个平行组。培养容器为 50ml 灭菌的有盖玻璃试管, 选择生长良好的指数期藻液, 接种于 40ml 新鲜培养液中, 稀释率为 5%。用 Turner Designs Model 10 荧光计每隔 24h 监测活体荧光值, 测量时先将试管颠倒 6 次以混匀。

1.3 计算与统计方法

每天生长率按 $\mu = \ln(F_2/F_1)/(t_2 - t_1)$ 计算, F_1 为时刻 t_1 时的荧光值, F_2 为时刻 t_2 时的荧光值。每个条件下的生长率为指数生长期时的生长率平均值。三维 ANOVA Tukey Test (Zar, 1996) 的统计方法用于分析温度、盐度和光照强度对赤潮异弯藻生长的影响及三因子的相互作用关系。

2 结果

2.1 温度、盐度和光照强度分别对赤潮异弯藻生长的影响

经三维 ANOVA Tukey Test 分析, 温度、盐度和光照强度分别对赤潮异弯藻生长的影响结果见表 1, 统计结果见表 2。由表 1、表 2 可见, 温度对赤潮异弯藻的生长有显著的影响,

表 1 温度、盐度和光照强度分别对赤潮异弯藻生长的影响

Tab. 1 The respective effects of temperature, salinity and irradiance on growth of *H. akashiwo*

| 温度($^{\circ}$ C) | 生长率(d^{-1}) | 盐度 | 生长率(d^{-1}) | 光照强度 [$\times 10^{16}$ quanta/(cm ² ·s)] | 生长率(d^{-1}) |
|-------------------|-----------------|----|-----------------|--|-----------------|
| 12 | 0.0633 | 10 | 0.1140 | 0.02 | -0.1320 |
| 19 | 0.1172 | 18 | 0.1130 | 0.08 | -0.0828 |
| 25 | 0.2251 | 25 | 0.0935 | 0.3 | 0.2277 |
| 32 | -0.035 | 30 | 0.0831 | 16 | 0.3575 |
| | | 35 | 0.0596 | | |

25 $^{\circ}$ C 以下时, 藻的生长率随温度增高而增加, 低温 12 $^{\circ}$ C 和高温 32 $^{\circ}$ C 时, 藻类的生长和存活能力明显下降, 25 $^{\circ}$ C 为该藻的最适温度。盐度对赤潮异弯藻的生长相对较小, 只在低盐度 10、18 和高盐度 35 之间有显著差别, 该藻在低盐度生长较好。光照强度对赤潮异弯藻的生长有显著的影响, 藻的生长率随光照强度增加而增强, 在最低的光照强度 0.02 \times 10¹⁶ 和

0.08×10^{16} quanta/ (cm²·s) 条件下, 赤潮异弯藻几乎都不能生长, 藻密度呈下降趋势, 实验中在最高光照强度时, 藻生长最快。

表 2 各种温度、盐度和光照强度对赤潮异弯藻生长影响的三维 ANOVA 统计结果

Tab. 2 Summary of 3-way ANOVA results for various effects of different temperatures, salinities and irradiances on the growth of *H. akashivo*

| 处 理 ^a | | d ^f | F | P | |
|------------------|---|---|----|---------|-----------|
| 因子 | 温度(°C) | 12 19 25 32 | 3 | 702.792 | 0.0001 |
| | 盐度 | 10 ^a 18 ^a 25 ^{ab} 30 ^{ab} 35 ^b | 4 | 5.083 | 0.001 |
| | 光照强度[× 10 ¹⁶ quanta/ (cm ² ·s)] | 0.02 0.08 0.3 1.6 | 3 | 146.241 | 0.0001 |
| 因子间 | 温度 × 光照强度 | | 9 | 1.688 | 0.0001 |
| | 温度 × 盐度 | | 12 | 67.592 | 0.0001 |
| | 光照强度 × 盐度 | | 12 | 5.242 | 0.074(NS) |
| | 温度 × 光照强度 × 盐度 | | 36 | 2.523 | 0.0001 |

