

广东南澳岛大型海藻龙须菜与浮游植物 对营养盐的竞争利用*

黄银爽^{1,3} 欧林坚^{1,3①} 杨宇峰^{2,3}

(1. 暨南大学赤潮与海洋生物学研究中心 广州 510632; 2. 暨南大学水生生物研究所 广州 510632;
3. 水体富营养化与赤潮防治广东普通高校重点实验室 广州 510632)

摘要 广东南澳岛近海是我国龙须菜养殖的重要基地。为了探究龙须菜养殖对藻华防治的贡献, 分别于 2016 年 3 月、5 月和 6 月在广东南澳岛北部海域不同养殖功能海区进行采样, 研究龙须菜养殖前后海水中营养盐含量和结构的变化, 分析不同粒径的浮游生物对有机营养盐的水解利用, 探讨龙须菜养殖对浮游植物竞争利用营养盐和生长产生的影响。结果表明, 研究海区水质较清洁, 无机氮磷含量较低, 春季至夏季, 随着龙须菜和浮游植物生物量增加, 溶解无机磷(dissolved inorganic phosphorus, DIP)浓度不断下降, 至 6 月南澳海区成为磷限制海域。在 5 月龙须菜生长高峰期, 龙须菜养殖区和龙须菜鲍鱼混养区的 DIP 浓度显著低于鲍鱼区和非养殖区, 龙须菜养殖区的叶绿素 *a* 浓度明显低于其他区域, 亮氨酸氨肽酶(leucine amino peptide, LAP)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AP)活性显著升高, 表明龙须菜养殖区浮游植物受到较为明显的营养胁迫。而龙须菜收割后, 该养殖区的叶绿素 *a* 含量则显著上升, 甚至高于其他区域。该结果表明在南澳岛海域, 龙须菜养殖通过营养竞争关系(尤其是磷)抑制浮游植物的生长, 大规模龙须菜养殖可能有助于抑制有害藻华的发生。

关键词 龙须菜; 浮游植物; 营养盐; 亮氨酸氨肽酶; 碱性磷酸酶; 南澳岛

中图分类号 P735

doi: 10.11693/hyh20170200031

无机态的氮(nitrogen, N)、磷(phosphorus, P)是浮游植物利用营养盐的主要形式(Burkholder *et al.*, 2008)。一般情况下, 当无机态 N、P 浓度较低时, 浮游植物会转为利用有机形态的营养盐(Glibert *et al.*, 2011)。浮游植物通过诱导合成胞外酶将有机物分解成其能直接利用的无机态营养盐, 亮氨酸氨肽酶(leucine amino peptide, LAP)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AP)分别是水解有机态 N、P 的最重要的酶类(Berges *et al.*, 2008; Duhamel *et al.*, 2010)。海水中胞外酶活性的大小可指示浮游植物是否受到 N、P 胁迫及浮游植物对有机营养盐的利用情况(Dyhrman *et al.*, 2006)。

龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)是江蓠属(*Gracilaria*)的一种大型海藻。近年来, 我国近海诸如

广东、福建、浙江、山东和辽宁大规模发展龙须菜养殖(Yang *et al.*, 2015a)。龙须菜养殖对周边海区环境造成的影响已成为生态学家关注的问题之一。有研究认为, 龙须菜会大量吸收海水中的无机态 N、P, 从而降低海水中的营养盐含量(Yang *et al.*, 2006; Mao *et al.*, 2009)。龙须菜和浮游植物间存在竞争关系, 可能通过营养竞争和他感效应抑制浮游植物的生长(雷光英等, 2010; 孙颖颖等, 2011)。Lüring 等(2006)认为营养竞争是大型海藻对浮游植物发挥抑制作用的主导因子。然而, 目前关于自然海域龙须菜与浮游植物对营养盐(尤其是有机态营养盐)的竞争利用的研究鲜有报道, 相关工作有待开展。

南澳岛位于广东省汕头市, 其北部是我国龙须菜养殖的重要基地, 龙须菜的养殖面积由 2000 年刚

* 国家自然科学基金项目, U1301235 号, 41176087 号。黄银爽, 硕士研究生, E-mail: 529384787@qq.com

通讯作者: 欧林坚, 硕士生导师, E-mail: torangeou@jnu.edu.cn

收稿日期: 2017-02-16, 收修稿日期: 2017-04-17

引进时的 0.13hm^2 已经扩大到 2011 年的 1500hm^2 (Yang *et al*, 2015a)。为了探究现场海区龙须菜对浮游植物生长的影响, 本文通过分析南澳岛北部海域龙须菜养殖前后海水中营养盐含量和结构的变化, 结合浮游植物对有机营养盐利用的胞外酶活性变化分析, 研究龙须菜和浮游植物对海水中营养盐的竞争利用, 探讨龙须菜养殖是否对浮游植物生物量存在一定的抑制作用。

1 材料与方法

1.1 采样位置与时间

研究海域位于南澳岛北部, 该海域面积为 13.3km^2 , 水深 $1.1\text{—}6.3\text{m}$, 无较大的地表径流(王亮根等, 2010)。针对该海域的养殖功能区划, 共设置 14 个采样点(图 1)。其中 G1—G3 站位于龙须菜养殖区(G 区), GA1—GA3 站位于龙须菜与鲍鱼混养区(GA 区), A1—A3 站位于鲍鱼养殖区(A 区), N1—N5 站位于非龙须菜鲍鱼养殖区(N 区, 简写为非养殖区)。分别于 2016 年 3 月 23 日(此时龙须菜刚完成播种, 为龙须菜生长初期)、5 月 25 日(龙须菜生长高峰期, 养殖户计划收割龙须菜)和 6 月 22 日(此时龙须菜已收割完)进行现场采样。需要指出的是, 在 5 月份调查时, G3 站的龙须菜刚收割完。

