

文章编号: 1674 - 5566(2014)04 - 0573 - 09

氮磷比率对两种蓝藻和两种绿藻生长的影响

刘 莲¹, 周小玉^{1,2}, 赵良杰¹, 刘其根¹

(1. 上海海洋大学 农业部水产种质资源创新与利用重点开放实验室, 上海 201306; 2. 南京环境科学研究所, 江苏 南京 210042)

摘要: 基于千岛湖 2009 - 2010 年春夏硅藻不占优势, 蓝藻和绿藻发生相互演替的现象, 选取千岛湖两种优势蓝藻和两种优势绿藻进行室内生态实验来比较氮磷比对于蓝藻和绿藻生长的影响, 得到的主要结果如下: 室内条件下, 以 BG - 11 培养基为基础设置了 5 组氮磷比 (原子比: $N/P = 76.77$ 、 $N/P = 307.06$ 、 $N/P = 153.53$ 、 $N/P = 15.35$ 、 $N/P = 3.84$) 的培养液, 研究氮磷比变化对两种蓝藻 (水华微囊藻 *Microcystis flos-aquae* 和蓝纤维藻 *Dactylococcopsis* sp.) 和两种绿藻 (小球藻 *Chlorella* sp. 和四尾栅藻 *Scenedesmus quadricauda*) 的影响, 利用 logistic 生长方程描述四种藻生长曲线且拟合度均较高, 水华微囊藻和四尾栅藻随着氮磷比的降低, 最大生物量 K 值和内禀增长率 r 值均升高, 蓝纤维藻则在接近于 Redfield 比值的培养基中 r 值最高, 小球藻在接近于或低于 Redfield 比值的培养基中出现爆发性增殖。水华微囊藻在高氮磷比组 ($N/P = 307.06$ 和 $N/P = 153.53$) 实验结束时藻体累积的总氮含量显著低于其他组 ($P < 0.05$), 四尾栅藻低氮磷比组 ($N/P = 3.84$) 单细胞氮含量也显著低于其他各组 ($P < 0.05$), 四种藻类藻体中总磷的变化则是随着氮磷比的降低而显著升高 ($P < 0.05$)。

研究亮点: 环境因子驱动藻类演替的机理过程十分复杂, 并且在不同形态和营养状态的湖泊 (水库) 中也会出现差异, 尽管有研究也总结出了藻类演替的一般规律, 但是对于特定的湖泊和特定的种类而言依然存在不确定性。对千岛湖两种优势蓝藻和两种优势绿藻, 通过室内生态实验比较氮磷比对于蓝藻和绿藻生长的不同影响, 进一步了解和验证营养盐对于蓝绿藻类演替格局的影响。

关键词: 浮游藻类; 千岛湖; 演替格局; 蓝藻; 绿藻; 氮磷比

中图分类号: Q 143; Q 178. 1

文献标志码: A

水华即自然水体中某一种或几种藻类集中爆发占绝对优势的情况, 这期间所涉及到的生态学过程, 最关键的即类群的演替, 而藻类演替的根本限制因子一直引人关注。营养盐是水域生态系统的物质基础, 藻类的爆发往往与水体中营养盐 (特别是氮和磷) 的组成与含量有着密切的关系^[1-3]。一些研究表明, 磷是限制水生生态系统初级生产力水平的关键因素, 过量磷的输入是引起水体富营养化问题的主要原因之一, SCHINDLER 等^[4]、WANG 和 WANG^[5] 以及 WELCH^[6] 强调并支持磷控制对湖泊富营养化的治理, 因为大多数情况下, 水体生态系统并不缺少氮。而根据 SCHINDLER^[7] 和 SMITH^[8] 的研究

发现, 湖泊表水层中 $TN/TP \leq 29$ (质量比) 时, 蓝藻倾向于占优; $TN/TP < 25$ (原子比) 时, 湖泊中蓝藻占优, 而 $TN/TP > 25$ 时, 绿藻和硅藻占优, 即 TN/TP 学说。TILMAN 等^[9]、YUNG 等^[10]、HODGKISS 和 HO^[11] 以及 HODGKISS^[12] 发现, 淡水中硅含量较低时, 蓝藻在低氮磷比下占优, 绿藻在高氮磷比下占优。虽然存在争议, 但是越来越多的证据显示, 氮磷比在藻类演替中, 应该扮演着最为关键的角色, 发挥着最为关键的作用。

