

石油烃和营养盐的复合污染对海洋 浮游植物的影响*

I. 石油烃对海洋浮游植物吸收营养盐的影响

王江涛¹ 赵卫红² 李雪莲¹ 李慧¹

(1. 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;

2. 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)

提要 通过向具有相同营养盐浓度的培养体系中添加不同浓度的石油烃, 对中肋骨条藻、赤潮异弯藻、微小亚历山大藻和锥状斯氏藻进行周期性培养, 探讨了石油烃对微藻营养盐吸收动力学的影响。结果发现, 在开始 30min 内, 微藻对营养盐均有一非耗能的短暂快吸收, 随后吸收速率下降并趋于稳定。石油烃对中肋骨条藻和赤潮异弯藻氮、磷的吸收都表现抑制作用, 浓度从 0.13 mg/L 到 8.25mg/L 的石油烃所呈现的抑制作用基本表现为先减弱后逐渐增强, 8.25mg/L 浓度的石油烃抑制作用最强。与中肋骨条藻和赤潮异弯藻实验结果不同的是, 石油烃对微小亚历山大藻和锥状斯氏藻的氮、磷吸收在低浓度时呈现促进作用, 且促进作用的程度随石油烃浓度的增加有先增强后减弱的趋势, 在高浓度下促进作用会消失, 8.25mg/L 的石油烃不表现促进作用。石油烃对微藻营养盐吸收动力学的影响表现出复杂性, 这既受石油烃浓度的影响, 也与浮游植物的种类有重要关系。

关键词 石油烃, 营养盐, 浮游植物

中图分类号 P731

石油烃和营养盐都是与浮游藻类增殖密切相关的化学要素, 浓度适量时可有效地促进藻类的生长与繁殖, 而浓度过高时则会给海洋生态系统带来严重的环境问题。入海的石油会形成薄层覆盖在海洋表面, 使到达表层水的日光辐射大大降低, 从而妨碍浮游植物的生长繁殖, 此外, 石油烃的毒害作用也会影响浮游植物的生长。浮游植物是海洋食物链的基础, 其数量的减少势必引起食物链高级环节上生物量的减少, 从而导致整个海洋生物群落的衰退。而氮、磷等营养盐的大量输入, 往往造成近岸海域藻类密度增加, 达到一定程度时会引发赤潮。石油烃和营养盐对水体的污染几乎是同步进行的, 它们之间或多或少存在一定的协同或拮抗作用, 目前, 尚无法根据二者独立的作用过程来预测其共同作用所产生的环境

影响。因此, 研究石油烃对浮游植物吸收营养盐的影响, 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, 都有着非常重要的意义。

1 取样与实验方法

1.1 赤潮藻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 (*Heterosigma akashiwo*) (针胞藻)、微小亚历山大藻 (*Alexandrium minutum*) 和锥状斯氏藻 (*Scrippsiella trochoidea*) (甲藻)。

将这四种赤潮藻藻种分别培养于 *f/2* 培养液中,

* 青岛市自然科学基金项目, 04-2-JZ-88 号; 山东省基金项目资助, Y2006E10 号; 国家重点基础研究发展计划(973)项目, 2010CB428701 号。王江涛, 博士, 教授, Email: jtwang@ouc.edu.cn

通讯作者: 赵卫红, E-mail: whzhao@qdio.ac.cn

收稿日期: 2010-11-12, 收修改稿日期: 2012-07-10

设定温度为 $(20\pm 1)^{\circ}\text{C}$, 光照度为 4000 lx, 光暗比为 12 h:12 h。

1.2 营养盐吸收动力学实验

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 30 min。向冷却后的灭菌海水中添加 NaNO_3 和 KH_2PO_4 , 使之具有实验所需的氮、磷浓度 ($\text{NO}_3\text{-N}$ 为 $30.00\text{--}45.00\ \mu\text{mol/L}$, $\text{PO}_4\text{-P}$ 为 $2.00\text{--}3.00\ \mu\text{mol/L}$, $\text{N:P}\approx 15:1$), 微量元素和维生素均参照 *f/2* 配方添加。此次实验共培养 4 种藻, 每种藻设置 5 个石油烃浓度, 实际浓度从高到低依次为 8.25、2.01、0.51、0.13、0 mg/L, 每份培养液 500 ml, 每组两个平行样。

