

赤潮发生机理研究——

海洋原甲藻的氮营养生理特征*

黄晓航 史冬梅 张京浦 刘海航 吴超元

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

提要 于1991年1月—1991年12月,以不同浓度的硝态氮(20, 60, 200, 600 $\mu\text{mol/L}$)研究对赤潮生物海洋原甲藻的生长和生化组成的影响,及其营养生理特性。结果表明,在氮浓度为200和600 $\mu\text{mol/L}$ 时,表观光合作用强,细胞生长快,指数生长期长,叶绿素含量高,提示了由原甲藻爆发引起的赤潮与海洋富营养化有直接关系。结果还表明,海洋原甲藻可以累积蛋白质和碳水化合物,当外界氮源不能满足生长需要时,细胞内储存的蛋白质可用于维持指数生长。藻细胞可以日夜吸收氮素,碳水化合物的含量在夜间有所降低,提示其可能被利用,在夜间与氮进行同化。原甲藻的这些生理特性,使其在有适量氮存在的条件下易于形成赤潮,造成危害。

关键词 海洋原甲藻 赤潮 氮营养生理 硝酸氮

海水的富营养化为某些赤潮生物的大量繁殖,乃至赤潮的爆发提供了可能。但是,由甲藻繁殖引起的赤潮,不仅发生于海水富营养化程度高的海区,而且也常常发生在氮浓度较低的表层海水中(Taylor et al., 1987)。原甲藻是我国主要的赤潮种类之一。因此,为了了解原甲藻的生理特点与繁殖规律,增加对赤潮发生机理的了解和爆发规律的认识,作者对原甲藻的氮营养生理进行了研究。

1 材料与方 法

于1991年1月—1991年12月,以海洋原甲藻 *Prorocentrum micans* 为材料(由我所微藻培养实验室提供),将藻细胞培养于500ml三角瓶内。实验用海水由汇泉湾泵入我所生物培育楼后经过滤、煮沸消毒,冷却后加入以下物质,在海水本底基础上使海水的浓度进一步提高到: KH_2PO_4 , 4mg/L; $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$, 0.5mg/L; 维生素 B_1 , 100 $\mu\text{g/L}$; 维生素 B_{12} , 0.5 $\mu\text{g/L}$ 。另外,根据实验要求加入不同浓度的 NaNO_3 。实验期间,海水本底硝酸氮浓度低于6 $\mu\text{mol/L}$ 。培养水温控制在 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 最大光强为 500 $\mu\text{E}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光照周期为 12h/12h。

1.1 实验 I

将藻细胞培养于 NaNO_3 浓度分别为 20, 60, 200 和 600 $\mu\text{mol/L}$ 的加富海水中,并不加 NaNO_3 的消毒海水为对照。每种浓度平行培养两瓶。每隔 2d 从各瓶中取藻液计数并进行生化组成分析。每项测定平行取样 3 个,实验重复 2 次。共培养 10d。

1.2 实验 II

* 国家自然科学基金资助重大项目, 9389008 号。黄晓航, 男, 出生于 1949 年 10 月, 博士, 副研究员。研究过程中得到邹景忠教授的支持, 特志谢忱。

收稿日期: 1995 年 3 月 6 日, 接受日期: 1996 年 3 月 5 日。

将藻细胞培养于 $20\mu\text{mol/L}$ NaNO_3 加富海水中, 每隔 2h 取藻液计数并进行生化组成分析。叶绿素 *a* 含量采用 Jensen (1978) 的方法测定。蛋白质含量采用 Peterson (1977) 的方法测定。碳水化合物含量采用 Kochert (1978) 的方法测定。表观光合作用强度采用 Wu 等(1984) 的方法测定。海水中的硝酸氮含量采用史致丽等(1980) 的方法。原甲藻的硝酸氮吸收速率, 根据培养液中硝氮减少量计算出。共培养 10d。

