

螺旋藻對微量元素的吸收試驗

蔡碧心

The Absorption of Inorganic Micronutrient by the Blue-Green
Alga, *Spirulina platensis*.

Pi-Hsin Tsai

Studies had been described for demonstrating requirements of the bluegreen alga *Spirulina platensis*, for the inorganic micronutrients Iron, Boron, Zinc, Copper Magnesium, Calcium, Manganese, and Molybdenum, in addition to the presence and absence of E. D. T. A.

The function relationships between growth rate and cationic concentrations were analyzed by the multiple regression method, and the correlations were all significant at 5% or 1% level.

In the presence of E. D. T. A., The efficiencies of utilization of those cations were increased significantly at 1% level.

It was estimated that the optimal requirements of cationic concentrations for *Spirulina* growth were as follow: 0.744 p. p. m. Fe^{+2} ; 0.016 p. p. m. B^{+3} ; 0.01 p. p. m. Zn^{+2} ; 0.0077 p. p. m. Cu^{+2} ; 11.687 p. p. m. Mg^{+2} ; 5.25 p. p. m. Ca^{+2} ; 0.213 p. p. m. Mn^{+2} ; and 0.684 p. p. m. Mo^{+6} , respectively in the medium with E. D. T. A.

It was possible that the interactions between E. D. T. A. and Magnesium, Calcium and Manganese were very high that the growth of *Spirulina* in the absence of E. D. T. A. were all being inhibited.

前 言

螺旋藻 *Spirulina platensis* 爲一行自營性 (autotrophic) 分裂生殖的藻體，其大量培養在臺灣言，是近 3、4 年之事，由於其生產量可達 $10g \text{ drywt}/m^2/\text{day}^{(1)}$ ，且藻體大易於採收，是一深具發展潛力的未來食糧，但在培養過程中，常因不同地區的地下水不同，而呈成長不一致的情況，故爲使螺旋藻的培養能普遍推廣，其對微量元素的需求是必須先予以瞭解的。

藻類生長所須的微量營養塩是非常少量的，且每一種藻類的需求量皆不同，Walker⁽¹⁾⁽³⁾ 曾以 *Chlorella* 爲對象，就 Calcium, Copper, Molybdenum, Iron, Manganese 及 Zinc 等元素，作了一連串的需求量試驗。鎌谷等⁽⁴⁾ 又指出，藻類本身的金屬元素的吸取沒有調節的能力，故可以藻類來作爲環境水中金屬元素存在狀態的指標。此實驗之目的則針對螺旋藻所須之各種微量營養塩：鐵、鎂、鈣、硼、錳、鋅銅及鉬，所需之最適添加量，以及高濃度金屬離子存在下對藻體之阻害作用加以探討，以期能使螺旋藻的培養，不受環境水的影響，並確立其大量培養的技術。

材 料 與 方 法

一、藻種之純化：

由螺旋藻培養池中，取回藻液，塗抹在 Agar plate 上作純培養，並挑取健康的藻體在合成培養⁽⁵⁾ 基中作 Stock culture，試驗時，以浮游生物網濃縮藻體，以蒸餾水沖洗，將藻體移入乾淨的蒸餾水

中攪拌 20 分後，再予以過濾，沖洗，所得不含培養液之藻種，即可作為接種用。

二、器皿之洗滌：

30 ml 之玻璃管先以 clean solution 浸泡，洗滌，再以稀釋之 E.D.T.A. solution (PH=7) 浸泡，以去除依附在管壁上的金屬離子，在使用前再以蒸餾水清洗乾淨⁹，並用 autoclave 予以消毒。

三、培養：

於玻璃管中放入 20 ml 之 basal medium solution 如 Table 1 所示，但 medium 內須先除去試驗元素，另以 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ； $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ； $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ； H_3BO_3 ； $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ； ZnCl_2 ； $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ；及 MoO_3 配成 stock solution，以不同量加入玻璃管中稀釋成不同濃度的培養液，接種藻體，置於 28 °C，1000 Lux 及 100 r.p.m 之 Environ - Shaker 內，分成二組，一組添加 E.D.T.A.，另一組則不予添加，四重複，連續培養二星期後，以濾紙過濾，在 60 °C 的烘箱內，烘至恒重。濾紙使用前，亦先經烘乾、秤重。

Table 1. Basal medium for *Spirulina platensis* growth.

NaHCO_3	8.4 g/l	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2 g/l
NaNO_3	1.0 "	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.04 "
K_2HPO_4	0.5 "	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.01 "
K_2SO_4	1.0 "	A, soln.	1.0 ml/l
NaCl	1.0 "	B, soln.	1.0 "
	A, soln.		B, soln.
H_3BO_3	2.85 g/l	NH_4VO_3	230×10^{-4} g/l
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.81 "	$\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$	960×10^{-4} "
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.22 "	$\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	478.5×10^{-4} "
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.08 "	$\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	179.4×10^{-4} "
MoO_3	0.015 "	$\text{Ti}_2(\text{SO}_4)_3$	400×10^{-4} "
		$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	440×10^{-4} "

When used :

E.D.T.A. - Na₂ 0.08 g/l

四、統計分析：

以複迴歸方法分析各種微量元素濃度與藻體生長率之關係，所使用的自變數 (Independent variable) X 為 Fe, Mg, Ca, B, Mn, Zn, Cu, Mo 等離子之各種濃度，(須先將原始資料予以自然對數轉換後，再分析)，依變數 (Dependent variable) Y 則為第 14 天之螺旋藻生長率，求出複迴歸決定係數 (Coefficient of multiple Regression Determination) R^2 ，及 F 值，以決定此關係式有無意義存在¹⁰，另以配對 t 法 (Pairing method-t test) 測定每一種元素對 E.D.T.A. 之有無添加，對螺旋藻生長率之影響。

結 果

一、鐵、硼、鋅、銅：

Fe^{2+} 是以 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 配成，試驗濃度由 0.01 p.p.m. 至 11.0 p.p.m.，並以 0 p.p.m. 者為對照組，結果如 Fig 1. 及 Tables 2 & 3 所示：medium 內含 E.D.T.A. 者，68 % 的藻體生長變異性可由 Fe^{2+} 濃度之差異來解釋，而 medium 內不含 E.D.T.A. 者可解釋 61.7 %。

B^{3+} 是以 H_3BO_3 配成，試驗濃度由 0.001 p.p.m. 至 1.0 p.p.m.，0 p.p.m. 為對照組，結果如 Fig 2 及 Tables 2 & 3 所示：藻體生長變異性，medium 含 E.D.T.A. 者可解釋 58.8 %，medium 無 E.D.T.A. 者有 66.2 % 之解釋能力。

Zn^{2+} 是以 $ZnCl_2$ 所配成，配製時需先以稀鹽酸溶解後，再加水稀釋，濃度由 0.005 p.p.m. 至 0.1 p.p.m.，0 p.p.m. 為對照組，結果如 Fig 3 及 Tables 2 & 3 所示：藻體生長變異性，medium 含 E.D.T.A. 者可解釋 53.6 %，medium 無 E.D.T.A. 者，可解釋 79.9 %。

Cu^{2+} 以 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 配成，濃度由 0.001 p.p.m. 至 0.1 p.p.m.，0 p.p.m. 為對照組，結果如 Fig 4 及 Table 2 & 3 所示：藻體生長變異性：medium with E.D.T.A. 可解釋 78.8 %，medium without E.D.T.A. 者，可解釋 79.1 %。

