

海洋原甲藻与三角褐指藻混合培养条件下的种群生长与氮磷营养盐变化

周成旭, 马 斌, 汪飞雄, 徐 斌, 严小军

(浙江省海洋生物工程重点实验室, 浙江 宁波 315211)

摘要: 以三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricorneratum* Bohl) 和海洋原甲藻 (*Prorocentrum micans*) 为实验种研究了硅藻与甲藻在混合培养的环境中其各自的种群密度变化以及相应水体中氮磷营养盐变化。结果显示, 在单独培养或与海洋原甲藻共同培养的条件下, 三角褐指藻均表现出明显的营养盐吸收优势, 种群生长迅速。相对而言, 海洋原甲藻对营养盐的吸收速率明显较低, 而且在与三角褐指藻共同培养的水体中一直处于竞争劣势; 但有海洋原甲藻存在的水体中, 三角褐指藻较单独培养时具有更高的生长速率和高的生物量, 海洋原甲藻的存在可能促进三角褐指藻的生长。

关键词: 海洋原甲藻 (*Phaeodactylum tricorneratum* Bohl); 三角褐指藻 (*Prorocentrum micans*); 混合培养; 氮; 磷

中图分类号: Q89

文献标识码: A

文章编号: 100023096(2006) 122005204

研究表明, 在复杂的自然海区中, 某种群的生长受到来自海区中各种生物和非生物因素的影响, 尽管研究者在尽量地寻找特殊种类的特殊影响因子并对其进行不懈的探讨, 但都普遍认为氮磷营养盐条件仍然是决定浮游植物生长的主要因子而且是关联不同种之间竞争特征的重要因素之一^[1-3]。硅藻与甲藻是海洋环境中生理生态特性有显著差异的类群, 是海洋中主要的赤潮种类, 在赤潮监测中常常会发现硅藻赤潮以后常伴随着甲藻赤潮的到来, 或两者相伴出现。两者藻间相互作用的研究对研究自然生态环境中影响种群动力学因子有重要的作用。有研究者认为, 硅藻赤潮以后水体的寡营养条件或许为甲藻初始生长的低营养盐要求创造了条件从而使甲藻能够较快地达到形成赤潮的有效密度。细胞的胞外物质的相互作用也是影响种群动态的一个重要因素^[4]。作者选择两种具有代表性的赤潮种类进行混合培养研究, 针对其各自种群动态变化特征与相应氮磷盐营养关系进行探讨, 旨在为赤潮种群动力学的研究提供参考。

1 材料与方 法

实验用藻种三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricorneratum* Bohl) 系浙江省海洋生物工程重点实验室种质库(NMB) 提供, 海洋原甲藻 (*Prorocentrum micans*) 由中国科学院海洋研究所赤潮种质库提供于 NMB 库存保种。

营养盐: 为 1/2NMB3# 培养液 300 mL。

NMB3# 培养液配方母液:

KNO_3 100 g; K_2HPO_4 10 g; MnSO_4 0.25 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.5 g; Na_2EDTA 20 g; $\text{V}_{\text{B}12}$ 0.5 Lg; $\text{V}_{\text{B}1}$ 5 Lg, 溶解于 1 000 mL 蒸馏水。

以 1B 1 000 海水比例使用。

实验各组合的配制: 1 000 mL 的玻璃三角瓶中, 300 mL 培养液加入各 100 mL 处于指数生长期的藻液(单种培养或混合培养), 单种培养组则再以 100 mL 消毒海水定容至 500 mL(接种后, 各组中三角褐指藻细胞初始密度均为 1.7×10^5 个/mL, 海洋原甲藻细胞初始密度均为 1 680 个/mL)。水体盐度为 33, 各实验组设置两组平行样, 取两组平均值作为实验结果, 实验起始设为 0 天。

以 GXZ 型智能光照培养箱(宁波江南仪器厂) 设置各实验参数如下: 光周期 DB L= 12B 12, 光照强度为 2 000~2 500 lx, 温度为 20e。

每两天记录细胞密度, 以血球计数板计数三角褐指藻纯种培养(Pt) 或混合培养(Pt(Pt+ Pm)) 条件下的细胞密度; 以微量定量取样器(Finnpipette) 取 100 μL 海洋原甲藻纯种培养(Pm) 或混合培养(Pm(Pt+ Pm)) 条件下的细胞密度。

收稿日期: 2004 12 12; 修回日期: 2005 07 23 1

基金项目: 国家 863 青年基金资助项目(2003AA2Z3511); 浙江省自然科学基金资助项目(Y504083)

作者简介: 周成旭(1962), 女, 四川什邡人, 副研究员, 硕士, 主要从事海洋浮游植物生物学及生理生态学研究, 电话: 0574287600556, E-mail: chxuzh@hotmail.com