2 结果

2.1 实验 I 在各种氮浓度下培养的原甲藻均呈指数生长

4d 内, 细胞密度即由初始的 15.5 万 cell/ml 增至 30 万 cell/ml 以上。实验第 6 天的细胞密度和平均日生长速率见表 1。如表所示, 在高氮浓度下(200, $600\mu\text{mol/L}$) 的藻细胞数和生长速度均较对照组和低氮浓度组高, 表明硝酸氮做为大量营养元素可以明显影响原甲藻的生长速度。

原甲藻在各种氮浓度下的生长曲线见图 1。可见, 对照组的指数生长一直持续到第 6 天, 而后细胞数相对迅速下降; 而氮浓度为 200, $600\mu\text{mol/L}$ 的两组在第 10 天仍保持指数生长, 表明在高氮浓度下原甲藻的指数生长期维持时间较长。

表 1 实验第 6 天各浓度组藻细胞密度与日平均生长速度(实验 I)

Tab.1 Cell density and growth rate of *P. micans* under different nitrate concentrations

6 days after the onset of experiment

NO_3^- 处理浓度($\mu\text{mol/L}$)	对照	20	60	200	600
细胞密度($\times 10^6$ cell/ml)	36.9	32.0	33.0	42.9	43.3
生长速度(%/d)	0.145	0.121	0.126	0.170	0.171

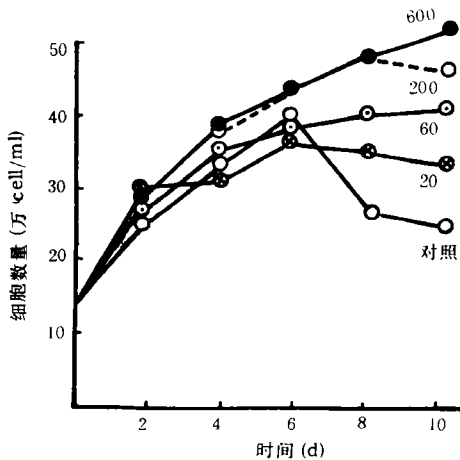


图 1 不同硝酸氮浓度($\mu\text{mol/L}$)下海洋原甲藻的生长曲线

Fig.1 Growth curves of *P. micans* under different nitrate concentrations ($\mu\text{mol/L}$)

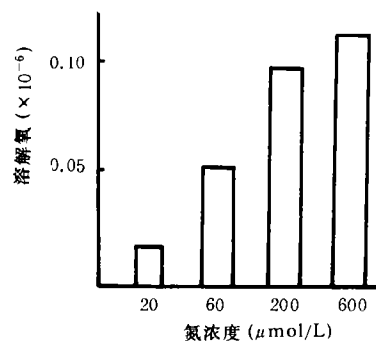


图 2 不同硝酸氮浓度下海洋原甲藻的表观光合作用强度

Fig.2 Apparent photosynthetic rates of *P. micans* under different nitrate concentrations

2.2 藻细胞中的蛋白质、碳水化合物和叶绿素 a 的含量变化

见表2。实验开始时，藻细胞的蛋白含量为 90pg /cell，对照组由于氮饥饿，第 6 天后降到 47pg /cell。其它各组的含量与初始含量差异不明显。碳水化合物含量由实验开始时的 81pg /cell 上升到 126pg /cell 以上，以 60μmol /L 浓度组含量最高，达 174pg /cell；各组之间略有差异，表明各种氮浓度下藻细胞均不同程度地积累了光合产物。叶绿素 a 含量则由对照组到高浓度组依次呈明显的递增，如 600μmol /L 浓度组单位细胞叶绿素 a 含量较对照组高出 1 倍以上，表明在高氮浓度下细胞内叶绿素含量有较大幅度的增加。

不同浓度下原甲藻的表观光合作用强度结果见图 2。由图可见，从低浓度组到高浓度组表观光合作用强度递增。高浓度组溶解氧含量大大高于低氮浓度组，显示细胞生理活动保持较旺盛水平。

