## 氮磷营养盐与有机汞联合作用对微氏海链藻生长的影响

李顺兴<sup>1,2</sup>,郑凤英<sup>2</sup>,洪华生<sup>1</sup>,王大志<sup>1</sup>,黄立漳<sup>3</sup>

(1. 厦门大学 近海海洋环境科学国家重点实验室 福建 厦门 361005; 2. 漳州师范学院 化学系 福建 漳州 363000; 3. 福州大学 化学与化工学院 福建 福州 350002)

摘要: 探讨在高营养盐(氮、磷、硅分别为浮游植物生长的营养盐阈值  $\geq$  40、50、9倍)条件下, 氮浓度及氮磷摩尔比值[n(N)/n(P)]变化、汞(甲基汞和乙基汞)对微氏海链藻(*Thalassiasi-raweissf logii*)生长的影响。结果表明,高营养盐区海链藻的生长遵循营养盐限制的 唯一因 子论; 氮浓度和氮磷比提高促进生长, 当n(N)/n(P) = 64则呈抑制效应; 生长初期, 甲基汞和 乙基汞均产生毒性抑制作用, 生长中后期, 适量甲基汞(浓度  $\leq$  1.0 µg/L)、乙基汞(浓度  $\leq$ 0. Sµg/L)却呈兴奋效应, 促进生长; 汞形态不同, 剂量效应关系不同。氮和有机汞是海链藻 生长的刺激因子。适度有机汞污染与氮富营养化对微氏海链藻的生长产生协同效应。

关键词:营养盐;有机汞;海洋浮游植物;生长 中图分类号:Q949.22<sup>+</sup>5 文献标识码:A 文章编号:1000-3096(2005)10-003604

海洋浮游植物按 Redfield 系数[n(N)/n(P) = 16] 自海水中吸收营养盐,大量常量营养盐(M acrenutrients) 的输入,引起营养盐浓度及其比例的改变, 营养盐摩尔比值偏离 Redfield 系数过高或过低,对海 洋生态系统影响显著<sup>[11]</sup>,影响海洋浮游植物种群组 成<sup>[2~4]</sup>、限制浮游植物生长<sup>[5]</sup>和改变生化组份<sup>[6]</sup>。营 养盐限制因子是海洋科学研究关注的焦点,氮限制、 磷限制、硅限制各执一说;1995年 Justic 提出营养盐 浓度的绝对限制法则,即提出限制浮游植物生长的 营养盐阈值,并按化学计量限制的评估准则提出相 对限制法则:n(N)/n(P) > 22,磷限制;n(N)/n(P)< 10,氮限制;杨东方<sup>[7]</sup>认为限制浮游植物生长的营 养盐必须同时满足绝对和相对限制法则,限制营养 盐一定只有一种。

据国家海洋局报道,河口海域普遍受到无机氮、 磷酸盐、汞的污染<sup>[8]</sup>。如东海近岸为营养盐高值 区<sup>[5]</sup>,氮、磷分别为生长阈值的3、2倍。汞为海洋中 主要的重金属污染物,近岸海域尤甚<sup>[8]</sup>。任何形态的 汞(金属汞、无机汞、芳基汞等)在环境中均可烷基化 为剧毒的烷基汞<sup>[9]</sup>。海链藻是海洋硅藻的模式种之 一,已有生态学研究基础,又是优良的开口饵 料<sup>[10,1]</sup>。

作者在高营养盐(氮、磷、硅分别为Justie 制定的 浮游植物生长的营养盐阈值 ≥40、50、9 倍)条件下, 探讨氮浓度变化、氮磷比偏离 Redfield 系数对海链藻 生长的影响,验证营养盐限制的唯一因子论;鉴于富 营养化与汞污染在河口、近海共存的普遍性,首次探 讨富营养化与不同形态有机汞污染联合作用对海链 藻生长的影响,为河口、近海海域,特别是东海,海洋 浮游植物的生长环境评价提供背景资料;揭示不同形 态、不同浓度有机汞对海链藻生长的剂量-效应关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