此四組離子，其迴歸關係式，均具顯著性，（ $P < 0.05$ ，or $P < 0.01$ ），表示各組迴歸關係式，均有意義，由迴歸方程式所預測之離子有效濃度利用範圍及最佳生長率，皆以 medium 內含 E.D.T.A. 者為大。最佳生長濃度，則以 medium 內不含 E.D.T.A. 者為高，此表示培養液內不含 E.D.T.A. 則要達到最高生長率所需離子量需增多。

Fe^{2+} ， Zn^{2+} 及 Cu^{2+} ，三種離子在 medium 內不含 E.D.T.A. 時，其對照組的生長率，皆為負值，表示此三種離子為螺旋藻生長時，必不可缺之離子。

二、鎂、鈣、錳：

Mg^{2+} ， Ca^{2+} 及 Mn^{2+} 三種離子是由 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ， $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 及 $MnCl_2 \cdot 2H_2O$ 所配成，其試驗濃度分別為 4 ~ 40 p.p.m.；2 ~ 20 p.p.m. 及 0.05 ~ 11 p.p.m.，並各以 0 p.p.m. 為對照組，其結果如 Figs. 5 ~ 7 及 Tables 2 & 3 所示：medium 內無 E.D.T.A. 者，由於 E.D.T.A. 與離子間的相互作用大於離子的單獨作用，藻體皆無生長。medium 內含 E.D.T.A. 者，其對藻體生長變異性之解釋能力，分別如下： Mg^{2+} 為 61.9 %； Ca^{2+} 為 81.8 %； Mn^{2+} 為 73.7 %，又其迴歸方程式，鎂、鈣二組具高度顯著性（ $P < 0.01$ ），錳亦具顯著性（ $P < 0.05$ ）。就對藻體生長言，此三組中以 Mn^{2+} 之影響為最大，其最佳生長率為對照組的 1.89 倍，其次為 Mg^{2+} ，1.55 倍；再次為 Ca^{2+} ，1.26 倍。

三、鉬：

Mo^{6+} 是以 MoO_3 配成，濃度由 0.01 p.p.m. 至 9 p.p.m.，另以 0 p.p.m. 為對照組，結果如 Fig 8 及 Tables 2 & 3 所示：藻體生長之變異性：medium with E.D.T.A. 者， Mo^{6+} 濃度之差異可解釋 78.4 %，medium without E.D.T.A. 與，可解釋 58 %，F 值具高度顯著性（含 E.D.T.A. 者）及顯著性（無 E.D.T.A. 者）。有效濃度範圍以 medium 不含 E.D.T.A. 者為大，最適離子需求量則以 medium 內含 E.D.T.A. 者為大，此二者皆與前面之鐵、硼、鋅、銅四組所有不同，此種離子間的差異性有待進一步的探討。

四、E.D.T.A.

E.D.T.A. (Ethylene diaminetetraacetic Acid) 為一 chelating agent，培養液內添加 E.D.T.A. 對螺旋藻對各種微量元素之利用，其影響力如 Table 4 所示，皆具高度的影響力， $P < 0.01$ ，此為 E.D.T.A. 可與營養鹽內多餘的金屬陽離子結合成複合物 (Complex) 而減少其污染作用。

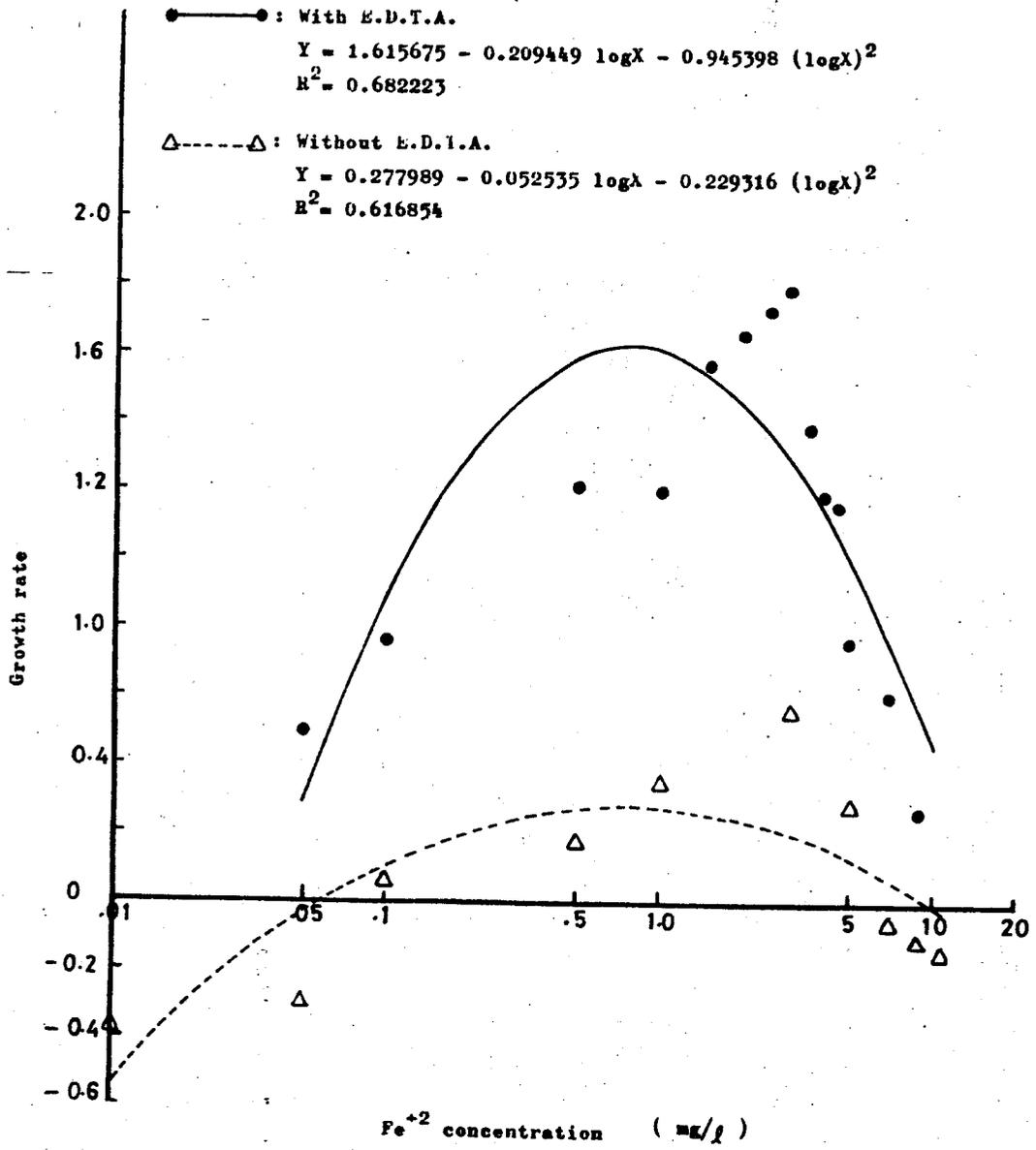


Fig.1 : Growth rate of *Spirulina* versus amount of Iron, as ferrous sulfate, added to various iron-deficiency basal medium in the presence and absence of E.D.T.A.

