

石油烃和营养盐的复合污染对海洋 浮游植物的影响*

· 营养盐对浮游植物吸收石油烃的影响

赵卫红¹ 王江涛² 李雪莲² 李 宁²

(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 青岛 266071;

2. 中国海洋大学 海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室 青岛 266100)

摘要 通过向培养体系中添加不同浓度的营养盐和相同浓度的石油烃,对中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)、赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo* Hada)和锥状斯氏藻(*Scrippsiella trochoidea*)进行周期性培养,研究了营养盐对海洋微藻的石油烃吸收动力学的影响。当营养盐按照 Redfield 比值添加时,三种微藻在初始的 12h 中摄取的石油烃都是最大的。对于三种藻而言,不同营养盐浓度条件下,对石油烃的摄取程度从强到弱依次为氮潜在限制>磷潜在限制>硅潜在限制(中肋骨条藻)。在相同营养盐浓度条件下,在这三种微藻中,中肋骨条藻对石油烃的摄取程度最大,在初始的 12h 里,石油烃浓度的减少几乎完全是藻将摄取的吸附在表面或吸收入体内的石油烃又重新释放回了水体引起的。

关键词 石油烃; 营养盐; 浮游植物; 吸收动力学

中图分类号 P731

近年来,国际上越来越重视低浓度油类污染物对海洋生态环境的影响(吴坚等, 1992),认为由近岸输入而产生的长期低浓度石油污染作用,要比一次性石油溢漏对海洋生物的毒害更大,在一定条件下低浓度石油烃污染物会导致浮游植物大量繁殖以及浮游动物的减少(唐森铭, 1992; 朱明远等, 1999; Wang *et al*, 2002)。目前,关于石油烃污染物与浮游植物生长的关系已经做了相当多的研究(张蕾等, 2002; 张军等, 2003, 2004; Chouksey *et al*, 2004; Wetzel *et al*, 2004; 李克强等, 2009; González *et al*, 2009)。石油烃和营养盐都是与浮游藻类增殖密切相关的海洋化学要素,浓度适量时,能够有效地促进藻类的生长与繁殖;而浓度过量时,则会给海洋生态系统带来严重的环境问题(Reddy *et al*, 1983)。两者对水体的污染几乎

是同步进行的,它们之间或多或少地存在一定的协同或拮抗作用(Vandermeulen *et al*, 1983; Phatarpekar *et al*, 2000),因而很难根据它们各自独立的作用过程来预测其共同导致的环境影响。因此研究营养盐对浮游植物石油烃吸收动力学的影响,对于研究石油烃和营养盐在海洋生态系统中的迁移转化,以及进一步研究海洋中污染物之间的相互作用,有非常重要的意义。

1 材料与方法

1.1 藻种的选取及其培养方法

实验所采用的藻种来自中国科学院海洋研究所海洋生态与环境重点实验室藻种库,分别为中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)(硅藻)、赤潮异弯藻

* 青岛市自然科学基金项目资助,04-2-JZ-88 号;山东省基金项目资助, Y2006E10 号;国家“973”项目资助, 2010CB428701 号。赵卫红, 博士, 研究员, E-mail: whzhao@qdio.ac.cn

通讯作者: 王江涛, 教授, E-mail: jtwang@ouc.edu.cn

收稿日期: 2011-06-16, 收修改稿日期: 2012-08-02

(*Heterosigma akashiwo* Hada)(针孢藻)和锥状斯氏藻(*Scrippsiella trochoidea*) (甲藻)。将这三种藻种分别培养于 *f*/2 培养液中, 设定温度为 $(20\pm 1)^{\circ}\text{C}$, 光照 4000 lx, 光暗比为 12h : 12h。待进入指数生长期时进行离心分离。

取处于指数生长期的藻种液离心分离(朱明等, 2004), 除去上清液, 用灭菌海水洗涤, 离心数次, 再加入适量灭菌海水, 在与培养实验相同的环境条件下放置 2 昼夜(48h)使其稳定, 取上层藻液用于接种培养实验。