千岛湖 2009 - 2010 年研究结果显示在硅藻不占优势的春夏蓝藻和绿藻之间会发生演替现象, 这说明千岛湖中不同类群的藻类对温度和营养盐的利用方式和最适温度、营养盐条件是不同的

收稿日期: 2014-03-18 修回日期: 2014-05-04

基金项目: 公益性行业 (农业) 专项 (201303056); 国家自然科学基金 (31072218); 上海市高校知识服务平台项目 (ZF1206)

作者简介: 刘 莲 (1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为淡水浮游植物生态学。E-mail: liulian2011@hotmail.com

通信作者: 刘其根, E-mail: qgliu@shou.edu.cn

的,而千岛湖中的藻类是否依循着氮磷比的变化而变化?是否如氮磷比的研究结果,蓝藻是否更加适应低氮磷比而绿藻更加适应高氮磷比呢?为了更深入地了解水华发生和藻类演替的机制,我们有必要进行一些相关的室内控制实验,以期能够了解单种培养下的蓝藻和绿藻在不同氮磷比例条件下的生长情况,并验证蓝藻适应低氮磷比和绿藻适应高氮磷比这一假设。

1 材料与方 法

本研究实验藻种取自上海海洋大学藻种库,蓝藻为水华微囊藻、蓝纤维藻,绿藻为四尾栅藻、小球藻。采用 BG-11 培养基,培养在 25 ℃ 的光

照培养箱中,光照强度为 3 000~4 000 lx,光暗比为 14 h:10 h。当藻密度达到 1×10^6 /mL 时可作为实验藻种。实验所需所有玻璃仪器经清水冲洗后,在稀盐酸中浸泡 30 min,以无菌水冲洗,烘干备用。实验藻种以 BG-11 培养基为基础(NaNO_3 和 K_2HPO_4 作为氮源和磷源),在氮浓度不变的情况下改变磷浓度,配制成正常的 BG-11 (原子比 $\text{N/P} = 76.77$ 、 $\text{N/P} = 307.06$ 、 $\text{N/P} = 153.53$ 、 $\text{N/P} = 15.35$ 、 $\text{N/P} = 3.84$)。这 5 个培养基(表 1),其中 $\text{N/P} = 307.06$ 、 $\text{N/P} = 153.53$ 接近于千岛湖水体的氮磷比率, $\text{N/P} = 15.35$ 组的接近于 Redfield 比值, $\text{N/P} = 3.84$ 组则是考虑氮磷原子比为 1:20 时氮限制的情况。

表 1 各实验组中氮磷浓度及其质量比和原子比

Tab. 1 The concentrations of N, P and the N:P ratios (in weight and mole) of different experimenting media.

实验组	N 浓度/(mg/L)	P 浓度/(mg/L)	N/P 质量比	N/P 原子比
高 N/P	N/0.25P	247.059	1.782	138.672
	N/0.5P	247.059	3.563	69.336
正常 N/P	N/P	247.059	7.126	34.668
低 N/P	N/5P	247.059	35.632	6.934
	N/20P	247.059	142.529	1.733

取适量对数期的藻种以 5 000 r/min 的速度离心 15 min,弃去上清液,用 15 mg/L 的碳酸氢钠溶液洗涤后离心,重复 3 次,用无菌水稀释后饥饿培养 2 d 再接种^[13]。接种时起始藻密度为 5.0×10^4 mL⁻¹ 左右^[14],每个实验组设置 3 个平行。500 mL 的锥形瓶中配制 400 mL 培养液,然后置于光照恒温培养箱中,设定温度为 25 ℃,光照强度为 2 500 lx,光暗比为 14 h:10 h。每天摇动培养瓶 1~2 次。

接种之后每 24 h 采用血球计数板在显微镜下进行细胞计数,取样过程在无菌操作台上进行,当藻类细胞增加的数量不超过前一天的 5% 左右时结束实验。

各组实验结束时,取 1~4 mL 藻液,以 8 000 r/min 的速度离心 15 min,弃去上清液,用无菌水从离心管中洗出沉淀物进行测定。总氮总磷的测定采用国家地表水质量监测标准进行,其中总氮用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法(GB 11894-89),总磷的测定采用钼酸铵分光光度法(GB 11893-89)。

