

室内培养研究硝酸盐对中肋骨条藻生长的影响^{*}

李金涛^{1,2} 赵卫红¹ 杨登峰^{1,2} 王江涛²

(1 中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

(2 中国海洋大学, 青岛 266071)

中肋骨条藻是一种广温、广盐性的浮游硅藻, 并且多次在长江口及其他海域形成赤潮, 对海洋生态环境造成严重危害, 因此引起国内、外赤潮研究者的广泛关注。不少学者对中肋骨条藻种群的生态、生理特点展开研究(刘东艳等, 2002; 黄文祥等, 1989; 邹景忠等, 1989; 李铁, 1999, 2000)。营养盐是海洋浮游植物所必需的成分, 海水中某种营养盐含量过低往往对浮游植物生长形成限制(Myers *et al.*, 1981; Brian, 1986; 胡明辉等, 1989)。海水营养盐含量过高则易形成富营养化, 可进一步引发赤潮(周名江等, 2001)。硝酸盐是海洋浮游植物所必需的营养物质之一, 它直接影响着浮游植物的生长、繁殖等生物活动(李铁, 2000; Ryther *et al.*, 1971)。研究海水中硝酸盐浓度和 N/P 对浮游藻类生长的影响将有助于我们了解富营养化与赤潮发生之间的关系。本文对在不同营养结构条件下, 中肋骨条藻的生长速率、培养介质中的 pH 和溶解有机碳(DOC)进行了研究。

一、材料与方 法

1. 实验材料

本实验所用试剂有: 饱和 HgCl₂ 溶液, 高纯氮, 无碳水, 苯二甲酸氢钾(AR), 硼砂(AR), 过硫酸钾(AR), 磷酸(AR), 钼酸铵, 酒石酸锑钾, EDTA 二钠盐, 抗坏血酸, NaNO₃, NaH₂PO₄·2H₂O, Na₄SiO₄·9H₂O, FeCl₃·6H₂O, CuSO₄·5H₂O, Zn SO₄·7H₂O CoCl₂·6H₂O, MnCl₂·4H₂O, Na₂MoO₄·2H₂O, V_{B1}, V_{B12}。

使用仪器: 滤器, 0.45μm 醋酸纤维滤膜, pHs-2C 酸度计, 光照培养架, M-50 型砂芯滤器, GF/F(Whatman)滤膜, 干燥器, 马弗炉, 离心机, R2000D 型电子天平, 红外线 CO₂ 检测仪, 流动注射分析仪, 紫外灯(500W), Skalar Sanplus System 营养盐自动

^{*} 中国科学院知识创新工程项目: KZCX2-207, KZCX2-206。赵卫红, 责任研究员, 现从事海洋污染物的环境化学行为和效应研究。E-mail: whzhao@ms.qdio.ac.cn
收稿日期: 2003年5月6日

分析仪。

实验用藻种由中国科学院海洋所藻种室提供，于 f/2 培养液中培养。实验所使用海水取自青岛近海，经过 0.45 μm 醋酸纤维滤膜过滤，煮沸消毒后冷却。

2. 实验方法

培养液中硝酸盐加富后浓度分别为 23.12 $\mu\text{mol/L}$ 、78.12 $\mu\text{mol/L}$ 、133.12 $\mu\text{mol/L}$ 、243.12 $\mu\text{mol/L}$ 、463.12 $\mu\text{mol/L}$ 、903.12 $\mu\text{mol/L}$ (分别编号为 No.1, No.2, No.3, No.4, No.5, No.6, 以下同)，磷酸盐和硅酸盐加富浓度分别为 30 $\mu\text{mol/L}$ 、144 $\mu\text{mol/L}$ ，每个瓶中培养液体积为 5L，本底海水的硝酸盐浓度为 23.12 $\mu\text{mol/L}$ 。中肋骨条藻接种后初始密度为 5.6×10^4 个/L，置于光照培养架上进行 10d 的一次性培养，培养温度为 22 $^{\circ}\text{C}$ ，光强为 4 000 lx，光暗比 L:D 为 12:12。第一天每隔 2h 取样一次，之后每天取样一次，每次取约 50mL 样品经 GF/F(Whatman)滤膜过滤后分别用紫外/过硫酸钾法测 DOC，Skalar Sanplus System 自动分析仪测定营养盐，pH-2 酸度计测 pH，另取约 20mL 未过滤样品测其生物量。