1.2 吸收动力学实验

陈化海水经 $0.45\mu\text{m}$ 醋酸纤维膜过滤后, 于压力锅中 120°C 灭菌 30min。冷却后将灭菌海水分配于三角瓶中, 然后分别向其中添加 NaNO_3 (AR 级)、 $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (AR 级)和 $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (AR 级)配制的灭菌贮备液, 使达到预设浓度的 N、P 和 Si 营养盐, 微量元素和维生素参照 *f*/2 配方添加, 石油烃浓度均添加至 0.5mg/L 。每个系列均设置平行样 2 个, 培养体积为 1500mL 。各系列氮、磷、硅的浓度如下(锥状斯氏藻和赤潮异弯藻不添加硅酸盐):

(1) N : P : Si = 16 : 1 : 16, N: $76.8\mu\text{mol/L}$; P: $4.8\mu\text{mol/L}$; Si: $76.8\mu\text{mol/L}$;

(2) N : P : Si = 4 : 1 : 16 (N 潜在限制), N: $19.2\mu\text{mol/L}$; P: $4.8\mu\text{mol/L}$; Si: $76.8\mu\text{mol/L}$;

(3) N : P : Si = 64 : 1 : 64 (P 潜在限制), N: $76.8\mu\text{mol/L}$; P: $1.2\mu\text{mol/L}$; Si: $76.8\mu\text{mol/L}$;

(4) N : P : Si = 16 : 1 : 4 (Si 潜在限制), N: $76.8\mu\text{mol/L}$; P: $4.8\mu\text{mol/L}$; Si: $19.2\mu\text{mol/L}$;

将 2.1 中的三种藻液分别接种于相应系列中进行培养, 接种后的藻密度均为 10^6 个/L, 每个培养瓶从接种开始记时, 分别于 0h、12h、24h、48h、96h 从培养瓶中取 250mL 水样, 经 $0.45\mu\text{m}$ 的滤膜进行过滤, 用 10mL 环己烷进行萃取, 采用荧光法(国家海洋局, 1998)利用 F4500 荧光分光光度计(日本日立)测定其中石油烃的浓度。

1.3 其它因素对石油烃浓度的影响实验

(1) 瓶壁吸附等因素对石油烃浓度的影响 在培养瓶中不添加藻液, 其它实验条件同 1.2。

(2) 浮游植物自身释放的石油烃 培养瓶中只添加营养盐和藻种, 而不加入石油烃, 其它实验条件同 1.2。

(3) 吸收石油烃后的浮游植物对石油烃的释放 培养 12h 后, 从培养液中取出一定量的藻液进行离心分离, 接入同样体积的灭菌海水中进行培养, 然后取样测定其中石油烃的浓度, 以验证 12h 后培养液中石

油烃浓度的回升是否是由于浮游植物吸收石油烃后的再释放造成的。

2 结果与讨论

2.1 瓶壁吸附等因素对石油烃浓度的影响

实验结果表明, 瓶壁吸附等对石油烃浓度的影响非常小, 可以忽略不计。实验过程中微藻自身不向水体中释放石油烃。因而本文微藻吸收的石油烃通过 $C_0 - C_t$ 计算, 其中 C_0 为水体中初始石油烃浓度, C_t 为培养 t 时间时的石油烃浓度。

2.2 三种微藻对石油烃的吸收

2.2.1 同一种藻在不同营养盐条件下对石油烃的吸收 图 1、图 2、图 3 给出了不同营养盐条件下, 三种藻对石油烃吸收的动力学曲线。从图中可以看出,

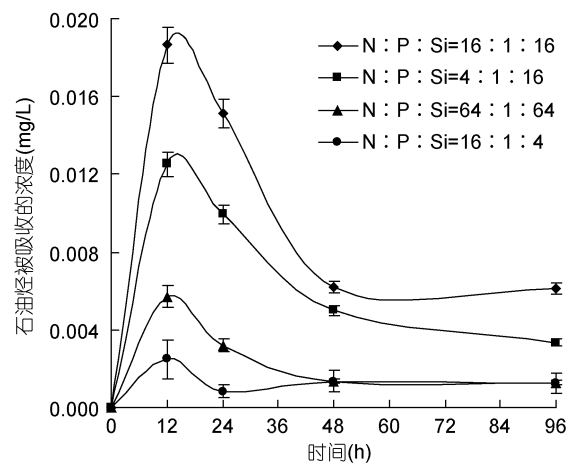


图 1 中肋骨条藻培养液中石油烃的吸收动力学曲线
Fig.1 The adsorbing dynamics curves of petroleum hydrocarbon by *S. costatum*