藻类的生长过程以逻辑斯蒂(logistic)种群增长模型拟合,应用逻辑斯蒂方程的对数形式进

行参数估计,公式为:

$$N = \frac{K}{1 + e^{a-rt}} \quad (1)$$

式中: N 为藻类生物量; K 为最大生物量; r 为内禀增长率; t 为培养时间。

以最小二乘法进行回归分析,每个实验组的最大生物量作为 K 的估计值,式中的斜率和截距作为 a 和 r 的估计值,算出参数的 95% 置信区间,用 F 检验法进行回归方程的显著性检验,并用多重分析对各氮磷比组间 K 值和 r 值进行差异显著性分析。

2 结果

2.1 水华微囊藻在不同氮磷比下的生长

水华微囊藻在各实验组下的生长曲线基本符合“S”型生长曲线(图 1a),均经过了延缓期、指数增长期、相对生长下降期、稳定期 4 个阶段,所有实验组藻细胞在第 2 天便进入对数增长期,经过 13~14 d 的对数增长,到第 15~16 d 进入稳定增长期。生长曲线用 logistic 模型拟合得到不同氮磷比下 logistic 模型拟合参数(K , a , r),回归判定系数(R^2)及显著性。不同氮磷比下各生

长曲线用 logistic 模型拟合均具有较高的拟合度,随着氮磷比的下降, K 和 r 值逐渐上升,生长曲线表现出氮磷比率越小,长势越好(图 1b)。高氮磷比组($N/P = 307.06$ 、 $N/P = 153.53$ 组)的 r 值较

小,长势较弱。虽然多重分析显示组间差异不明显,生长曲线拟合系数呈现出随氮磷比下降水华微囊藻生长更迅速的趋势(表 2)。

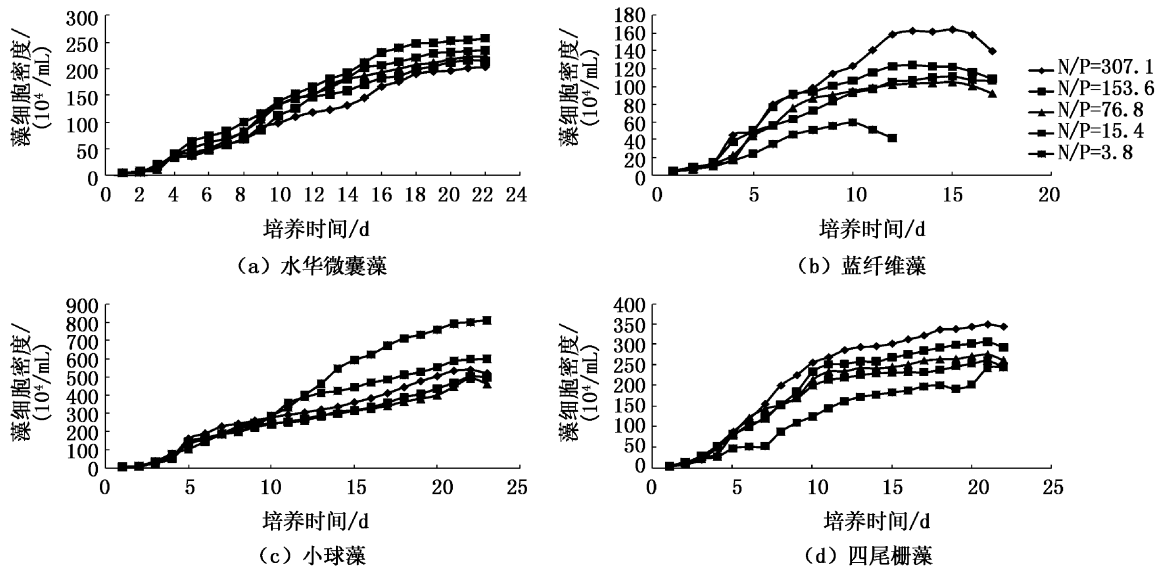


图 1 水华微囊藻、蓝纤维藻、小球藻和四尾栅藻分别在不同氮磷比下的生长曲线
Fig. 1 The growth curve of *Microcystis flos-aquae*, *Dactylococcopsis* sp., *Chlorella* sp., and *Scenedesmus quadricauda* with different N:P ratios

