



不同氮磷浓度对米氏凯伦藻生长的影响

曹春晖, 刘文岭, 施定基, 张 霁

(天津市海洋资源与化学重点实验室, 天津科技大学海洋科学与工程学院, 天津 300457)

摘要: 采用 f/2 培养基, NaNO_3 和 NaH_2PO_4 分别为氮源和磷源, 分别研究了不同浓度的氮磷源 (NaNO_3 : 30、60、150、750、1 275、3 000 mg/L, NaH_2PO_4 : 4.4、8.8、22、44、88、176 mg/L) 对米氏凯伦藻 (*Karenia mikimotoi* MACC/D23) 生长的影响. 单因子方差分析结果表明, 不同的氮、磷浓度对其相对生长率的影响均有显著性差异 ($P < 0.05$). 多重比较结果表明: 750 mg/L NaNO_3 浓度组的相对生长率显著高于其他浓度组, 22 mg/L NaH_2PO_4 浓度组的相对生长率显著高于其他浓度组, 88 mg/L 和 176 mg/L NaH_2PO_4 浓度组之间没有显著性差异. 其最高细胞密度和相对生长率在 NaNO_3 质量浓度为 30 ~ 750 mg/L 时, 随氮浓度的升高而升高, 均在 NaNO_3 质量浓度为 750 mg/L 时达到最大值, 分别为 $4.60 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 和 0.608 d^{-1} , 而当 NaNO_3 质量浓度大于 750 mg/L 时, 最高细胞密度和相对生长率随氮浓度的进一步升高而降低. 当 NaH_2PO_4 质量浓度在 4.4 ~ 8.8 mg/L 之间, 最高细胞密度随磷浓度升高而升高, 在 8.8 mg/L 时达到最大值, 为 $2.69 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$; 当 NaH_2PO_4 质量浓度在 4.4 ~ 22 mg/L 之间, 相对生长率随磷浓度的升高而升高, 在 22 mg/L 时达到最大值, 为 0.568 d^{-1} , 之后随磷浓度的进一步升高而降低.

关键词: 氮浓度; 磷浓度; 米氏凯伦藻; 生长

中图分类号: Q949.21

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2010)02-0022-04

Effects of Nitrate and Phosphate Concentration on the Growth of Red Tide Species *Karenia mikimotoi*

CAO Chun-hui, LIU Wen-ling, SHI Ding-ji, ZHANG Ji

(Tianjin Key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, College of Marine Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The cell density and relative growth rate of *Karenia mikimotoi* MACC/D23, cultivated in f/2 medium under different concentration of NaNO_3 (30, 60, 150, 750, 1 275 and 3 000 mg/L) and NaH_2PO_4 (4.4, 8.8, 22, 44, 88 and 176 mg/L) were examined. One-way analysis of variance shows that different concentration of NaNO_3 and NaH_2PO_4 had significant effects on the relative growth rate of *K. mikimotoi* ($P < 0.05$). Multiple comparison tests show that the optimal NaNO_3 and NaH_2PO_4 concentration in culture medium of *K. mikimotoi* under the experimental conditions is 750 mg/L and 22 mg/L respectively. The highest cell density and relative growth rate increase with NaNO_3 concentration at 30 ~ 750 mg/L, then decrease at 750 ~ 3 000 mg/L, the highest value are $4.60 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ and 0.608 d^{-1} respectively. The highest cell density increase with NaH_2PO_4 concentration at 4.4 ~ 8.8 mg/L, then decrease with phosphate concentration, the highest value is $2.69 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$. The highest relative growth rate increase with NaH_2PO_4 concentration at 4.4 ~ 22 mg/L, then decrease with phosphate concentration, the highest value is 0.568 d^{-1} .

Keywords: nitrate concentration; phosphate concentration; *Karenia mikimotoi*; growth

人类活动严重干扰着近海生态系统, 导致有毒、有害甲藻赤潮数量逐年增加. 不同种类赤潮发生的

机制有所不同, 但富营养化及营养盐结构的改变, 对海洋生态系统中的群落演替及适应种的大量繁殖以

收稿日期: 2009-10-09; 修回日期: 2009-12-07

基金项目: 天津市应用基础研究重点项目 (09JCZDJC25400)

作者简介: 曹春晖 (1971—), 女, 山东人, 副教授, 博士生, caochunhui@tust.edu.cn.