Pm)) 水体,以 2% 的甲醛海水溶液固定于浮游植物记数框上进行海洋原甲藻的全部细胞记数。

硝酸盐与磷酸盐变化的测定以全自动营养盐测定仪(LMAC21 000)测定。实验各组合后的氮磷营养盐初始平均状态如表 1 所示。

表 1 实验各组氮磷营养初始状态

Tab. 1 Primary conditions of nitrate-N and phosphate-P

实验组	硝酸盐(mg/L)	磷酸盐(mg/L)	初始氮磷比
Pt	4.25	0.30	14.18
Pm	5.22	0.52	10.07
Pt+ Pm	6.27	0.52	12.14

种群生长速率以细胞每日分裂次数 K 计算^[5]:

$$K = \lg(N_t/N_0) \cdot (3.322/t)$$

其中 N_0 为藻细胞初始密度; N_t 为时间 t 天后的藻细胞密度; K 为每天细胞分裂次数。

氮磷营养盐去除率的计算设计为:

$$R_n = (S_n - S_0) / S_n$$

其中 R_n 为第 n 天的营养盐去除率; S_n 为第 n 天的营养盐浓度; S_0 为营养盐的初期浓度。

2 实验结果与讨论

实验结果显示,从实验开始到生长 2 d 后,三角褐指藻在纯种培养或与海洋原甲藻混合培养条件下的细胞密度变化趋势类似(图 1),实验中,细胞密度均处于增长状态,第二天的增长率两种培养也相近(分别为 3.3/d 和 2.2/d),纯种条件下的初始增长率略高(图 2)。以后,纯种培养的三角褐指藻细胞密度却明显低于与海洋原甲藻混合培养的三角褐指藻密度,且纯种的三角褐指藻在第 4 和第 6 天的增长率也低于混合培养下的增长率(分别为 0.9/d 和 1.6/d; 0.1/d 和 0.4/d)。

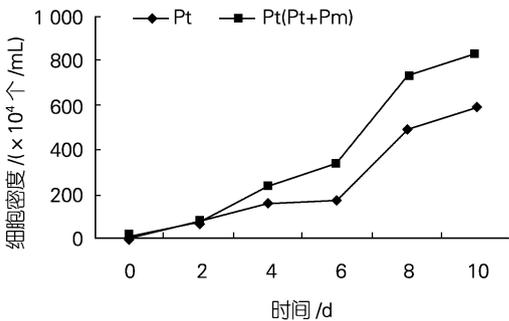


图 1 单独培养(Pt)及与海洋原甲藻混合培养(Pt(Pt+Pm))条件下的三角褐指藻的生长

Fig. 1 The growth of *P. tricornutum* Boh1 when cultivated alone (Pt) and mixed-cultivated with *P. micans* (Pt(Pt+ Pm))

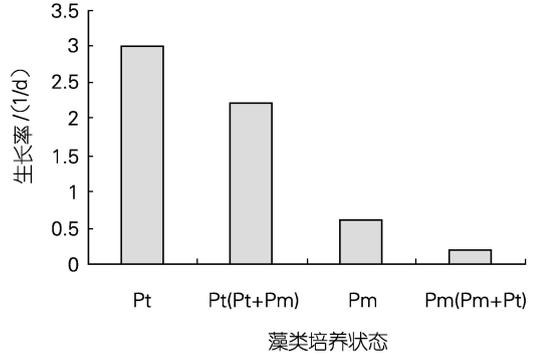


图 2 三角褐指藻与海洋原甲藻两种培养状况下两天后的增长率

Fig. 2 The growth rate of *P. micans* (*Pm*2cultivated alone, *Pm*(*Pm*+ *Pt*)2in mix culture) and *P. tricornutum* (*Pt*2cultivated alone, *Pt*(*Pt*+ *Pm*)2in mix culture) after two days culture

从海洋原甲藻的细胞密度变化来看,纯种培养的生长状况明显比与三角褐指藻混合培养时的生长状况好,其生长曲线体现了藻类初期生长至指数生长早期的特点(图 3)。而在与三角褐指藻混合培养的实验组中,在实验前期(0~4 d),海洋原甲藻尚能够维持存活并且在实验的前 4 天中尚有细胞分裂(图 4),镜检细胞生活状态活跃。但以后,海洋原甲藻细胞密度开始下降直至第 10 天没有存活的细胞。