注: * 两数值间无显著差异的 ($P < 0.05$) 用相同字母 a 或 b 表示, 没有标注的为显著差异。NS: 不显著

2.2 温度、盐度和光照强度对赤潮异弯藻生长的综合影响

温度、盐度和光照强度对赤潮异弯藻生长的综合影响实验结果见图 1。由表 1 统计分析结果可见, 温度和光照强度、温度和盐度以及这三个因子之间存在显著相互作用 ($P < 0.001$), 光照强度和盐度之间没有显著相互作用 ($P = 0.074 > 0.05$)。由图 1 可见, 这三个因子之间的相互作用表现为在低光照条件下, 该藻适合低温及低盐度条件生长, 如在 0.02×10^{16} quanta/ (cm²·s), 赤潮异弯藻的生长高峰在 12°C; 光照强度增加, 该藻的最适温度增加, 如在 0.08×10^{16} quanta/ (cm²·s) 时, 生长高峰在 19°C、盐度 10; 而在较高光照强度下, 0.3×10^{16} quanta/ (cm²·s) 和 1.6×10^{16} quanta/ (cm²·s) 时, 最适温度升高到 25°C, 盐度范围扩大到 10—35, 随着光照强度的增加, 赤潮异弯藻趋向于生长在更高的温度和更广的盐度范围。温度和盐度的相互关系还表现在低温 12°C 时, 低盐度中藻的生长率高于高盐度中, 而在较高温度 32°C 时, 藻在低盐度 (10) 反而不能生长。实验得到的赤潮异弯藻的最适生长条件为 25°C、 1.6×10^{16} quanta/ (cm²·s)、10—35, 这时的生长率为 $0.85d^{-1}$ 。

3 讨论与结语

3.1 赤潮异弯藻的生长特性

在实验范围内, 这株赤潮异弯藻在最适条件下, 生长快, 指数期生长率为 $0.85d^{-1}$ 。在同类研究中, Honjo (1993) 发现分离于日本沿海的一株赤潮异弯藻指数期生长率为 $0.95d^{-1}$, 与本文的结果相近, 而且他们还发现该藻在指数生长期以前, 低密度 (cell/ml 以下) 时, 存在一个快速生长期, 细胞一天分裂次数能超过 4 次。正是赤潮异弯藻这种能快速分裂繁殖的特点, 使它在条件合适时能迅速增殖而形成赤潮。实验还表明, 赤潮异弯藻适应于低温、低光照和较高温、高光照的条件, 表明了这种藻能随季节变化而适应于环境条件的变化, 以利于该藻的存活和广泛分布。因为一般冬天时温度较低、光照较弱, 而夏季时温度较高且光照较强, 许多赤潮藻如亚历山大藻、中肋骨条藻等都有这种适应环境光温变化的特性 (周名江等, 1997)。