2.2 蓝纤维藻在不同氮磷比下的生长

实验组细胞从第 2 天开始进入对数生长期,其中 $N/P = 307.06$ 、 $N/P = 153.53$ 和 $N/P = 15.35$ 组经过 10 d 的对数生长在第 12 天进入稳定增长期,而 $N/P = 76.77$ 和 $N/P = 3.84$ 组对数增长期较短,它们只经过 6 天的对数生长,在第 8 天左右就进入稳定增长期(图 1b)。logistic 模型拟合结果显示,除 $N/P = 15.35$ 组外,其他实验组中 K 值和 r 值均随着氮磷比率的升高而升高,而 $N/P = 15.35$ 组的 r 值高于任何实验组。 $N/P = 3.84$ 组 r 值最小,表明磷浓度太高的时候,蓝纤维的生长反而受到抑制。多重分析显示 K 值和 r 值在不同氮磷比组间有显著性差异, $N/P = 307.06$ 组 K 值显著大于其他四组较低氮磷比组, $N/P = 3.84$ 组

K 值显著小于其他高氮磷比组,且 $N/P = 153.53$ 组 r 值显著大于 $N/P = 3.84$ 组(表 3)。说明蓝纤维藻更适应高氮磷比组。

2.3 小球藻在不同氮磷比下的生长

小球藻生长良好,指数增长期均较长,从第 2 天一直持续到第 21 ~ 22 天,并且 $N/P = 3.84$ 组和 $N/P = 15.35$ 组明显增长最快(图 1c)。logistic 模型拟合结果显示,从 $N/P = 307.06$ 组、 $N/P = 153.53$ 组到 $N/P = 76.77$ 组, K 值和 r 值依次下降,而从 $N/P = 15.35$ 组到 $N/P = 3.84$ 组, K 值和 r 值依次升高。多重分析结果表明 K 值组间表现出显著性差异,其中 $N/P = 307.06$ 组 K 值分别显著小于 $N/P = 3.84$ 、 $N/P = 15.35$ 两组(表 4),说明低氮磷比组更适合小球藻生长。

表 2 不同氮磷比下水华微囊藻 logistic 模型 ($N = \frac{K}{1 + e^{a-r}}$) 拟合参数、回归系数及多重分析显著性差异

Tab. 2 Fit parameters, regression coefficients, multiple analysis and the significance of Logistic model of *Microcystis flos-aquae* ($N = \frac{K}{1 + e^{a-r}}$) with different N:P ratios

培养基	K	a	r	R ²
N/P = 307.06	229.97 ± 20.72	3.249 ± 0.836	0.297 ± 0.064	0.826 **
N/P = 153.53	223.33 ± 60.47	3.363 ± 0.819	0.317 ± 0.062	0.849 **
N/P = 76.77	236.00 ± 105.40	3.261 ± 0.951	0.320 ± 0.072	0.809 **
N/P = 15.35	253.83 ± 42.25	3.225 ± 0.925	0.321 ± 0.070	0.818 **
N/P = 3.84	258.17 ± 95.13	3.283 ± 0.927	0.322 ± 0.071	0.819 **
F 值	0.814	-	0.809	-

注: R² 为回归判定系数; K、a、r 以平均值 ± 95% 置信区间表示; * 表示显著; ** 表示高度显著。

表 3 不同氮磷比下蓝纤维藻 logistic 模型 ($N = \frac{K}{1 + e^{a-r}}$) 拟合参数、回归系数及多重分析显著性差异

Tab. 3 Fit parameters, regression coefficients, multiple analysis and the significance of Logistic model of *Dactylococcopsis* sp. ($N = \frac{K}{1 + e^{a-r}}$) with different N:P ratios

培养基	K	a	r	R ²
N/P = 307.06	175.67 ± 82.18 ^a	2.875 ± 1.445	0.393 ± 0.141 ^{ab}	0.702 **
N/P = 153.53	142.67 ± 25.77 ^b	2.452 ± 1.399	0.387 ± 0.137 ^b	0.708 **
N/P = 76.77	111.83 ± 34.16 ^b	2.339 ± 1.497	0.375 ± 0.146 ^{ab}	0.666 **
N/P = 15.35	120.67 ± 26.36 ^b	2.775 ± 1.191	0.395 ± 0.116 ^{ab}	0.777 **
N/P = 3.84	59.67 ± 7.59 ^c	2.276 ± 1.313	0.371 ± 0.178 ^a	0.682 **
F 值	18.089 **	-	2.968	-