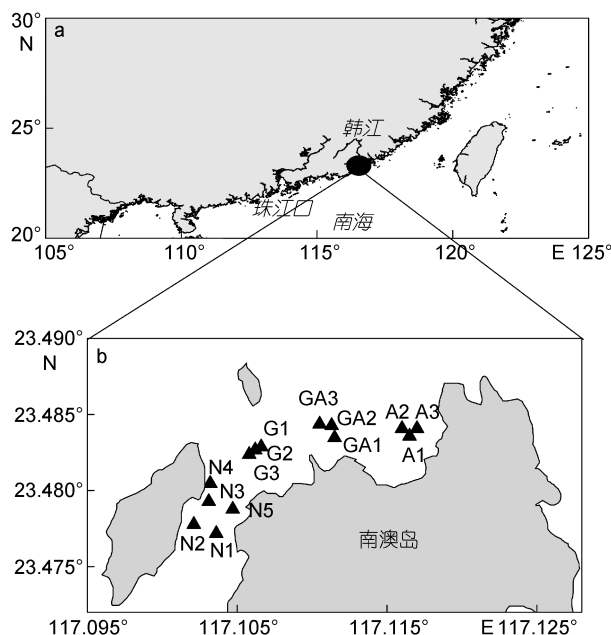


图 1 南澳岛北部近海采样站位图

Fig. 1 Sampling stations in coastal water of the northern Nan'ao Island

注: a. 采样区域位置示意图, b. 采样站位图; G. 龙须菜养殖区, GA. 龙须菜和鲍鱼混养区, A. 鲍鱼区, N. 非龙须菜鲍鱼养殖区

1.2 生物与理化环境参数

使用有机玻璃采水器在水深 0.5m 处采集表层海水, 水温(temperature, T)、盐度(salinity, S)、溶解氧(dissolved oxygen, DO)、酸碱度(potential of hydrogen, pH)用多参数水质分析仪(YSI pro plus, 维赛, 美国)现场测定。其余水样避光冷藏带回实验室进行分析。水样经 GF/F 滤膜(450°C , 煅烧 2h)过滤, 硝氮($\text{NO}_3\text{-N}$)、亚硝氮($\text{NO}_2\text{-N}$)、铵氮($\text{NH}_4\text{-N}$)和溶解无机磷(dissolved inorganic phosphorus, DIP)和活性硅酸盐($\text{SiO}_3\text{-Si}$)根据 Valderrama(1995)的方法检测。溶解无机氮(dissolved inorganic nitrogen, DIN)值为 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4\text{-N}$ 三者之和。总溶解态磷(total dissolved phosphorus, TDP)和总溶解态氮(total dissolved nitrogen, TDN)依据 Jeffries 等(1979)的方法采用酸性过硫酸钾($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)氧化法进行测定。溶解态有机磷(dissolved organic phosphorus, DOP)的浓度为 TDP 和 DIP 之差, 溶解态有机氮(dissolved organic nitrogen, DON)的浓度为 TDN 和 DIN 之差。每个样品设三个平行样。

取 200mL 经 $120\mu\text{m}$ 筛绢过滤的海水, 用 GF/F 膜过滤, 采用丙酮萃取法测定叶绿素 *a* (chl *a*) (Jespersen *et al*, 1987)。每个样品设三个平行样。

1.3 胞外酶活性的测定

LAP 和 AP 活性分别采用荧光底物 L-leucine-7-amido-4-MCA hydrochloride(Sigma L2145, Sigma, 美国)和 4-MUF-phosphate(Sigma M8883, Sigma, 美国)在荧光分光光度计(HITACHI F-4600, 日本日立有限公司, 日本)下进行检测(Hoppe *et al*, 1983)。

用经 $0.22\mu\text{m}$ 孔径的水系微孔滤膜(混合纤维滤膜, 直径 25mm , 上海兴亚净化材料厂, 中国上海)过滤的灭菌海水作为空白对照。采用 $0.22\mu\text{m}$ 或 $3\mu\text{m}$ 孔径的水系微孔滤膜(混合纤维滤膜, 直径 25mm , 上海兴亚净化材料厂)过滤或不过滤水样的方式, 进一步将胞外酶划分为溶解态($<0.22\mu\text{m}$), pico 级($0.22\text{—}3\mu\text{m}$), nano 级($>3\mu\text{m}$)及总态(不过滤)粒径。每个样品设三个平行样。分别用相对应的标准物质 7-amino-4-methoxyethanol (Sigma A9891)和 4-methylumbelliferone (Sigma M1381)制作 LAP 和 AP 的标准曲线, 胞外酶活性的表示单位是 $\text{nmol}/(\text{L}\cdot\text{h})$ 。

1.4 数据分析

所有的数据分析都是在 SPSS 22.0 软件中完成。Kolmogorov-Smirnov 检验变量是否正态分布, 对非正态分布变量进行对数(以 10 为底数)或三角函数(cos)

转换。采用单因素方差分析(One way ANOVA)分析同一因子随时空变化的差异, $P<0.05$ 表明存在显著差异。使用双变量相关性分析叶绿素、LAP、AP 与各环境因子的相关性, 实行双尾检验。通过 F 检验, 进一步使用逐步线性回归方法分析其相关性。

2 结果

2.1 理化环境因子的变化

如表 1 所示, 从 3 月到 6 月, 南澳岛近海表层海水的温度显著上升($P<0.05$), 盐度显著下降($P<0.05$),

海水的 pH 逐渐升高($P<0.05$)。三次采样期间溶解氧先显著下降, 后显著上升($P<0.05$)。不同月份间 DIN 浓度平均值变化不大($P>0.05$), 整体平均值为 $12.34\pm 2.37\mu\text{mol/L}$ 。DIP 浓度呈现逐渐下降的趋势($P<0.05$), 至 6 月份时, DIP 浓度已低于检出限($0.12\mu\text{mol/L}$)。SiO₃-Si 的浓度在 5 月份比较高, 测站浓度最高可达 $27.05\mu\text{mol/L}$, 显著高于 3 月和 6 月($P<0.05$)。海水中的无机态 N/P 比值随着 DIP 浓度降低逐渐上升, 从 3 月的 27.7 ± 5.7 上升到 5 月的 34.1 ± 9.6 , 海区逐渐演化为 P 限制海域。