致爆发赤潮起着关键性的作用. 其中氮、磷是海洋浮游植物生长的限制因子,它们构成植物细胞的蛋白质分子,参与生物的新陈代谢,因此丰富的氮、磷营养盐是造成赤潮的物质基础^[1-2]. 米氏凯伦藻分布广泛,是常见的赤潮甲藻,能分泌溶血性毒素和鱼毒素,有溶解鱼类鳃组织细胞的作用,近年来已经在世界各国沿海及我国南海、渤海等海域引发过赤潮灾害,造成了严重的渔业经济损失^[3-4]. 研究米氏凯伦藻的营养生理,掌握其形成赤潮的规律,对于减少水产养殖业损失,保护海洋生态环境,有着重要的实际意义^[5].

本文研究了米氏凯伦藻在不同氮、磷浓度条件下的生长情况,以期为渤海赤潮的爆发机制研究提供理论基础,并对赤潮的预报和防治提供科学依据.

1 材料与方 法

1.1 藻种

实验所用微藻藻种取自中国海洋大学微藻种质库(MACC):*Karenia mikimotoi* 米氏凯伦藻 MACC/D23

1.2 培养条件

对实验藻株作了不同氮浓度(NaNO_3 :30、60、150、750、1 275、3 000 mg/L)和磷浓度(NaH_2PO_4 :4.4、8.8、22、44、88、176 mg/L)的培养实验. 每个浓度 2 个平行组. 其中海水经沉淀后用脱脂棉过滤,煮沸消毒. 其他营养盐采用 f/2 培养基,盐度 28‰. 培养用 250 mL 三角瓶,在光照培养箱中进行培养,温度 $(22\pm 1)^\circ\text{C}$,光照强度 $50\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$. 每天手动摇动 2~3 次,并随机调换位置,用血球计数板计数细胞浓度.

1.3 相对生长率的计算^[6]

$$\text{相对生长率} = (\ln N_2 - \ln N_1) / (t_2 - t_1)$$

式中: t_1 、 t_2 为培养时间; N_1 和 N_2 分别为培养 t_1 和 t_2 时间的细胞密度.

1.4 数据处理

用 SPSS 13.0 软件分别进行单因素方差分析和多重比较. $P < 0.05$ 表示有显著性差异.

2 结 果

2.1 不同氮浓度对米氏凯伦藻生长的影响

不同氮浓度对米氏凯伦藻生长的影响见表 1 和图 1. 由表 1 可以看出:米氏凯伦藻的最高细胞密度和相对生长率在 NaNO_3 质量浓度为 30~750 mg/L 之间随 NaNO_3 浓度的升高而升高,在 750 mg/L 时达

到最大值,最高细胞密度为 $4.60 \times 10^6\ \text{mL}^{-1}$,相对生长率为 $0.608\ \text{d}^{-1}$. 之后 NaNO_3 质量浓度在 750~3 000 mg/L 之间,随着 NaNO_3 浓度的进一步升高,米氏凯伦藻的生长受到高氮浓度的抑制,最高细胞密度和相对生长率逐渐降低. 单因素方差分析结果表明, NaNO_3 浓度对米氏凯伦藻的相对生长率有显著影响 ($P < 0.05$). 多重比较结果表明,750 mg/L NaNO_3 浓度组的相对生长率显著高于其他浓度组.

表 1 不同氮浓度下米氏凯伦藻的相对生长率和最高细胞密度

Tab.1 Relative growth and highest cell density of *K.mikimotoi* under different N concentrations

NaNO_3 质量浓度/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	最高细胞密度/ ($10^4\ \text{mL}^{-1}$)	相对生长率/ d^{-1}
30	238	0.324 ± 0.03^f
60	186	0.334 ± 0.03^e
150	291	0.396 ± 0.04^e
750	460	0.608 ± 0.02^a
1 275	354	0.479 ± 0.03^b
3 000	365	0.345 ± 0.01^d

注:同一列数据的不同上标字母(a, b, c, d, e 和 f)表示有显著性差异 ($P < 0.05$).