将 1.1 中的 4 种藻培养至指数生长期时, 分别取藻液进行离心分离, 弃去上清液, 用灭菌海水洗涤, 离心数次(转速 1200 r/min, 1 min), 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 48 h 使其处于饥饿状态。取 4 种藻的藻液分别接种于相应组中进行培养, 接种后的藻密度均为 10^6 个/L。每隔 30 min 用塑料针筒抽取水样, 通过 $0.45\ \mu\text{m}$ 的滤膜过滤, 滤液用于磷酸盐和硝酸盐的测定。

1.3 测定方法

4 种藻培养过程的初末态均取适量藻液, 滴加

Lugol 试液固定后用显微镜观察藻细胞的形态。磷酸盐浓度采用磷钼蓝分光光度法测定, 硝酸盐浓度采用镉-铜还原法测定(国家海洋局, 1991)。

2 实验结果

2.1 磷酸盐和硝酸盐的吸收动力学曲线

2.1.1 中肋骨条藻和赤潮异弯藻 不同石油烃浓度下, 中肋骨条藻和赤潮异弯藻对磷酸盐和硝酸盐的吸收动力学曲线如图 1a、b、c、d 所示。在实验初始的 30 min 内, 中肋骨条藻和赤潮异弯藻对磷酸盐迅速地吸收, 随后吸收速率有所下降, 添加石油烃对赤潮异弯藻的磷酸盐吸收起抑制作用, 且随着石油烃浓度的增加, 这种抑制作用有先减弱后逐渐增强的趋势, 8.25 mg/L 浓度的石油烃抑制作用最强; 石油烃也会抑制中肋骨条藻对磷酸盐的吸收, 但低浓度时抑制现象不明显, 浓度增加抑制作用增强, 8.25 mg/L 的石油烃抑制作用最强。此外从实验结果也可看出, 石油烃对赤潮异弯藻磷酸盐吸收的抑制程度要强于中肋骨条藻。两种藻对硝酸盐吸收的实验结果显示, 在各个实验组中, 中肋骨条藻和赤潮异弯藻均在 30 min 前吸收迅速, 此后吸收速率有所降低。添加石油烃对硝酸盐吸收起抑制作用, 且随着石油烃浓