二、结果与讨论

1. 不同硝酸盐浓度下中肋骨条藻的生长变化

对于藻类的生长一般可用 Boltzmann 方程近似拟和(Wang *et al.*, 1996)。其方程为

$$B(t) = B_F - \frac{B_F - B_0}{1 + \exp\left(\frac{t - t_0}{\delta_t}\right)},$$

式中： $B(t)$ 为 t 时刻浮游植物的生物量； B_F 、 B_0 分别为浮游植物初始和最终生物量； t_0 为生物量在 $(B_F - B_0)/2$ 时对应的时间； δ_t 为常数。

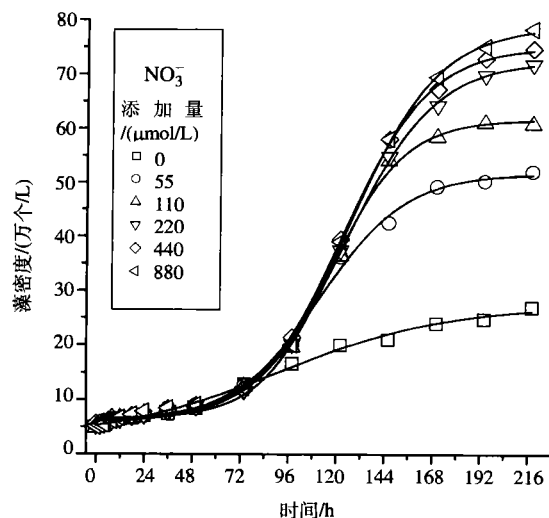
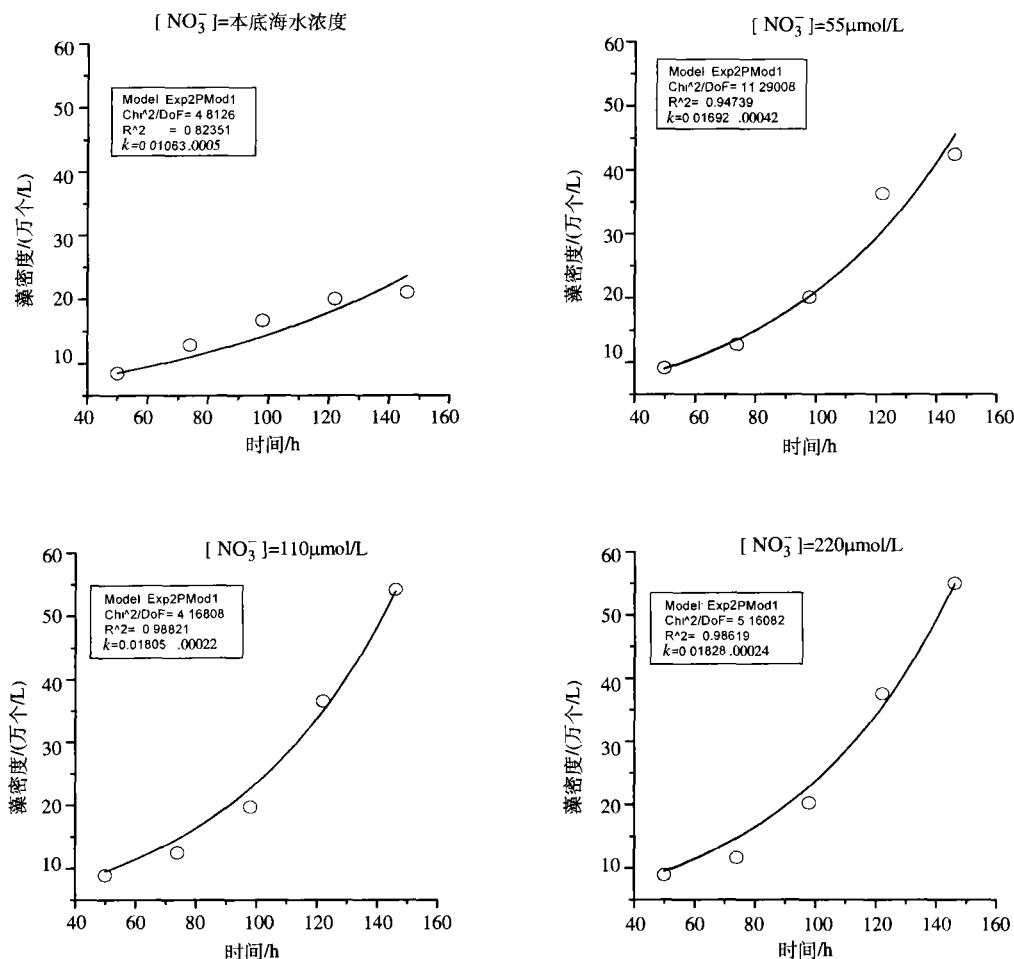