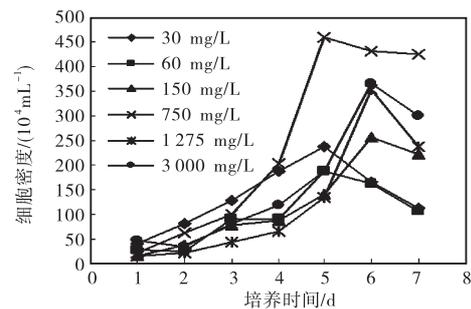


图 1 不同氮浓度下米氏凯伦藻的生长曲线

Fig.1 Growth of *K.mikimotoi* at different NaNO_3 levels

由图 1 可以看出,米氏凯伦藻在低 NaNO_3 浓度(30、60 mg/L)时,在生长周期的第 5 d 达到最高细胞密度,随后(第 6 d)细胞密度快速下降,表明此时培养液中的 NaNO_3 被迅速耗尽,提前进入衰亡期. 在中 NaNO_3 浓度(750 mg/L)时,细胞快速生长繁殖,第 2 d 即进入指数生长期,在第 5 d 达到细胞密度的最大值,之后进入稳定期,在第 6 d 和第 7 d 仍然能够维持较高的细胞密度. 其他 NaNO_3 浓度(150、1 275、3 000 mg/L),米氏凯伦藻在生长周期的第 6 d 结束指数生长期,随后(第 7 d)细胞密度开始下降.

2.2 不同磷浓度对米氏凯伦藻生长的影响

不同磷浓度对米氏凯伦藻生长的影响见表 2 和图 2. 由表 2 可以看出:米氏凯伦藻的最高细胞密度在 NaH_2PO_4 质量浓度为 4.4~8.8 mg/L 时,随 NaH_2PO_4 浓度的升高而升高,在 8.8 mg/L 时达到最

大值,为 $2.69 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$; NaH_2PO_4 质量浓度在 8.8 ~ 22 mg/L 时变化不大,但是随着 NaH_2PO_4 浓度的进一步升高,最高细胞密度有所下降. 相对生长率在 NaH_2PO_4 质量浓度为 4.4 ~ 22 mg/L 时,随 NaH_2PO_4 浓度的升高而升高,在 22 mg/L 时达到最大值,为 0.568 d^{-1} ,但随着 NaH_2PO_4 浓度的进一步升高,米氏凯伦藻的相对生长率呈明显降低趋势. 单因素方差分析结果表明, NaH_2PO_4 浓度对米氏凯伦藻的相对生长率有显著影响 ($P < 0.05$). 多重比较结果表明, 22 mg/L NaH_2PO_4 浓度组的相对生长率显著高于其他浓度组, 88 mg/L 和 176 mg/L NaH_2PO_4 浓度组之间没有显著性差异.

表 2 不同磷浓度下米氏凯伦藻的相对生长率和最高细胞密度

Tab.2 Relative growth and highest cell density of *K.mikimotoi* under different P concentrations

NaH_2PO_4 质量浓度/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	最高细胞密度/ (10^4 mL^{-1})	相对生长率/ d^{-1}
4.4	221	0.402 ± 0.07^c
8.8	269	0.456 ± 0.06^b
22	259	0.568 ± 0.00^a
44	197	0.347 ± 0.04^d
88	167	0.272 ± 0.05^e
176	138	0.274 ± 0.05^e

注: 同一列数据的不同上标字母(a, b, c, d 和 e)表示有显著性差异 ($P < 0.05$).

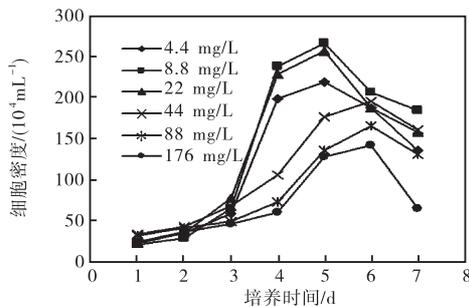


图 2 不同磷浓度下米氏凯伦藻的生长曲线

Fig.2 Growth of *K.mikimotoi* at different NaH_2PO_4 levels

由图 2 可以看出:米氏凯伦藻在 NaH_2PO_4 浓度为 4.4、8.8、22 mg/L 时,在生长周期的第 4 d 结束指数生长期而进入稳定期,第 5 d 时细胞密度达到最大值,第 6 d 时细胞密度开始下降; NaH_2PO_4 浓度为 44、88、176 mg/L 时,在生长周期的第 5 d 结束指数生长期而进入稳定期,第 6 d 细胞密度达到最大值,第 7 d 细胞密度开始下降,其中高磷浓度组(176 mg/L)细胞密度下降最快.