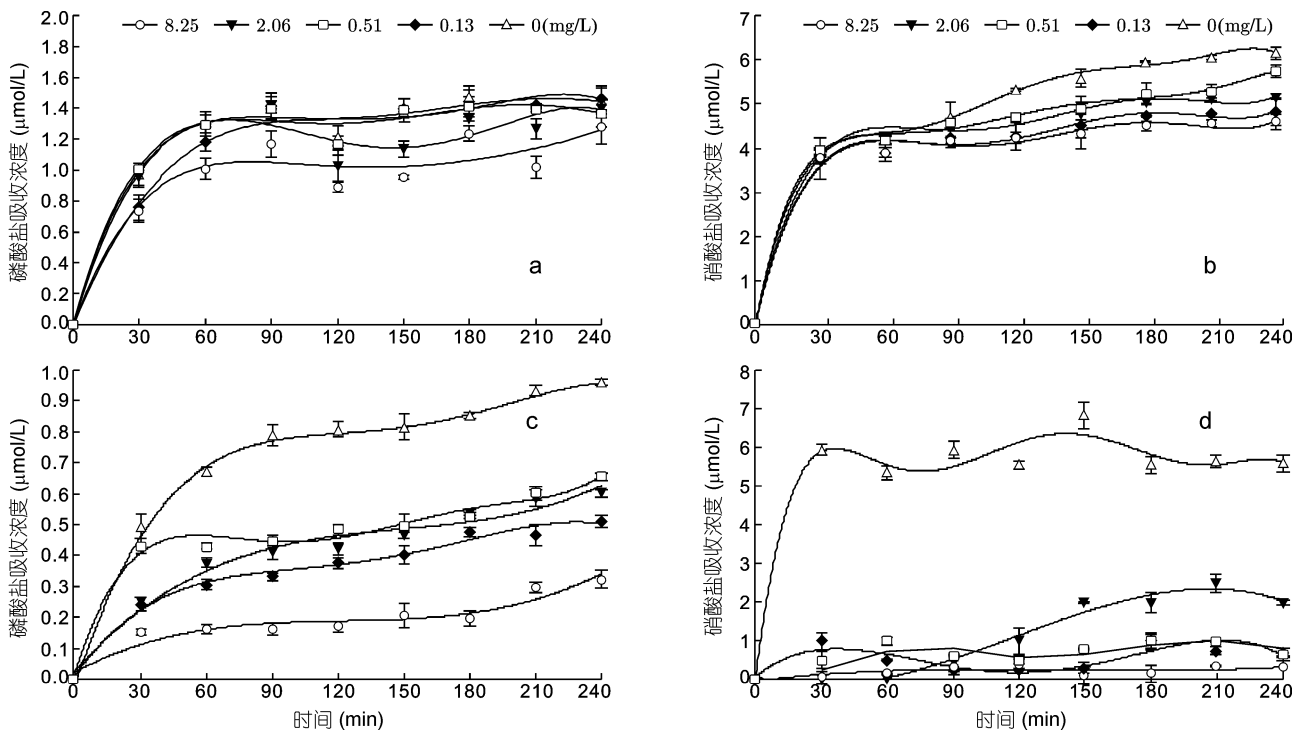


图 1 不同石油烃浓度下中肋骨条藻(a, b)和赤潮异弯藻(c, d)的营养盐吸收动力学曲线

Fig.1 The uptake dynamic curves of phosphate and nitrogen by *Skeletonema costatum*(a, b) and *Heterosigma akashiwo* (c, d) in different concentrations of petroleum hydrocarbon
a, c. 磷酸盐; b, d. 硝酸盐

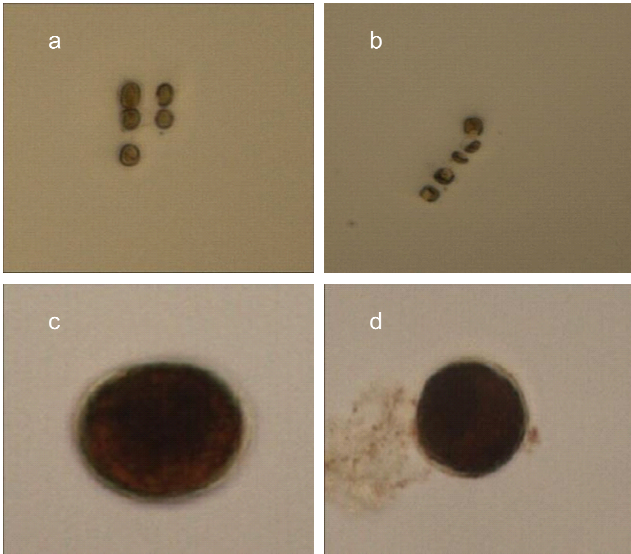


图 2 中肋骨条藻(石油烃浓度 a: 0mg/L; b: 8.25mg/L)和微小亚历山大藻(石油烃浓度 c: 0mg/L; d: 2.06mg/L)藻细胞形态
 Fig.2 The cellular morphology of *Skeletonema costatum* (the concentrations of petroleum hydrocarbon a: 0mg/L; b: 8.25 mg/L) and *Alexandrium minutum* (the concentrations of petroleum hydrocarbon c: 0mg/L; d: 8.25 mg/L)

度的增加, 这种抑制作用先减弱后又逐渐增强, 8.25 mg/L 浓度的石油烃抑制作用最强。同磷酸盐吸收动

力学实验相似, 对硝酸盐的吸收, 赤潮异弯藻的受抑制程度亦明显大于中肋骨条藻。

图 2a、b 分别为中肋骨条藻在石油烃浓度为 0 和 8.25mg/L 的培养液中培养结束后的藻细胞形态照片。通过对比图 2a、b 可以看出, 添加石油烃使中肋骨条藻的藻细胞出现一定程度的破损, 这与添加石油烃后该藻对磷酸盐和硝酸盐的吸收均受到抑制是相一致的。此外, 对赤潮异弯藻藻细胞的形态观察也发现同样的现象。