图1 硝酸盐浓度不同情况下中肋骨条藻的生长曲线

图1为拟和结果。由图可看出,接种的前两天,藻细胞正处于静滞期,分裂缓慢,生物量变化很小,从第3天开始,生物量迅速增大,进入指数生长期。约在第8天左右藻细胞基本停止增长,指数生长期结束。当硝酸盐添加量为0时,中肋骨条藻的生长相对其他组生长缓慢,无明显的指数生长期,硝酸盐浓度相对磷酸盐浓度过低对藻类的生长起限制作用。随着硝酸盐添加量的增加,中肋骨条藻的生物量也随之增加,说明在其他生长因素充分有利的情况下,藻的生物量取决于培养液中的初始硝酸盐浓度,因为在实验中磷酸盐浓度已经超出能够对藻产生限制作用的最低浓度(胡明辉等,1989)。

中肋骨条藻的生长符合一般藻类生长规律。接种后由于藻细胞处于生长平衡,藻细胞数目无明显增加,出现了静滞期。在指数生长期内,细胞迅速生长繁殖(图2),呈几何级数增长,可用指数公式 $B_t = B_0 e^{kt}$ 表示。 B_0 和 B_t 分别是浮游植物的初始量和 t 时间的生物量, k 为相对生长速率常数。随着藻细胞的继续生长,水体中出现了抑制藻细胞生长的因素,例如,营养盐限制,无机碳供应不足,酸碱度的改变,自身遮光等,被称之为“bottle”效应(王勇等,1999),使得藻细胞的指数生长期不能长期持续(梁英,1998)。



