

大型海藻龙须菜与东海原甲藻间的营养竞争

张善东^{1,2}, 俞志明^{1*}, 宋秀贤¹, 宋 飞^{1,2}, 王 悠^{1,2}

(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. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要:生物方法作为一种新兴的赤潮防治方法, 因为其作用的专一性及较少的负效应, 越来越受到人们的重视。研究了龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)与东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)之间营养盐 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 竞争的情况。结果显示, 两者共培养时, 龙须菜对营养盐的快速吸收利用, 使得共培养体系中营养盐迅速降低, 最终导致东海原甲藻消亡, 而东海原甲藻对于龙须菜的生长不构成明显的影响。在营养盐充分的条件下, 1g 鲜重的龙须菜对 NO_3^- 的吸收能力相当于 6.0×10^7 个东海原甲藻细胞, 对 PO_4^{3-} 的吸收相当于 2.4×10^7 个东海原甲藻细胞。相对于东海原甲藻, 龙须菜对营养盐的吸收利用更具有优势。龙须菜可作为有效吸收营养盐的大型海藻, 用以降低近海水域富营养化程度及有害赤潮发生的几率。

关键词:龙须菜; 东海原甲藻; 富营养化; 营养竞争

文章编号: 1000-0933(2005)10-2676-05 中图分类号: Q143, Q178, X171, X55 文献标识码: A

Competition about nutrients between *Gracilaria lemaneiformis* and *Prorocentrum donghaiense*

ZHANG Shan-Dong^{1,2}, YU Zhi-Ming^{1*}, SONG Xiu-Xian¹, SONG Fei^{1,2}, WANG You^{1,2} (1. Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(10): 2676~2680.

Abstract: The harmful algal blooms (HABs) are occurring in more locations than ever before and have caused serious destruction to the coastal marine environment and massive mortality of cultured organisms. Various mitigating methods, such as physical or chemical ones, have been proposed, but the results are not desirable because of their unpredictable impacts on marine ecosystem. Biological strategies are thus suggested for its potential HABs mitigating ability with little side effects. Macroalga is popular in aquatic ecosystem and could affect microalgal growth efficiently. To further identify the possibility utilizing macroalga in HABs mitigating, a popular species of macroalga *Gracilaria lemaneiformis*, which distribute widely in coastal China, was used to estimate its interference with a causative bloom dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense* under controlled laboratory conditions from view of nutrient competition. Results showed that *G. lemaneiformis* had obviously algicidal effects on *P. donghaiense* in the coexisting system and the cells of *P. donghaiense* could be entirely extinguished at the end of experiments. Oppositely, *P. donghaiense* had little effects on growth of *G. lemaneiformis* and its daily increasing rate was about 5.8 %, which presented no significant difference with that in mono cultivating system. The simultaneous nutrition assays in coexisting systems showed *G. lemaneiformis* absorbed nitrate and phosphate more efficiently and played dominant role in nutrition competition compared with *P. donghaiense* in the coexisting system. The phosphate and nitrate in the coexisting system were almost exhausted when the cell density of *P. donghaiense* began to decrease and there was a close relationship between cell density decreasing and nutrition consumption. When nutrients were sufficient, the nutrition absorbing ability of 1

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目(2001CB409710); 国家杰出青年科学基金资助项目(400025614); 国家自然科学基金重点资助项目(50339040)

收稿日期:2004-07-17; **修订日期:**2004-12-26

作者简介:张善东(1980~), 男, 山东龙口人, 博士生, 主要从事海洋环境化学研究. E-mail: markzsd@163.com

* **通讯作者** Author for correspondence. E-mail: zyu@ms. qdio. ac. cn

Foundation item: Chinese National Basic Research Priorities Program(No. 2001CB409710) and National Natural Science Foundation of China(No. 40025614, 50339040)

Received date: 2004-07-17; **Accepted date:** 2004-12-26

Biography: ZHANG Shan-Dong, Ph. D. candidate, mainly engaged in marine environmental chemistry. E-mail: markzsd@163.com

g (FW) *G. lemaneiformis* was equivalent to that of 6.0×10^7 cells of *P. donghaiense* in nitrate assimilation and about 2.4×10^7 cells in phosphate. Results inferred that the dominant role of *G. lemaneiformis* in competing for the available nutrient supply was one of the main reasons resulting its negative effects on co-cultured *P. donghaiense* and *G. lemaneiformis* might be one of the promising ways in HAB mitigating.