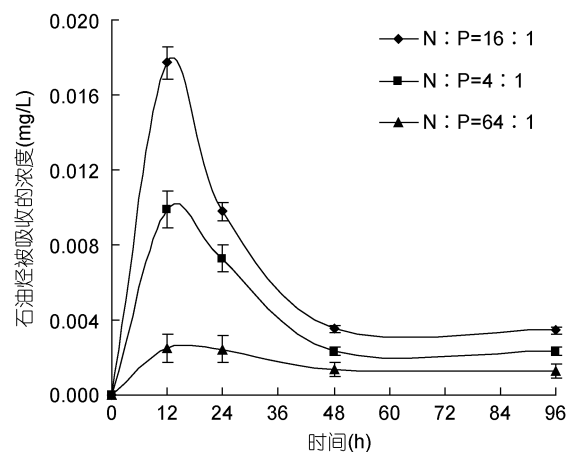


图 2 胶州湾赤潮异弯藻培养液中石油烃的吸收动力学曲线
Fig.2 The adsorbing dynamics curves of petroleum hydrocarbon by *H. akashiwo*

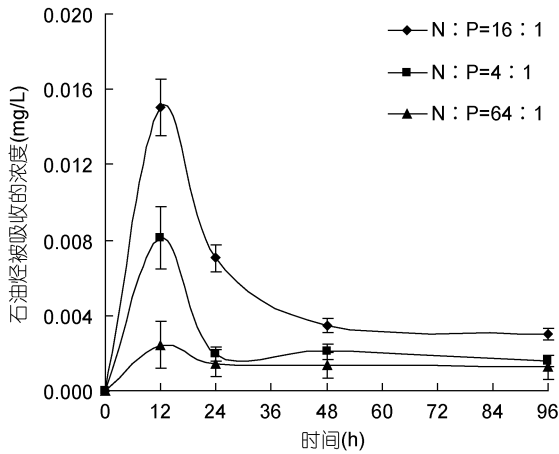


图 3 胶州湾锥状斯氏藻培养液中石油烃的吸收动力学曲线
Fig.3 The adsorbing dynamics curves of petroleum hydrocarbon by *S. trochoidea*

在前 12h, 藻液中石油烃的浓度降低, 三种藻对石油烃的吸收均呈迅速增加的趋势, 12h 后, 藻液中的石油烃浓度又呈增加的趋势, 说明藻类将最初吸收的石油烃又释放出来。图 4 是中肋骨条藻在含有石油烃的培养液中培养 12h 后, 离心分离, 然后培养在不含石油烃的培养液中石油烃的变化情况。由图 4 可以看出, 藻液中的石油烃浓度有所增加, 说明藻将表面吸附或体内吸收的石油烃又重新释放回了水体。

表 1 给出了初始 12h 三种藻在不同营养盐条件下对石油烃的吸收率。当营养盐按照 Redfield 比值添加时, 三种微藻在 12h 中吸收的石油烃都是最大的, 吸收率均高于 3%。在不同营养盐条件下, 对石油烃的吸收程度从强到弱依次为氮潜在限制>磷潜在限制>硅潜在限制。例如, 中肋骨条藻在三种条件下的吸收率分别为: 2.51%(N 潜在限制)、1.14%(P 潜在限制)和 0.50%(硅潜在限制)。

