

# 营养盐对东海浮游植物生长影响的现场培养实验

李雁宾<sup>1,2</sup>, 韩秀荣<sup>1</sup>, 胡跃诚<sup>4</sup>, 王修林<sup>1</sup>, 祝陈坚<sup>1</sup>, 李瑞香<sup>3</sup>

(1. 中国海洋大学 海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室, 山东 青岛 266100; 2. 中国海洋大学 环境科学与工程学院, 山东 青岛 266100; 3. 国家海洋局第一研究所, 山东 青岛 266061; 4. 青岛市环境监测中心站, 山东 青岛 266003)

**摘要:** 2005年6月在东海赤潮高发区通过现场培养实验探讨了NO<sub>3</sub>-N和PO<sub>4</sub>-P对浮游植物生长的影响。结果表明,在培养期间,初始浓度NO<sub>3</sub>-N 11.98 μmol·L<sup>-1</sup>, PO<sub>4</sub>-P 0.16 μmol·L<sup>-1</sup>以上时,总细胞数可以达到赤潮数量。培养期间主要优势种为米氏凯伦藻、东海原甲藻和中肋骨条藻。NO<sub>3</sub>-N和PO<sub>4</sub>-P的初始浓度为23.82 μmol·L<sup>-1</sup>及0.41 μmol·L<sup>-1</sup>以上时,东海原甲藻最大细胞数可以达到10<sup>6</sup>·L<sup>-1</sup>,当NO<sub>3</sub>-N和PO<sub>4</sub>-P浓度分别增至50.34 μmol·L<sup>-1</sup>和2.32 μmol·L<sup>-1</sup>时,米氏凯伦藻和中肋骨条藻最大细胞数也可达到10<sup>6</sup>·L<sup>-1</sup>。初步判定几种浮游植物对营养盐的需求不同,其中中肋骨条藻与米氏凯伦藻要求较高,东海原甲藻次之,双角多甲藻要求最低。

**关键词:** 现场培养; 营养盐; 米氏凯伦藻; 东海原甲藻; 中肋骨条藻

**中图分类号:** Q945.78; X55 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-6336(2008)02-0113-05

## Test on effects of nutrients on growth of phytoplankton in East China Sea in situ

LI Yan-bin<sup>1,2</sup>, HAN Xiu-rong<sup>1</sup>, HU Yue-cheng<sup>4</sup>, WANG Xiu-lin<sup>1</sup>, ZHU Chen-jian<sup>1</sup>, LI Rui-xiang<sup>3</sup>

(1. Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 3. The First Institute of Oceanography, SOA, Qingdao 266061, China. 4. Qingdao Environmental Monitoring Central Stations, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** The effects of nitrate and phosphorus on the growth of phytoplankton were investigated in the East China Sea in Jun. 2005. The results showed that the total phytoplankton density could achieve the HABs density during the experiment as the nitrate and phosphorus concentrations were above 11.98 μmol/L and 0.16 μmol/L. During the culturing period, *Karenia mikimotoi*, *Prorocentrum donghaiense* and *Skeletonema costatum* were the dominant species. The maximum cell density of *Prorocentrum donghaiense* achieved 10<sup>6</sup> ind./L as the nitrate and phosphorus concentrations were respectively above 23.82 μmol/L and 0.41 μmol/L, while *Skeletonema costatum* and *Karenia mikimotoi* would not reached it unless the nitrate and phosphorus concentrations achieved 50.34 μmol/L and 2.32 μmol/L. In addition, the demands of nutrients by *S. costatum* and *K. mikimotoi* were higher than *P. donghaiense*, while the lowest was *Peridinium bipes*.

