

# 氮磷营养盐对浒苔生长影响的初步探讨

李俭平<sup>1,2</sup>, 赵卫红<sup>1</sup>, 付敏<sup>1,2</sup>, 苗辉<sup>1</sup>

(1. 中国科学院 海洋研究所 海洋生态与环境科学重点实验室, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100039)

**摘要:** 在实验室条件下, 设置不同的 N、P 浓度, 研究单因子(P: 30  $\mu\text{mol/L}$ , N: 0~500  $\mu\text{mol/L}$  和 N: 500  $\mu\text{mol/L}$ , P: 0~30  $\mu\text{mol/L}$ )对浒苔(*Enteromorpha prolifera*)生长的影响。结果表明: 在高 N、P 浓度(N: 500  $\mu\text{mol/L}$ , P: 30  $\mu\text{mol/L}$ )条件下浒苔生长态势最好, 具有较高的相对生长率(0.451)。添加 N 可以明显促进浒苔的生长, 而且随着添加 N 浓度的提高促进作用增强, 浒苔的相对生长率有较大幅度提高。添加 P 对浒苔的生长也具有一定的促进作用, 但促进作用不如添加 N 的明显; 随着添加 P 浓度的提高, 浒苔的相对生长率提高幅度不大, 这说明浒苔生长对 N 变化更为敏感。

**关键词:** 浒苔(*Enteromorpha prolifera*); 氮; 磷

中图分类号: Q 948.885.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2010)04-0045-04

浒苔(*Enteromorpha prolifera*)隶属于绿藻门石莼科浒苔属。藻体长可达 1~2 m, 直径约 2~3 mm。浒苔属于广温、广盐、耐干露性强的大型海藻。浒苔具有生长快、吸收营养物质多、抑制其他微藻生长等特点<sup>[1]</sup>, 因而是较为理想的海洋生态修复海藻种类; 但浒苔也是滩涂贝类养殖的一大危害, 浒苔生命力极强, 生长在贝类养殖塘的滩涂面上就会严重地影响贝类养殖产量, 甚至使养殖贝类绝产<sup>[2]</sup>, 所以, 现在国外已经把浒苔一类的大型绿藻爆发称为“绿潮”。研究浒苔的生态条件, 对有效地利用或控制浒苔都有重大意义。

营养盐是海洋浮游植物生长繁殖的基础, 营养盐水平以及营养盐之间的比例对浮游植物种群动态和群落结构起着重要的调控作用<sup>[3~7]</sup>。20 世纪 90 年代中期以来, 随着经济的高速发展, 大量含氮、磷污染物排入大海, 使近岸海域富营养化程度加剧, 特别是氮污染, 自 1990 年以来我国四大海区无机氮平均浓度全部超标<sup>[8]</sup>。由于人类向海洋中排放大量含氮和磷的污染物而造成的海水富营养化, 不仅是许多赤潮发生的重要原因, 也是许多绿潮爆发的重要原因。因此, 有必要充分了解大型绿藻对氮、磷营养元素的响应, 以揭示沿海海域富营养化与绿潮爆发关系。国内有关报道浒苔栽培和生长生态因子的文献较少, 仅有吴洪喜等<sup>[2]</sup>对浒苔的实验生态进行初步研究; 邹定辉等<sup>[9]</sup>研究了高浓度  $\text{CO}_2$  对条浒苔生长、光合作用及有关生理生化特征的影响, 而对浒苔的营养盐的吸收研究

尚无研究报道。本研究以  $\text{NaNO}_3$  和  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  作为氮、磷营养盐来源, 设计不同添加氮、磷浓度梯度下的浒苔培养实验, 观察其生长情况, 以期能初步了解营养盐对浒苔生长的影响。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料来源与处理

浒苔采自青岛胶州湾海域, 在实验室进行挑选分离。将洗净的藻体放入 0.2% KI 溶液中洗涤 3 min, 再用过滤消毒海水漂洗 2~3 次, 以去除原生动物和附生生物<sup>[10]</sup>。藻种驯化培养所用培养基中的 N、P 浓度均采用了实验所设置的最高浓度(N: 500  $\mu\text{mol/L}$ , P: 30  $\mu\text{mol/L}$ ), 其余元素与 *f/2* 培养基中相同。实验所用海水取自青岛汇泉湾, 经 220  $\mu\text{m}$  筛绢过滤大颗粒悬浮物后经孔径为 0.45  $\mu\text{m}$  的醋酸纤维滤膜过滤灭菌后, 添加营养元素备用。培养温度  $20^\circ\text{C}\pm 1^\circ\text{C}$ , 光照强度为 6 000~8 000 lx, 光照期 12L:12D。