表 1 不同月份南澳岛近海理化因子的变化

Tab. 1 Variations of environmental parameters in the coastal water of Nan'ao Island in March, May, and June 2016

理化因子	3 月		5 月		6 月	
	范围	平均值 $\pm$ S.D.	范围	平均值 $\pm$ S.D.	范围	平均值 $\pm$ S.D.
T($^{\circ}\text{C}$)	14.10—14.90	14.41 $\pm$ 0.23	25.00—25.80	25.45 $\pm$ 0.24	28.30—30.80	29.34 $\pm$ 0.89
S(PSU)	31.00—31.20	31.15 $\pm$ 0.05	29.80—31.90	30.72 $\pm$ 0.78	24.50—28.90	26.46 $\pm$ 1.26
DO(mgO_2/L)	6.44—8.40	7.39 $\pm$ 0.58	6.45—7.73	6.81 $\pm$ 0.36	8.64—10.44	9.47 $\pm$ 0.58
pH	7.09—7.38	7.26 $\pm$ 0.09	8.05—8.12	8.07 $\pm$ 0.02	7.89—8.30	8.22 $\pm$ 0.11
DIN($\mu\text{mol/L}$)	10.47—16.79	12.78 $\pm$ 1.98	9.57—20.20	12.55 $\pm$ 2.55	7.19—18.16	11.65 $\pm$ 2.59
DIP($\mu\text{mol/L}$)	0.38—0.73	0.49 $\pm$ 0.10	0.27—0.49	0.38 $\pm$ 0.06	-	-
SiO ₃ -Si($\mu\text{mol/L}$)	7.42—16.08	11.11 $\pm$ 2.44	16.92—27.05	21.06 $\pm$ 3.02	3.03—21.96	14.08 $\pm$ 4.81
DON($\mu\text{mol/L}$)	3.88—22.59	13.96 $\pm$ 1.45	0—16.60	3.80 $\pm$ 5.86	0—11.34	3.99 $\pm$ 3.32
DOP($\mu\text{mol/L}$)	0.18—0.71	0.35 $\pm$ 0.14	0.11—0.46	0.25 $\pm$ 0.09	0.28—0.45	0.38 $\pm$ 0.06
DIN/DIP	16.7—38.2	26.9 $\pm$ 6.0	22.9—53.2	34.1 $\pm$ 9.2	-	-

注: “-”表示低于检出限; T. 温度, S. 盐度, DO. 溶解氧, pH. 酸碱度, DIN. 溶解无机氮, DIP. 溶解无机磷, SiO₃-Si. 硅酸盐, DON. 溶解有机氮, DOP. 溶解有机磷, DIN/DIP. 溶解无机氮磷比

DON 从 3 月至 5 月明显减少($P<0.05$), 6 月龙须菜收割之后又略有回升($P<0.05$)。DIN 占 TDN 的比值由 3 月份的 50%上升到 80%左右, DIN 一直是浮游植物生长的主要 N 源。DOP 浓度变化则是先显著下降, 再显著上升, 恢复到与 3 月差不多的浓度。3 月和 5 月, DOP 占 TDP 的比例为 40%左右, 至 6 月份, DOP 成为浮游植物生长的主要 P 源。

比较同一月份不同区域间理化环境因子变化(表 2), 发现在 3 月和 6 月, 各区域之间的理化因子不存在显著差异($P>0.05$)。在 5 月份, 龙须菜养殖区 DO 显著高于其他区($P<0.05$), DIP 浓度显著低于鲍鱼养殖区($P<0.05$)(表 2)。混养区的 DIP 与龙须菜养殖区无显著差异($P>0.05$), 但与非养殖区和鲍鱼区有极显著差异($P<0.01$)。

表 2 2016 年 5 月份南澳岛近海各区域理化因子的比较

Tab. 2 Variations of environmental parameters in the coastal water of Nan'ao Island in different aquaculture areas in May, 2016

理化因子	平均值 $\pm$ S.D.			
	龙须菜养殖区(G 区)	混养区(GA 区)	鲍鱼区(A 区)	非养殖区(N 区)
T($^{\circ}\text{C}$)	25.15 $\pm$ 0.21	25.40 $\pm$ 0.00	25.63 $\pm$ 0.15	25.48 $\pm$ 0.28
S(PSU)	31.90 $\pm$ 0.008	30.00 $\pm$ 0.00	30.73 $\pm$ 0.81	30.66 $\pm$ 0.65
DO(mgO_2/L)	7.57 $\pm$ 0.23 ^a	6.70 $\pm$ 0.04 ^b	6.56 $\pm$ 0.10 ^b	6.73 $\pm$ 0.17 ^b
pH	8.07 $\pm$ 0.01	8.05 $\pm$ 0.01	8.06 $\pm$ 0.01	8.11 $\pm$ 0.01
DIN($\mu\text{mol/L}$)	12.06 $\pm$ 0.32	12.05 $\pm$ 1.38	11.08 $\pm$ 1.45	13.03 $\pm$ 3.63
DIP($\mu\text{mol/L}$)	0.34 $\pm$ 0.048 ^a	0.31 $\pm$ 0.04 ^a	0.44 $\pm$ 0.05 ^b	0.40 $\pm$ 0.03 ^b
SiO ₃ -Si($\mu\text{mol/L}$)	17.77 $\pm$ 1.20	21.90 $\pm$ 5.07	23.04 $\pm$ 2.95	20.68 $\pm$ 0.83
DON($\mu\text{mol/L}$)	2.08 $\pm$ 2.95	-	7.76 $\pm$ 8.35	4.38 $\pm$ 4.97
DOP($\mu\text{mol/L}$)	0.16 $\pm$ 0.07	0.25 $\pm$ 0.07	0.27 $\pm$ 0.06	0.27 $\pm$ 0.11