实验 II 中原甲藻氮吸收、生长和蛋白质含量的关系见图 3。由图可见，藻细胞仅用 2d 时间即将培养液中硝酸氮几乎全部吸收。培养液中硝酸氮含量在下午 4 时(16:00)至次日 8 时(08:00)这段时间下降较快，达 0.8 μmol /L(图 3a)。表明此时原甲藻吸收氮量较多。实验开始阶段细胞数增加较快，而后增加速度趋缓(图 3b)。随着培养液中硝酸氮浓度下降，原甲藻细胞内的蛋白质含量逐渐增加，表明吸收的氮被同化后，除了合成结构蛋白质用于维持生长外，还以蛋白质形式储存于细胞内(图 3c)。原甲藻细胞内碳水化合物的日变化见图 4。在早 8 时至下午 4 时明显增加，表明原甲藻在白昼进行光合作用，累积了大量碳水化合物，而在下午 4 时至次日 8 时，含量明显下降，表明大量消耗。

3 讨论与结论

3.1 Tangen 于 1977 年发现由海洋原甲藻大量繁殖形成的北欧沿海夏季赤潮。其原因是上升流将大量硝酸氮带入表层海水，使原甲藻大量繁殖所形成的。Pingree 等 1977 年提出，英吉利海峡夏季赤潮的发生可能也是同样原因造成的。总之，半封闭的水域和有上

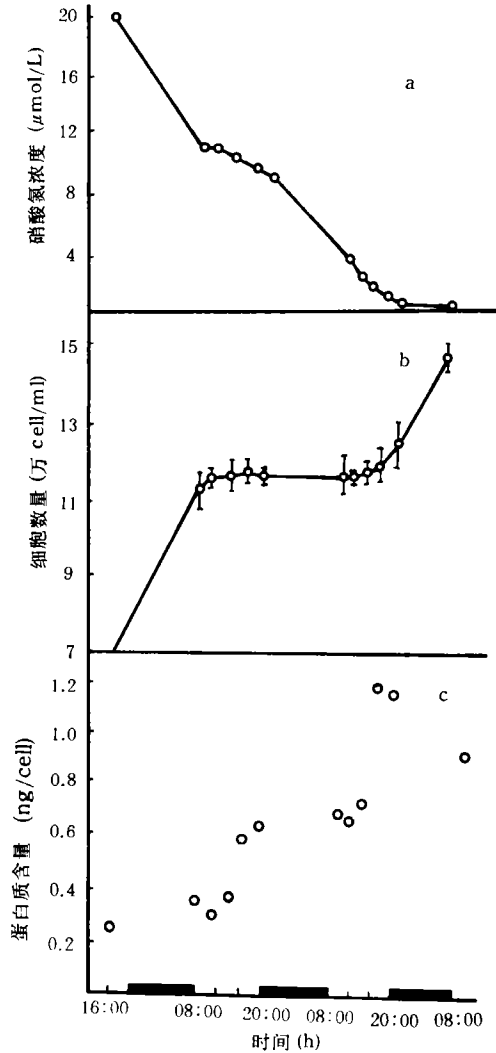


图 3 培养液中硝酸氮浓度的变化(a)与海洋原甲藻生长(b)和细胞蛋白质含量的变化(c)的关系
Fig.3 Absorption of nitrate from the medium (a) with relation to the growth (b) and protein content (c) in *P. micans* (dark bars represent the dark period)

表2 实验第6天各浓度组藻细胞蛋白质、碳水化合物和叶绿素a的含量(实验II)

Tab.2 Protein, carbohydrate and chorophyll a contents in *P. micans* under different nitrate concentrations 6 days after the onset of experiment

NO ₃ - 处理浓度(μmol /L)	对照	20	60	200	600
蛋白质(pg /cell)	47	86	91	90	92
碳水化合物(pg /cell)	130	140	174	135	126
叶绿素a (pg /cell)	590	770	890	1 060	1 570