注: R² 为回归判定系数; K、a、r 以平均值 ± 95% 置信区间表示; * 表示显著; ** 表示高度显著; abc 表示多重分析显著性差异。

表 4 不同氮磷比下小球藻 logistic 模型 ($N = \frac{K}{1 + e^{a-r}}$) 拟合参数、回归系数及多重分析显著性差异

Tab. 4 Fit parameters, regression coefficients, multiple analysis and the significance of Logistic model of *Chlorella* sp. ($N = \frac{K}{1 + e^{a-r}}$) with different N:P ratios

培养基	K	a	r	R ²
N/P = 307.06	558.75 ± 387.33 ^a	3.212 ± 0.916	0.277 ± 0.067	0.78 **
N/P = 153.53	519.58 ± 106.41 ^{ab}	3.244 ± 0.870	0.264 ± 0.063	0.781 **
N/P = 76.77	499.58 ± 101.59 ^{ab}	2.973 ± 0.766	0.232 ± 0.056	0.78 **
N/P = 15.35	639.17 ± 55.97 ^b	3.521 ± 1.030	0.311 ± 0.075	0.78 **
N/P = 3.84	838.75 ± 35.27 ^b	3.946 ± 0.827	0.319 ± 0.060	0.852 **
F 值	3.077 *	-	0.867	-

注: R² 为回归判定系数; K、a、r 以平均值 ± 95% 置信区间表示; * 表示显著; ** 表示高度显著; abc 表示多重分析差异。

2.4 四尾栅藻在不同氮磷比下的生长

四尾栅藻在不同氮磷比培养基下的生长曲线(图 1d),所有实验组藻细胞从接种第 2 天就进入对数生长期,持续到第 11~12 天后进入稳定增长期。整个生长周期表现为“S”型曲线,不同氮磷比情况下,藻类细胞密度也明显不同,基本表现为 N/P = 307.06 > N/P = 153.53 > N/P = 76.77 > N/P = 15.35 > N/P = 3.84。logistic 模型拟合结果显示,四尾栅藻在本实验条件下随着氮

磷比率的增加,K 值和 r 值逐渐升高,表明高氮磷比组四尾栅藻生长最好。多重分析显示 K 值和 r 值都表现出显著性差异,其中 N/P = 307.06 组 K 值分别显著大于 N/P = 3.84、N/P = 153.53 两组,且 N/P = 307.06、N/P = 153.53 两组 r 值分别显著小于 N/P = 76.77、N/P = 15.35、N/P = 3.84 三组(表 5),说明高氮磷比组相对更加适合四尾栅藻生长。

表 5 不同氮磷比下四尾栅藻 logistic 模型 ($N = \frac{K}{1 + e^{a-n}}$) 拟合参数、回归系数及多重分析显著性差异Tab.5 Fit parameters, regression coefficients, multiple analysis and the significance of Logistic model of *Scenedesmus quadricauda* ($N = \frac{K}{1 + e^{a-n}}$) with different N:P ratios

培养基	K	a	r	R ²
N/P = 307.06	382.50 ± 70.84 ^a	2.989 ± 0.981	0.321 ± 0.075 ^a	0.801 ^{**}
N/P = 153.53	309.42 ± 13.06 ^{ab}	2.718 ± 0.957	0.298 ± 0.073 ^a	0.785 ^{**}
N/P = 76.77	286.50 ± 75.64 ^{ab}	2.543 ± 1.011	0.291 ± 0.077 ^b	0.757 ^{**}
N/P = 15.35	278.00 ± 41.49 ^b	2.358 ± 0.942	0.266 ± 0.072 ^b	0.749 ^{**}
N/P = 3.84	249.61 ± 58.68 ^b	2.945 ± 0.855	0.258 ± 0.065 ^b	0.773 ^{**}
F 值	4.919 [*]	-	7.325 [*]	-