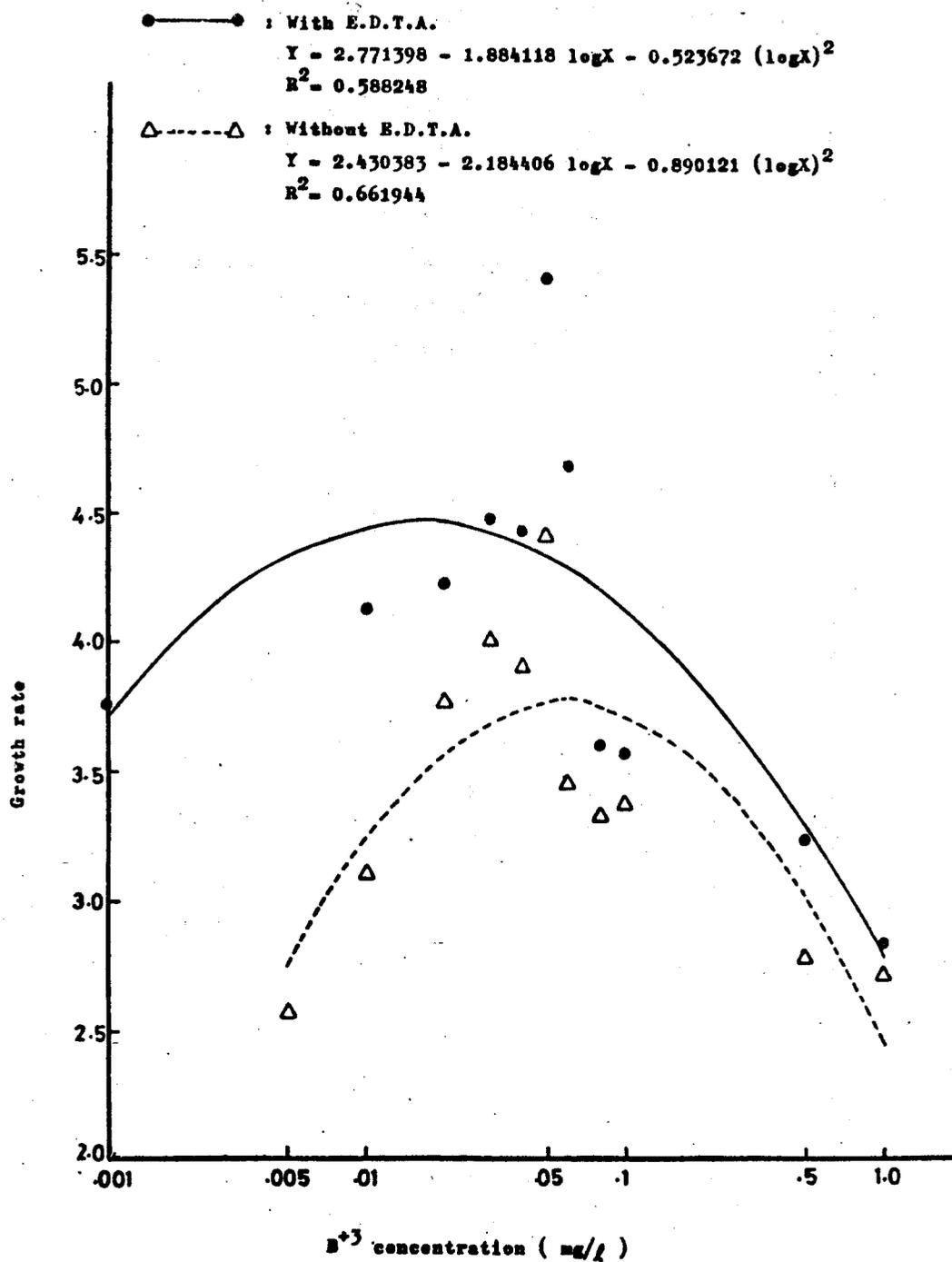


Fig.2 : Growth rate of *Spirulina* versus amount of Boron, as Boric acid, added to various boron-deficiency basal medium in the presence and absence of E.D.T.A.

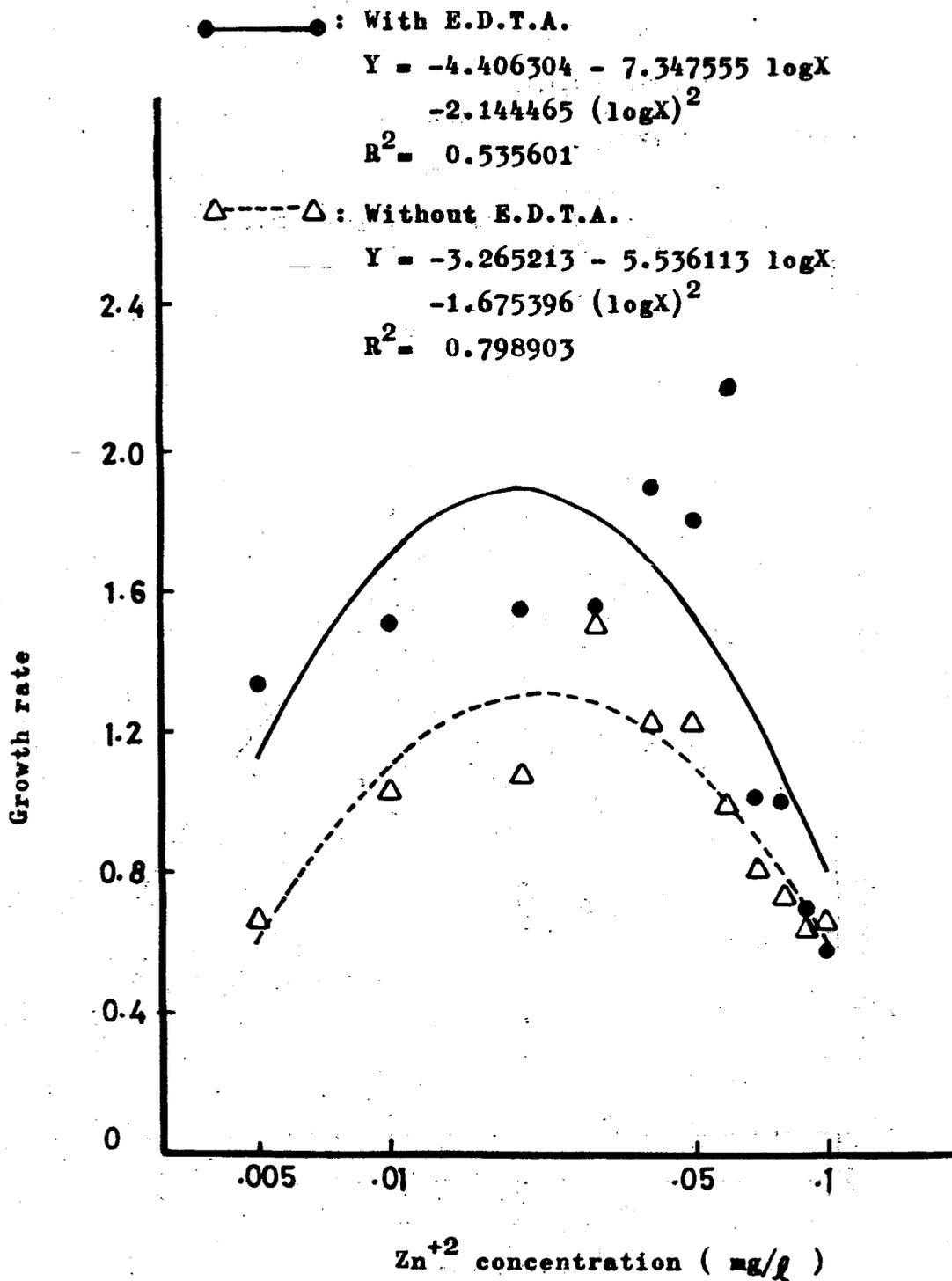


Fig.3 : Growth rate of *Spirulina* versus amount of Zinc, as zinc chloride, added to various zinc-deficiency basal medium in the presence and absence of E.D.T.A.