升流的地区可为甲藻的大量繁殖和赤潮的爆发提供充足的氮营养(Tyler et al., 1981)。

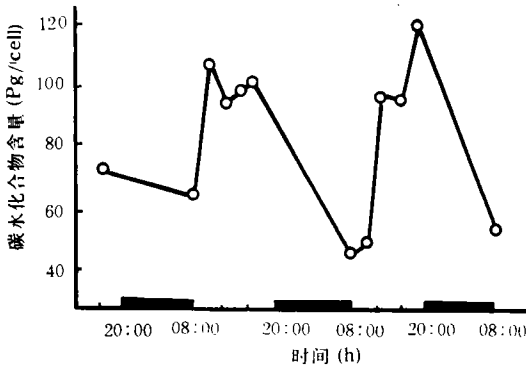


图4 海洋原甲藻细胞内碳水化合物含量的变化

Fig.4 Diel changes of carbohydrate content in cells of *P. micans* (dark bars represent dark period)

藻细胞不仅生长快,指数生长期长,而且细胞叶绿素含量高,表观光合作用强。这一结果与 Laws 等于 1978 年研究几种浮游植物的碳、氮关系所得的结果是一致的。

在解释赤潮发生原因时, Harrison (1976) 提出甲藻较其它浮游藻类有更强的氮吸收、同化能力,尤其是夜间的吸收能力更强。他发现多边膝沟藻(*Gonyaulax polyedra*) 仅夜间吸收的氮就可以满足半天以至全天的生长需要量。在本实验中,海洋原甲藻无论白天或黑夜均能吸收硝酸氮,尤其在傍晚与夜间氮吸收速率较高,表现了较强的氮吸收能力。

原甲藻吸收的硝酸氮既可与碳水化合物同化,组成结构蛋白质用于细胞生长,又可以蛋白质的形式储存于细胞内。实验 I 各浓度组的单位细胞蛋白质含量并无明显差异,原因在于,当外界氮浓度高时,形成的结构蛋白质多,但由于生长速度快,指数生长期维持时间长,平均单位细胞的蛋白质含量则与低浓度组生长慢的细胞差异不大。而在实验 II 中,藻细胞虽然仍大量吸氮,但由于生长趋缓,导致蛋白质以储存形式储备在细胞内。这一现象在其它研究中有报道。Wheeler (1977), Dortch (1982), Harrison (1976) 和 Eppley 等(1975) 都认为,这些蛋白质可视为细胞内的氮储备。当外界氮不足时,这些储备会被动用维持生长。本实验的结果也表明,海洋原甲藻可以动用细胞内的这些储存蛋白质维持指数生长。实验 I 对照组生长速度甚至高于低氮浓度组。生化组分

我国某些沿海排污严重,在海水富营养化程度高的海区,海水无机氮浓度可高达 300μmol /L(邹景忠等, 1983),这就为赤潮的爆发提供了充分的氮营养条件。

本实验的结果表明,硝酸氮含量的多少与甲藻的生长密切相关。在适宜条件下,氮浓度高,原甲藻生长速度就快,指数生长期持续时间长。这一结果证实了赤潮发生与物理原因引起的上升流或径流造成的海水富营养化的内在联系。

3.2 在本实验中,高氮浓度下培养的

分析结果表明, 在这期间细胞内蛋白质含量在 6d 内降低了一半。说明这一生长速度是靠消耗储存的蛋白质而维持的。

在本实验中, 原甲藻碳水化合物含量在夜间明显降低, 这可能与夜间吸收氮多有关, 即吸收的氮与碳水化合物同化形成蛋白质或其他含氮物质。这与 Kohata 等(1988)对 *Chattonella antiqua* 的观察结果相同。Syrett (1981) 指出, 处于氮饥饿状态并有碳水化合物储备的甲藻, 可利用这一储备在夜间进行氮同化。本实验得出了与 Syrett 相同的结论。

海洋原甲藻还具备垂直移动的能力, 速度可达 0.36—0.9m/h (Levandowsky et al., 1987), 在这种情况下, 它们还可以在含有一定量氮的次表层海水吸收氮, 并长时间维持指数生长。在其他环境条件适宜的情况下, 甚至可以在低氮的表层水体中形成赤潮。