2.2.2 不同藻种对石油烃吸收能力的强弱 图 5、图 6、图 7 分别是

不同藻种在相同营养盐条件下对石油烃的吸收。由图可以看出, 对石油烃的吸收, 无论是在 Redfield 比值、氮潜在限制还是磷潜在限制条件下, 中肋骨条藻的吸收程度都是最高的, 吸收率可达 3.73%(表 1)。赤潮异弯藻在 12h 之前, 对石油烃的吸收大于锥状斯氏藻, 而在 48h 后则相差不大。这可能是由于中肋骨条藻生长繁殖速度较快, 所以对石油烃的吸收也相对较快。另外, 三种藻对石油烃的吸收能力不同, 与藻的体积(张军等, 2004)及细胞内含物中的脂类(Canton *et al*, 1977)有关系。

因为瓶壁的吸附等因素对实验结果影响甚微, 可以忽略不计。因此在初始的 12h 里, 石油烃浓度的减少完全是藻对它的摄取引起的, 摄取的石油烃一部分被藻细胞吸收利用, 转化为自身所需的营养物质, 另一部分可能只是被藻细胞表面所吸附, 没有透过细胞膜进入藻体内部。由验证实验可知, 整个过程中微藻自身并不会向水体中释放石油烃, 因此 12h 后藻液中石油烃浓度的回升是由于藻将表面吸附或吸收到体内的石油烃又重新释放回了水体中。

3 结论

通过研究不同营养盐条件下浮游植物对石油烃的生物富集作用, 可以得到如下结论:

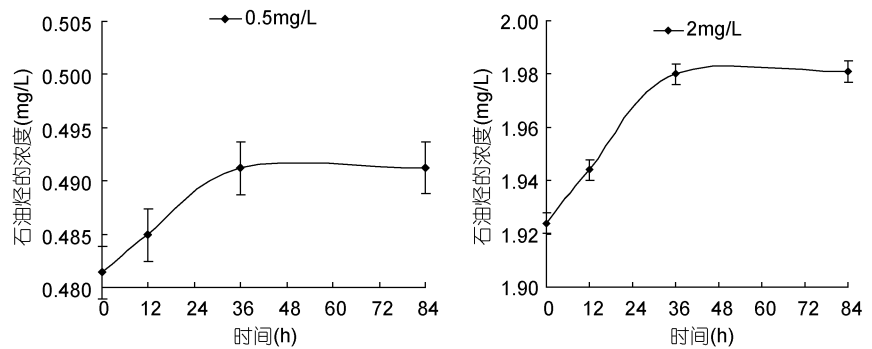


图 4 在添加石油烃培养液中培养 12h 后离心得到的中肋骨条藻在不含石油烃的培养液中石油烃浓度的变化曲线

Fig.4 The concentration change of petroleum hydrocarbon in *S. costatum* cultured medium without adding petroleum hydrocarbon, in which *S. costatum* were centrifugally separated after 12h culture in petroleum hydrocarbon-added medium

表 1 12h 中三种藻在不同营养盐条件下对石油烃的吸收率

Tab.1 The absorptivity of petroleum hydrocarbon by three algae species in 12h in different nutrient conditions

藻种	Redfield 比例(%)	N 潜在限制(%)	P 潜在限制(%)	Si 潜在限制(%)
中肋骨条藻	3.73	2.51	1.14	0.50
赤潮异弯藻	3.54	1.98	0.50	—
锥状斯氏藻	3.01	1.63	0.49	—

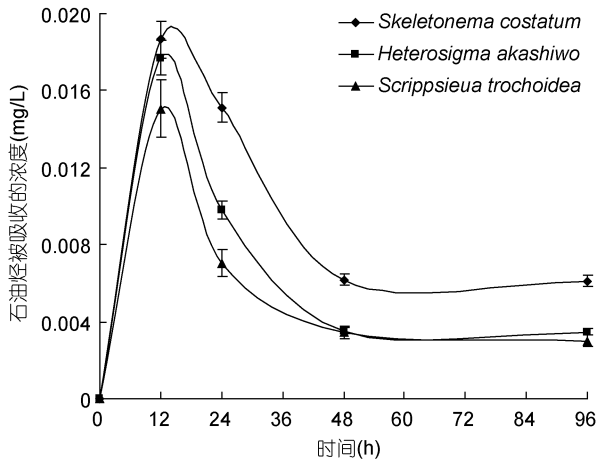


图5 在 N P Si = 16 1 16 条件下三种藻培养液中石油烃的吸收动力学曲线

Fig.5 Curves of the adsorbing dynamics change of petroleum hydrocarbon by three algae in N P Si = 16 1 16 medium