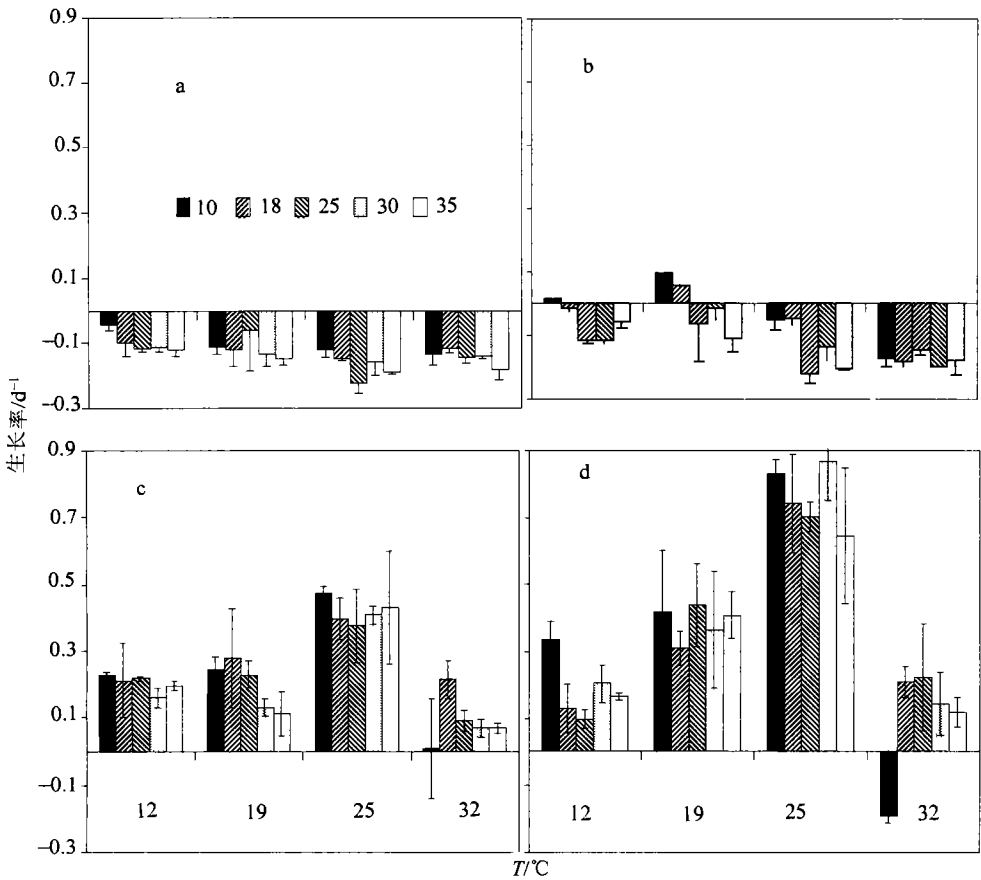


图1 温度、盐度和光照强度对赤潮异弯藻生长的综合影响

Fig. 1 Combined effects of temperature, salinity and irradiance on growth of *H. akashiwo*

光照强度: a. $0.02 \times 10^6 \text{ quanta} / (\text{cm}^2 \cdot \text{s})$;

b. $0.08 \times 10^6 \text{ quanta} / (\text{cm}^2 \cdot \text{s})$; c. $0.3 \times 10^6 \text{ quanta} / (\text{cm}^2 \cdot \text{s})$;

d. $1.6 \times 10^6 \text{ quanta} / (\text{cm}^2 \cdot \text{s})$. a中的图例数据表示盐度, b、c、d同a

3.2 环境因子在赤潮异弯藻赤潮中的作用

实验结果表明赤潮异弯藻可能在夏季(较高温, 强光照时)形成赤潮。根据 Honjo 的综述, 赤潮异弯藻形成赤潮的温度范围可以在 $15-30^\circ\text{C}$ 之间, 在日本, 赤潮异弯藻赤潮形成时, 水温大多在 $20-25^\circ\text{C}$ (Honjo, 1993), 我国大连湾赤潮发生时温度为 22°C 左右 (郭玉洁, 1994), 这些都与作者的研究结果一致。实验结果还表明赤潮异弯藻对盐度具有广泛适应性, 因此它能在河口和盐度低的海域分布并形成赤潮, 实际上他的确经常在加拿大、日本的河口地区形成赤潮而且造成鱼类大量死亡 (Taylor *et al.*, 1993; Honjo, 1993)。在我国大连湾, 1985—1987 年连续三年的赤潮异弯藻赤潮也都是发生在大雨之后水体盐度下降的海区 (郭玉洁, 1994)。由于赤潮的形成机制非常复杂, 除上述环境条件的变化外, 还包括海流、风等其他物理因子, 以及化学因子和生物因子等方

面的综合作用, 今后将结合我国的情况, 针对赤潮异弯藻赤潮爆发的机制进行进一步的研究。

3.3 赤潮异弯藻赤潮的分布

本实验结果得到的赤潮异弯藻的生长特性表明这种藻在我国从北到南都能生长和分布。由于该藻个体小, 易变形又较难辨认, 在国内外经常被误认为是其他藻种, 特别是易与金色滑盘藻 (*Olisthodiscus luteus* Carter) 混淆 (Hallegreaff *et al.*, 1995), 识别的困难很可能使人们忽略了他的危害。本赤潮藻在香港疑报道为 *Olisthodiscus* spp., 在香港 1980—1997 年的赤潮藻种发生和分布的目录上位于第 11 位, 它在经常发生赤潮和鱼类死亡事件的吐露港海域共发生过 9 次赤潮¹⁾。由于这类鱼毒类赤潮严重威胁着我国的渔业和海产养殖业, 加强对赤潮异弯藻等这一类鱼毒类赤潮藻分布、毒性效应等方面的调查研究, 将有利于建立相应的监测预警体系, 减少该类赤潮带来的损失。