2.1.2 微小亚历山大藻和锥状斯氏藻 分析图 3a、b、c、d 可以看出, 在实验初始的 30min 内, 微小亚历山大藻和锥状斯氏藻对磷酸盐和硝酸盐都有一个迅速的吸收, 但随后吸收速率下降。较低浓度的石油烃对这两种甲藻磷酸盐和硝酸盐的吸收都表现为促进作用, 但促进程度会随着石油烃浓度的增加先增加后减弱, 当石油烃的浓度达到 8.25mg/L 时, 对这两种藻营养盐吸收的促进作用均消失。本次实验的结果显示, 在较低浓度范围内, 石油烃对微小亚历山大藻和锥状斯氏藻的氮、磷吸收呈现促进作用, 且促进程度会随石油烃浓度增大而增强, 而在较高浓度下, 促进程度会减弱甚至消失, 8.25mg/L 的石油

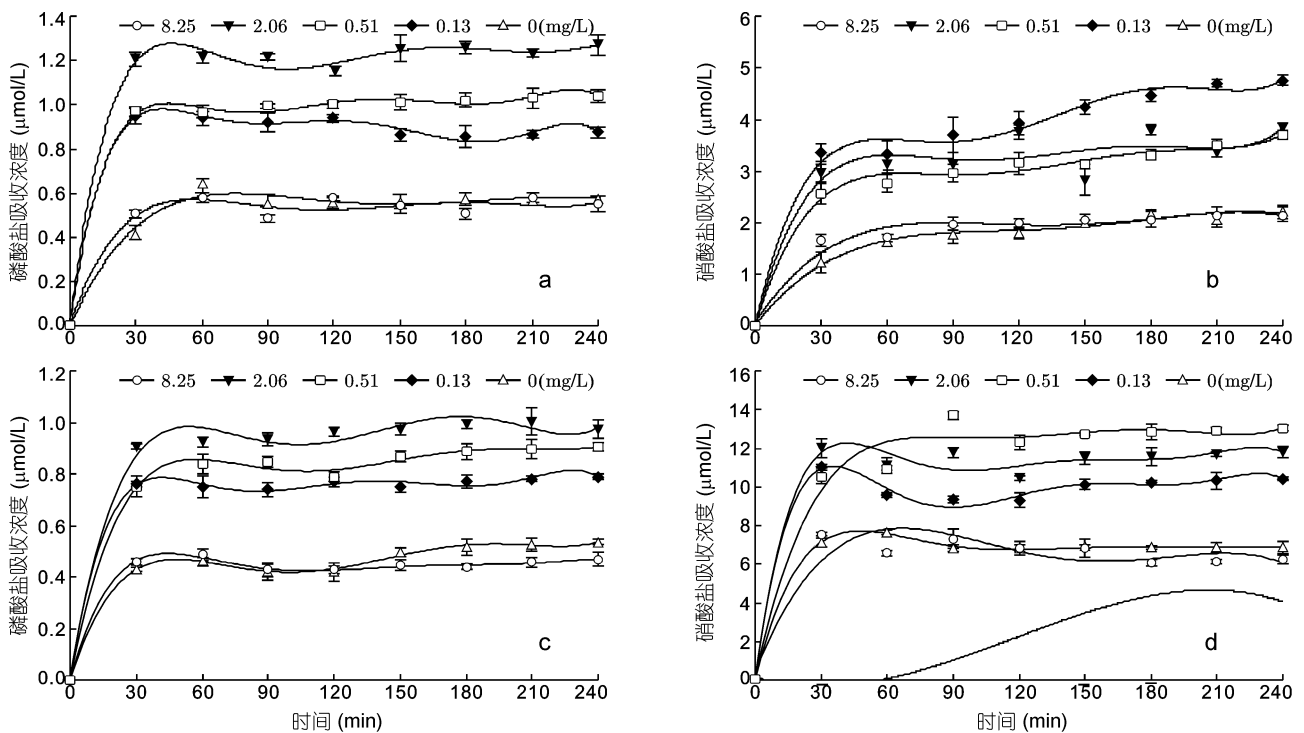


图 3 不同石油烃浓度下微小亚历山大藻(a、b)和锥状斯氏藻(c、d)的营养盐吸收动力学曲线
 Fig.3 The uptake dynamic curves of phosphate and nitrogen by *Alexandrium minutum* (a,b) and *Scrippsiella trochoidea* (c, d) with different concentrations of petroleum hydrocarbon (a,c . 磷酸盐; b,d . 硝酸盐)