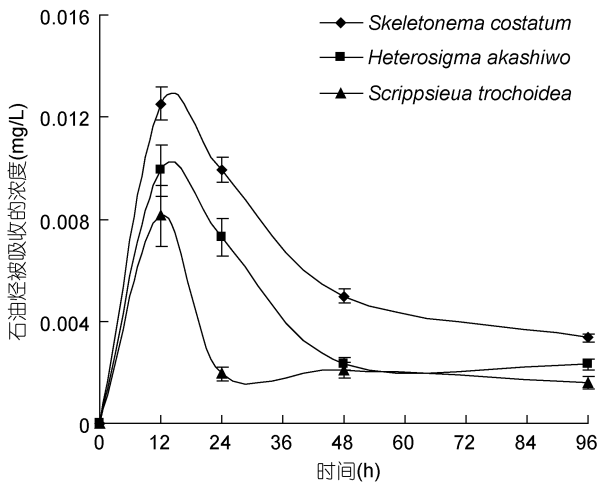


图6 在 N P Si = 4 1 16 条件下三种藻培养液中石油烃的吸收动力学曲线

Fig.6 Curves of the adsorbing dynamics change of petroleum hydrocarbon by three algae in N P Si = 4 1 16 medium

(1) 当营养盐按照 Redfield 比值添加时, 三种微藻在 12h 中摄取的石油烃都是最大的。当出现氮潜在限制或磷潜在限制时, 微藻对石油烃的摄取都会减弱, 其从强到弱的顺序为: 氮潜在限制 > 磷潜在限制 > 硅潜在限制(中肋骨条藻)。

(2) 在第一个 12h 里, 细菌对石油烃的降解以及瓶壁对石油烃的吸附作用可以忽略不计, 石油烃浓度的减少几乎完全是藻对它的摄取引起的。

(3) 12h 后由于藻将摄取的吸附在表面或吸收入体内的石油烃又重新释放回了水体, 导致了藻液中石油烃浓度的回升。

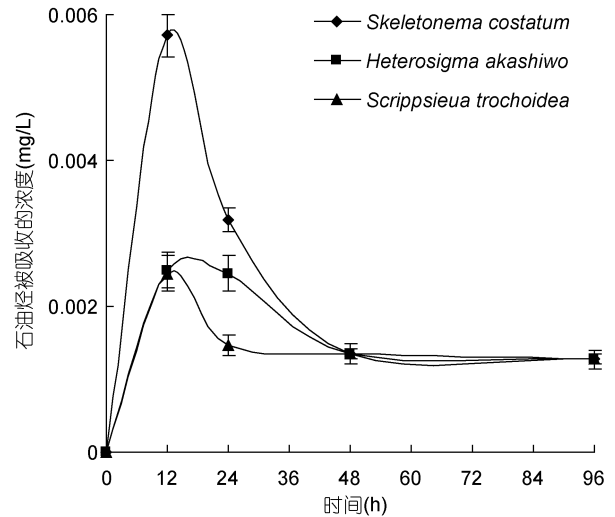


图7 在 N P Si = 64 1 64 条件下三种藻培养液中石油烃的吸收动力学曲线

Fig.7 Curves of the adsorbing dynamics change of petroleum hydrocarbon by three algae in N P Si = 64 1 64 medium