注: 上角标 a、b 表示同一因子在不同区域间存在显著差异, 非养殖区 DIP 的显著差异不包括与龙须菜养殖区, 字母相同或无标记的表示无显著差异者; “-”表示低于检出限; T. 温度, S. 盐度, DO. 溶解氧, pH. 酸碱度, DIN. 溶解无机氮, DIP. 溶解无机磷, SiO₃-Si. 硅酸盐, DON. 溶解有机氮, DOP. 溶解有机磷, DIN/DIP. 溶解无机氮磷比

2.2 浮游植物叶绿素 *a* 含量的变化

如图 2 所示, 3 月份研究海域 chl *a* 浓度平均值为 $1.64 \pm 1.45 \mu\text{g/L}$, 显著低于 5 月份的 $3.79 \pm 1.81 \mu\text{g/L}$ 和 6 月份的 $20.85 \pm 7.37 \mu\text{g/L}$ ($P < 0.05$)。在 5 月份, 龙须菜养殖区(G 区)的 chl *a* 浓度为 $0.91 \pm 0.90 \mu\text{g/L}$, 显著低于其他区域($P < 0.05$); 至 6 月份, 龙须菜养殖区和混养

区(GA 区)的 chl *a* 浓度分别为 25.26 ± 6.91 和 $26.36 \pm 7.70 \mu\text{g/L}$, 显著高于其他区域($16.31 \pm 3.36 \mu\text{g/L}$) ($P < 0.05$)。将 chl *a* 和其他理化因子进行相关性分析, chl *a* 与温度正相关($R^2 = 0.82$, $n = 40$, $P < 0.01$), 与 DIP 负相关($R^2 = -0.67$, $n = 40$, $P < 0.01$), 用逐步回归法分析发现, DIP 可以解释海区 chl *a* 69.1%的变化($P < 0.01$)。

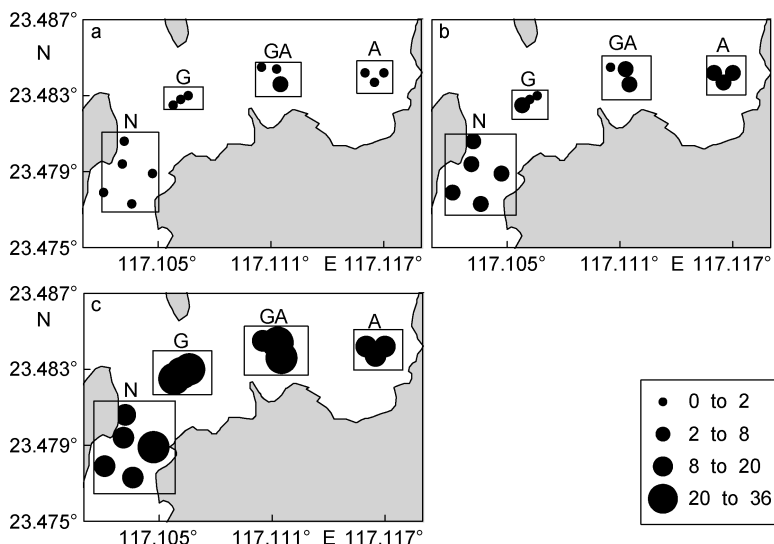


图 2 2016 年 3 月(a)、5 月(b)和 6 月(c)南澳岛近海表层海水中叶绿素 *a* 浓度(单位: $\mu\text{g/L}$)的分布
Fig. 2 Distribution of Chl *a* in the coastal waters of Nan'ao Island in (a) March, (b) May and (c) June, 2016 (unit: $\mu\text{g/L}$)
注: G. 龙须菜养殖区, GA. 龙须菜和鲍鱼混养区, A. 鲍鱼区, N. 非龙须菜鲍鱼养殖区

2.3 亮氨酸氨肽酶活性的变化

3 月份, 海水中 LAP 活性变化范围为 $6.06 \sim 145.19 \text{ nmol/(L} \cdot \text{h)}$, 平均值为 $74.38 \pm 44.69 \text{ nmol/(L} \cdot \text{h)}$, LAP 活性的低值区位于龙须菜养殖区(图 3)。至 5 月份, 海水中 LAP 活性显著升高($P < 0.01$), 平均值达到 $628.84 \pm 457.29 \text{ nmol/(L} \cdot \text{h)}$, 龙须菜养殖区的 LAP 高于其他区域($P < 0.05$)。至 6 月份, 海水中 LAP 平均值为 $666.34 \pm 412.36 \text{ nmol/(L} \cdot \text{h)}$, 与 5 月不存在显著差异($P > 0.05$), 不同区域之间的 LAP 活性无明显差异($P > 0.05$)。

LAP 活性的变化与 chl *a* 和硅酸盐浓度, 呈正相关关系 ($R^2 = 0.52$, $n = 40$, $P < 0.01$; $R^2 = 0.52$, $n = 40$, $P < 0.01$), 与 DIP 浓度呈负相关关系($R^2 = -0.50$, $n = 40$, $P < 0.01$)。进一步采用逐步回归分析可知, DIP 和硅酸盐是影响 LAP 的主要因子, 用它们可以解释 LAP 活性 33.7%的变化($P < 0.01$)。