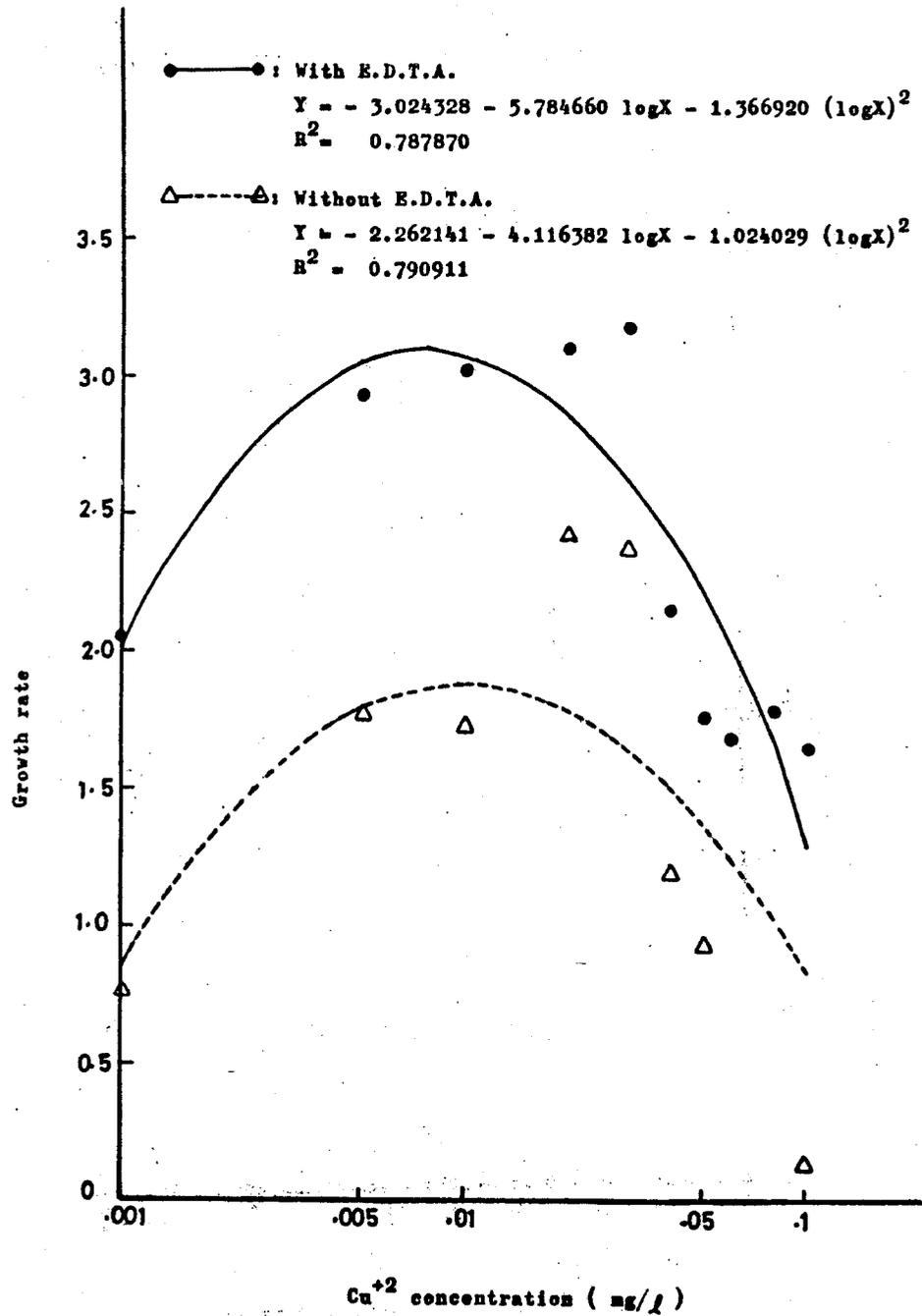


Fig.4 : Growth rate of *Spirulina* versus amount of Copper, as cupric sulfate, added to various copper-deficiency basal medium in the presence and absence of E.D.T.A.