注: R²为回归判定系数; K、a、r 以平均值 ± 95% 置信区间表示; * 表示显著; ** 表示高度显著; abc 表示多重分析显著性差异。

2.5 实验结束时藻体氮磷含量测定

为了解藻体内氮磷含量的积累,于各实验组结束时对藻体内的氮磷含量进行了测定,并计算单细胞藻体氮磷含量。各实验组单细胞藻体总氮含量变化,整体呈一定规律性(图 2)。方差分析结果表明,水华微囊藻总氮含量 N/P = 307.06、N/P = 153.53 组均显著小于其他三组(N/P = 76.77、N/P = 15.3 和 N/P = 3.84 组, $P < 0.05$),而其他三组之间无显著性差异。蓝纤维藻各实验组之间均无显著性差异($P > 0.05$)。小球藻 N/P = 307.06 组显著大于 N/P = 76.77、N/P = 153.53 和 N/P = 3.84 组($P < 0.05$), N/P = 15.3 组显著大于 N/P = 76.77 和 N/P = 3.84 组($P < 0.05$)。四尾栅藻 N/P = 3.8 组显著小于 N/P = 307.06、N/P = 153.53 和 N/P = 76.77 组($P < 0.05$)。水华微囊藻细胞总氮含量在前四组(N/P = 307.06、N/P = 153.53、N/P = 76.77 和 N/P = 15.3)随氮磷比的下降而增加,说明水华微囊藻在低氮磷比环境中对氮的吸收更加有效,而水华微囊藻在 N/P = 3.84 组氮含量略微下滑,推测此时水华微囊藻细胞密度增长较快,导致单细胞氮含量有所下降。蓝纤维藻各实验组总体表现为随氮磷比的增加,细胞氮含量逐渐增长的趋势,表明高氮磷比培养基更适合蓝纤维藻吸收氮素营养。小球藻在低氮磷比 N/P = 3.84 组氮含量最低,在高氮磷比 N/P = 307.06 组氮含量最高。四尾栅藻细胞含氮为: N/P = 307.06 组 > N/P = 153.53 组 > N/P = 76.77 组 > N/P = 15.35 组 > N/P = 3.84 组,表现出随氮磷比增加而氮含量增加的一致性。

4 种藻单细胞磷含量随着初始培养基中氮磷比率的升高而升高,4 种藻单细胞磷含量均表现出藻细胞磷含量随氮磷比的下降而增长的趋势。

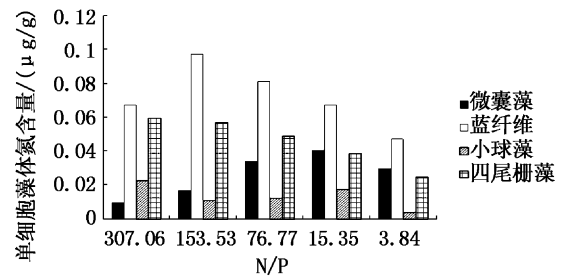


图 2 实验结束时各实验组单细胞藻体总氮含量

Fig. 2 Total nitrogen concentrations of single-cell algae in different treating groups when the experiment was finished

方差分析结果显示,水华微囊藻 N/P = 3.8 组总磷含量显著高于其他 4 个实验组($P < 0.05$), N/P = 15.3 组显著高于 N/P = 307.06 和 N/P = 153.53 组($P < 0.05$)。蓝纤维藻 N/P = 3.8 和 N/P = 15.3 组显著高于其他 3 个实验组($P < 0.05$)。小球藻 N/P = 15.3 组显著高于 N/P = 307.06、N/P = 153.53 和 N/P = 76.77 组, N/P = 76.77 组则显著高于 N/P = 307.06 和 N/P = 153.53 组($P < 0.05$)。四尾栅藻藻体磷含量表现为 N/P = 307.06 组 < N/P = 153.53 组 < N/P = 76.77 组 < N/P = 15.3 组 < N/P = 3.8 组,且各组之间均有显著性差异($P < 0.05$)。蓝纤维藻单细胞磷含量高于其他藻,为水华微囊藻和小球藻单细胞磷含量的 2 倍左右,分析原因:蓝纤维藻在低氮磷比组(N/P = 3.84 组)生长期间细胞密度较低,并且提前进入衰亡期,实验结束时细胞密度骤减(图 1b),故计算出的单细胞磷含量较高。四尾栅藻单细胞磷含量较高且组间差异显著,表明其生长最适氮磷比值较高。而对小球藻而言,当氮磷比接近“Redfield 比值”时(N/P = 15.35),小球藻单细胞磷含量表现出最大值;而

氮磷比小于“Redfield 比值”时 ($N/P = 3.84$), 小球藻单细胞磷含量略有减少(图 3)。

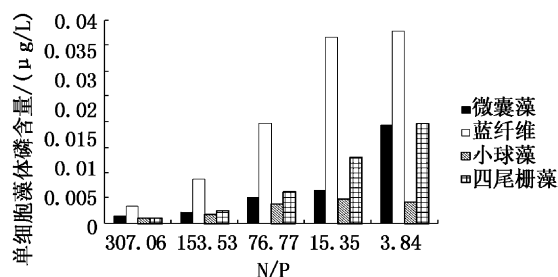


图 3 实验结束时各实验组单细胞藻体总磷含量
Fig. 3 Total phosphorus concentrations of single-cell algae in different treating groups when the experiment was finished