分析不同粒径浮游生物对 LAP 的贡献, 结果表明, 各月份中, LAP 活性主要都是以细胞结合形态存在(图 4)。其中, 3 月份的 nano-和 pico-粒径的 LAP 分别占 57.1%和 31.5%。5 月份, nano-和 pico-粒径对 LAP

活性的贡献分别上升至 60.6%和 38.7%。至 6 月份, pico-粒径对 LAP 活性的贡献进一步增大, 达到 44.5%。

2.4 碱性磷酸酶活性的变化

整个海区的 AP 活性在 3、5、6 月的平均值分别为 16.11 ± 9.24 , 92.78 ± 60.44 和 $149.01 \pm 118.85 \text{ nmol/(L} \cdot \text{h)}$ 。龙须菜养殖区和混养区的 AP 活性从 3 月至 5 月显著升高($P < 0.01$), 此后无明显变化($P > 0.05$)(图 5)。而非养殖区和鲍鱼区的 AP 活性则是在 5 月至 6 月份时显著升高($P < 0.01$)。在收获时和收获后龙须菜养殖区的 AP 活性显著高于其他区域(P 均小于 0.05)。

AP 活性与 chl *a* 呈显著正相关关系($R^2 = 0.44$, $n = 40$, $P < 0.01$), 与 DIP 呈显著负相关关系($R^2 = -0.58$, $n = 40$, $P < 0.01$)。逐步回归分析结果表明在 3 个月份中, DIP 是影响 AP 活性的主要贡献者($R^2 = 0.320$, $P < 0.05$)。在 5 月份, DIP 浓度的变化可解释 AP 活性 36.3%的变量。

3 月时, 游离态和细胞结合态 AP 活性分别占到 37.5%和 45.2%(图 6)。到了 5 月和 6 月, nano-粒径的 AP 活性显著上升, 对 AP 活性的贡献分别达到 72.2%和 77.7%。

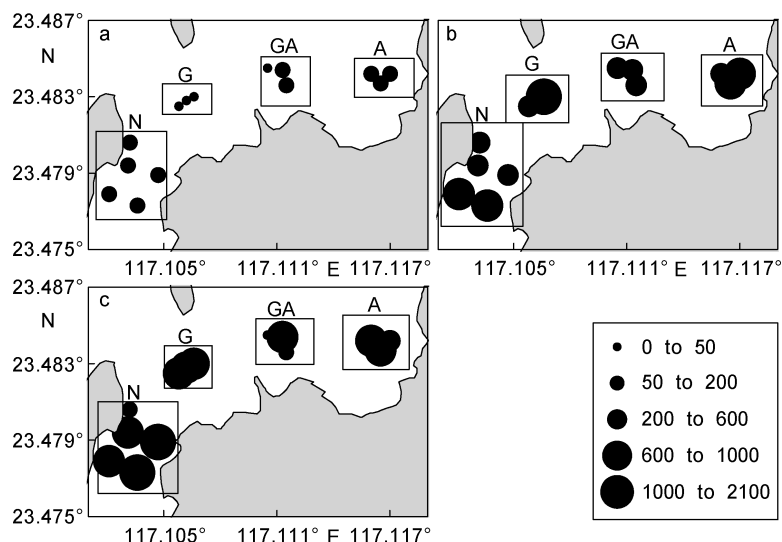


图3 2016年3月(a)、5月(b)和6月(c)南澳岛近海表层海水中亮氨酸氨肽酶活性的分布[单位: nmol/(L·h)]

Fig. 3 Distribution of leucine amino peptide activities in the coastal waters of Nan'ao Island in (a) March, (b) May and (c) June, 2016 [unit: nmol/(L·h)]

注: G. 龙须菜养殖区, GA. 龙须菜和鲍鱼混养区, A. 鲍鱼区, N. 非龙须菜鲍鱼养殖区

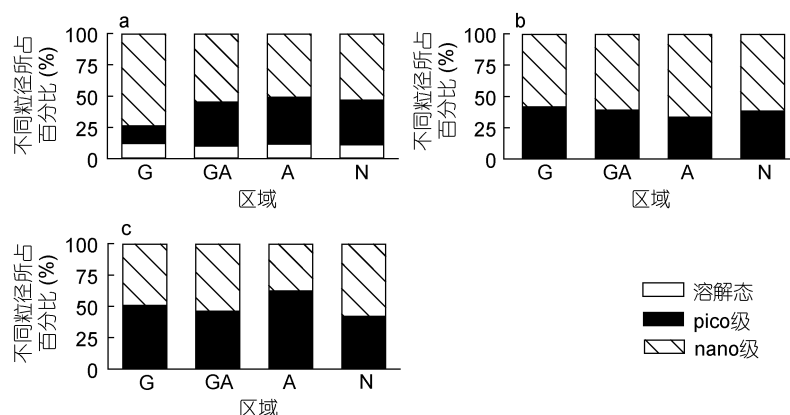


图4 2016年3月(a)、5月(b)和6月(c)不同粒径亮氨酸氨肽酶活性所占的比例

Fig. 4 Percentages of leucine amino peptide activities in different-sized fractions

注: G. 龙须菜养殖区, GA. 龙须菜和鲍鱼混养区, A. 鲍鱼区, N. 非龙须菜鲍鱼养殖区

3 讨论

3.1 南澳岛近海养殖区营养盐含量及结构的变化

调查期间, 除 N1 站之外, 整个海区的 DIN、DIP 浓度平均值均达到《GB3097-1997》中国家一类水质标准的要求, 这与近年来汕头市环境质量公报的调查结果一致。南澳岛海区总体水质良好, 适合水产养殖(汕头海洋与渔业局, 2005—2015)。N1 站主要受鱼类养殖的影响, DIN 浓度偏高, 符合国家二类水质标准。从春季至夏季, 调查海域的 DIP 含量逐渐降低, 至 6 月份时甚至低于检出限, 海水中无机 N/P 比值高于 30, 该结果表明随着浮游植物的生长, 磷酸盐将成