混合培养条件下的海洋原甲藻的生长率趋于下降,而在纯种培养组中生长率相对稳定并在实验期间开始进入指数生长期。

在实验过程中发现,不同培养组合的水体中硝酸盐和磷酸盐的变化存在明显的差异(图 5、图 6)。单种培养三角褐指藻的培养液中氮磷的消耗迅速,培养到第 4 天时氮消耗达 89.9%,磷消耗达 99.96%;单独培养的海洋原甲藻对氮磷的消耗明显较缓慢,第 4 天时氮的消耗仅为 13.8%,磷的消耗为 22%;2 个种对磷的消耗比率都相对较大。在混合培养的实验中,培养到第 4 天时氮磷的消耗分别为 75.97% 和 96.8%(图 7、图 8),消耗速率较单种培养三角褐指藻的低但较单种培养海洋原甲藻的明显高。第 4 天,混合培养中的三角褐指藻密度为 2.4×10^6 个/mL,生长率为 0.4/d,而纯种培养的三角褐指藻的密度为 1.6×10^6 个/mL,生长率为 0.13/d。由此可见,虽然混

合培养组中氮磷的消耗较纯种培养组中低,但在相同外界培养条件下,混合培养实验组中三角褐指藻达到了更高的生长密度和具有更高的生长率,说明在此实验组中三角褐指藻生长的营养来源可能有源自与其混合培养的海洋原甲藻的影响。

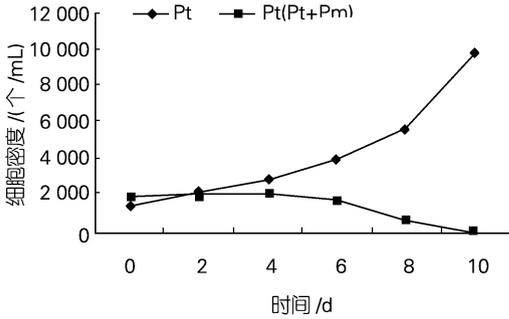


图3 单独培养(Pm)及与三角褐指藻混合培养(Pm+Pt)条件下海洋原甲藻的生长

Fig. 3 The growth of *P. micans* when cultivated alone (Pm) and mixed cultivated with *P. tricornutum* (Pm(Pt+Pm))