3 讨论

3.1 两种蓝藻和两种绿藻在不同氮磷比下的生长比较

藻类的生长与营养盐之间的比值有着密切的关系,尤其是备受关注的氮磷比率。结合千岛湖生态系统特征,千岛湖属于磷限制^[15],且磷含量波动较大,因此本实验氮磷比率设计控制氮浓度不变,只改变磷浓度。实验结果表明,4种藻类的生长均可以用 logistic 生长方程描述,且 logistic 模型拟合度均较高。水华微囊藻随着氮磷比的降低,最大生物量 K 和内禀增长率 r 均明显升高,表明水华微囊藻在相对高 P 和低氮磷比的情况下生长越好。SMITH^[16] 和 KILHAM 等^[17] 总结出了不同藻类的最适氮磷比,微囊藻属为 9:1 (原子比),与本研究结果一致。秦伯强等指出我国绝大部分暴发水华的湖泊中氮磷比率均较低,且几乎都以微囊藻成为优势种^[18],TAKAMURA 等^[19] 研究则发现在日本的 Kasumigaure 湖微囊藻水华期间水体 TN: TP 的比值低于 10,这说明本实验条件下的研究结果与野外观察数据一致。蓝纤维藻虽然基本表现出高氮磷比下生长较好的现象,但 $N/P = 15.35$ 组内禀增长率 r 最高,其 K 值也仅次于 N/P 组。 $N/P = 15.35$ 组接近于“Redfield 比值”,即藻类的平均最适生长比率^[20],说明“Redfield 比值”对蓝纤维藻潜在的生长具有一定的影响,此外这一组在前期生长表现并不是最好,但在经历了一个时期之后,该组藻类数量迅速

上升,认为可能在前期由于磷浓度较高,经过一段时间的生长后,培养液中磷含量下降,藻类的生长变得更为适应。在 $N/P = 3.84$ 组中,蓝纤维藻的生长最差,认为可能是由于高浓度的磷对其生长造成了抑制。所以蓝纤维藻可能更加适宜于高氮磷比的环境中生长。小球藻在磷限制的情况下,即 3 组高氮磷比的实验组中,其内禀增长率 r 值及 K 值均表明,其更适合高氮磷比的环境,但其数量增长较为平稳。而当氮磷比等于或者低于“Redfield 比值”时(即 $N/P = 15.35$ 和 $N/P = 3.84$ 组),其在经历了 10 d 左右的平稳增长后,种群数量呈爆发式增长,且此时 $N/P = 3.84$ 组的增长要快于 $N/P = 15.35$ 组。说明低氮磷比的培养基更加适合小球藻的生长。有研究显示,小球藻能够在最初的延滞生长期对磷进行存储^[21],低氮磷比组由于磷是过量的,这就使得小球藻能够通过奢侈吸收,存储更多的磷为其爆发提供了物质条件,提示当氮磷比高过“Redfield 比值”时,可能会发生小球藻水华。四尾栅藻随着初始培养基中氮磷比的升高,长势越好,最大生物量 K 值和内禀增长率 r 值也明显升高,说明四尾栅藻更适应于高氮磷比的环境,万蕾等^[22] 研究结果也发现四尾栅藻单独培养时,其最大现存量随着氮磷比值的增大而增大。BULGAKOV 和 LEVITCH^[23] 也认为四尾栅藻 (*Scenedesmus quadricauda*) 生长所需最佳氮磷比值较高,其研究发现氮磷比值上升时,藻类群落结构演替为绿藻,且主要以四尾栅藻为主。

综上所述,本实验条件下水华微囊藻和四尾栅藻基本符合低氮磷比适合蓝藻生长和高氮磷比适合绿藻生长的规律,与 SCHINDLER^[7] 和 SMITH^[8] 和等人提出的 N/P 比学说一致。由此可见,水华微囊藻和四尾栅藻在野外往往分别成为低氮磷比和高氮磷比水体中蓝藻和绿藻占据优势的主要参与者,它们是典型的适应极端氮磷比的藻种。而蓝纤维藻和小球藻并未遵循这样的规律,说明同一门类不同藻种之间最适的营养比率也是有差异的,如 FUJIMOTO 和 SUDO^[24] 对蓝藻门的微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 和席藻 (*Phormidium tenue*) 的竞争实验表明在相对低氮磷比时微囊藻占优,氮磷比升高时则为席藻占优。