**Key words:** field culture experiments; nutrients; *Karenia mikimotoi*; *Prorocentrum donghaiense*; *Skeletonema costatum*

近年来,中国近岸富营养化程度不断加剧。东海沿岸地区由于长江径流等携带大量的营养盐,造成营养盐含量较高,赤潮发生次数占全国有记录总数的45%左右<sup>[1]</sup>。有害赤潮发生是物理、化学、生物和气候等各方面因素综合作用的结果<sup>[2,3]</sup>,而不是由单一因素决定的。

在众多要素中,营养盐是赤潮发生的首要物质基础<sup>[4]</sup>,因此研究营养盐对浮游植物生长的影响对探究赤潮的成因和发展具有重要的理论意义和实用价值。

中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)、东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)是东海赤潮主要肇事种。近年

收稿日期:2006-05-17,修订日期:2006-08-23

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目(2001CB409703);国家自然科学基金(40376033);国际科技合作重点项目(2004DFA03600)

作者简介:李雁宾(1982-),男,山东省烟台市人,中国海洋大学博士研究生,主要从事海洋环境生态学研究。

通讯作者:王修林 E-mail:xlwang@mail.ouc.edu.cn

来,几乎每年春天都有东海原甲藻赤潮发生<sup>[5,6]</sup>,6~8月份中肋骨条藻赤潮也频繁发生<sup>[5,7]</sup>。2005年5~6月东海发生了大规模的甲藻赤潮<sup>[8]</sup>,且有米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)到东海原甲藻的演替现象发生<sup>[9]</sup>。本文通过现场培养实验探讨了 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4\text{-P}$ 对东海浮游植物生长的影响,为解释东海赤潮的发生和优势种的演替提供一定的实验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 现场培养方法

调查船为“浙海环监号”,培养站位为赤潮区 Zd21 ( $27^{\circ}53.2'\text{N}$ ,  $121^{\circ}47.5'\text{E}$ ),培养时间 2005-06-04 ~ 2005-06-13。表层海水经孔径  $200\ \mu\text{m}$  的筛绢过滤后<sup>[10,11]</sup>,分装于6个5L透光塑料桶中,编号为N1~N6。通过外加 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4\text{-P}$ 的方法调整各培养桶的营养盐,营养盐初始浓度如表1所示。置于甲板上海水流水浴中培养,每天摇瓶2~3次。

### 1.2 样品分析

每天摇匀后定时取样,溶解无机态营养盐用GF/F玻璃纤维滤膜过滤后,除 $\text{SiO}_4\text{-Si}$ 加 $\text{HgCl}_2$ 后常温保存外,其

表1 现场培养试验中营养盐初始浓度

Tab.1 Initial concentration of nutrients in field experiment

实验编号	$c/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$					N:P:Si
	$\text{SiO}_4\text{-Si}$	$\text{PO}_4\text{-P}$	$\text{NO}_2\text{-N}$	$\text{NO}_3\text{-N}$	$\text{NH}_4\text{-N}$	
N1	12.06	0.12	0.25	0.21	1.69	18:1:100
N2	12.28	0.13	0.11	4.77	1.35	48:1:95
N3	12.28	0.16	0.09	11.98	1.51	84:1:76
N4	12.39	0.41	0.11	23.82	1.79	63:1:30
N5	12.11	1.11	0.19	36.87	1.38	35:1:11
N6	11.91	2.32	0.10	50.34	1.76	22:1:5

它都冷冻保存。滤膜黑暗处冷冻保存用于测定叶绿素a。浮游植物水样用Lugol碘液固定。

营养盐采用BRAN+LUEBBE AA3营养盐自动分析仪测定。叶绿素a利用Turner Designs 10荧光计荧光分光光度法测定<sup>[12]</sup>。浮游植物的种类及细胞数在显微镜下镜检分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 培养期间理化性质的变化

实验期间的水温 $22.6\sim 25.3^{\circ}\text{C}$ ,平均为 $23.53^{\circ}\text{C}$ 。

图1为不同初始营养盐浓度下培养体系中溶解无机营养盐的变化趋势。由图可见, $\text{SiO}_4\text{-Si}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 和 $\text{NO}_3\text{-N}$