Key words:*Gracilaria lemaneiformis*; *Prorocentrum donghaiense*; eutrophication; competition about nutrients

近年来,随着沿海经济的高速发展,人类活动对海洋环境的影响越来越严重。人们将大量的生活污水和工农业废水排入大海,沿海养殖业的大规模发展,也导致大量剩余饵料以及养殖生物排泄物排放入海。随之而来的后果是,近岸海水污染和富营养化程度日趋严重,赤潮暴发频率和规模逐年增加,造成的危害越来越大。虽然富营养化与赤潮之间不是一种必然的因果关系,但毫无疑问,富营养化程度的加剧必然会增加赤潮暴发的可能性。

迄今为止,关于赤潮治理方法已有很多报道,根据所采用的原理,总体来讲可以分为三大类:物理方法、化学方法和生物方法。目前采用最多、发展最快的,大都是化学方法。但是化学方法可能会对环境造成污染,因此在使用之前需要慎重。生物方法兴起较晚,却极具有前景。因为生物间相互作用的专一性,许多生物方法不会对非赤潮生物产生影响,而且不会对环境造成污染,适合于养殖区、赤潮多发区和高发区的赤潮防治^[1,2]。

利用大型海藻与赤潮生物竞争营养盐作为一种新兴的生物防治方法,因为其综合效益而越来越受到人们的重视。大型海藻具有快速吸收营养盐的能力,而且收获时可以将营养盐一起从水体中带出,从根本上降低近岸海水的富营养化程度。有报道利用石莼、江蓠、昆布属海藻等与鱼、虾、贝等养殖生物进行混养^[3~9],一方面可以非常有效地降低水体中的营养物质浓度,减少赤潮暴发的可能性,另一方面又可以带来额外的经济收入,同时还可以为养殖动物提供饵料。

本文利用我国沿海重要的大型经济海藻龙须菜,研究了其与赤潮原因种——东海原甲藻^[10]之间关于营养盐的竞争利用关系,以期找到一种基于生态调控的、有效的赤潮防治方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料

龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)取自中国科学院海洋研究所藻种库,实验前,用毛笔轻刷去除藻体附着物。东海原甲藻(*P. donghaiense*)分离自 2003 年 5 月东海海域赤潮暴发区(N29°0.035'、E122°24.49'海区)的表层水体^[11]。室内培养温度为(16±1)℃,照度为 1900lx,光周期为 12L:12D。实验用海水为经过滤、消毒的自然海水,用 KNO₃ 和 KH₂PO₄ 溶液调节 N、P 浓度分别至 150μmol/L 和 15μmol/L,微量元素和维生素参照 f/2 配方。盐度为 30。

1.2 实验方法

利用龙须菜与东海原甲藻共培养,观察二者共存情况下,各自对对方的影响。实验设龙须菜单独培养组、共培养组和东海原甲藻单独培养组 3 组,在盛有 2 L 培养液的三角瓶中进行。参照现场养殖密度^①,龙须菜起始密度设定为 2gFW/L。参考东海原甲藻赤潮暴发时的密度^[12],将处于对数生长期的东海原甲藻接种到新的培养液,起始密度设定为 10⁴cells/ml。

每日定时计数微藻细胞密度变化,同时跟踪培养液中 NO₃⁻、PO₄³⁻ 浓度的变化。实验结束时,用滤纸吸干龙须菜藻体表面的水分,用托盘天平称量鲜重。

微藻细胞计数方法:藻液样品用鲁戈氏液固定后,在光学显微镜下,用血球计数板计数。营养盐测定方法:NO₃⁻ 和 PO₄³⁻ 浓度分别采用 Jones 的铈钼还原法^[13]和 Hager 等的磷钼蓝分光光度法^②,用 722 型分光光度计测定。