756PC 紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限 公司); 双人单面超净工作台(苏州净化设备有限公 司); PYX-250Z-C 振荡培养箱(厦门精益兴业科技有 限公司); 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司); 生 物显微镜(Motic Co.); 0.1 mL 浮游植物计数板; 320-S pH 计(Mettler-Toledo Instrument Co.)。

以硝酸钾配制 N 标准贮备液(0.1 g/L);以磷酸 二氢钾配制 P 标准贮备液(50 mg/L);钼酸盐溶液:将 13 g 钼酸铵溶于 100 mL 水中,另溶解0.35 g 酒石酸锑 钾于 100 mL 水中,在不断搅拌下,将钼酸铵溶液加到 300 mL(1+1)硫酸中,再加酒石酸锑钾溶液,混匀, 暗冷处储存。甲基汞、乙基汞、磷酸二氢钾、硝酸钾、

收稿日期: 2004 08-08; 修回日期: 2004 12-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40131160735); 福建 省科技三项资助项目(K02093); 福建省青年科技人才创新 项目(2003J035)

作者简介: 李顺兴(1971), 男, 福建漳州人, 博士, 副教授, 研究 方向为海洋环境科学、形态分析, E-mail: lishunxing@263.net



抗坏血酸、氨基磺酸,酒石酸锑钾、苯酚等均为分析 纯。溶液均以二次亚沸去离子水配制。

1.2 实验方法

1.2.1 海水的处理

海水取自厦门附近海域。滤膜(0.2 µm)用 1 mol/L HNO<sub>3</sub>浸泡6 h,用亚沸水多次清洗,直到清 洗液 pH 值为7为止。海水用处理过的滤膜抽滤,除 去水中的微生物(包括细菌)和颗粒物;调 pH 至8.0, 用紫外光照射后备用。

1.2.2 氮磷浓度的测定

取1mL海水,加0.2mL1mol/LHCl,0.2mL 质量分数为10%氨基磺酸,8.6mL水,于 $\lambda_{20m}$ 处比 色测定氮浓度;另取1mL洁净海水,加0.2mL质量 分数为10%抗坏血酸放置30s后,加0.4mL钼酸盐 溶液及8.4mL水,放置15min后,于 $\lambda_{570m}$ 处比色测 定磷浓度。平行测定6次,取平均值。测得实验所用 海水的氮磷背景值分别为39,5 $\mu$ mol/L,即氮磷比接 近8。

1.2.3 藻培养条件

海链藻(*Thalassiosira weissf logii*)原种取自厦 门海峡由厦门大学海洋环境科学学院驯化培养。在 预处理的海水中添加无菌 f/2 培养基,分别在以下方 式培养:(1) PO4<sup>3-</sup>-P浓度 5  $\mu$ mol/L,NO<sub>3</sub>-N浓度分 别为 40、80、160、320  $\mu$ mol/L,即氮磷比分别为 8、16、 32、64;(2) 在氮磷比为 32,甲基汞和乙基汞浓度分别 为 0.5、1.0、2.0、3.0  $\mu$ g/L;在超净工作台上灭菌条 件下接种,接种细胞密度为 5 000 个/mL,于光强 140  $\mu$ mol/(m<sup>2</sup> • s)、光暗比 14 h: 10 h、19℃下培养。每 间隔 24 h 调控氮磷浓度。

1.2.4 藻细胞密度的测定

取1 mL 海藻培养液, 加0.1 mL 卢格氏碘液固 定, 摇匀, 取0.1 mL 于浮游植物计数板上在生物显 微镜下计数, 得出每 mL 样品中的细胞个数。平行测 定6次, 取平均值。

2 结果与讨论

2.1 氮磷比对海链藻生长的影响

鉴于东海绝大数站位的 n(Si) / n(N)比值大于 1, 硅不会成为东海浮游植物(主要是硅藻)的限制性因 素,东海 n(N):n(P)均值范围为 4.4~33.2,在春季 和夏季则分别高达 76.8、195,营养盐主要影响因子 为氮和磷<sup>[12]</sup>。因此控制磷浓度为生长阈值的 50 倍, 在超出生长阈值数十倍的前提下改变培养液中氮的 浓度,引起氮磷比在 8~64 间异动,适时补充氮磷以 保持培养液中氮磷浓度和比值恒定,较单纯采用 f/2 培养液更接近海洋水体 实际。固定磷浓度5<sup>µ</sup>mol/L, 设定 NO<sub>3</sub>-N 浓度分别为 40、80、160、320<sup>µ</sup>mol/L,即 氮磷比分别为 8、16、32、64,海链藻的藻细胞密度变 化情况见图 1。