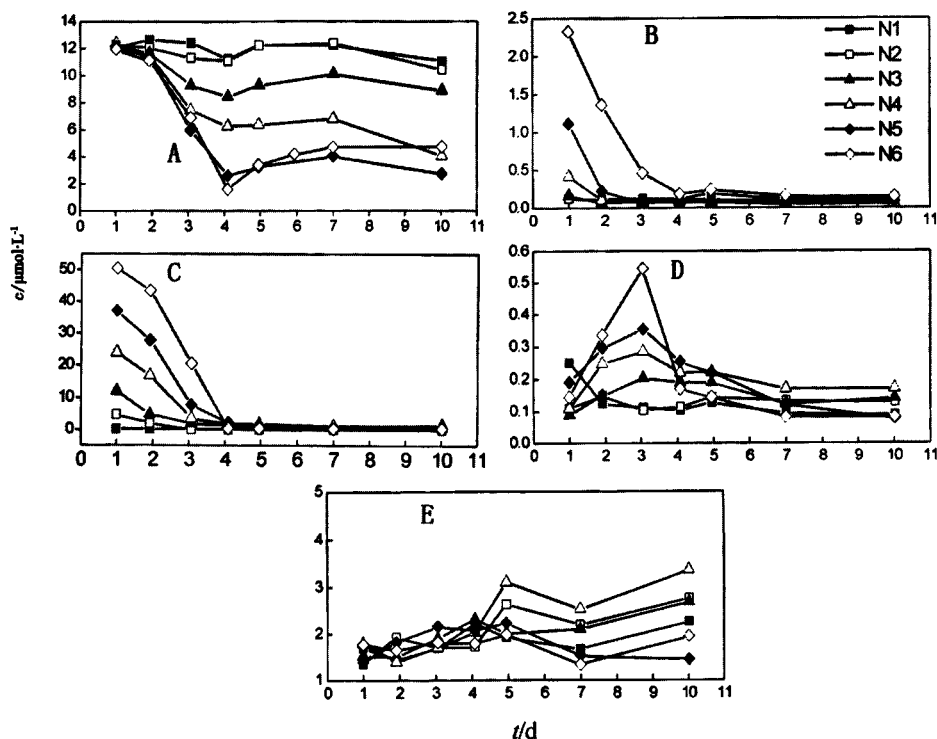


图1 现场培养实验中营养盐浓度的变化

(A,  $\text{SiO}_4\text{-Si}$ ; B,  $\text{PO}_4\text{-P}$ ; C,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ; D,  $\text{NO}_2\text{-N}$ ; E,  $\text{NH}_4\text{-N}$ )

Fig.1 Changes of nutrients in field culture experiment

变化规律类似;N1,N2 试验组浓度变化不大外,其它试验组中浓度均呈下降趋势,且基本在第 3~4 d 降至最低值(图 1A~C)。SiO<sub>4</sub>-Si 各浓度梯度下培养结束时仍在 2 μmol·L<sup>-1</sup>以上(图 1A),因此可以认为培养过程中硅藻的生长基本不受硅限制。PO<sub>4</sub>-P N3,N4,N5 梯度下培养结束时几乎消耗殆尽(< 0.08 μmol·L<sup>-1</sup>)。N6 由于其 N:P 比相对较小,培养结束时 PO<sub>4</sub>-P 的浓度仍有 0.14 μmol·L<sup>-1</sup>(图 1B)。NO<sub>3</sub>-N N3,N4 试验组 N:P 比较大,培养结束时其 NO<sub>3</sub>-N 还剩余 0.71 μmol·L<sup>-1</sup>和 1.51 μmol·L<sup>-1</sup>。而 N5,N6 ,N2 试验组的 N:P 相对较小,培养结束时 NO<sub>3</sub>-N 分别仅剩余 0.60 μmol·L<sup>-1</sup>、0.25 μmol·L<sup>-1</sup>和低于检测限(图 1C)。除 N1,N2 试验组外,NO<sub>2</sub>-N 的浓度均表现出了不同程度的增加趋势,至第 3 d 达到最大,且营养盐的初始浓度越高,其增加幅度越大。此后,NO<sub>2</sub>-N 的浓度开始下降(图 1D)。这可能主要是由于刚开始时藻细胞中大量 NO<sub>3</sub>-N 被还原成 NO<sub>2</sub>-N,造成细胞内 NO<sub>2</sub>-N 供大于求,一些 NO<sub>2</sub>-N 被藻细胞释放到水体中。N3-N6 试验组中 NO<sub>2</sub>-N 的浓度随其中初始 NO<sub>3</sub>-N 浓度的增加而增大也证明了这一点。培养后期培养液中的 NO<sub>3</sub>-N 消耗殆尽后,藻细胞又利用水体中的 NO<sub>2</sub>-N,致使其浓度下降。吕