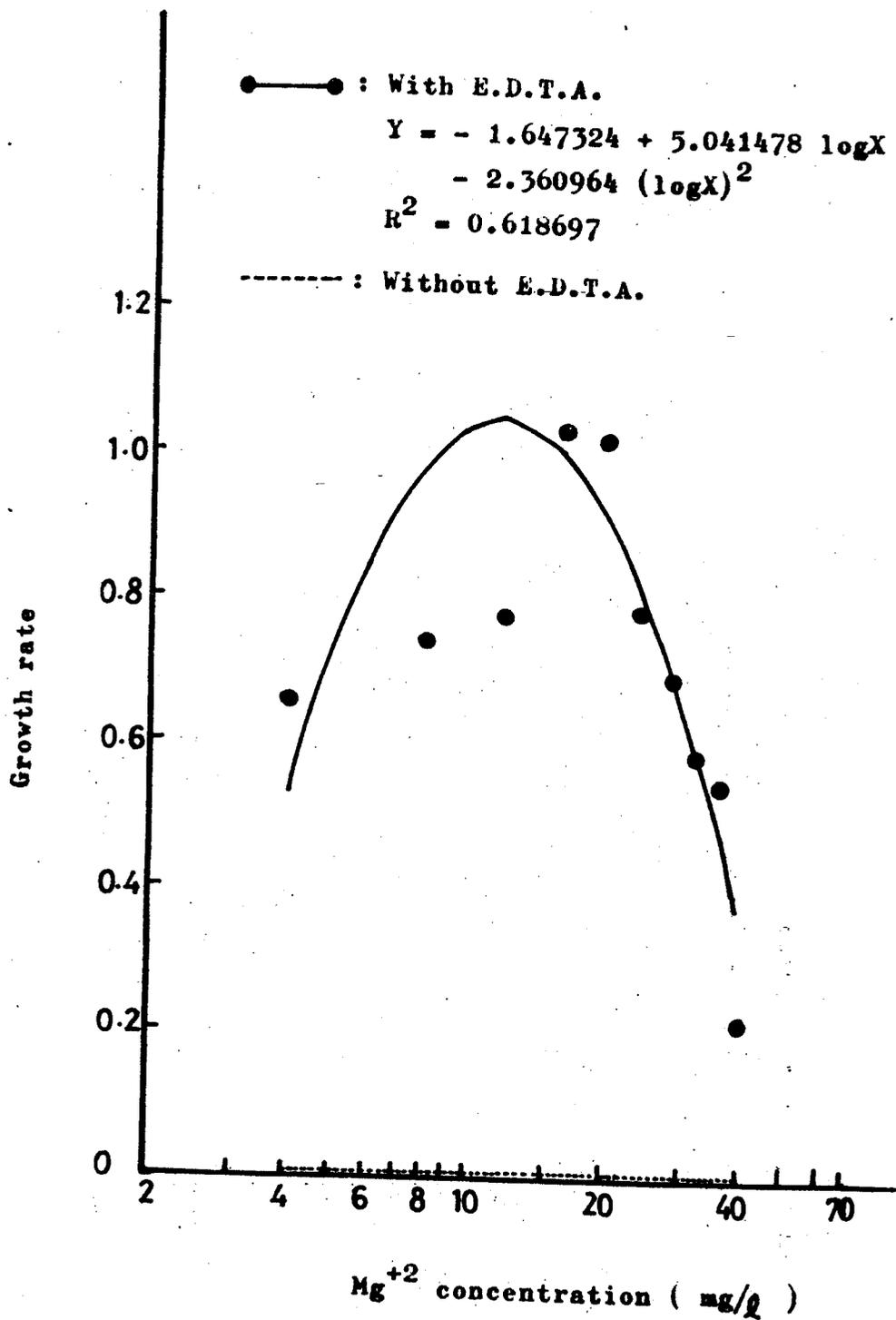


Fig.5 : Growth rate of *Spirulina* versus amount of Magnesium, as magnesium sulfate, added to various magnesium-deficiency basal medium in the presence and absence of E.D.T.A.

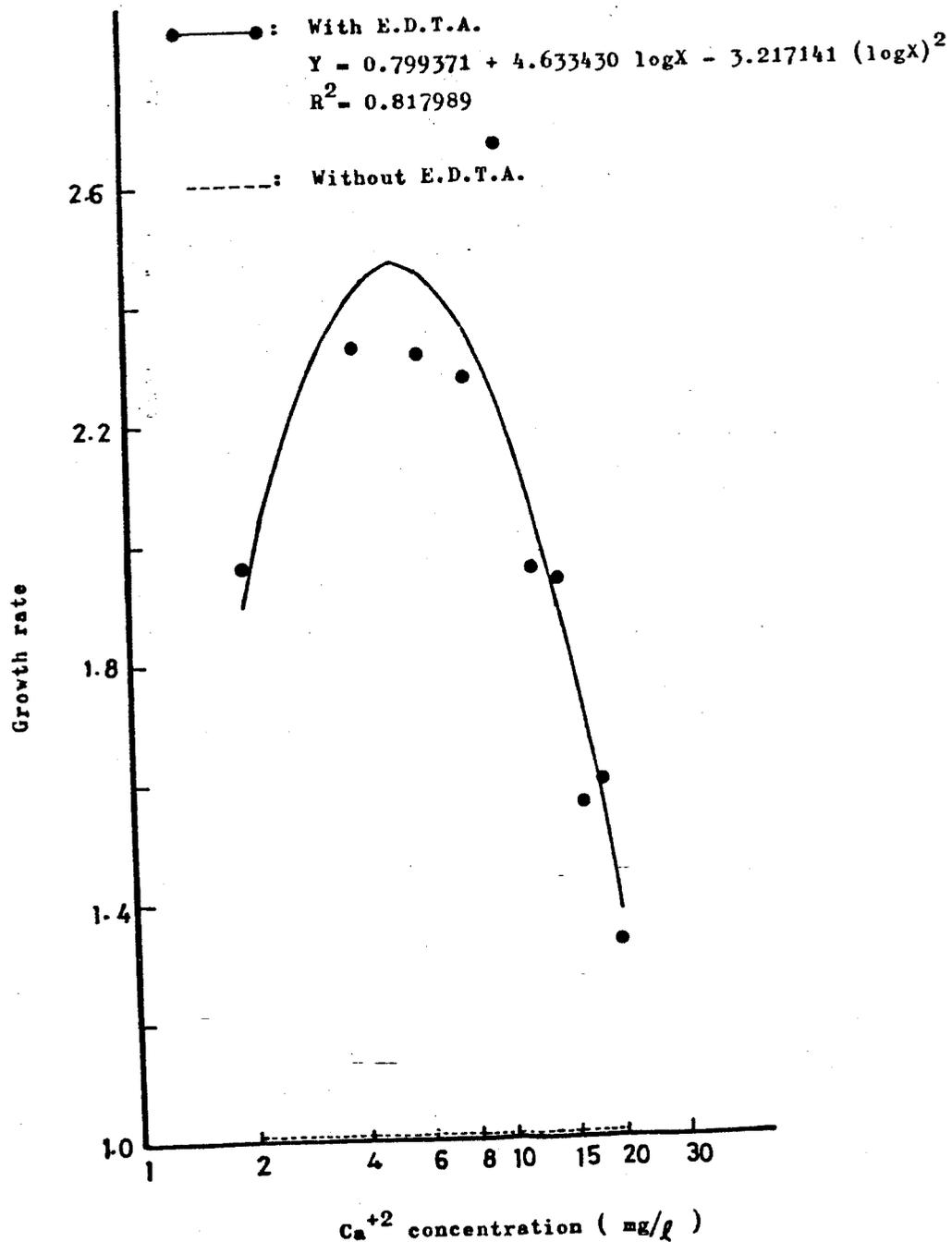


Fig.6 : Growth rate of *Spirulina* versus amount of Calcium, as calcium chloride dihydrate, added to various calcium-deficiency basal medium in the presence and absence of E.D.T.A.