### 1.2 实验设计

在烧杯内装入培养基, 挑选外观鲜绿、生长良好的藻体吸干表面水分放入烧杯中, 藻密度为 1.4 g/L, 整个实验为一次性培养, 实验组均设 2 个平行样。实

收稿日期: 2009-06-05; 修回日期: 2009-09-20

基金项目: 中国科学院知识创新重要方向项目(KZCX2-YW-208-01)

作者简介: 李俭平(1982-), 女, 山东临沂人, 博士研究生, 从事海洋生态方面的研究, E-mail: lijianpingbest@gmail.com, 电话: 15953294656; 赵卫红, 通信作者, E-mail: whzhao@ms.qdio.ac.cn

实验共进行了 30 d, 所有实验中藻体质量均以离水、吸干后用  $10^{-2}$  g 电子天平称其湿质量计。

实验分别是在 P 浓度为 30  $\mu\text{mol/L}$  或 N 浓度为 500  $\mu\text{mol/L}$  固定不变的条件下, 设置不同的 N、P 浓度, 详见表 1。

表 1 实验组中添加 N、P 浓度( $\mu\text{mol/L}$ )  
Tab. 1 Experimental N and P concentrations ( $\mu\text{mol/L}$ )

组号	N	P	组号	N	P
N5	+500	+30	P5	+500	+30
N4	+100	+30	P4	+500	+15
N3	+50	+30	P3	+500	+5
N2	+10	+30	P2	+500	+0.5
N1	+0	+30	P1	+500	+0

### 1.3 数据处理与分析

相对生长率用以下公式进行计算:

$$R_i = \frac{W_{i+1} - W_i}{W_i} \times 100\%$$

$$R_a = \frac{\sum_{i=1}^n R_i}{N}$$

式中,  $R_i$  代表从  $i$  到  $(i+1)$  次采样之间每天的相对生长率;  $W_{i+1}$  代表第  $(i+1)$  次测定的湿生物量;  $W_i$  代表第  $i$  次的湿生物量;  $i$  代表第  $i$  次取样;  $N$  代表总取样次数;  $R_a$  代表浒苔生长期平均每天的相对生长率<sup>[11]</sup>。

增重百分比用以下公式进行计算:

$$w_i = \frac{W_{im} - W_{om}}{W_{om}} \times 100\%$$

式中,  $w_i$  ( $i=2 \sim 5$ ) 代表  $i$  组的增重百分比;  $W_{im}$  代表第  $i$  组的最大湿生物量;  $W_{om}$  代表对照组的最大湿生物量。

实验数据用 SPSS11.5 统计分析软件进行方差分析, 用 LSD 多重比较来分析实验结果均值的差异显著性( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同添加 N 浓度对浒苔生长的影响

从图 1 可以看出, 添加 N 可以明显促进浒苔的生长, 而且随着添加 N 浓度的提高促进浒苔的生长作用增强。低 N 浓度的 N1 和 N2 组(0 ~ 10  $\mu\text{mol/L}$ ) 生长态势明显劣于高 N 浓度的 N3~N5 组( $P < 0.01$ ), 具体表现为达到最大藻质量时间短(16~17 d)、生长

速度缓慢、最大藻质量较低。N3~N5 组均在第 22~23 天达到最大藻质量。在 N 的添加浓度为 10~50  $\mu\text{mol/L}$  范围内, 浒苔质量增加比较明显, 相对于对照组, 最大藻质量增重百分比为 23.3%~82.4%, 增加 59.1%, 此时 N 是浒苔生长的限制因子; 而在添加 N 浓度为 100~500  $\mu\text{mol/L}$  富 N 范围内, N 浓度同样提高 5 倍, 藻体质量虽然仍在增加, 但增长速度放慢, 最大藻质量增重百分比为 90.6%~116.4%, 增加 25.8%, 相对来说, 此时浒苔生长受 N 浓度影响减弱。