嘉扬等<sup>[13]</sup>的实验室培养结果也表明 NO<sub>2</sub>-N 有类似的变化规律。相对于其它营养盐,氨盐浓度变化不大,且没有明显的变化规律(图 1E)。

2.2 NO<sub>3</sub>-N 和 PO<sub>4</sub>-P 对浮游植物生长的影响

2.2.1 NO<sub>3</sub>-N 和 PO<sub>4</sub>-P 对浮游植物总生物量的影响

图 2 表示不同营养盐浓度下,水样中叶绿素 a 含量和浮游植物总数的变化情况。利用有衰减过程的 Logistic 方程<sup>[14]</sup>非线性拟和得到浮游植物的终止生物量(B<sub>f</sub>)和最大生长速率(μ<sub>max</sub>)(表 2)。由表 2 可知,NO<sub>3</sub>-N 及 PO<sub>4</sub>-P 浓度为 11.98 μmol·L<sup>-1</sup>及 0.16 μmol·L<sup>-1</sup>以上时,叶绿素 a 的浓度及浮游植物的总细胞数的变化趋势均表明水体中生物量呈增长趋势,且随着 NO<sub>3</sub>-N 和 PO<sub>4</sub>-P 浓度的增大,浮游植物终止生物量和最大生长速率不断变大。当 NO<sub>3</sub>-N 和 PO<sub>4</sub>-P 的浓度为 11.98 μmol·L<sup>-1</sup>及 0.16 μmol·L<sup>-1</sup>以上时,终止藻细胞数可以达到 10<sup>6</sup>·L<sup>-1</sup>,参照日本安达六郎<sup>[15]</sup>的赤潮标准,水样中总藻细胞数达到了赤潮数量。当 NO<sub>3</sub>-N 和 PO<sub>4</sub>-P 的浓度为 50.34 μmol·L<sup>-1</sup>及 2.32 μmol·L<sup>-1</sup>以上时,水样中终止藻细胞数甚至可达到 10<sup>7</sup>·L<sup>-1</sup>(见表 2)。