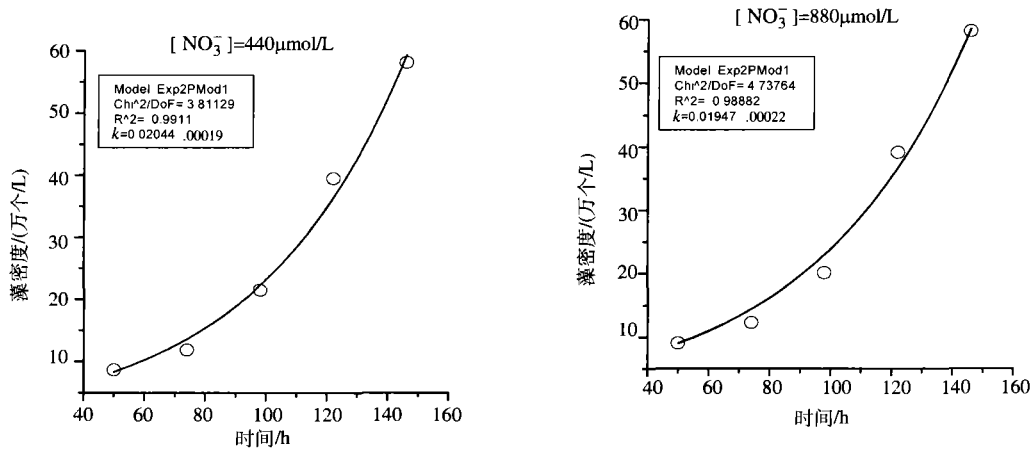


图2 硝酸盐浓度不同情况下中肋骨条藻的指数生长曲线

通过指数方程拟和得到生长速率常数 k , 如表 1 所示。

表 1 硝酸盐添加量不同时中肋骨条藻的相对生长速率常数

编 号	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6
培养液中 NO_3^- 的初始浓度/ $\mu\text{mol/L}$	23.12	81.55	140.37	272.98	491.64	821.42
培养液中 PO_4^{3-} 的初始浓度/ $\mu\text{mol/L}$	27.8	24.70	25.18	30.45	31.31	29.65
N/P	0.8	3.3	5.6	9.0	15.7	27.7
$k(1/h)$	0.010 63	0.016 92	0.018 05	0.018 28	0.020 44	0.019 47

培养期间, 各培养液中肋骨条藻相对生长速率常数如下:

$$k_{\text{No.6}} < k_{\text{No.5}} > k_{\text{No.4}} > k_{\text{No.3}} > k_{\text{No.2}} > k_{\text{No.1}}$$

由此顺序看出, 在本实验硝酸盐浓度范围内, 保持磷酸盐浓度不变, 硝酸盐的浓度为 $491.6 \mu\text{mol/L}$ 时中肋骨条藻指数生长期的生长速率最快, 此时的 N/P 值为 15.7, 接近 Redfield 比值 16:1 (Redfield, 1958)。在氮磷比小于 15.7 的系列中, 中肋骨条藻指数生长期的生长速率随着硝酸盐添加量的增大, 其生长速率也相应增快, 即越接近 Redfield 比值生长速率越快。在氮磷比大于 16:1 的 No.6 中, 藻细胞的生长速率要高于氮磷比小于 16:1 的 No.4, 据此说明中肋骨条藻生长在高磷的条件下对硝酸盐有依赖性。

2. 硝酸盐添加量对中肋骨条藻培养液中 pH 的影响

如图 3 所示, pH 从培养的第 1 天开始逐渐增大, 第 4~7 天, pH 达到其最大值, 以后又开始迅速减小。在藻类生长过程中藻细胞可以吸收利用水体中的无机碳来进行光合作用, 藻细胞在低速生长时可吸收来自 HCO_3^- 中的无机碳, 在高速生长时可直接吸收 CO_2 作为无机碳的来源 (Laws *et al.*, 1996)。如果无机碳的消耗过快, 以至于不能与大气中的 CO_2 平衡, 则 pH 就会升高。藻类生长达到平衡以后, 藻细胞的光合作用开始减慢, 无机碳的吸收速率减慢, 呼吸作用产生的 CO_2 和大气中的 CO_2 会补充到培养液中, 使得