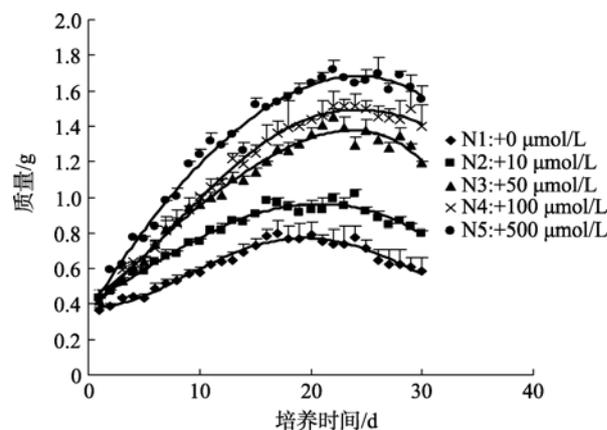


图 1 不同 N 添加浓度下浒苔的生长曲线

Fig. 1 Growth of *Enteromorpha prolifera* under different concentrations of N

### 2.2 不同添加 P 浓度对浒苔生长的影响

从图 2 可以看出, 添加 P 对浒苔的生长具有一定的促进作用, 但促进作用不如添加 N 的明显。P1~P5 组达到最大藻质量时间很相近(22~24 d), 随着 P 浓度的提高浒苔增长速度差异性不大。低 P 浓度的 P1

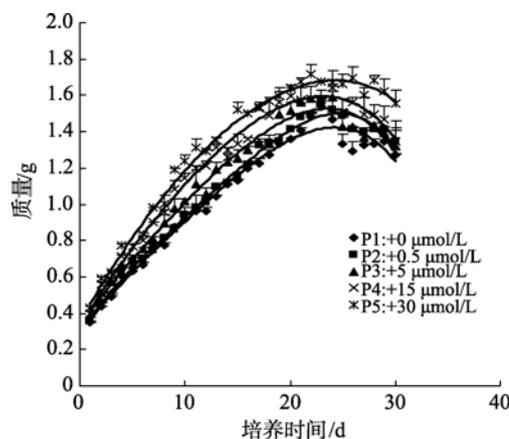


图 2 不同添加 P 浓度下浒苔的生长曲线

Fig. 2 Growth of *Enteromorpha prolifera* under different concentrations of P

和 P2(0 ~ 0.5  $\mu\text{mol/L}$ )组生长态势劣于最大添加浓度的 P5 组( $P < 0.05$ )。P1 组和 P2 组前期生长几乎没有差别,在后期 P2 组浒苔生长速度和最大藻质量稍大于 P1 组。在 P 浓度为 0.5~5  $\mu\text{mol/L}$  范围内, P 的添加浓度提高 10 倍,相对于对照组,最大藻质量增重百分比为 4.7%~7.4%,增加 2.7%,在 P 浓度为 5~15  $\mu\text{mol/L}$  范围内,最大藻质量增重百分比为 7.4%~12.8%,增加 5.4%,在 P 浓度为 15~30  $\mu\text{mol/L}$  范围及 N 浓度为 500  $\mu\text{mol/L}$  富 N、P 情况下,藻体增长速度也较慢,最大藻质量增重百分比为 12.8%~16.2%,增加 3.4%,说明相对于 N,浒苔生长受添加 P 浓度变化的影响较弱。

### 2.3 不同添加 N/P 比值对浒苔的比生长率影响

N/P 比值是影响海洋浮游植物群落组成的一

项重要因素<sup>[12~15]</sup>。Justic 等<sup>[16]</sup>提出当海洋中 N/P > 22 时,藻类的生长会相对受 P 限制,而 N/P < 10 时会相对受 N 限制,在 10 < N/P < 22 范围内,不同类型的藻表现的 N、P 需求特征不同。在本实验中可以看出(表 2),浒苔在添加 N/P 接近 Redfield 比值 16<sup>[17]</sup>时生长最好;N1~N5 组  $R_a$  和  $R_m$  差异明显,N1 和 N2 组的添加 N/P < 1,  $R_a$  和  $R_m$  值尤为低;P1~P5 组  $R_a$  和  $R_m$  差异不明显,即使添加 P 浓度为 0 的 P1 组的  $R_a$  与其他添加 P 组的  $R_a$  相差很小;N1~N4 添加 N/P < 10, P1~P4 组添加 N/P > 22,而 N1~N4 组的  $R_m$  均小于 P1~P4 组,  $R_a$  差别也较大,这说明浒苔的生长相对更易受 N 的限制。这与许多国外研究所证实的绿潮爆发时 N 是相对限制因子<sup>[18~21]</sup>的结论一致。