参 考 文 献

- 朱 明, 张学成, 茅云翔, 2004. 海链藻对氮磷需求量的研究. 水产养殖, 25(1): 34—36
- 朱明远, 李宝华, 黄凤鹏等, 1999. 南极长城湾夏季叶绿素 *a* 变化的研究. 极地研究, 11(2): 113—121
- 李克强, 王修林, 石晓勇等, 2009. 石油烃在胶州湾多介质中迁移转化模型研究. 海洋环境科学, 28(1): 12—16
- 吴 坚, 周兴文, 1992. 石油对紫贻贝早期发育影响的研究. 海洋湖沼通报, 14(2): 46—50
- 张 军, 王修林, 祝陈坚等, 2003. 围隔实验中海洋浮游植物对石油烃污染物中正构烷烃的生物富集. 青岛海洋大学学报, 33(3): 433—438
- 张 军, 王修林, 韩秀荣等, 2004. 海洋浮游植物对 0 号柴油水溶组分的生物富集动力学模型. 环境科学, 25(1): 14—19
- 张 蕾, 王修林, 韩秀荣等, 2002. 石油烃污染物对海洋浮游植物生长的影响——实验与模型. 青岛海洋大学学报, 32(5): 804—810
- 唐森铭, 1992. 分散剂 BP-1100X 及其分散原油对海洋围隔生态系内浮游植物的影响. 海洋学报, 14(2): 130—134
- Canton J H, G J van Esch, P A Greve *et al*, 1977. Accumulation and elimination of γ -hexachlorocyclohexane (γ -HCH) by the marine algae, *Chlamydomonas* and *Dunaliella*. Wat Res, 11: 111—115
- Chouksey M K, Kadam A N, Zingde M D, 2004. Petroleum hydrocarbon residues in the marine environment of Bassein-Mumbai. Marine Pollution Bulletin, 49: 637—647
- González J, Figueiras F G, Aranguren-Gassis M *et al*, 2009. Effect of a simulated oil spill on natural assemblages of marine phytoplankton enclosed in microcosms. Estuarine, Coastal

- and Shelf Science, 83: 265—276
- Phatarpekar P V, Ansari Z A, 2000. Comparative toxicity of water soluble fractions of four oils on the growth of microalga. Bot Mar, 4: 367—375
- Reddy T R K, Rao J C S, Radhakrishnan T M, 1983. Toxicity of oil refinery effluent on physiological responses of algae. Phycos, 22(1/2): 86—93
- Vandermeulen J H, Silvert W, Foda A, 1983. Sublethal hydrocarbon phytotoxicity in the marine unicellular alga *Pavlova lutheri* Droop. Aquatic Toxicology, 4(1): 31—49
- Wang X, Zhang J, Shi X *et al*, 2002. Determination of toxicokinetic parameters for bioconcentration of water-soluble fraction of petroleum hydrocarbon associated with No.0 diesel in Changjiang Estuary and Jiaozhou Bay: model versus mesocosm experiments. Arch Environ Contam Toxicol, 42(3): 272—297
- Wetzel D L, Van Vleet E S, 2004. Accumulation and distribution of petroleum hydrocarbons found in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in the canals of Venice, Italy. Marine Pollution Bulletin, 48: 927—936

THE COMBINED EFFECT OF NUTRIENTS AND PETROLEUM HYDROCARBON ON PHYTOPLANKTON . THE EFFECTS OF NUTRIENTS ON THE UPTAKE OF PETROLEUM HYDROCARBON BY PHYTOPLANKTON

ZHAO Wei-Hong¹, WANG Jiang-Tao², LI Xue-Lian², LI Ning²

(1. Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071; 2. Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao, 266100)

Abstract *Skeletonema costatum*, *Heterosigma akashiwo*, and *Scrippsiella trochoidea* were cultivated in the medium added with petroleum hydrocarbon and nutrients. The effects of nutrients on the uptake of petroleum hydrocarbon by phytoplankton were studied. Within the first 12 hours, when the nutrients were added according to the Redfield ratio, the uptake of petroleum hydrocarbon by the three phytoplanktons was the best. When nutrients concentration were in other ratios, the uptake order of petroleum hydrocarbon by phytoplanktons in the first 12 hours was N potential limitation > P potential limitation > Si potential limitation (only for *S. costatum*). Under the same nutrient conditions, *S. costatum* had the most uptake of petroleum hydrocarbon. In the first 12 hours, the decrease of concentration of petroleum hydrocarbon by the uptake of phytoplankton was quick. After 12 hours, the concentration of petroleum hydrocarbon in solution began to increase because the petroleum hydrocarbon was released from phytoplankton previously adsorbed.

Key words petroleum hydrocarbon; nutrients; phytoplankton; uptake dynamics