pH 在最后几天呈下降趋势。而硝酸盐添加量为 0 的实验中因为生物量比较小, 所以 pH 变化相对较小。

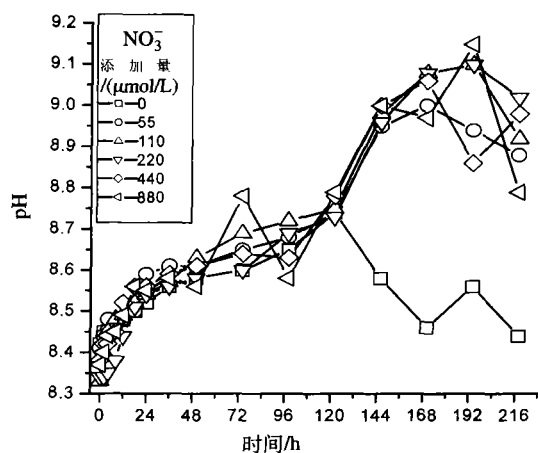


图3 CO_3^{2-} 浓度不同情况下培养液 pH 变化曲线

3. 硝酸盐添加量对中肋骨条藻释放 DOC 的影响

DOC 的变化趋势和藻生物量的变化有相似性, 其结果见图 4。接种后的前两天, DOC 浓度变化很小, 藻细胞进入指数生长期后, 藻液中 DOC 浓度随之迅速增大。体系中硝酸盐添加量为 0 时, DOC 浓度增长幅度明显小于其他情况, 一旦加入硝酸盐, DOC 浓度则呈现明显增长, 随硝酸盐浓度的增加, DOC 的释放量也逐渐增加。因为藻进入指数生长期藻细胞密度迅速增加, 藻细胞进行光合作用合成自身有机质的同时, 也在迅速地排出有机物, 并以 DOC 的形式迅速释放到水体中(Søndergaard *et al.*, 1995)。此外, 随着浮游植物自身的代谢和浮游植物的死亡分解等也向培养介质中释放部分 DOC。

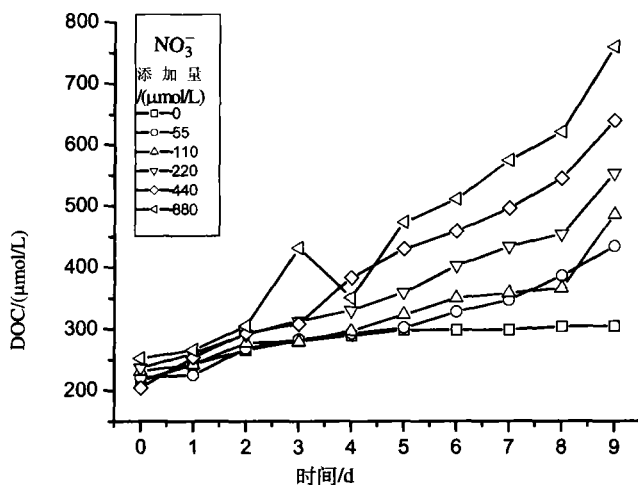


图4 DOC 随时间的变化曲线

三、结 论

1) 在各实验系列中氮磷比越接近 Redfield 比值 16: 1 (Redfield, 1958), 其生长速度越快, 细胞密度越高。在本实验中 No.5 的氮磷比为 15.7: 1, 最接近 Redfield 比值 16: 1, 其藻的生长速度最快, 细胞密度最高。

2) 氮磷比小于 15.7 的情况下硝酸盐对中肋骨条藻的生长起明显限制作用, 氮磷比越小, 限制越强烈。在氮磷比大于 15.7 环境下的生长速度要高于氮磷比小于 15.7 的环境。

3) 其他营养盐一定的情况下培养液中硝酸盐的浓度决定藻的生物量和藻的生长速率, 从而对藻释放 DOC 产生直接影响; 营养盐加富对溶解有机碳(DOC)的释放具有明显的促进作用。