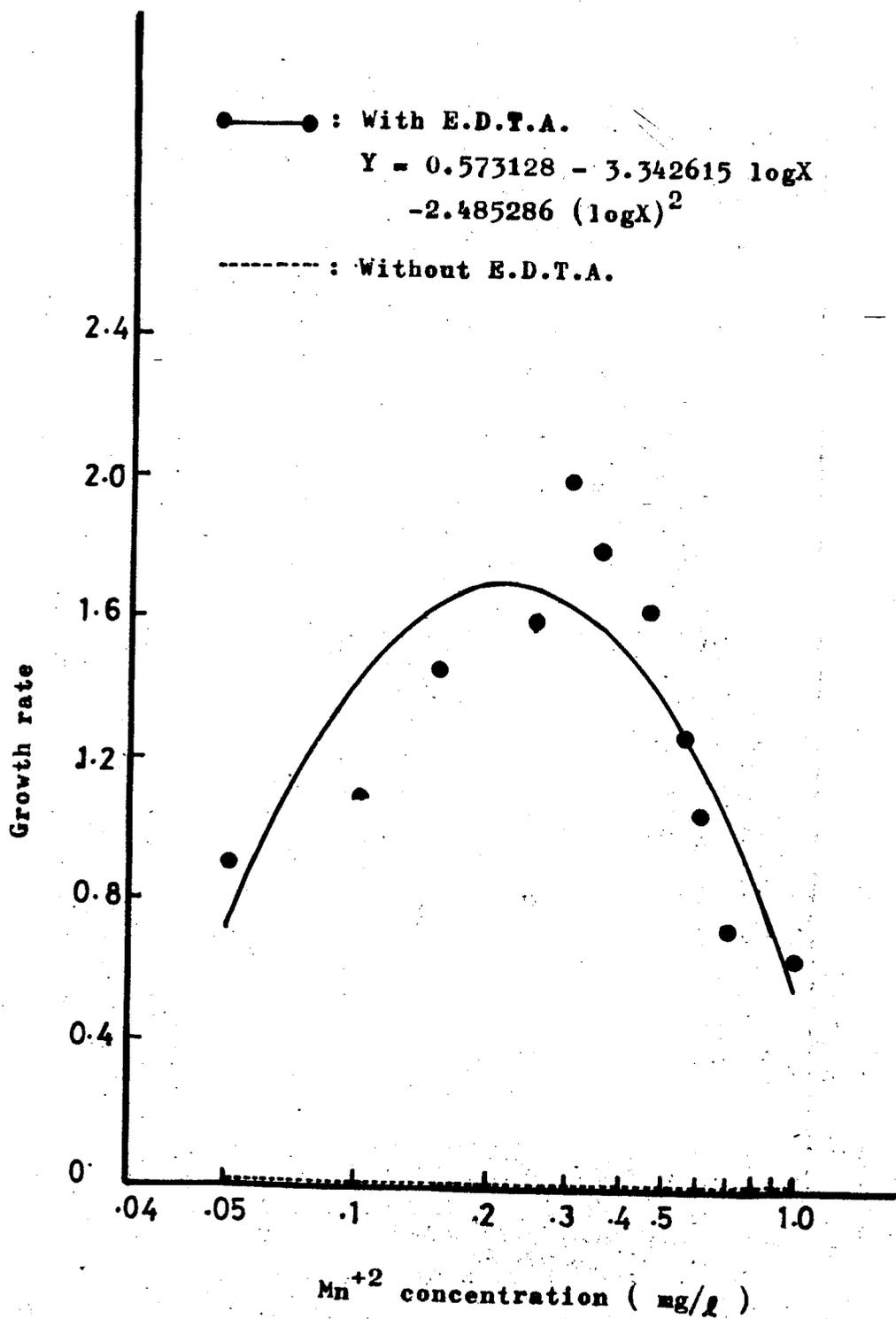


Fig.7 : Growth rate of *Spirulina* versus amount of Manganese, as manganese chloride, added to various manganese-deficiency basal medium in the presence and absence of E.D.T.A.

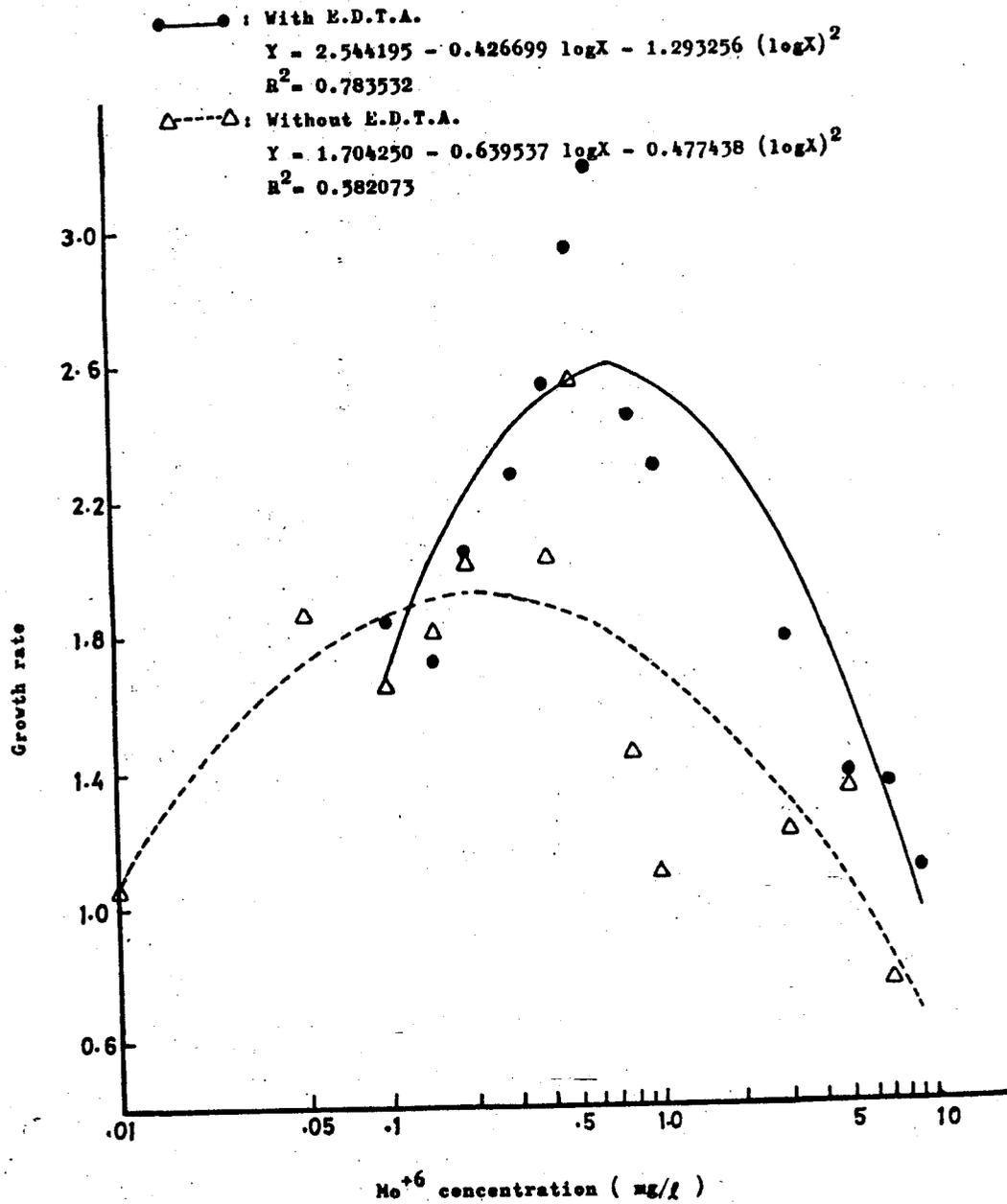


Fig.8 : Growth rate of *Spirulina* versus amount of Molybdenum, as molybdic anhydride, added to various molybdenum-deficiency basal medium in the presence and absence of E.D.T.A.

Table 2. Analysis of multiple regression of different cationic concentrations on *Spirulina* growth.

Cation	Medium	Sample size	F
Fe ⁺²	+ E.D.T.A.	14	11.808 ^{**}
	- E.D.T.A.	10	5.635 [*]
B ⁺³	+ E.D.T.A.	11	5.715 [*]
	- E.D.T.A.	11	7.831 [*]
Zn ⁺²	+ E.D.T.A.	11	4.613 [*]
	- E.D.T.A.	11	15.892 ^{**}
Cu ⁺²	+ E.D.T.A.	10	12.999 ^{**}
	- E.D.T.A.	9	11.348 ^{**}
Mg ⁺²	+ E.D.T.A.	10	6.679 [*]
Ca ⁺²	+ E.D.T.A.	10	15.730 ^{**}
Mn ⁺²	+ E.D.T.A.	11	11.236 ^{**}
Mo ⁺⁶	+ E.D.T.A.	13	18.403 ^{**}
	- E.D.T.A.	12	6.267 [*]

** : Highly significant, P < 0.01

* : Significant, P < 0.05

+ : With , - : Without

Table 3. The available ranges of ionic conc., the expected optimal conc., and the predicted optimal growth rates for *Spirulina platensis*.