龙须菜吸收营养盐速率计算公式:

$$U = \frac{(C_o - C_t) \cdot V}{(W_o + W_t)/2 \cdot t} \tag{1}$$

式中, U 为吸收营养盐的速率(μmol/(gFW·h)); C_o 为初始时培养液的营养盐浓度; C_t 为 t 时间后培养液的营养盐浓度; V 为培养液体积; W_o 为初始时龙须菜的鲜重; W_t 为 t 时间龙须菜的鲜重; t 为时间。

时间间隔取 24h,计算平均吸收速率(取前 4d),最后取所有吸收速率的平均值。

东海原甲藻吸收营养盐速率计算公式:

$$U = \frac{C_o - C_t}{(D_o + D_t)/2 \cdot t} \tag{2}$$

① 费修绂,逢少军. 大规模的海藻栽培与海区环境的生物治理. 海洋高新技术产业化高级论坛,2000,500~511
② Hager S W, Gordon L I, Park P K. A practical manual for the use of Technicon Autoanalyzer in seawater nutrient analysis. A final report to B. C. F., Contract 14-17-0001-1759, October 1968

式中, U 为吸收营养盐的速率($\mu\text{mol}/(\text{cell}\cdot\text{h})$); C_0 为初始时培养液的营养盐浓度; C_t 为 t 时间培养液的营养盐浓度; D_0 为微藻初始细胞密度; D_t 为 t 时间微藻细胞密度; t 为时间。

时间间隔取 24h, 计算平均吸收速率, 最后取所有吸收速率的平均值。

2 结果与讨论

2.1 东海原甲藻细胞密度变化

图 1 给出的是东海原甲藻单独培养及与龙须菜共培养时微藻细胞密度随时间的变化曲线。由图 1 可以看出, 东海原甲藻对照组经过大约 72h 的诱导期后, 进入对数生长期。根据冈市友利公式: $\mu = K'/\log^2$ [式中 μ 表示群生长速度, $K' = (\log N_t - \log N_0)/t$, N_0 和 N_t 分别为单位水体藻类细胞的起始数量和经 $t(\text{d})$ 后的细胞数量(cell/ml)], 求得对照组东海原甲藻平均生长速率为 0.353d^{-1} , 略低于文献报道^[14]。东海原甲藻诱导期较长, 可能是因为东海原甲藻由原来的 f/2 培养液接种至 N、P 浓度不同的新培养液中, 需要一个适应阶段所致。

与龙须菜共培养的东海原甲藻, 在 120h 之前细胞密度与对照组差异不明显, 但是从 120h 左右时开始, 藻细胞密度开始持续下降, 最终完全消亡。与此同时东海原甲藻对照组的细胞密度还在继续增长。由此可以推断, 共培养组中东海原甲藻细胞密度的持续下降, 是因为龙须菜的引入对东海原甲藻的生长造成了影响。结合图 2、图 3 营养盐浓度的变化可以看出, 这可能因为相对于东海原甲藻, 龙须菜对营养盐的吸收速率更快、能力更强, 导致了水体中营养盐迅速减少, 最终抑制了东海原甲藻的生长。

2.2 龙须菜生长情况

实验结束时(10d), 对照组的龙须菜由初始的 4.0g 鲜重生长到 7.2g, 平均日生长率为 6.0%, 与东海原甲藻共培养组的龙须菜生长到 7.0g, 平均日生长率为 5.8% (见表 1)。已有文献报道的龙须菜平均日生长率一般在 2.6%~9.1% 之间^{①[15,16]}, 由此可见, 本实验中龙须菜的生长率在正常范围内。