参 考 文 献

- 史致丽等, 1980, 山东海洋学院学报, **10**(3): 53—63。
- 邹景忠、董丽萍, 1983, 海洋环境科学, **2**(2): 41—54。
- Dortch, Q., 1982. *J. Exp. Biol.*, **61**: 243—264。
- Eppley, R. W. and Harrison, W. G., 1975, Proceedings of First International Conference on Toxic Dinoflagellate Blooms, ed. by locicero, V. R., Wakefield (Massachusetts), pp. 11—22。
- Harrison, W. G., 1976. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **21**: 199—209。
- Jensen, A., 1978, Handbook of Phycological Methods, ed. by Hellebust, J. A. et al., Cambridge University Press (Cambridge), pp: 59—70。
- Kochert, G., 1978, Handbook of Phycological Methods, ed. by Hellebust, J. A. et al., Cambridge University Press (Cambridge), pp: 95—98。
- Kohata, K. and Watanabe, M., 1988, *J. Phycol.*, **24**: 58—66。
- Laws, E. and Wong, D., 1978, *J. Phycol.*, **14**: 406—416。
- Levandowsky, M. and Kancta, P. J., 1987. The Biology of Dinoflagellates, Blackwell Scientific Publications (Oxford), 785pp。
- Peterson, A., 1977, *Annual. Biochem.*, **83**: 346—356。
- Pingree, R. D. et al., 1977. *Nature*. **265**: 266—269。
- Syrett, P. J., 1981, *Can Bull. Fish. Aquat. Sci.*, **210**: 182—210。
- Tangen, K., 1977, *Sarsia*, **63**: 123—133。
- Taylor, F. J. R. and Pollinger, U., 1987, The Biology of Dinoflagellates, Blackwell Scientific Publications (Oxford), 785pp。
- Tyler, M. A. and Seliger, H. H., 1981, *Limnol. Oceanogr.*, **26**: 310—314。
- Wu, C. Y. et al., 1984, *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, **2**(1): 97—101。
- Wheeler, P. A., 1977. *J. Phycol.*, **13**: 301—303。

STUDY ON NITROGEN METABOLISM OF *PROROCENTRUM MICANS* WITH SPECIAL REFERENCE TO THE OCCURRENCE OF RED TIDE

Huang Xiaohang, Shi Dongmei, Zhang Jingpu, Liu Haihang, Wu Chaoyuan

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

Abstract The physiological aspects of nitrogen nutrition of *Prorocentrum micans* were studied in the algal physiological section of the Institute of Oceanology from Jan. through Dec., 1991. Seawater was filtered, sterilized and modified by addition of KH_2PO_4 , $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$, vitamin B_1 and B_2 at 4mg /L, 0.5mg /L, 100 μg /L and 0.5 μg /L, respectively. The algae were cultured in modified seawater of different concentrations (20, 60, 200 and 600 μmol /L) of nitrate. Cultures were grown under irradiance of ca. 500 μE /($\text{m}^2 \cdot \text{s}$) and temperature of $22 \pm 1^\circ\text{C}$. During the experiment, the growth, apparent photosynthesis, nitrate absorption rate, contents of chlorophyll *a*, crude protein and carbohydrates were measured periodically. The results were as follows. In all nitrate-nitrogen enriched culture media (20, 60, 200 and 600 μmol /L), longer exponential growth periods, higher contents of chlorophyll *a* and higher apparent photosynthetic rates were found, suggesting a positive correlation of eutrophication with dinoflagellates caused red tide. *P. micans* absorbed more nitrate at night (16:00—18:00) and on the contrary more carbohydrates were found in the cells at daytime. This was because more carbohydrates were metabolized with nitrogen at night. Part of the proteins so formed was stored in the cell. In the case of nitrogen starvation, the exponential growth could be maintained up to 6 days by the consumption of stored proteins.

Key words *Prorocentrum micans* Red tide Nitrogen nutrition Nitrate