Cation	Medium	Available range of ionic conc. (mg/l)	The optimal conc. (mg/l)	The optimal growth rate	Growth rate of control
Fe ⁺²	+ E.D.T.A.	0.038 — 15.892	0.744	1.627	0.161
	- E.D.T.A.	0.060 — 9.827	0.768	0.281	- 0.247
B ⁺³	+ E.D.T.A.	1.909×10^{-5} — 13.225	0.016	4.466	3.386
	- E.D.T.A.	5.186×10^{-4} — 6.778	0.059	3.771	1.757
Zn ⁺²	+ E.D.T.A.	2.232×10^{-3} — 0.168	0.019	1.887	0.886
	- E.D.T.A.	2.912×10^{-3} — 0.170	0.022	1.308	- 0.076
Cu ⁺²	+ E.D.T.A.	2.396×10^{-4} — 0.245	0.0077	3.095	1.831
	- E.D.T.A.	4.008×10^{-4} — 0.238	0.0098	1.875	- 0.98
Mg ⁺²	+ E.D.T.A.	2.528 — 54.032	11.687	1.044	0.672
Ca ⁺²	+ E.D.T.A.	0.699 — 39.439	5.25	2.468	1.964
Mn ⁺²	+ E.D.T.A.	0.032 — 1.425	0.213	1.697	0.898
Mo ⁺⁶	+ E.D.T.A.	2.65×10^{-2} — 17.676	0.684	2.579	1.47
	- E.D.T.A.	2.117×10^{-3} — 21.612	0.214	1.918	0.684

+ : With , - : Without

Table 4. The result of pairing method to test the significance of medium in the presence and absence of E.D.T.A.

Cation	Fe ⁺⁺	B ⁺	Zn ⁺⁺	Cu ⁺⁺	Mg ⁺	Ca ⁺⁺	Mn ⁺⁺	Mo ⁺⁺
t-value	3.72**	4.939**	3.72**	10.287**	7.657**	15.248**	9.659**	3.288**

** : Highly significant, $P < 0.01$

討 論

微量元素對藻類生長是不可缺乏的營養塩，其量雖微但却不能為其它的無機塩所取代。本文所討論的是一些二價，多價金屬離子以及硼，這些元素皆參與許多代謝作用，一旦缺乏，不但影響代謝作用的進行，亦使藻體的生長受阻。

鐵是許多酵素，細胞色素等的組成要素，一旦缺乏，生長立刻停頓，而藻體生長所需之最適需求量則隨著種類而不同，螺旋藻對Fe⁺⁺ (FeSO₄)的利用，以medium內含有E.D.T.A.者為高，此符合Walker (1954)⁹⁾所作*Chlorella*在glucose-urea-E.D.T.A.-salt中對Fe⁺⁺的利用，較在glucose-urea-salt內之利用為大，即E.D.T.A.的存在可提高Fe⁺⁺的有效利用性。Goldberg (1952)⁹⁾指出：medium內加入Fe後，1天之內會有80~90%的鐵附著在玻璃管壁上，而使其有效性降低。Hayward (1969)⁹⁾作*Phaeodactylum*試驗時，有50%的鐵離子沒法被藻體所吸收利用，且隨著medium內Fe⁺⁺添加量之增加，管壁上之附著量亦增加，又在鹼性培養液中，Fe⁺⁺易形成Fe(OH)₃之微粒，而不能為藻體所利用。故為了減少Fe⁺⁺的沈澱，增加其有效性，添加E.D.T.A.是必須的。

硼為微量元素中唯一非金屬元素，藻類對硼的缺乏，很少有明顯的病徵產生。對螺旋藻而言，其有效利用性與Fe⁺⁺相同，皆因E.D.T.A.的存在而提高，而有效濃度的範圍很廣，濃度上限幾為下限的 6.9×10^4 ，超過濃度上限，硼的毒性作用才會顯出。Greenfield (1942)¹⁰⁾作無機塩對光合作用的抑制作用時指出：H₂BO₃對*Chlorella*的毒性很低，須在較高濃度下，才有抑制作用，與本試驗有雷同之處。

鋅是參與光合作用CO₂固定機制中的元素⁷⁾，缺乏時會阻礙Chlorophyll的合成，及光合作用的進行，但若濃度過高，則有強烈的毒害作用產生。Chipman, et al (1958)¹¹⁾指出：*Nitzschia*對Zn⁺⁺的吸收很迅速，是在最先的1小時內，若medium內仍留有有效的Zn⁺⁺，則cells會繼續的吸收，而將鋅積聚在藻體內，這些留在體內的Zn，幾乎是不可交換的，但若medium內的Zn⁺⁺濃度太高，會傷害cells，而停止對Zn⁺⁺的吸收。故在medium內加入E.D.T.A.，藉著chelation的作用，而將多餘的Zn⁺⁺變成unavailable，以減少毒害作用。鎌谷等⁹⁾作矽藻的鋅吸取試驗時，亦指出medium內含有E.D.T.A.者，藻體內所分析出之Zn⁺⁺濃度，皆較medium無E.D.T.A.者為低。在本試驗中，Zn⁺⁺的有效利用濃度，皆在0.2 p.p.m.以內，但medium內無E.D.T.A.者，藻體長度只有30~50 μ，且Zn⁺⁺濃度愈高，藻長度愈短，而medium內添加E.D.T.A.者，則無此現象，藻長皆在200 μ以上，且成長佳。另以5 p.p.m.及11 p.p.m.之高濃度鋅添入medium內，發現medium內無E.D.T.A.者在第二天藻體生長即告停頓，而含有E.D.T.A.者，則在一星期後，才停止生長。

銅為代謝過程中多種酵素的致活劑，其對藻類的毒性很強，對*Chlorella vulgaris*而言，CuSO₄ 10⁻⁷ M即產生抑制作用，5 × 10⁻⁸ M下，光合作用減少50%¹⁰⁾其Cu⁺⁺濃度約在0.3 p.p.m.

。在本試驗中，有效 Cu^{+2} 之濃度上限在 0.25 p.p.m. 以內，最佳生長濃度在 0.01 p.p.m. 以內，是所有試驗離子中，濃度最低的一組，亦即 Cu^{+2} 的毒性作用最強。

鎂與鈣是微量元素中需求量較多的金屬離子，鎂乃構成葉綠素分子之唯一金屬離子，其支配磷酸鹽的代謝作用，進而間接影響藻體的呼吸機制¹²⁾，並是多種酵素的致活劑，過量存在會產生毒害作用。鈣的主要作用在於細胞膜、細胞壁，以及細胞間的滲透作用¹³⁾。Halldal (1956)¹⁴⁾指出 Ca^{+2} 與 Mg^{+2} 之間對 phototaxis 具有拮抗作用 (antagonistic effect)，*platyomonas* 在 $\text{Ca}^{+2}:\text{Mg}^{+2}$ 值大於 1:6 時，是正趨光性 (positive)，小於 1:6 時是 negative。在此試驗中，最適需求量的 Ca^{+2} ， Mg^{+2} 之比值為 1:2.2，螺旋藻藉著粘液 (mucilage) 的流動有 active motion 之現象¹⁵⁾，而其所具之強烈上浮性與趨光性間是否有關聯，有待進一步的實驗。又試驗中發現 Ca^{+2} 、 Mg^{+2} 二種離子的作用，皆須在 E.D.T.A. 存在狀況下，才發揮其有效性，否則藻體的生長完全被抑制，此與 Walker²⁾ 所作的 *Chlorella*，有相反的結果，此可能是因不同藻類所具有的特異性所引起的，而 E.D.T.A. 與 Ca^{+2} 、 Mg^{+2} 離子間對螺旋藻的相互作用，有待更進一步的探討。