3 讨论

氮和磷是藻类生长所必需的主要元素. 氮在细胞代谢中是形成氨基酸、嘌呤、氨基糖和胺类化合物的基本元素^[7],磷直接参与光合作用的各个环节,包括光能吸收与同化、卡尔文循环以及对一些酶的活性起调节作用等. 有研究表明,氮、磷浓度能够影响赤潮藻类的生长^[2,8-15]. 石岩峻等^[10-11]分别研究了氮和磷对微小原甲藻(*Prorocentrum minimum*)和塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)生长的影响. 结果表明,低氮(0.088 2 mmol/L NaNO_3)条件下,微小原甲藻具有最高的比生长速率,而中氮(0.882 mmol/L NaNO_3)条件下具有最大的细胞密度,最大细胞密度和比生长速率随着培养基中磷浓度的升高而增加,在高磷(0.108 mmol/L KH_2PO_4)条件下达到最大值;塔玛亚历山大藻则在中氮(0.882 mmol/L)及高磷(0.108 mmol/L)条件下具有最大生物量,中磷(0.036 mmol/L)条件下具有最大的比生长速率. 王正方等^[12]的实验结果则表明硝酸盐浓度在 40 ~ 300 $\mu\text{mol/L}$ 能较好地维持海洋原甲藻(*Prorocentrum micans* Ehrenb)的增殖,磷比氮更能限制海洋原甲藻的增殖. 江艳等^[13]的实验结果表明, NO_3^- -N 质量浓度为 3.75 ~ 75 mg/L 时,赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)的比生长速率与氮浓度成正比关系, PO_4^{3-} -P 质量浓度为 0 ~ 1.0 mg/L 时,赤潮异弯藻的比生长速率与磷浓度成正比关系.

本文的实验结果与上述研究结果相符,表明不同的氮磷浓度对米氏凯伦藻的生长均有显著影响,在低-中浓度范围内,其最高细胞密度和相对生长率与氮磷浓度成正比,并在中等氮浓度和磷浓度下达到最大值. 低氮磷条件下,米氏凯伦藻较早地结束指数生长期到达稳定期是由于最初的氮或磷限制促进了藻细胞的分裂,因而低氮磷条件下的米氏凯伦藻最先进入指数生长期,并迅速耗尽了培养液中低浓度的氮磷营养盐,比其他浓度组更早地达到了最高细胞密度,进入稳定期. 米氏凯伦藻在高氮磷条件下,细胞密度和生长率降低的原因可能是由于过高的氮或磷浓度导致了植物细胞的单盐毒害,抑制了藻细胞的分裂,藻细胞在经过很长时间生长后才进入对数期,而此时氮磷浓度才相对降低,但最终还是使得高氮磷条件下稳定期细胞密度及生长率低于中氮磷条件.

过低或过高的氮磷浓度条件下,其细胞密度和生长率降低的另一个可能原因是此时氮磷比例的失调,

Redfield^[14]提出海水中平均氮磷比是 15 : 1, 浮游植物生长时氮和磷以此比例被消耗, 目前则认为浮游植物生长的最适氮磷比为 16 : 1^[15]. 不同的浮游植物种类在其生长过程中, 对营养盐的需求不同, 因此其生理适宜的氮磷比范围也不同, 对营养盐的不同需求反映了各种浮游植物之间的共存和竞争, 维持了海洋生态系统中生物多样性的基础. 吕颂辉等^[8]的研究结果表明, 东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)适宜的氮磷比范围在 8 : 1 到 20 : 1 之间, 孙军等^[15]报道了米氏凯伦藻在氮磷比为 80 : 1 时相对生长率最大, 而青岛大扁藻(*Platymonas helgolandica* var. *tsingtaoensis*)则在氮磷比为 4 : 1 时相对生长率最大, 并认为米氏凯伦藻属于有较强环境适应能力的 K 选择物种. 本实验结果中, 过高或过低的氮磷浓度导致的氮磷比例失调显然不利于米氏凯伦藻的生长, 说明不同的氮磷浓度对米氏凯伦藻生长的影响同时也是不同的氮磷比的影响; 米氏凯伦藻在中等氮磷浓度条件下可达到最高细胞密度和相对生长率, 此时的氮磷比在 15 : 1 到 276 : 1 之间, 表明米氏凯伦藻生理适宜的氮磷比范围较大, 有较强的环境适应能力. 由于环境会优先选择与之相适应的特征种, 形成适者生存的群落, 因此这也是米氏凯伦藻能够在适宜的环境条件下, 从浮游植物种类之间的竞争中获胜, 成为优势种并快速增殖, 最后爆发大规模赤潮的原因之一.