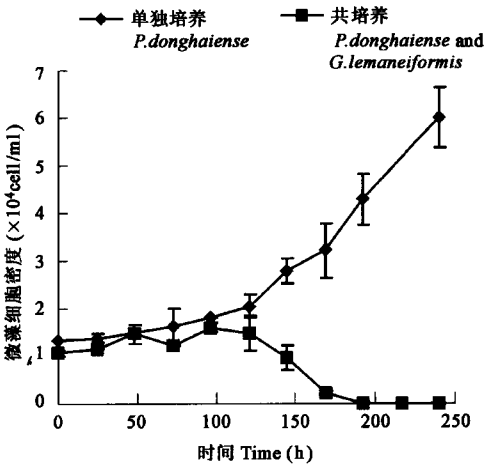


图 1 东海原甲藻细胞密度变化曲线
Fig. 1 Curve of *P. donghaiense* cell density

表 1 龙须菜生长率			
Table 1 Growth rate of <i>G. lemaneiformis</i>			
组别 Group	龙须菜 初始鲜 重 W_0 (gFW)	实验结束 时龙须菜 鲜重均值 W_{end} (gFW)	平均日生长 率均值 Growth rate (%)
对照组 CK	4.0	7.2	6.0
共培养组 <i>P. donghaiense</i> and <i>G. lemaneiformis</i>	4.0	7.0	5.8

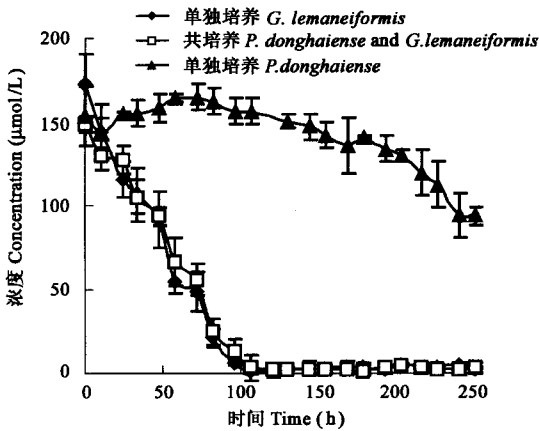


图 2 NO_3^- 浓度变化曲线
Fig. 2 Curve of nitrate concentration

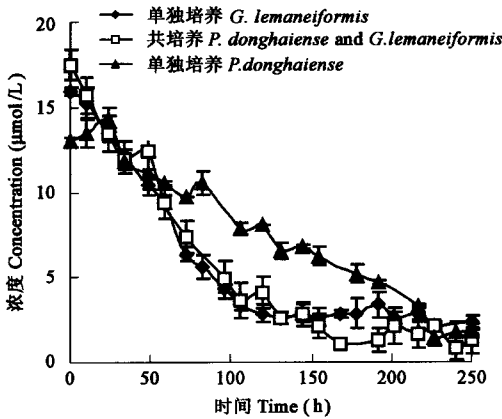


图 3 PO_4^{3-} 浓度变化曲线
Fig. 3 Curve of phosphate concentration

① 费修继, 逢少军. 大规模的海藻栽培与海区环境的生物治理. 海洋高新技术产业化高级论坛, 2000, 500~511

对对照组及共培养组龙须菜平均日生长率进行 t -检验,两组数据之间显著性水准 α 为 2.4%,小于 5%,龙须菜单独培养组与共培养组平均日生长率不存在显著性差异,说明东海原甲藻对龙须菜的生长影响不明显。

2.3 营养盐浓度变化

东海原甲藻、龙须菜单独培养及二者共培养时 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 浓度随时间变化的曲线分别如图 2、图 3 所示。比较龙须菜单独培养和共培养时培养液中营养盐浓度可知,二者 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 的皮尔森相关系数分别为 0.991 和 0.986,呈显著相关。这说明共培养组营养盐的减少主要是由于龙须菜的吸收,相对于东海原甲藻,龙须菜对营养盐的吸收利用更有优势。

此外,在 120h 之前,共培养组培养液中营养盐浓度持续下降,到 120h 时, NO_3^- 的浓度降至未检出, PO_4^{3-} 的浓度也降至最低。结合图 1,共培养组东海原甲藻细胞密度恰好也在此时开始下降。因此,东海原甲藻细胞密度的下降是因为二者对水体中有有限营养盐进行竞争,龙须菜对营养盐具有更快的吸收速率,很快导致水体中营养盐匮乏,进而导致东海原甲藻细胞数开始减少,直至最终完全消亡。