烃不表现促进作用。

图 2c、d 分别是微小亚历山大藻在石油烃浓度为 0 和 2.06mg/L 的培养液中培养结束后的藻细胞形态的照片。观察图片可以发现, 2.06mg/L 石油烃营养液中培养的微小亚历山大藻细胞周围出现一些分泌物, 可能这些分泌物可以降低石油烃对它的毒害作用, 从而能更好地吸收营养盐。实验中的锥状斯氏藻有类似现象。

3 分析与讨论

3.1 营养盐吸收动力学曲线

由这四种藻的营养盐吸收动力学曲线可以发现, 在第一个 30 min 内介质中的营养盐会迅速地被吸收, 这可以解释为非耗能的短暂吸收。有研究表明, 将饥饿状态的藻置于富营养盐的介质中时, 一开始会有一个非耗能的短暂快吸收(即不依赖于代谢), 这一现象往往由离子进入细胞质外的无阻空间引起(刘静雯等, 2001)。

在快速吸收之后, 营养盐的吸收速率基本都会下降, 这种现象是藻的自身营养库对营养盐的反馈调节作用所致。无机离子或无机离子同化为有机成分在细胞内的积累, 会形成细胞内部不同水平的营养库, 这些营养库对营养盐的吸收具有反馈调节的作用(董双林等, 2001), 其对营养盐吸收速率的影响与时间有关。

饥饿状态的藻细胞置于富营养介质中, 开始时的短暂快吸收使得营养盐消耗速率较高, 随后由于藻细胞自身营养库的反馈抑制导致吸收速率降低, 微藻对营养盐的吸收平缓并趋于平衡, 且经常表现为波动吸收的过程, 即营养盐的吸收与释放同时存在且趋于平衡的阶段。

3.2 石油烃对营养盐吸收的影响

本实验选取了四种藻, 中肋骨条藻是硅藻, 赤潮异弯藻是一种针胞藻, 微小亚历山大藻和锥状斯氏藻均为甲藻。石油烃污染物对海洋浮游植物生长的影响, 可以表现为促进作用, 也可表现为抑制作用, 这不仅取决于石油烃浓度也与浮游植物种类有关(Singh *et al.*, 1990; Wolfe *et al.*, 1999)。此外促进或抑制作用的程度也因藻种的不同而不同。石油烃对中肋骨条藻和赤潮异弯藻氮、磷的吸收都呈现抑制作用, 在 0.13—8.25 mg/L 的浓度范围内抑制作用先减弱后又逐渐增强, 8.25 mg/L 浓度的石油烃抑制作用最强, 且相同浓度的石油烃对赤潮异弯藻的抑制程度要大于中肋骨

条藻。低浓度石油烃对微小亚历山大藻和锥状斯氏藻氮、磷的吸收则呈现促进作用, 在 0.13—8.25mg/L 浓度范围内, 促进作用的程度随石油烃浓度的增加有先增强后减弱的趋势; 8.25mg/L 的浓度下促进作用消失。

因为水溶性物质难于通过质膜而脂溶性物质容易通过质膜, 石油烃作为脂溶性物质, 又可以作为浮游植物生长所需碳源, 所以浮游植物可能会优先吸收石油烃。对于甲藻来讲, 少量的石油烃不会对细胞造成破坏, 反而会被浮游植物吸收利用并转化为自身的营养物质, 因此低浓度的石油烃在一定程度上会促进藻类对营养盐的吸收, 这种促进作用与浮游植物对石油烃的生物富集及细胞内石油烃作用有关(沈南南等, 2006)。有研究发现, 许多有机污染物在较低浓度时能刺激藻类的生长(唐学玺等, 2000; Wong, 2000; 王悠等, 2002), 有毒物质在较低浓度下出现的这种增益现象被称为“毒物的兴奋效应”(Hormesis)(Stebbing, 1982)。这些低浓度的污染物不同程度地增加藻体内某些酶的活性, 或者使藻细胞 DNA、RNA 和蛋白质合成增加, 从而促进藻类的生长, 也可能由于污染物引起藻细胞脂质过氧化程度在一定范围内升高, 从而具有刺激藻细胞生长繁殖的作用(Stebbing, 1982; Tian *et al.*, 1997; 谢荣等, 2000)。另外有机物对藻类的毒害和藻类对有机物的降解两个过程同时存在, 在较低浓度时降解过程占主导地位, 降解产物可为藻类所利用并促进其对营养盐的吸收。