4 结 论

米氏凯伦藻的最高细胞密度和相对生长率在 30 ~ 750 mg/L NaNO₃ 浓度间随氮浓度的升高而升高, 在 750 ~ 3 000 mg/L 之间随氮浓度的升高而降低. NaNO₃ 浓度对米氏凯伦藻的相对生长率有显著影响 ($P < 0.05$), 氮浓度对米氏凯伦藻相对生长率的影响有显著性差异 ($P < 0.05$), 并在 750 mg/L 时达到最大值 0.608 d⁻¹. 米氏凯伦藻的最高细胞密度和相对生长率分别在 4.4 ~ 8.8 mg/L 和 4.4 ~ 22 mg/L NaH₂PO₄ 浓度之间随磷浓度的升高而升高, 之后随磷浓度的进一步升高均有所下降. NaH₂PO₄ 浓度对米氏凯伦藻相对生长率的影响有显著性差异 ($P < 0.05$), 并在 22 mg/L 时达到最大值 0.568 d⁻¹.

参考文献:

- [1] 康燕玉, 梁君荣, 高亚辉, 等. 氮、磷比对两种赤潮藻生长特性的影响及藻间竞争作用[J]. 海洋学报, 2006, 28(5): 117-122.
- [2] 王金花, 唐洪杰, 王修林, 等. 氮、磷营养盐对东海原甲藻生长和硝酸还原酶活性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14(5): 620-623.
- [3] 张冬鹏, 杨二俐, 黄毅华. 近年来深圳海域的赤潮及发展趋势[J]. 中国环境监测, 2002, 18(5): 24-27.
- [4] 曹春晖, 孙之南, 王学魁, 等. 渤海天津海域的网采浮游植物群落结构与赤潮植物的初步研究[J]. 天津科技大学学报, 2006, 21(3): 34-37.
- [5] 吕颂辉, 黄凯旋. 米氏凯伦藻在三种无机氮源的生长情况[J]. 生态环境, 2007, 16(5): 1337-1341.
- [6] Lobban C S, Chapman D J, Kremer B P. Experimental Phycology: A Laboratory Manual [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1988: 16-22.
- [7] 王修林, 邓宁宁, 祝陈坚, 等. 磷酸盐、硝酸盐组成对海洋赤潮藻生长的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(3): 453-460.
- [8] 吕颂辉, 欧美珊. 不同 N 源及 N/P 对东海原甲藻生长的影响[J]. 海洋环境科学, 2006, 25(2): 33-36.
- [9] 费岳军, 蒋红. 舟山朱家尖海域角毛藻赤潮与环境因子关系的研究[J]. 海洋环境科学, 2008, 27(A01): 38-41.
- [10] 石岩峻, 胡晗华, 马润宇, 等. 不同氮磷水平下微小原甲藻对营养盐的吸收及光合特性[J]. 过程工程学报, 2004, 4(6): 554-560.
- [11] 石岩峻, 胡晗华, 马润宇, 等. 塔玛亚历山大藻对氮和磷的吸收及其生长特性[J]. 应用生态学报, 2003, 14(7): 1143-1146.
- [12] 王正方, 张庆, 卢勇, 等. 氮、磷、维生素和微量金属对赤潮生物海洋原甲藻的增殖效应[J]. 东海海洋, 1996, 14(3): 33-38.
- [13] 江艳, 甘旭华, 唐欣昀, 等. 氮磷营养因子对赤潮异弯藻生长的影响[J]. 应用生态学报, 2006, 17(3): 557-559.
- [14] Redfield A C. The biological control of chemical factors in the environment[J]. Am Sci, 1958, 46: 205-222.
- [15] 孙军, 刘东艳, 陈宗涛, 等. 不同氮磷比率对青岛大扁藻、新月柱鞘藻和米氏凯伦藻生长影响及其生存策略研究[J]. 应用生态学报, 2004, 15(11): 2122-2126.