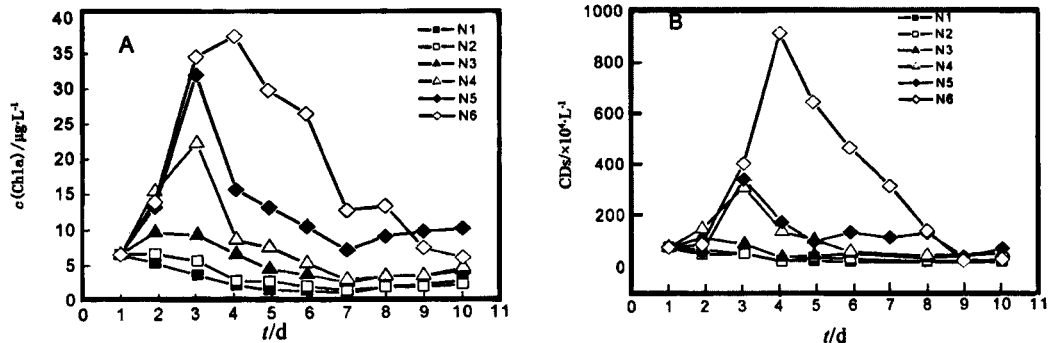


图 2 各营养盐梯度下浮游植物的生长

Fig. 2 Growth curves of phytoplankton in different nutrient level

表 2 拟和得终止生物量和最大生长速率

Tab. 2 Final biomass and the maximum growth velocity by fitting

参数	实验编号					
	N1	N2	N3	N4	N5	N6
B <sub>f</sub> (Chl-a)/μg·L <sup>-1</sup>	2.09	7.29	10.19	37.00	41.49	55.41
μ <sub>max</sub> (Chl-a)	0.06	1.98	6.99	13.37	14.08	20.75
R <sup>2</sup>	0.9995	0.9820	0.9778	0.9623	0.9232	0.9719
B <sub>f</sub> (细胞数)/×10 <sup>4</sup> ·L <sup>-1</sup>	30.01	26.49	107.96	364.08	447.19	1567.22

2.2.2 NO<sub>3</sub>-N 和 PO<sub>4</sub>-P 对浮游植物优势种生长的影响

培养过程中甲藻门的东海原甲藻、米氏凯伦藻和双角多甲藻(Peridinium bipes),硅藻门的拟菱形藻(Pseudo-nitzschia sp.)、中肋骨条藻和角毛藻(Chaetoceros spp.)的细胞数有明显增长,其它藻种没有明显增长或呈下降趋势。其中主要优势种为米氏凯伦藻、东海原甲藻和中肋骨条藻。

图 3 为不同初始浓度的 NO<sub>3</sub>-N 和 PO<sub>4</sub>-P 对上述优势藻种生长的影响。由图可见,各优势藻种的生物量基本都随营养盐浓度增加而增加。在 NO<sub>3</sub>-N 及 PO<sub>4</sub>-P 的初始浓度为 11.98 μmol·L<sup>-1</sup>及 0.16 μmol·L<sup>-1</sup>以上时,东海原甲藻、中肋骨条藻和角毛藻的细胞数有所增长(图 3B~F);当 NO<sub>3</sub>-N 和 PO<sub>4</sub>-P 的浓度增至 23.82 μmol·L<sup>-1</sup>及 0.41 μmol·L<sup>-1</sup>以上时,米氏凯伦藻和拟菱形藻也有所增

长(图3A,3D)。而双角多甲藻即使在N1梯度下也略有生长(图3C)。拟菱形藻和角毛藻细胞数在第3d达最大值( $10^5 \cdot L^{-1}$ ),随培养时间的延长其细胞数开始下降。结合 $NO_3-N$ 和 $PO_4-P$ 浓度在第3~4d降到很低,其细胞数下降主要是由营养盐限制所致。中肋骨条藻和米氏凯伦藻在N6梯度下能达到 $10^6 \cdot L^{-1}$ ,而东海原甲藻在N4梯度下即可达到 $10^6 \cdot L^{-1}$ 。进一步比较N6试验组中这三种浮游植物可知,中肋骨条藻第4d达到最大数量后即迅速下降,米氏凯伦藻能维持 $10^6 \cdot L^{-1}$ 的细胞数3d,而东海原甲藻则可维持5d之多。双角多甲藻虽然密度较低,但在N1梯度下仍能维持生长,N5、N6试验组中持续增长6d之久。这说明不同种类的浮游植物对 $NO_3-N$ 和 $PO_4-P$ 的需求不同。从实验结果可以初步判断上述几个藻种对