表 2 不同添加 N/P 比值下浒苔的相对生长率

Tab. 2 Relative growth rates under different N/P ratios

组号	N/P	前 20d 平均值( $R_a$ )	最大值( $R_m$ )	组号	N/P	前 20d 平均值( $R_a$ )	最大值( $R_m$ )
N5	16.7	0.086	0.451	P5	16.7	0.086	0.451
N4	3.33	0.076	0.329	P4	33	0.083	0.428
N3	1.67	0.071	0.229	P3	100	0.079	0.392
N2	0.33	0.052	0.200	P2	1000	0.075	0.282
N1	0	0.042	0.102	P1	—	0.072	0.243

## 3 讨论

通过不同的添加 N、P 浓度下浒苔生长实验,可以看出,添加 N 和 P 都可以明显促进浒苔的生长,营养盐浓度越高,增重比就越高,在实验初期生物量增加很快,但随着培养时间的增加,生物量的增加幅度明显比实验初期的小。随着 N 浓度的提高浒苔增长速度差异比较明显,不同的添加 P 浓度对浒苔的生长影响不如添加 N 的影响明显,这说明浒苔的生长更易受 N 浓度变化的影响。浒苔相对生长率差别表明,不同的营养盐条件对浒苔的生长有明显的影响,N1~N5 组浒苔生长率增加幅度较大而 P1~P5 组浒苔生长率增加幅度较小,即使未添加 P 的 P0 组与其他添加 P 组的  $R_a$  相差不大,这也说明了 P 对浒苔生长的限制作用相对小于 N 限制。

王晓坤等<sup>[22]</sup>认为孢子释放后,藻体就会死亡。李瑞香等<sup>[23]</sup>在实验过程中发现丰富的营养盐不仅促进浒苔的快速生长,而且还促进浒苔的快速繁殖,即配子或孢子的释放,高浓度营养盐培养基中的藻体生物量开始下降较早。在本实验后期,作者也发现藻体变为白色,容器的内壁和底部出现微绿现象,从容器壁上剥离下绿色附着物放显微镜

下观察发现是已固着的成团的大孢子体,而且在浒苔藻体上也有很多成团的孢子体附着,但低浓度营养盐培养基中的藻体生物量开始下降较早,这可能是本实验中容器较小,藻密度较大,在高浓度营养盐培养基中的藻体中附着较多的孢子(或配子),使得藻体开始死亡后生物量仍处于增加状态。

本研究是一次性培养,而且在较小的烧杯中进行实验,实验周期较长,在这种条件下,营养盐很容易被藻类吸收,在实验后期难以避免出现营养盐耗竭。在实验过程中所有操作均在净化台中操作,但并不能完全达到无菌条件,在每天取样称重后再放回原培养基过程中会造成一定程度的细菌污染,对实验结果造成一定的影响。所以实验结果只能在一定程度上反映浒苔对营养盐的需求,尚不能与自然海区的营养盐状况相吻合。虽然如此,但实验结果还是在一定程度上显示浒苔的生长对 N 限制的敏感性及其对 P 限制的适应性。

#### 参考文献:

- [1] Fujita R M. The role of nitrogen status in regulating transient ammonium uptake and nitrogen storage by macroalgae [J]. *J Exp Mar Bio Ecol*, 1985, 92: 283-301.