为营养限制因子(Beardall *et al.*, 2001; 孙元敏等, 2010)。至海区磷酸盐限制时, DOP 成为浮游植物生长的主要 P 源。海区 DIN 含量稳定在 $12.34 \pm 2.37 \mu\text{mol/L}$, 浓度较高, 表明 DIN 一直是浮游植物的主要可利用 N 源。

3.2 龙须菜和浮游植物对营养盐 P 的竞争生长

近年来研究显示, 龙须菜通过营养竞争、化感作用和遮蔽作用能抑制浮游植物的生长。相比较浮游植物, 龙须菜对无机营养盐的吸收有优势, 这使龙须菜在与浮游植物竞争时更胜一筹(徐永健等, 2005)。龙须菜能分泌克生物质, 抑制多种藻华生物生长, 这种化感作用在营养盐充足的条件下也仍然存在(Yang *et al.*, 2015b)。遮蔽作用虽然存在, 但贡献较小(Yang *et*

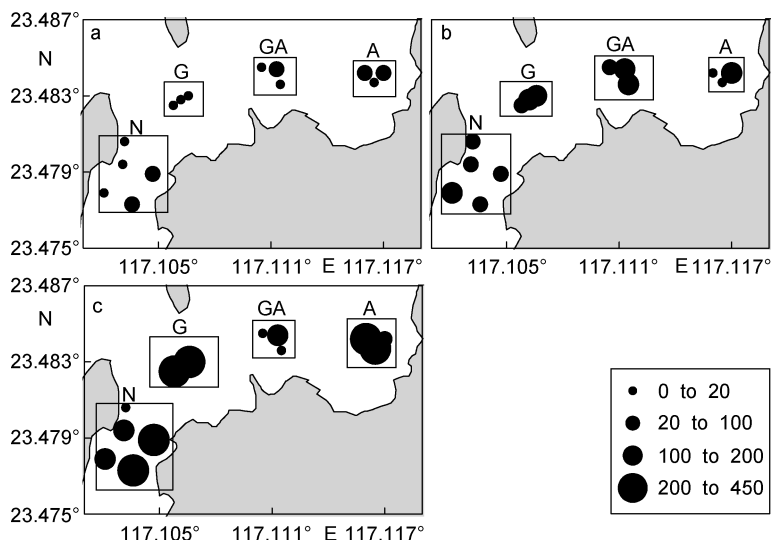


图 5 2016 年 3 月(a)、5 月(b)和 6 月(c)南澳岛近海表层海水中碱性磷酸酶活性的分布[单位: nmol/(L·h)]

Fig. 5 Distribution of alkaline phosphatase activities in the coastal waters of Nan'ao Island in March (a), May (b) and June (c), 2016 [unit: nmol/(L·h)]

注: G. 龙须菜养殖区, GA. 龙须菜和鲍鱼混养区, A. 鲍鱼区, N. 非龙须菜鲍鱼养殖区

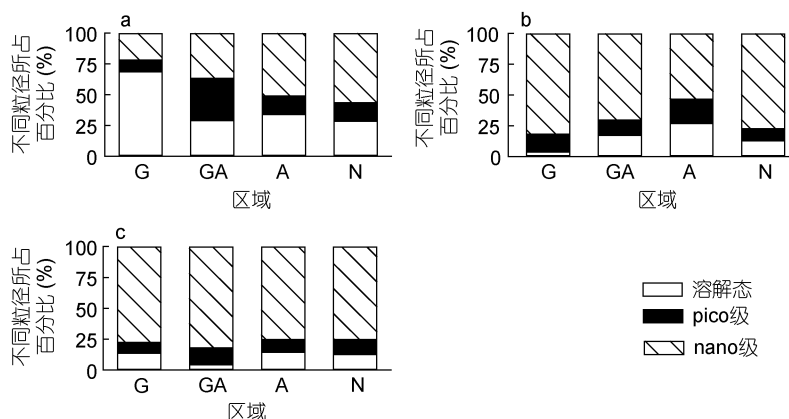


图 6 2016 年 3 月(a)、5 月(b)和 6 月(c)不同粒径碱性磷酸酶活性所占的比例

Fig. 6 Percentages of alkaline phosphatase activities in different-sized fractions

注: G. 龙须菜养殖区, GA. 龙须菜和鲍鱼混养区, A. 鲍鱼区, N. 非龙须菜鲍鱼养殖区

al, 2015b), 龙须菜对浮游植物的抑制主要受营养竞争和化感作用的影响。研究者发现, 5 月份龙须菜生长量达到高峰时, 龙须菜养殖区内浮游植物的 chl *a* 浓度显著低于其他区域; 而当龙须菜收割后, 龙须菜养殖区内浮游植物的 chl *a* 含量明显升高, 且龙须菜养殖区和混养区的 chl *a* 浓度甚至高于其他区域。此外, 5 月份, 龙须菜区和混养区 DIP 的浓度显著低于无龙须菜生长的海区, 表明龙须菜对水体中的 DIP 具有显著吸收作用。在整个调查期间, 浮游植物的 chl *a* 浓度与水温正相关, 与 DIP 负相关。南澳岛近海为潜在的 P 限制海区, 随着水温升高, 浮游植物大量生长消耗水体中的 DIP, 至 6 月份, 海区呈现无机 P 限制。

张善东等(2005a, b)对龙须菜和赤潮微藻的营养盐竞争实验结果显示, 龙须菜对营养盐的吸收能力远远高于微藻, 这一点使龙须菜在共培养体系中占据优势, 能抑制微藻的生长密度。而且大型海藻的这种抑制能力会随着生物量的增大而加强(杜锦, 2014)。因此, 在南澳岛近海, 当龙须菜大规模生长时, 可能通过与微藻竞争利用 DIP, 抑制浮游植物的生长。