$NO_3-N$ 和 $PO_4-P$ 的需求次序为:中肋骨条藻与米氏凯伦藻要求较高,东海原甲藻次之,双角多甲藻要求最低。李瑞香等<sup>[16]</sup>的围隔实验结果也表明营养盐浓度较低情况下东海原甲藻的生长比中肋骨条藻快,但营养盐丰富条件下,中肋骨条藻生长更快,且中肋骨条藻水华持续时间要短。从营养盐需求角度可以为解释2005年东海甲藻赤潮中米氏凯伦藻到东海原甲藻演替的发生提供一定的依据:赤潮发生前期,由于营养盐浓度较高以及环境条件比较适宜米氏凯伦藻的生长,米氏凯伦藻增殖引发赤潮。赤潮的爆发导致营养盐被迅速消耗,对营养盐浓度要求较高的米氏凯伦藻的生长受到限制,密度下降。而对营养盐水平要求相对较低的东海原甲藻还能继续生长,并最终取代米氏凯伦藻成为优势种。

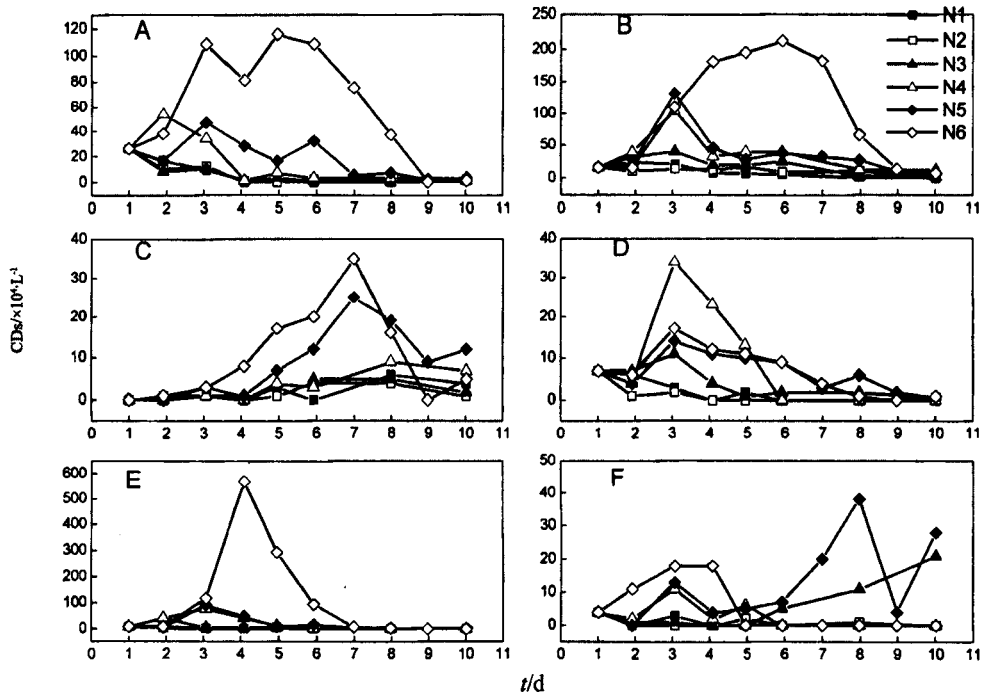


图3  $NO_3-N$ 和 $PO_4-P$ 对几种优势种生长的影响

(A, *K. mikimotoi*; B, *P. donghaiense*; C, *P. bipes*; D, *Pseudo-nitzschia* sp.; E, *S. costatum*; F, *Chaetoceros* spp.)