錳的主要作用在參與光合作用中氧的放出機制，故為行自營性生活的藻類所不可缺乏的元素，一旦缺乏，易引起 Chlorophyll 被光所破壞，光合作用降低，萎黃症產生¹⁶⁾。錳對螺旋藻的作用與 Ca^{+2} 、 Mg^{+2} 相似，須在有 E.D.T.A. 存在下，其有效性才能顯出。Hayward (1969)⁹⁾ 指出 *Phaeodactylum* 在 medium 內含有 3 p.p.m. 之 Mn^{+2} 時，尚能生長，而螺旋藻只能忍受到 1.425 p.p.m. 超過此濃度，生長即成負值，*Phaeodactylum* 對 Mn^{+2} 的吸收與對 Fe^{+2} 不太相同，對 Fe^{+2} 是在培養期前幾天，吸收即達飽和，當細胞繼續分裂時，體內的 Fe^{+2} 就分配至新生細胞，而不再吸收 medium 內的 Fe^{+2} ，而對 Mn^{+2} 則最先的吸收很慢，需要很多天才能達到飽和，而後亦不再吸收，而且 Mn^{+2} 在培養期間可能由 cell 內流回 medium 內，螺旋藻是否具有如斯的特性，有待進一步的分析。

鉬之主要作用在使氮作有效的利用，缺乏時不但會影響 nitrate 的還原作用，亦會影響蛋白質的合成⁷⁾，以 *Chlorella* 而言，鉬的需要，只有在 cells 以 nitrate 作為主要的氮源時²⁾，Wolfe¹⁷⁾ 亦指出：當 N 源為 NH_4Cl 時， Mo^{+6} 對 *Anabaena cylindrica* 之成長沒有影響作用。在螺旋藻所用的基本合成培養基中，亦是以 NaNO_3 作為主要的氮源，故以化學肥料培養時， Mo 為一必須元素，而以豬糞尿發酵液培養時，N 源為 NH_4^+ ，其對 Mo^{+6} 的需求，就非是必須的。

綜觀上述，所有的微量元素試驗中，medium 內添加 E.D.T.A. 皆會使離子的有效利用性增大，最適需求量降低，濃度範圍增大，但僅在 Mo 組，結果却不太相同，其有效濃度範圍及最適需求量，皆以 medium 內不添加 E.D.T.A. 者為大，此是否因 Mo^{+6} 對 E.D.T.A. 的親和力強於其它離子，有待進一步的研究。

摘 要

- 本試驗主要在探討螺旋藻對於 Fe 、 B 、 Zn 、 Cu 、 Mg 、 Ca 、 Mn 及 Mo 八種微量元素之需求，並以復迴歸分析法求出其生長關係式，及最適需求量。
- 1 各種微量元素對藻體生長率的關係，均為顯著，其決定係數 R^2 ，均在 0.50 以上。
 - 2 E.D.T.A. 對各種微量元素之有效利用性，具有高度的影響力， $P < 0.01$ 。
 - 3 medium 內含 E.D.T.A.，螺旋藻對各種離子的最適需求量如下： Fe^{+2} ，0.744 p.p.m.； B^{+3} ，0.016 p.p.m.； Zn^{+2} 0.019 p.p.m.； Cu^{+2} ，0.0077 p.p.m.； Mg^{+2} ，11.687 p.p.m.； Ca^{+2} 5.25 p.p.m.； Mn^{+2} 0.213 p.p.m.； Mo^{+6} 0.684 p.p.m.
 - 4 medium 內無 E.D.T.A. 螺旋藻對各種離子的最適需求量如下： Fe^{+2} 0.768 p.p.m.； B^{+3} 0.059 p.p.m.； Zn^{+2} 0.022 p.p.m.； Cu^{+2} 0.0098 p.p.m.； Mo^{+6} 0.214 p.p.m.。
 - 5 Mg^{+2} 、 Ca^{+2} 與 Mn^{+2} 三種離子與 E.D.T.A. 間的相互作用，大於此三種離子對螺旋藻之單獨作用。

謝 辭

本試驗是在「70 農建-5·1-產-72④糞尿培養螺旋藻及其在水產養殖上之利用計劃」項下完成，試驗期間承楊維德先生指導統計分析，及丁分所長雲源的惠予校閱，在此一併致謝。

參 考 文 獻

1. 蔡碧心、林峰生 (1979) : 利用豬糞尿發酵液培養螺旋藻及其在水產養殖上之利用。省水產試驗所試驗報告, No 31. pp. 455 ~ 465.
2. Walker, J. B. (1953) : Inorganic micronutrient requirements of *Chlorella*. I. Requirements for Calcium (or Strontium), Copper and Molybdenum. Arch. Biochem. Biophys. 46, 1 - 11.
3. Walker, J. B. (1954) : Inorganic micronutrient requirements of *Chlorella*. II. Quantitative requirement for iron, manganese, and zinc. Arch. Biophys. 53, 1 - 8.
4. 鎌谷明善、高橋幹夫、森田良美 (1979) : 海產珪藻による亞鉛の吸収について。日本誌, 45 (6), 715 - 719.
5. 劉慧英 (1976) : 新蛋白源—藍綠藻, 中國水產。No 278。
6. 葉樹藩 (1974) : 試驗設計學, 第一部份生物統計學。
7. Lewin, R. A. (1962) : Physiology and Biochemistry of Algae.
8. Goldberg, E. D. (1952) : Iron assimilation by marine diatoms. Biol. Bull. 102, 243 - 248.
9. Hayward, J. (1969) : Studies on the growth of *Phaeodactylum tricornutum*. V. The relationship to iron, manganese, and zinc. J. mar. biol. Ass. U. K. 49, 439 - 446.
10. Greenfield, S. S. (1942) : Inhibitory effects of inorganic compounds on photosynthesis in *Chlorella*. Am. J. Botany. 29, 121 - 131.
11. Chipman, W. A., Rice, T. R. and Price, T. J. (1958) : Uptake and accumulation of radioactive zinc by marine plankton, Fish and Shellfish. Fishery Bull. U. S. Fish Wildlife Service, Vol. 58, pp. 279 - 292.
12. 易希道 (1964) : 植物生理。
13. Round, F. E. (1973) : The biology of the algae.
14. Halldal, P. (1956) : Importance of Calcium and Magnesium ions in phototaxis of motile green algae. Nature. Vol. 179. pp 215.
15. Prescott, G. W. (1964) : How to know the fresh water algae. U.S.A.
16. Eyster, C., Brown, T. E., Tanner, H. and Hood, S. L. (1958b) : Manganese requirement with respect to growth, Hill reaction and photosynthesis. Plant physiol. 33, 235 - 241.
17. Wolfe, M. (1954a) : The effect of molybdenum upon the nitrogen metabolism of *Anabaena cylindrica*. I. A study of the molybdenum requirement for nitrogen fixation and for nitrate and ammonia assimilation. Ann. Botany (London) 18, 299-308.