3.3 浮游生物的胞外酶受水体中营养盐变化的调控

大型海藻和浮游植物在无机 N、P 匮乏时能转为对有机 N、P 进行水解利用, 以此满足植物对生长的需要。在本研究中, 采用分粒径的方式研究不同类群浮游生物的 LAP 和 AP 活性, 未分析细胞表面来源的

龙须菜的酶活性。在溶解态的胞外酶活性中,可能有部分来源于龙须菜。然而,溶解态 LAP 的比例在整个调查阶段都相对较低,溶解态胞外酶对总态胞外酶的结果影响可基本忽略,因此,可以认为,本文中检测到的胞外酶活性基本来源于浮游生物,未研究龙须菜对胞外酶的贡献。

海区的 DIN 浓度相对较高,对龙须菜和浮游植物的胁迫小,与 LAP 活性变化无相关性(Nausch *et al.*, 2000)。相同月份间龙须菜养殖区的 DIN 浓度及 DON 浓度与其他区域间无显著差异,但 5 月,龙须菜养殖区 LAP 活性显著高于其他区域,表明在该区域 DON 的水解利用高于其他区域。LAP 分粒径分析显示 LAP 活性主要是由 nano-和 pico-级浮游生物构成,相关性分析表明 LAP 活性与 chl *a* 浓度成正比,这显示 LAP 活性与浮游植物关系密切。此外, LAP 活性与 DIP 浓度成反比,这个发现与 Salerno 等(2009)在野外对 LAP 活性的研究结果一致。浮游植物吸收海水中 N、P 的比例是按照 16 : 1 的比例进行(Redfield *et al.*, 1963)。海水中的 P 胁迫或限制可能也会诱导浮游植物表达更多的 LAP 来水解利用有机营养盐。南澳岛 AP 活性主要由 nano-级浮游植物构成,5、6 月份海水中磷酸盐浓度的下降及浮游植物 AP 活性的大量表达,表明 5、6 月份的南澳岛浮游植物受到严重的 P 限制。在 5、6 月,龙须菜养殖区的 AP 活性显著升高,暗示着浮游植物对 DOP 的水解利用能力增强,随着海水中 DIP 含量的下降甚至限制, DOP 逐渐成为浮游植物可利用的主要 P 源。南澳海区的 AP 活性主要受到 DIP 和浮游植物影响, DIP 浓度的下降或 chl *a* 浓度的升高皆能提高 AP 活性,此结果与 Dyhrman 等(2006)和 Meseck 等(2009)的研究结果一致, DIP 浓度对 AP 活性的影响较大。在 5 月份尽管龙须菜养殖区 chl *a* 浓度较低,但在低浓度 DIP(相对于其他区)的影响下, AP 活性显著高于其他区。

4 结论

(1) 南澳岛近海从春季至夏季,随着海水中的 chl *a* 含量显著升高, P 酸盐成为限制浮游植物生长的主要营养限制因子,有机 P 成为浮游植物生长的主要 P 源。

(2) nano-级浮游植物是 LAP 和 AP 的主要贡献者。浮游植物 LAP 和 AP 表达受到海水中 DIP 浓度的调控。浮游植物通过水解利用有机营养盐,缓解 P 胁迫。

(3) 龙须菜会和浮游植物竞争利用水体中的营养盐,并在一定程度上抑制浮游植物的生长。龙须菜的养殖可能对净化水质,预防有害藻华的发生起到一定程度的作用。

参 考 文 献

- 王亮根, 杜虹, 陈伟洲等, 2010. 深澳湾浮游植物群落特征及其多样性研究. 生态科学, 29(3): 200—206
- 汕头海洋与渔业局, 2005—2015. 汕头市海洋环境状况公报. 汕头: 汕头海洋与渔业局
- 孙元敏, 陈彬, 马志远等, 2010. 南亚热带海岛周边海域富营养化评价及原因分析. 海洋通报, 29(5): 572—576
- 孙颖颖, 张静, 刘泓君等, 2011. 龙须菜对 3 种赤潮微藻生长的影响. 海洋通报, 30(3): 328—333
- 杜锦, 2014. 浒苔对营养盐吸收特性及与赤潮藻竞争关系的初步研究. 青岛: 中国海洋大学硕士学位论文, 1—91
- 张善东, 宋秀贤, 王悠等, 2005a. 大型海藻龙须菜与锥状斯氏藻间的营养竞争研究. 海洋与湖沼, 36(6): 556—561
- 张善东, 俞志明, 宋秀贤等, 2005b. 大型海藻龙须菜与东海原甲藻间的营养竞争. 生态学报, 25(10): 2676—2680
- 徐永健, 钱鲁闽, 焦念志, 2005. 添加大型海藻龙须菜对肋骨条藻赤潮的影响. 台湾海峡, 24(4): 533—539
- 雷光英, 杨宇峰, 李宵, 2010. 龙须菜对赤潮异弯藻和海洋原甲藻的生长抑制效应. 海洋环境科学, 29(1): 27—31
- Beardall J, Young E, Roberts S, 2001. Approaches for determining phytoplankton nutrient limitation. Aquatic Sciences, 63(1): 44—69
- Berges J A, Mulholland M R, 2008. Enzymes and nitrogen cycling. In: Capone D G, Bronk D A, Mulholland M R, *et al.* eds. Nitrogen in the Marine Environment. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 1385—1444
- Burkholder J M, Glibert P M, Skelton H M, 2008. Mixotrophy, a major mode of nutrition for harmful algal species in eutrophic waters. Harmful Algae, 8(1): 77—93
- Duhamel S, Dyhrman S T, Karl D M, 2010. Alkaline phosphatase activity and regulation in the North Pacific Subtropical Gyre. Limnology and Oceanography, 55(3): 1414—1425
- Dyhrman S T, Ruttnerberg K C, 2006. Presence and regulation of alkaline phosphatase activity in eukaryotic phytoplankton from the coastal ocean: Implications for dissolved organic phosphorus remineralization. Limnology and Oceanography, 51(3): 1381—1390
- Glibert P M, Burkholder J M, 2011. Harmful algal blooms and eutrophication: “strategies” for nutrient uptake and growth outside the Redfield comfort zone. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 29(4): 724—738
- Hoppe H G, 1983. Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water: measurements by means of methylumbelliferyl—substrates. Marine Ecology Progress Series, 11: 299—308
- Jeffries D S, Dieken F P, Jones D E, 1979. Performance of the autoclave digestion method for total phosphorus analysis. Water Research, 13(3): 275—279
- Jespersen A M, Christoffersen K, 1987. Measurements of