- [2] 吴洪喜, 徐爱光. 浒苔实验生态的初步研究[J]. 浙江海洋学院学报, 2000, 19(3): 230-234.
- [3] Flynn J K. How critical is the critical N: P ratio? [J]. *J Phycol*, 2002, 38: 961-970.
- [4] Hodgkiss I J, Ho K C. Are changes in N:P ratios in coastal water key to increase red tide blooms? [J]. *Hydrobiology*, 1997, 352: 141-147.
- [5] Hodgkiss I J, Lu S H. The effects of nutrients and their ratios on phytoplankton abundance in Junk Bay[J]. *Hongkong Hydrobiology*, 2004, 512: 215-229.
- [6] Maguer J F, Wafar M, Madec C, *et al.* Nitrogen and phosphorus requirements of an *Alexandrium minutum* bloom in the Penzance estuary[J]. *France Limnol Oceanogr*, 2004, 49: 1108-1114.
- [7] Yutaka H, Miyahara K, Nagai S, *et al.* Relationships between the dominant phytoplankton and DIN: DIP ratios in Osaka Bay and Harima-Nada[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1998, 64 (2): 243-248.
- [8] Jia X P, Cai W G, Lin Q. The effects of major pollutions on mariculture and fishery resource enhancement along the coastal waters of China[J]. *Journal of Fishery Science of China*, 1997, 4 (4): 78-81.
- [9] 邹定辉, 陈雄文. 高浓度 CO<sub>2</sub> 对条浒苔生长和一些生理生化特征的影响[J]. 海洋通报, 2002, 21(5): 38-45.
- [10] 叶静, 张喆, 李富超, 等. 大型绿藻浒苔转化表达系统选择标记的筛选[J]. 生物技术通报, 2006, 3: 63-67.
- [11] 张寒野, 吴望星, 宋丽珍, 等. 条浒苔海区试栽培及外界因子对藻体生长的影响[J]. 中国水产科学, 2006, 13(5): 781-786.
- [12] Davidson K, Wood G, John E, *et al.* An investigation of non-steady-state algal growth I. An experimental model ecosystem[J]. *J Plankton Res*, 1999, 21: 811-837.
- [13] Han X R, Wang X L, Sun X, *et al.* Nutrient distribution and its relationship with occurrence of red tide in coastal area of East China Sea[J]. *Chin J Appl Ecol*, 2003, 14 (7): 1097-1101.
- [14] Wang H K, Dong J D, Zhang S, *et al.* Distribution of N/ P ratio and its limitation to growth of phytoplankton in Sanya bay[J]. *J Trop Oceanog*, 2002, 21 (1) :33-38.
- [15] Yan T, Zhou M J, Qian P Y. Growth of fish-killing red tide species raphidophyte *Heterosigma akashiwo*[J]. *Oceanol Limnol Sin*, 2002, 20 (3): 237-243.
- [16] Justic D, Rabalais N N, Turner R E, *et al.* Changes in the nutrients structure of river-dominated coastal water : Stoichiometric nutrient balance and its consequences[J]. *Estu Coast Shel Sci*, 1995, 40: 339-356.
- [17] Redfield A C, Ketchum B H, Richards F A. The influence of organisms on composition of seawater[A]. Hill M N. The sea (2) [C]. New York: J Wiley, 1963. 26-79.
- [18] Fong P, Zedler J B, Donohoe R M. Nitrogen vs. phosphorus limitation of algal biomass in shallow coastal lagoons[J]. *Limnol Oceanogr*, 1993, 38: 906-923.
- [19] Ménesguen A, Piriou J Y. Nitrogen loadings and macroalgal (*Ulva* sp.) mass accumulation in Brittany (France) [J]. *Ophelia*, 1995, 42: 227-237.
- [20] Pedersen M F. Nitrogen limitation of photosynthesis and growth: comparison across aquatic plant communities in a Danish estuary. (Roskilde Fjord) [J]. *Ophelia*, 1995, 41: 261-272.
- [21] Sfriso A, Pavoni B, Marcomini A, *et al.* Annual variations of nutrients in the lagoon of Venice[J]. *Mar Pollut Bull*, 1988, 19: 54-60.
- [22] 王晓坤, 马家海, 陈道才, 等. 浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 生活史的初步研究 [ J ] . 海洋通报, 2007, 26 (5) : 1212-1216.
- [23] 李瑞香, 吴晓文, 韦钦胜, 等. 不同营养盐条件下浒苔的生长 [J] . 海洋科学进展, 2009, 27 (2): 211-216.

## Preliminary study on the effects of nitrogen and phosphorus on the growth of *Enteromorpha prolifera*

LI Jian-ping<sup>1,2</sup>, ZHAO Wei-hong<sup>1</sup>, FU Min<sup>1,2</sup>, MIAO Hui<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Marine Ecology & Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Received: Jun., 5, 2009

Key words: *Enteromorpha prolifera*; N; P

**Abstract:** In order to study the effects of nitrogen and phosphorus on the growth of *Enteromorpha prolifera*, nine sets of experiments with various N or P concentrations (P: 30  $\mu\text{mol/L}$ , N: 0~500  $\mu\text{mol/L}$  or N: 500  $\mu\text{mol/L}$ , P: 0~30  $\mu\text{mol/L}$ ) were conducted. The results showed that the growth situation was optimal and specific growth rate of *E. prolifera* was maximum (0.451) in high N and P concentrations (N: 500  $\mu\text{mol/L}$ , P: 30  $\mu\text{mol/L}$ ). The growth rate of *E. prolifera* was accelerated significantly upon the addition of N in a dose-dependent manner. In comparison, the promoting effect was not evident upon the addition of P. With the increasing concentration of P, the relative growth rate of *E. prolifera* was only enhanced marginally. The growth of *E. prolifera* seems more sensitive to N than to P.

(本文编辑: 康亦兼)