参 考 文 献

- 王勇、焦念志, 1999. 黄海浮游植物营养盐限制的初步研究. 海洋与湖沼, 30(5): 512~518
- 刘东艳、孙军、陈宗涛, 2002. 不同氮磷比对中肋骨条藻生长特性的影响. 海洋湖沼通报, 39(6): 39~44
- 李铁、史致丽、李俊等, 2000. 营养盐对中肋骨条藻和新月菱形藻部分生化组成和性质的影响. 海洋与湖沼, 31(3): 239~245
- 李铁、史致丽、仇赤斌等, 1999. 中肋骨条藻和新月菱形藻对营养盐的吸收速率及环境因素影响的研究. 海洋与湖沼, 30(6): 640~645
- 李铁、胡立阁、史致丽, 2000. 营养盐对中肋骨条藻和新月菱形藻生长及氮磷组成的影响. 海洋与湖沼, 31(1): 46~52
- 邹景忠、董丽萍, 1989. 中国近海赤潮生物研究 I. 中肋骨条藻生理生态特性研究. 见: 赤潮研究学术讨论会论文摘要集. 北京: 海洋出版社
- 周名江、朱明远、张经, 2001. 中国赤潮的发生趋势和研究进展. 生命科学, 13(2): 54~60
- 胡明辉、徐春林, 1989. 长江口浮游植物生长的磷酸盐限制. 海洋学报, 11(4): 439~443
- 黄文祥、沈亮夫、朱琳, 1989. 大连湾赤潮生物——中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)生态初探. 海洋环境科学, 8(2): 35~39
- 梁英, 1998. 海水生物饵料技术. 青岛: 青岛海洋大学出版社
- Brian, E Lapointe, 1986. Phosphorous-limited photosynthesis and growth of *Sargassum nataus* and *Sargassum fluitans* in the Western North Atlantic. *Deep-See Res.*, 33:391~399
- Laws E A, Thompson P A, Popp B N *et al.*, 1996. Sources of inorganic carbon for marine microalgal photo-synthesis: A reassessment of ^{13}C data from batch culture studies of *Thalassiosira pseudonana* and *Emiliania huxleyi*. *Limnol. Oceanogr.*, 43(1):136~142
- Myers V B, Iverson R I, 1981. Phosphorous and nitrogen limited phytoplankton-productivity in Northeastern Gulf of Mexico Coastal Estuaries in Estuaries and Nutrients. Neilson BJ, Cromin, L E ed. *Humana Press*, 569~582
- Redfield A C, 1958. The Biological control of chemical factors in the environment. *American Scientist*, 46:204~211
- Ryther J H, Dunstan W M, 1971. Nitrogen, phosphorus, and eutrophication in the coastal marine environments. *Science*, 171(975):1008~1013
- Søndergaard M, Hansen B, Markagers *et al.*, 1995. Dynamics of dissolved organic carbon liability during a clear water phase in a eutrophic lake. *Limnol Oceanogr.*, 40(1): 46~54
- Wang X L, 1996. Modeling the bioconcentration of hydrophobic organic chemicals in aquatic organism. *Chemosphere*, 32:1783~1793

Effect of Nitrate on the Growth of *Skeletonema costatum* by Indoor Culture Experiment

LI Jintao^{1,2} ZHAO Weihong¹ YANG Dengfeng^{1,2} WANG Jiangtao²

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

(2 Ocean University of China, Qingdao 266071)

Abstract

Skeletonema costatum is the dominant phytoplankton in Changjiang Estuary. Blooming of *Skeletonema costatum* arose several times in Changjiang Estuary in recent years. In order to study the relationship between concentration of nitrate and the *Skeletonema costatum* blooming, we studied the growth of *Skeletonema costatum* in different concentration of nitrate. Growth rate, pH, dissolved organic carbon (DOC) and maximal uptake rates of nutrients were deduced through the experiment. The results showed that low nitrate concentration limited the growth of *Skeletonema costatum* although the concentration of phosphate was high. The optimum N/P ratio was 15.7 among different N/P ratios tested in the experiment. The closer the N/P ratio was to the Redfield ratio 16:1, the higher was the growth rate of phytoplankton. The growth rate and concentration of cell, when N/P ratio was over 15.7 were much higher those when N/P ratio was under 15.7. Under condition of low nitrate concentration, the dependence of *Skeletonema costatum* growth on nitrate was increased. The release of DOC was promoted obviously by enrichment of nutrient.