2.4 龙须菜与东海原甲藻对营养盐的吸收比较

比较图 2、图 3 中 NO_3^- 和 PO_4^{3-} 浓度变化曲线可以看出,龙须菜对 NO_3^- 的吸收速率远远大于东海原甲藻,很快便将培养液中的 NO_3^- 吸收耗尽,同期东海原甲藻对 NO_3^- 的吸收要缓慢得多。二者对 PO_4^{3-} 的吸收情况又稍有不同,虽然龙须菜对 PO_4^{3-} 的吸收速率也大于东海原甲藻,但优势却没有 NO_3^- 那么明显。由于实验中二者密度都接近于现场实际密度,关于 NO_3^- 和 PO_4^{3-} 竞争的情况从一定程度上反映了现场情况,因此在实际应用中,可以利用龙须菜对营养盐的快速吸收来抑制东海原甲藻的生长、增殖。

通过公式(1)、(2)计算单独培养时二者各自对营养盐的平均吸收速率可以得出,在营养盐水平降至最低之前,龙须菜对 NO_3^- 的平均吸收速率约为 $0.78\mu\text{mol}/(\text{gFW} \cdot \text{h})$,对 PO_4^{3-} 的平均吸收速率约为 $0.05\mu\text{mol}/(\text{gFW} \cdot \text{h})$ 。东海原甲藻对 NO_3^- 的平均吸收速率约为 $1.3 \times 10^{-8}\mu\text{mol}/(\text{cell} \cdot \text{h})$,对 PO_4^{3-} 的平均吸收速率约为 $2.3 \times 10^{-9}\mu\text{mol}/(\text{cell} \cdot \text{h})$ 。该速率反映了在营养盐充分的条件下,二者吸收 NO_3^- 和 PO_4^{3-} 的能力。比较二者吸收速率可知,对 NO_3^- 的吸收,1g 鲜重的龙须菜相当于约 6.0×10^7 个东海原甲藻细胞,而对 PO_4^{3-} 的吸收,1g 鲜重的龙须菜相当于约 2.4×10^7 个东海原甲藻细胞。龙须菜吸收营养盐的能力远强于东海原甲藻。在海水养殖区等富营养化程度较严重的近海海域养殖大型海藻,有利于降低水体富营养化程度,降低赤潮暴发的几率。

3 结论

(1)龙须菜对营养盐 NO_3^- 和 PO_4^{3-} 的吸收能力远远高于东海原甲藻;对 NO_3^- 的吸收,1g 鲜重的龙须菜相当于约 6.0×10^7 个东海原甲藻细胞,对于 PO_4^{3-} ,则相当于约 2.4×10^7 个东海原甲藻细胞。

(2)龙须菜与东海原甲藻共培养时,龙须菜能够很快将水体中的营养盐吸收耗尽,导致了东海原甲藻的消亡;而东海原甲藻的存在对于龙须菜的生长影响不明显。

(3)在富营养化水域可以通过养殖龙须菜等大型海藻吸收营养盐,降低有害赤潮发生的几率。

References:

[1] Yu Z M, Zou J Z, Ma X N, *et al.* The chemical means of controlling red tides. *Oceanol. Limnol. Sin.*, **24**(3):314~318.

[2] Yu Z M, Sun X X. Monitoring and managing methods of red tides. In: Tseng C K, Xiang J H eds. *Marine Biotechnology*. Ji'nan: Shandong Science & Technology Press, 1998. 401~415.

[3] Krom M D, Ellner S, van Rijn J, *et al.* Nitrogen and phosphorus cycling and transformations in a prototype 'non-polluting' integrated mariculture system, *Eilat, Israel. Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 1995, **118**:25~36.

[4] Neori A, Ragg N L C, Shpigel M. The integrated culture of seaweed, abalone, fish and clams in modular intensive land-based systems II. Performance and nitrogen partitioning within an abalone (*Haliotis tuberculata*) and macroalgae culture system. *Aquacult. Engineering*, 1998, **17**:215~239.