藻体对有机污染物的富集是一个表面吸附, 并进一步向细胞内转移的综合过程(Tsezos *et al.*, 1989)。过高浓度的石油烃会破坏细胞膜的通透性, 污染物与细胞壁及细胞内含物中的类脂发生作用, 从而改变细胞内外的物质交换及细胞的活性。石油烃也可能与细胞内的蛋白质、酶等生命活性物质发生反应, 加大对藻类的毒害(唐学玺等, 1999; 洪有为等, 2008), 从而导致浮游植物对营养盐的吸收减弱。此外, 较高浓度的有机污染物还能引起藻细胞内活性氧的大量产生, 进而引起膜脂过氧化及细胞伤害, 抑制藻细胞生长(沈宏等, 2002)。另外, 石油烃也可能被藻细胞吸附, 覆盖在微藻细胞膜表面, 堵塞表面的吸附点而对营养盐吸收起抑制作用。从实验中拍摄的照片中也能够看出当石油烃浓度较大时, 营养盐吸收受抑制的藻细胞出现了不同程度的破损现象, 藻类受毒害脱色, 细胞生长亦受到抑制。

不同藻种对石油烃的敏感度有所差异, 有研究

认为, 浮游植物对有机物质的吸收和释放与藻细胞的体积有关, 细胞体积越大对有机物质的吸收和释放越慢(张军等, 2004)。本实验所选藻种中, 中肋骨条藻和赤潮异弯藻对石油烃较为敏感, 耐受力较差, 在实验所选石油烃浓度范围内均表现抑制作用, 而微小亚历山大藻和锥状斯氏藻对石油烃的耐受力较强, 在所选择的实验浓度范围内, 除 8.25mg/L 外基本表现为促进作用。由于中肋骨条藻和赤潮异弯藻的细胞个体要比微小亚历山大藻和锥状斯氏藻小, 因此对石油烃的吸收与富集较快, 受到的毒害作用也相应较大。而赤潮异弯藻的藻细胞无细胞壁保护, 因此石油烃对其的抑制程度又强于中肋骨条藻。周立明等(2006)通过研究多环芳烃对赤潮微藻的作用发现, 选用的 3 种微藻对多环芳烃的敏感性为: 赤潮异弯藻>中肋骨条藻>塔玛亚历山大藻, 本次对石油烃进行实验的结果与其相符。

4 结论

浮游藻类的营养盐吸收动力学表现为, 在实验初始的 30min 内, 微藻对营养盐均有一非耗能的短暂快吸收, 随后吸收速率下降并趋于稳定。石油烃对海洋浮游植物的影响, 可以表现为对氮、磷吸收的促进作用, 也可表现为抑制作用, 这不仅取决于石油烃浓度, 也与浮游植物种类有关。不同藻种对石油烃的敏感度会有一些的差异, 石油烃对它们吸收营养盐的影响亦不同。石油烃对中肋骨条藻和赤潮异弯藻氮、磷的吸收都呈现抑制作用, 在 0.13—8.25mg/L 的浓度范围内抑制作用基本表现为先减弱后逐渐增强, 8.25mg/L 浓度的石油烃抑制作用最强。低浓度的石油烃对微小亚历山大藻和锥状斯氏藻氮、磷的吸收则呈现促进作用, 在 0.13—2.06mg/L 浓度范围内, 促进作用的程度随石油烃浓度的增加有先增强后减弱的趋势, 在 8.25 mg/L 的高浓度下促进作用消失。

参 考 文 献

王 悠, 唐学玺, 李永祺, 2002. 低浓度萘对两种海洋微藻生长的兴奋效应. 应用生态学报, 13(3): 343—346
刘静雯, 董双林, 2001. 海藻的营养代谢及其对主要营养盐的