图 1 氮磷比对海链藻生长的影响



a: n(N)/n(P) = 8; b: n(N)/n(P) = 16; c: n(N)/n(P) = 32; d: n(N)/n(P) = 64; 磷浓度 5  $\mu$ mol/L; 初始藻細胞密度 1×104  $\Lambda$ /mL

a: n(N) / n(P) = 8; b: n(N) / n(P) = 16; c n(N) / n(P) = 32;
 d: n(N) / n(P) = 64; the concentration of phosphate5µmoVL; the initial cell density 1×10<sup>4</sup> celV mL

在氮磷浓度超出生长阈值数十倍的前提下,氮磷 比为 8、16、32、64, 即偏离 Redfield 系数较高或较低 时,海链藻均可正常生长,部分验证了营养盐限制的 唯一论。氮磷比为 8、16、32、64 时海链藻对应的生长 平衡期分别为 11、8、8、10 d, 生长呈阶段性, 在第 1~ 3 天 及 第 6 天 生 长 速 率 较 快。 随 着 氮 浓 度 由 40 µmol/L提高至160 µmol/L. 即氮磷比由8 增至32 时,藻密度增量提高,生长平衡期缩短,氮磷比为32 时,海链藻的生长速率最快,藻细胞密度最大。但当 氮浓度提高至 320 µmol/L, 氮磷比为 64 时, 却出现 生长抑制现象,此时藻细胞密度增量在4种氮磷比中 最小,因此海链藻(T. weissf logii)在高营养盐区适 宜的生长氮磷比为 32,过高和过低均不利,本实验同 时也为海域存在高营养盐低叶绿素现象提供一佐证. 即营养盐浓度过高、氮磷比太大不利于海洋浮游植物 的生长。

2.2 不同形态有机汞与氮磷营养盐耦合对 藻生长的影响

鉴于海链藻在氮磷比为 32 时生长状况最佳,因此在研究不同形态有机汞(甲基汞、乙基汞)对藻生长 情况的影响时采用此氮磷比,考察氮磷富营养化与有



机汞污染联合作用对藻生长的影响。在起始藻细胞 密度 5 360 个/mL 的海链藻中分别各加入 0.5、1、2、 3 µg/L 甲基汞,乙基汞,观察它的生长状况,其藻细 胞密度变化情况见图 2。



图2 有机汞对海链藻生长的影响



A:甲基汞; B:乙基汞; a,b,c,d,e的汞浓度分别为 0, 0.5,1.0, 2.0, 3.0 µg/L; 初始藻细胞密度 5 360 个/mL; n(N): n(P) = 32。
A: methylmercury; B: ethylicmercury; the concentration of mercury about a, b, c, d and e is 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 µg/L, respectively; the initial cell density 5 360 cell/mL; n(N): n(P) = 32.

海链藻在生长初期,有机汞(甲基汞、乙基汞)均 产生毒性抑制作用,剂量越大,抑制时间越长,当剂量 均为 0.5  $\mu$ g/L 时甲基汞、乙基汞对海链藻的生长抑 制期分别为 7、12 d;甲基汞(浓度  $\geq$  3.0  $\mu$ g/L)、乙基 汞(浓度  $\geq$  1.0  $\mu$ g/L)对海链藻具有致死效应,乙基汞 的毒性和生长抑制效应均较甲基汞大,因为随着烷 基由甲基扩大到乙基,亲脂性和疏水性提高,与细胞 中的碳水化合物、蛋白质、类脂物等的结合力增强,毒 性增大。适量的甲基汞(浓度  $\leq$  1.0  $\mu$ g/L)、乙基汞 (浓度  $\leq$  0.5  $\mu$ g/L)在藻生长中后期却产生兴奋效应, 促进藻生长,即适度的有机汞污染与氮磷富营养化 两者对海链藻的生长产生协同效应。汞的形态不同, 对海链藻生长的剂量-效应关系亦不同。