[5] Neori A, Shpigel M, Ben-Ezra D. A sustainable integrated system for culture of fish, seaweed and abalone. *Aquaculture*, 2000, **186**:279~291.

[6] Petrell R J, Tabrizi K M, Harrison P J, *et al.* Mathematical model of *Laminaria* production near a British Columbian salmon sea cage farm. *J. Appl. Phycol.*, 1993, **5**:1~14.

[7] Troell M, Halling C, Nilsson A, *et al.* Integrated open sea cultivation of *Gracilaria chilensis* (Gracilariiales, Rhodophyta) and salmonids for reduced environmental impact and increased economic output. *Aquaculture*, 1997, **156**:45~61.

[8] Troell M, Rönnbäck P, Halling C, *et al.* Ecological engineering in aquaculture: use of seaweeds for removing nutrients from intensive mariculture. *J. Appl. Phycol.*, 1999, **11**:89~97.

[9] Yang Y F, Fei X G. Prospects for bioremediation of cultivation of large-sized seaweed in eutrophic mariculture areas. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 2003, **33**(1):53~57.

[10] Qi Y Z, Wang Y. What the *Prorocentrum species* should be? —— A review on identification of a *Prorocentrum* species from the East China Sea. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 2003, **14**(7):1188~1190.

[11] Cao X H, Song X X, Yu Z M. Removal efficiency of red tide organisms by modified clay and its impacts on cultured organisms. *Environmental Science*, 2004, **25**(5):148~152.

[12] Zhou M J, Yan T, Zou J Z. Preliminary analysis of the characteristics of red tide areas in Changjiang River estuary and its adjacent sea. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 2003, **14**(7):1031~1038.

[13] Jones M N. Nitrate reduction by shaking with cadmium, alternative to cadmium columns. *Water Res.*, 1984, **18**:643~646.

[14] Li R X, Zhu M Y, Wang Z L, *et al.* Mesocosm experiment on competition between two HAB species in East China Sea. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 2003, **14**(7):1049~1054.

[15] Huang X H, Wen Z C, Wu C Y. Effect of ammonium-nitrogen on growth and chemical composition of *Gracilaria Sjoestedtii* Kylin. *Oceanol. Limnol. Sin.*, 1989, **20**(6):493~501.

[16] Huang X H, Wen Z C, Peng Z S, *et al.* Effect of intermittent nitrogen fertilization on growth and chemical constituents of *Gracilaria lemaneiformis*. *Oceanol. Limnol. Sin.*, 1998, **29**:570~574.

参考文献:

[1] 俞志明, 邹景忠, 马锡年, 等. 治理赤潮的化学方法. *海洋与湖沼*, 1993, **24**(3):314~318.

[2] 俞志明, 孙晓霞. 赤潮监测方法及治理技术. 见: 曾呈奎, 相建海主编. *海洋生物技术*. 济南: 山东科学技术出版社, 1998. 401~415.

[9] 杨宇峰, 费修绶. 大型海藻对富营养化海水养殖区生物修复的研究与展望. *青岛海洋大学学报*, 2003, **33**(1):53~57.

[10] 齐雨藻, 王艳. 我国东海赤潮原甲藻应属哪种? *应用生态学报*, 2003, **14**(7):1188~1190.

[11] 曹西华, 宋秀贤, 俞志明. 改性粘土去除赤潮生物及其对养殖生物的影响. *环境科学*, 2004, **25**(5):148~152.

[12] 周名江, 颜天, 邹景忠. 长江口临海海域赤潮发生区基本特征初探. *应用生态学报*, 2003, **14**(7):1031~1038.

[14] 李瑞香, 朱明远, 王宗灵, 等. 东海两种赤潮生物种间竞争的围隔实验. *应用生态学报*, 2003, **14**(7):1049~1054.

[15] 黄晓航, 温宗存, 吴超元. 铵氮对龙须菜含氮化合物和碳水化合物组成的影响. *海洋与湖沼*, 1989, **20**(6):493~501.

[16] 黄晓航, 温宗存, 彭作圣, 等. 间歇施肥对龙须菜的生长和化学组成的影响. *海洋与湖沼*, 1998, **29**:570~574.