吸收动力学. 植物生理学通讯, 37(4): 326—327
沈 宏, 周培疆, 2002. 环境有机污染物对藻类生长作用的研究进展. 水生生物学报, 26(5): 529—534
沈南南, 李纯厚, 王晓伟, 2006. 石油污染对海洋浮游生物的影响. 生物技术通报(增刊): 96—98
周立明, 孟祥红, 肖 慧等, 2006. 3 种多环芳烃和 UV-B 辐射对 3 种赤潮微藻生长的作用. 武汉大学学报(理学版), 52(6): 773—777
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
国家海洋局, 1991. 海洋监测规范(HY003.4-91). 北京: 海洋出版社, 205—282
洪有为, 袁东星, 2008. 典型多环芳烃对红树林区硅藻的毒性效应. 海洋环境科学, 27(4): 340—341
唐学玺, 李永祺, 黄 健, 1999. 对硫磷对扁藻和杜氏藻膜脂的过氧化与脱酯化伤害. 海洋与湖沼, 30(3): 295—299
唐学玺, 李永祺, 2000. 对硫磷对三角褐指藻核酸和蛋白质合成动态的影响. 生态学报, 20(4): 598—600
谢 荣, 唐学玺, 李永祺等, 2000. 丙溴磷影响海洋微藻生长机理的初步研究. 环境科学学报, 20(4): 437—477
董双林, 刘静雯, 2001. 海藻营养代谢研究进展——海藻营养代谢的调节. 青岛海洋大学学报, 31(1): 21—26
Singh A K, Caur J P, 1990. Effects of petroleum oils and their paraffinic, asphaltic, and aromatic fractions on photosynthesis and respiration of microalgae. Ecotoxicology and Environmental Safety, 19(1): 8—16
Stebbing A R D, 1982. Hormesis-The stimulation of growth by low level of inhibitions. The Science of the Total Environment, 22(3): 213—234
Tian S Z, Liu Z, Weng J H *et al*, 1997. Growth of *Ghlorella vulgaris* in cultures with low concentration dimethoate as source of phosphorus. Chemosphere, 35(11): 271—2718
Tsezos M, Bell J P, 1989. Comparison of the biosorption and desorption of hazardous organic pollutants by live and dead biomass. Wat Res, 23(5): 561—568
Wolfe M F, Olsen H E, Gasuad K A *et al*, 1999. Induction of heat shock protein(hsp)60 in *Isochrysis galbana* exposed to sub-lethal preparations of dispersant and Prudhoe Bay crude oil. Marine Environmental Research, 47(5): 473—489
Wong P K, 2000. Effect of 2,4-D, glyphosate and paraquat on growth, photosynthesis and Chlorophyll-*a* synthesis of *Scenedesmus quadricauda* Berb 614. Chemosphere, 41(1—2): 177—182

EFFECTS OF PETROLEUM HYDROCARBON ON THE UPTAKE OF NUTRIENTS BY MARINE PHYTOPLANKTON

WANG Jiang-Tao¹, ZHAO Wei-Hong², LI Xue-Lian¹, LI Hui¹

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao, 266100; 2. Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

Abstract Petroleum hydrocarbons in different concentrations were added into the cultivation, and four phytoplankton species were cultivated. The effects of petroleum hydrocarbon on the uptake of phosphate and nitrogen by phytoplankton were investigated. In the first 30 minutes, all the four phytoplankton species had a significant uptake of the two nutrients, but after that, the uptake decreased. The uptake of nutrients by *Skeletonema costatum* and *Heterosigma akashiwo* decreased when adding petroleum hydrocarbon. The inhibitory effect first weakened then strengthened as the concentration of petroleum hydrocarbon increased. Petroleum hydrocarbon in lower concentration stimulated the uptake of nutrients by *Alexandrium minutum* and *Scrippsiella trochoidea*, and as the concentration increased, the positive effect was strengthened until reached its peak, and then was weakened. Petroleum hydrocarbon in concentration of 8.25mg/L did not show stimulant effect. In conclusion, the effects of petroleum hydrocarbon on the uptake of nutrients by marine algae were complex, which related to not only the concentration of petroleum hydrocarbon but also the species of marine phytoplankton.

Key words Petroleum hydrocarbon, Nutrient, Phytoplankton