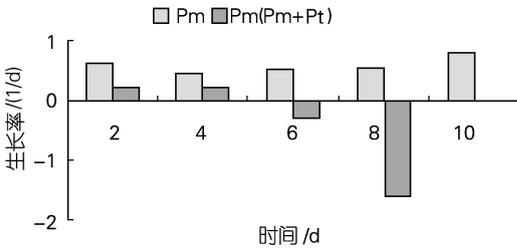


图4 两种培养条件下海洋原甲藻的生长率变化

Fig. 4 Growth rate variation of *P. micans* in two different cultures

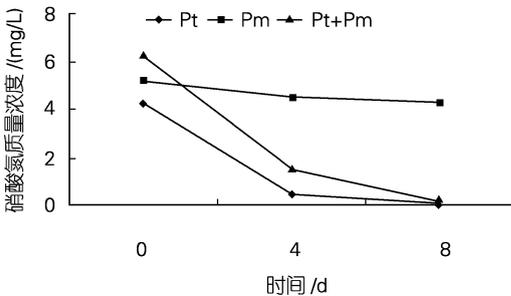


图5 培养过程中硝酸盐氮的变化曲线

Fig. 5 Variation of nitrate-N in the culture

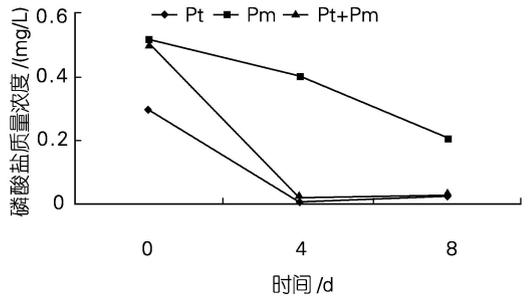


图6 培养过程中磷酸盐的变化曲线

Fig. 6 Variation of phosphate-P in the culture

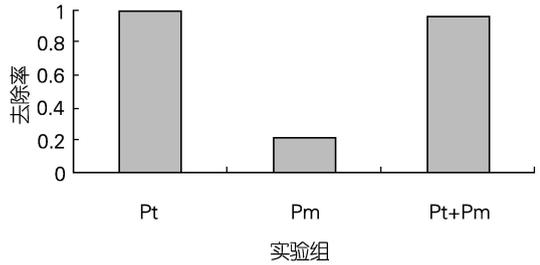


图7 各实验组中第4天的硝酸盐氮去除率

Fig. 7 Absorbing rate of nitrate-N after 4 days culture

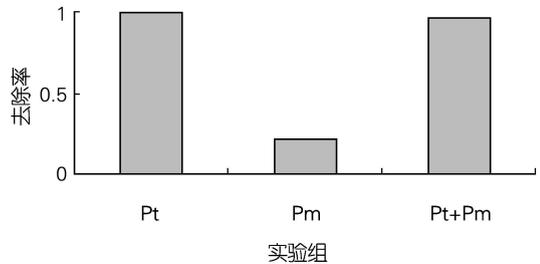


图8 各实验组中第4天的磷酸盐去除率

Fig. 8 Absorbing rate of phosphate-P after 4 days culture

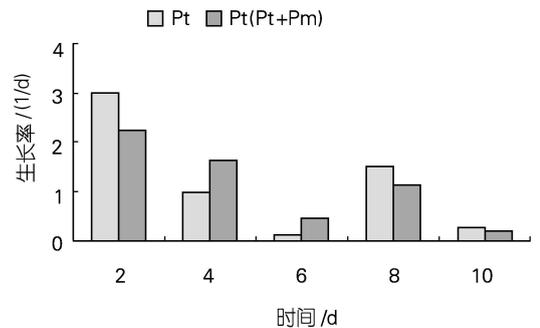


图9 两种培养条件下三角褐指藻的生长率变化

Fig. 9 Growth rate variations of *P. tricornutum* in two cultures

混合培养条件下,氮磷的消耗并没有三角褐指藻单独培养时消耗得快,相反其氮磷去除率相对低一些,而混合培养中的三角褐指藻的细胞密度却大于单独培养的三角褐指藻密度(图1),在混合培养中的三角褐指藻密度受到同水体中海洋原甲藻生长状态变化的影响:从实验开始到第2天,混合培养与单独培养的三角褐指藻具有相近的生长态势,且单独培养的三角褐指藻细胞分裂速率较混合培养下的高。第二天以后,混合培养中的海洋原甲藻密度开始缓慢下降,同期,水体中的三角褐指藻密度开始表现大于单独培养水体的生长,以后的第4和第6天的细胞分裂率都比单独培养的三角褐指藻高(图9)。或许在海洋原甲藻消亡的过程中会有一些促进三角褐指藻细胞分裂的因子。张冬鹏等^[6]实验发现,锥状施克里普藻和链状亚历山大藻能促进拟菱形藻的生长,而在混合组合中的甲藻生长都处于受抑状态。与作者相对于硅藻(三角褐指藻)和赤潮甲藻(海洋原甲藻)的实验组合有相似的结果。黄邦钦等^[7]研究中肋骨条藻和圆筛藻与塔玛亚历山大藻混合培养时也发现硅藻对甲藻生长的抑制。很显然,从微观分子水平研究硅藻与甲藻共同培养时水体中相互作用物质及其机理是进一步研究赤潮种间关系的必要途径。

参考文献:

- [1] Pratt C M. Competition between *Skeletonema costatum* and *Olithodiscus luteus* in Narragansett Bay and in culture[J]. *Limnol Oceanogr*, 1966, 11: 447.
- [2] 齐雨藻, 张家平. 中国沿海的赤潮))) 深圳湾富营养化与赤潮研究[J]. 暨南大学学报(自然科学版, 赤潮研究专刊), 1989, 10: 25231.
- [3] 朱从举, 齐雨藻, 郭昌弼. 铁、氮、磷、维生素 B1 和 B12 对海洋原甲藻的生长效应[J]. *海洋与湖沼*, 1994, 25(2): 162172.
- [4] 宋君. 植物间的他感作用[J]. *生态学杂志*, 1990, 9(6): 6.
- [5] Guillaed R R L, Stein J R. *Handbook of Phycolgical Methods and Growth Measurements* [M]. London: Cambridge University, 1973. 2892312.
- [6] 张冬鹏, 武宝轩. 几种赤潮藻对温度、氮、磷的响应及藻间相互作用的研究[J]. 暨南大学学报(自然科学版), 2000, 21(5): 82287.
- [7] 黄邦钦, 徐鹏, 胡海忠, 等. 单种及混合培养条件下 Fe, Mn 对赤潮生物塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense*) 生长的影响[J] *环境科学学报*, 2000, 20(5): 532541.

The population growth and variation of nitrate²N and phosphate²P in the mix²culture of *Phaeodactylum tricornutum* Bohl and *Prorocentrum micans*

ZHOU Cheng²xu, MA Bin, WANG Fe²xiong, XU Bin, YAN Xiao²jun
(Zhejiang Marine Biot echnology Key Lab, Ningbo 315211, China)

Received: Nov. , 12, 2004

Key words: *Pr orocentrum micans*; *Phaeodactylum tricornutum* Bohl; mix²culture; nitrat²N; phosphat²P

Abstract: The relationship between diatom and dinoflagellate while being cultivated together was studied by using *Phaeodactylum tricornutum* Bohl and *Prorocentrum micans* as the target species. The result indicated that *P. tricornutum* Bohl had a competition advantage of absorbing both nitrate²N and phosphate²P compared with that of *P. micans*. *P. tricornutum* Bohl had a larger growth rate and could reach larger biomass when cultivated with *P. micans* than that of being cultured alone. The growth of *P. micans* can be restrained when cultivated with *P. tricornutum* Bohl.

(本文编辑: 张培新)