Fig. 3 Effects of nitrate and phosphorus on the growth of several predominant species

### 3 结论

(1)  $NO_3-N$ 浓度为 $11.98 \mu mol \cdot L^{-1}$ ,  $PO_4-P$ 浓度为 $0.16 \mu mol \cdot L^{-1}$ 以上时,现场培养时细胞可达到赤潮数量。

(2) 培养期间主要优势种为米氏凯伦藻、东海原甲藻和中肋骨条藻。且在培养条件下, $NO_3-N$ 和 $PO_4-P$ 的初始浓度为 $23.82 \mu mol \cdot L^{-1}$ 及 $0.41 \mu mol \cdot L^{-1}$ 以上时,东海原甲藻最大细胞数可以达到 $10^6 \cdot L^{-1}$ ,当 $NO_3-N$ 和 $PO_4-P$ 浓度分别增至 $50.34 \mu mol \cdot L^{-1}$ 和 $2.32 \mu mol \cdot L^{-1}$ 时,米氏凯伦藻和中肋骨条藻最大细胞数也可达到 $10^6 \cdot L^{-1}$ 。

(4) 初步判定几种浮游植物对营养盐的需求不同,其中中肋骨条藻与米氏凯伦藻要求较高,东海原甲藻次之,

双角多甲藻要求最低。

### 参考文献:

[1] 孙霞,王保栋,王修林,等. 东海赤潮高发区营养盐时空分布特征及其控制要素[J]. 海洋科学, 2004, 28(8):28-32.  
 [2] BRICELJ V M, LONSDALE D J. Aureococcus anophagefferens; causes and ecological consequences of brown tides in U. S. mid Atlantic coastal waters [J]. Limnology Oceanography, 1997, 42 (5): 1023-1038.  
 [3] 暨卫东,黄自强,黄尚高,等. 厦门西海域水体富营养化与赤潮关系的研究[J]. 海洋学报, 1996, 18(1):51-60.  
 [4] PAERL H W. Coastal eutrophication and harmful algal blooms; Importance of atmospheric deposition and groundwater as "new" nitrogen and other nutrient sources [J]. Limnology Oceanogra-

- phy, 1997, 42(5): 1154-1165.
- [5] 王金辉. 长江口邻近水域的赤潮生物[J]. 海洋环境科学, 2002, 21(2):37-41.
- [6] 王金辉, 黄秀清. 具齿原甲藻的生态特征及赤潮成因浅析[J]. 应用生态学报, 2003, 14(7):1065-1069.
- [7] 洪君超, 黄秀清, 蒋晓山, 等. 长江口中肋骨条藻赤潮发生过程环境要素分析——营养盐状况[J]. 海洋环境科学, 1994, 25(2): 179-184.
- [8] 竺爱宗. 浙江海域暴发大面积赤潮[N]. 中国海洋报, 2005-06-07(1).
- [9] 陆斗定. 2005年春季生物环境变化过程及其与赤潮发生关系[R]. 杭州. 国家海洋局第二海洋研究所, 2005.
- [10] OWENS N J P, MANTOURA R F C, BURKILL P H, *et al.* Nutrient cycling studies in Carmarthen Bay: Phytoplankton production, nitrogen assimilation and regeneration [J]. *Marine Biology*, 1986, 93:329-342.
- [11] PROBYN T A, WALDRON H N, JAMES A G. Size-fractionated measurements of nitrogen uptake in aged upwelled waters: Implications for pelagic food webs [J]. *Limnology Oceanography*, 1990, 35(1): 202-210.
- [12] 国家海洋局. 海洋监测规范[M]. 北京: 海洋出版社, 1998.
- [13] 吕嘉扬, 王大志, 洪华生, 等. 两种硝酸盐浓度下威氏海链藻和盐生杜氏藻硝酸还原酶活力研究[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2004, 1(9):6-10.
- [14] 孙霞. 光照对东海赤潮高发区赤潮藻类生长的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2005.
- [15] 安达六郎. 赤潮生物と赤潮実态[J]. 水产土木, 1973, 91(1):31-36.
- [16] 李瑞香, 朱明远, 王宗灵. 东海两种赤潮生物种间竞争的围隔实验[J]. 应用生态学报, 2003, 14(7): 1049-1054.