参 考 文 献

- 王惠卿, 1989. 大连湾海域赤潮生物特性研究. 中国环境科学, 9: 1—10
- 齐雨藻, 1999. 赤潮. 广州: 广东科技出版社, 16—18
- 邹景忠, 周名江, 俞志明等, 1999. 养殖水体富营养化和有害赤潮. 见: 李永祺, 邹景忠, 李德尚编. 海水养殖生态环境的保护与改善. 北京: 科学出版社, 101—102
- 周名江, 颜 天, Ellbrachter M, 1997. 两种涡鞭毛藻生长特性的研究. 海洋与湖沼, 28(4): 343—347
- 郭玉洁, 1994. 大连湾赤潮生物——赤潮异弯藻. 海洋与湖沼, 25(2): 165—167
- Black E A, Whyte J N C, Bagshaw J W *et al.*, 1991. The effect of *Heterosigma akashiwo* on juvenile *Oncorhynchus tshawytscha* and its implications for fish culture. J Appl Ichthyol, 7: 168—175
- Chang F H, Anderson C, Boustead N C, 1990. First record of a *Heterosigma* (Raphidophyceae) bloom with associated mortality of cage-reared salmon in Big Glory Bay, New Zealand. N Z J Mar Freshw, 24: 461—469
- Hallegreaff G M, Anderson D M, Cambella A D, 1995. Manual on Harmful Marine Microalgae IOC Manuals and Guides. No. 33 UNESCO, 365—366
- Harrison P J, Waters R E, Taylor F J R, 1980. Abroad spectrum artificial seawater medium for coastal and open ocean phytoplankton. J Phycol, 16: 28—35
- Honjo T, 1993. Overview of Bloom Dynamics and Physiological Ecology of *Heterosigma akashiwo*. In: Smayda T J, Shimizu Y ed. Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea. Amsterdam: Elsevier Scientific, 33—41
- Taylor F J R, Haigh R, 1993. The Ecology of Fish Killing Blooms of the Chloromonad Flagellate *Heterosigma* in the Strait of Georgia and Adjacent Water. In: Smayda T J, Shimizu Y ed. Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea. Amsterdam: Elsevier Scientific, 699—703
- Yoshinaga I, Ishida Y, Kim M C *et al.*, 1998. Dynamics and Population Analysis of Algicidal Bacteria Targeting Marine Microalgae During Red Tides by RLP of 16s RNA Gene. In: Reguera B, Blanco J, Fernandez M L *et al.* ed. Harmful Algae. Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 398—401
- Zar J H, 1996. Biostatistical Analysis. 3rd edn. Prentice Hall International, Inc, Upper Saddle River, N J, 215—218

1) AFD, 1997. Marine Water Quality in Hong Kong in 1997. Chapter 14, Red tides

GROWTH OF FISH-KILLING RED TIDE SPECIES RAPHIDOPHYTE *HETEROSIGMA AKASHIWO*

YAN Tian, ZHOU Ming-Jiang, QIAN Pei-Yuan[†]

(*Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071*)

[†] (*Biology Department, Hong Kong University of Sciences and Technology, Hong Kong*)

Abstract Raphidophyte *Heterosigma akashiwo* is a fish-killing red tide species, which widely distributes in the world and has caused great economic loss in many countries such as Japan, Canada and New Zealand. In Dalian Bay, China, it caused red tide each summer during 1985—1987 and has been also found in Jiaozhou Bay and Dapeng Bay in recent years. In order to understand the mechanism of red tide formation, it is important to know more about its growth characteristics. This paper used 3-factor experiment design to study the effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of this important species *H. akashiwo* (isolated from Jiaozhou Bay, Qingdao, China). The results show that the growth of *H. akashiwo* was significantly different among temperatures (12, 19, 25, 32°C), irradiance [0.02×10^{16} , 0.08×10^{16} , 0.3×10^{16} , 1.6×10^{16} quanta/ (cm²·s)] and between low salinity (10, 18) and high salinity (35). There were interactive effects between any two of and among all three physical factors on the growth of *H. akashiwo*, except irradiance and salinity. The optimal growth condition of *H. akashiwo* was 25°C, 10—35 and 1.6×10^{16} quanta/ (cm²·s) with a growth rate of 0.85 d^{-1} during the exponential growth phase. Therefore, *H. akashiwo* could divide at high rate and is more likely to bloom under high temperature and high illumination in summer, and this species is able to distribute widely in the ocean and estuaries due to its adaptation to wide salinities. The paper also discusses red tide formation mechanism and possible wide distribution of this species in China. To protect mariculture industry and fishery resources, more attention should be paid to this fish-killing species.

Key words *Heterosigma akashiwo*, Red tide, Growth