- chlorophyll—*a* from phytoplankton using ethanol as extraction solvent. *Archiv Für Hydrobiologie*, 109(3): 445—454
- Lüring M, van Geest G, Scheffer M, 2006. Importance of nutrient competition and allelopathic effects in suppression of the green alga *Scenedesmus obliquus* by the macrophytes *Chara*, *Elodea* and *Myriophyllum*. *Hydrobiologia*, 556(1): 209—220
- Mao Y Z, Yang H S, Zhou Y, *et al*, 2009. Potential of the seaweed *Gracilaria lemaneiformis* for integrated multi—trophic aquaculture with scallop *Chlamys farreri* in North China. *Journal of Applied Phycology*, 21(6): 649—659
- Meseck S L, Alix J H, Wikfors G H, *et al*, 2009. Differences in the soluble, residual phosphate concentrations at which coastal phytoplankton species up-regulate alkaline-phosphatase expression, as measured by flow-cytometric detection of ELF-97® fluorescence. *Estuaries and Coasts*, 32(6): 1195—1204
- Nausch M, Nausch G, 2000. Stimulation of peptidase activity in nutrient gradients in the baltic sea. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(13): 1973—1983
- Redfield A C, Keiehum B H, Richards F A, 1963. The influence of organisms on the composition of seawater. In: Hill M N ed. *The Sea* (2). New York: Wiley Interscience, 26—79
- Salerno M, Stoecker D K, 2009. Ectocellular glucosidase and peptidase activity of the mixotrophic dinoflagellate *Prorocentrum minimum* (Dinophyceae) 1. *Journal of Phycology*, 45(1): 34—45
- Valderrama J C, 1995. Methods of nutrient analysis. In: Hallegraeff G M, Anderson D M, Cembella A D eds. *Manual on Harmful Marine Microalgae*, IOC Manuals and Guides No. 33. Paris: UNESCO, 251—282
- Yang Y F, Chai Z Y, Wang Q, *et al*, 2015a. Cultivation of seaweed *Gracilaria* in Chinese coastal waters and its contribution to environmental improvements. *Algal Research*, 9: 236—244
- Yang Y F, Fei X G, Song J M, *et al*, 2006. Growth of *Gracilaria lemaneiformis* under different cultivation conditions and its effects on nutrient removal in Chinese coastal waters. *Aquaculture*, 254(1—4): 248—255
- Yang Y F, Liu Q, Chai Z Y, *et al*, 2015b. Inhibition of marine coastal bloom-forming phytoplankton by commercially cultivated *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 27(6): 2341—2352

NUTRIENT COMPETITION BETWEEN MACROALGAE *GRACILARIA LEMANEIFORMIS* AND PHYTOPLANKTON IN COASTAL WATERS OF NAN'AO ISLAND, GUANGDONG

HUANG Yin-Shuang^{1,3}, OU Lin-Jian^{1,3}, YANG Yu-Feng^{2,3}

(1. Research Center for Harmful Algae and Marine Biology, Guangzhou 510632, China; 2. Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 3. Key Laboratory of Aquatic Eutrophication and Control of Harmful Algal Blooms of Guangdong Higher Education Institutes, Guangzhou 510632, China)

Abstract The coastal area of Nan'ao Island, Guangdong, is one of the most important cultural base of *Gracilaria lemaneiformis* in China. To explore the possible effect of culture of *G. lemaneiformis* on algal blooms, field investigations were conducted at different functional cultural zones in this area in March, May and June, 2016. The changes in nutrient contents and compositions were compared before and after the cultivation of *G. lemaneiformis* and the utilization of organic nutrients by phytoplankton in different-sized fractions were determined through analysis of extracellular enzyme hydrolysis. Results show that the concentration of dissolved inorganic nutrient was low, thus the water quality of the studied area was good. The concentration of dissolved inorganic phosphorus (DIP) decreased with the increase of the phytoplankton biomass from spring to summer, which in turn changed the studied area into a phosphorus-limited area finally. In May, the DIP concentrations in *G. lemaneiformis* mono-culture zone and *G. lemaneiformis* abalone co-culture zones were significantly lower than that in abalone mono-culture and non-culture zone. Furthermore, compared with any of the other zones, the chlorophyll *a* (*chl a*) concentration was significantly lower whereas the activities of leucine amino peptidase (LAP) and alkaline phosphatase (AP) were much higher in the *G. lemaneiformis* mono-culture zone, suggesting that the phytoplankton in this zone suffered from much more nutrient stress. Moreover, *chl a* content in *G. lemaneiformis* mono-culture zone increased rapidly after the harvest of *G. lemaneiformis*. All these results indicate that *G. lemaneiformis* might inhibit phytoplankton growth by nutrient competition, especially in phosphorus, and thus may depress harmful algal blooms from happening.

Key words *Gracilaria lemaneiformis*; phytoplankton; nutrient; leucine amino peptidase; alkaline phosphatase; Nan'ao island