参考文献:

- [1] 陈尚,朱明远,马艳,等.富营养化对海洋生态系统的影响及其围隔实验研究[J].地球科学进展,1999,14(6): 571-576.
- [2] Balod M, Purina I, Bechemin C, et al. Effects of nutrient enrichment on the growth rates and community structure of summer phytoplankton from the Gulf of Riga, Baltic Sea [J]. JPlankton Res, 1998, 20(12): 2 251-2 271.
- [3] 曲克明,陈碧鹃,袁有宪,等.氮磷营养盐影响海水浮

游硅藻种群组成的初步研究[J].应用生态学报,2000, 11(3):445-448.

- [4] Kilham P, Hecky R E. Comparative ecology of marine and freshwater phytoplankton [J]. Limnol Oceanogr, 1988, 33(4): 776-795.
- [5] 王保栋. 黄海和东海营养盐分布及其对浮游植物的限制[J]. 应用生态学报, 2003, 14(7):1122-1126.
- [6] Radalje D G, Laws E A. The effects of environmental factors on growth and the chemical and biochemical composition of marine diatoms [J]. J Exp Mar Ecol, 1983, 68: 59-79.
- [7] 杨东方,张经,陈豫,等.营养盐限制的唯一因子探究
   [J].海洋科学,2001,25(12):49-51.
- [8] 国家海洋局. 2000~2002 年中国海洋环境质量公报. http://www.soa.gov.cn/hygb/index.html.
- [9] 孟紫强.环境毒理学基础[M].北京:高等教育出版 社,2003.215.
- [10] 金德祥.中国海洋浮游硅藻类[M].上海:上海科学出 版社,1985.21.
- [11] 朱明,张学成,茅云翔,等. 温度、盐度及光照强度对海链藻(Thalassiosira sp.)生长的影响[J].海洋科学, 2003, 27(12):58-61.
- [12] Dugdale R C, Wilkerson F P, Minas H J. The role of a silicate pump in driving new production [J]. Deepsea Res, 1995, 42: 697-719.

## 研究论文・11mm ARTICLE

## Combined effect of nitrate and phosphate with organic mercury on the growth of *Thalassiosira weissf logii*

LI Shun-xing<sup>1,2</sup>, ZHENG Feng-ying<sup>2</sup>, HONG Hua-sheng<sup>1</sup>, WANG Da-zhi<sup>1</sup>, HUANG Lizhang<sup>3</sup>

(1. State Key Laboratory for Marine Environmental Science, Xiamen University; Xiamen 361005, China; 2. Department of Chemistry, Zhangzhou Teachers College, Zhangzhou 363000, China; 3. College of Chemistry and Chemical Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350002, China)

Received: Aug., 8, 2004

Key words: nutrients; organic mercury; marine phytoplankton; growth

**Abstract:** Thalassiosira weissf logii was cultured in seawater with high levels of nitrate, phosphate, and silicate. The concentrations exceeded the threshold growth limit of marine phytoplankton in 40, 50, and 9 times respectively. The influences of different concentrations of nitrate, the ratio of nitrate to phosphate (N/P), and organic mercury on the growth of *T*. weissf logii were investigated. The growth was not limited by N/P in the contaminated seawater. The cell densities of *T*. weissf log ii were determined microscopically with a marine phytoplankton arithmometer. The cell densities increased as the concentration of nitrate and N/P increase. But the cell density reached the lowest at N/P of 64. At beginning, the growth of *T*. weissf logii was restrained by organic mercury, such as methylmercury and ethylicmercury. Later in middle and late stages, methylmercury and ethylicmercury could stimulate the growth at less than 1.0 and 0.5  $\mu$ g/L, respectively. Combined effect between the nutrient and organic mercury was observed on the growth. Both nitrate and organic mercury were stimulating factors for the growth of *T*. weissf logii. However, their influences on the growth of *T*. weissf logii were different depending on mercury species.

(本文编辑:张培新)