3.2 两种蓝藻和两种绿藻在不同氮磷比下的营养盐吸收能力

一般在藻类生长时,初期水体中的大量营养盐转移到藻细胞中,藻类大量繁殖后藻体营养盐含量则会下降,到稳定期和衰亡期之后藻体营养盐则会趋于一致。因此本研究在各实验组结束时对藻体的氮磷含量进行了测定以了解藻体对营养盐的吸收累积。实验结果表明单细胞藻中总氮的变化基本呈现波动的趋势,水华微囊藻高氮磷比的两组($N/P = 307.06$ 和 $N/P = 153.53$ 组)总氮含量显著低于其他组,说明高氮磷比组对总氮的吸收能力较弱,对比生长的情况,水华微囊藻在高氮磷比情况下生长速度也不如其他组,说明高氮磷比组水华微囊藻细胞对氮较弱的吸收能力影响到了藻类的生长。四尾栅藻低氮磷比组($N/P = 3.84$ 组)总氮含量也显著低于其他各组,且这一组藻类生长速度也明显最低,因此四尾栅藻在低氮磷比下对氮较弱的吸收能力可能影响到了其自身的生长。此外,我们也发现 $N/P = 15.35$ 组中各藻类的氮含量均相对较高,提示当接近“Redfield 比值”时可能最有利于藻类对氮的吸收,与文献中对小球藻的研究结果一致^[25]。通过生长曲线了解,除了四尾栅藻外,接近“Redfield 比值”组其他各藻均生长较好。而四尾栅藻除了 $N/P = 3.84$ 组外,在各氮磷比组下均保持高氮含量,显示该种对于高氮磷比的各组均能较好地适应。总磷的变化是随着培养基的磷浓度增加而增高,有研究表明在藻类细胞中普遍存在“磷库”(Phosphorus Pool)^[26],能够奢侈地吸收环境中的磷,此结果也显示出了藻类的嗜磷特性。

3.3 千岛湖蓝绿藻优势种演替的生态学意义

根据千岛湖以往的研究如李培培等^[27]和王飞儿等^[28]对叶绿素 a 与营养盐关系以及刘其根等^[15]对浮游植物群落结构与营养盐关系的结果,千岛湖水体营养盐即时浓度不能准确反映藻类密度和生物量水平。由此分析千岛湖 2009 - 2010 年春夏出现硅藻不占优势,蓝藻和绿藻发生优势种互相演替的现象原因可能是千岛湖自身特殊的地理构造导致营养物质流入千岛湖中心湖区时,水流变缓,水体条件较稳定,在温度光照等条件适当的季节(温暖的春夏),藻类经常呈爆发性增长。千岛湖春季 3 月营养盐大量输入并积累,而由于瞬时温度、光照等条件的限制藻类

尚不能爆发性增长,进入 5 月之后藻类生物量开始上升,滞后效应显现,进而此时营养盐开始形成流动通道。研究表明,硅酸盐浓度的增加是导致硅藻生长的重要因素^[29-30]。若此时硅酸盐充沛,硅藻大量繁殖甚至短期成为优势种,而当硅酸盐消耗至无法继续为硅藻提供细胞增长的主要成分时,硅藻逐渐被更适应氮磷营养盐的蓝绿藻取代优势种地位。本研究实验证明了千岛湖蓝藻优势种水华微囊藻更适合于低氮磷比,绿藻优势种四尾栅藻更适合于高氮磷比环境。这也与 SMITH^[8]的研究结果相一致,其通过对世界范围内 17 个湖泊资料收集发现,生长季节表水中蓝藻生物量比例与 TN/TP 比呈现出 $TN/TP < 29$ (质量比)时蓝藻倾向于占优的规律。在温度升高的春夏,蓝藻和绿藻在营养盐选择下,依次出现适应高氮磷比的蓝藻成为优势种和适应低氮磷比的绿藻成为优势种,互相演替,此消彼长,优势蓝绿藻通过当地保水渔业主体鲢鳙的捕食进入食物链,由此打开氮磷营养盐上行通道。蓝藻和绿藻的演替一方面是适应温度下营养盐构成变化导致,另一方面以食物链物质能量形式疏通氮磷等营养物的循环利用,缓解蓝藻或绿藻形成的水华危机。

4 结论

本研究通过选取 2009 - 2010 年间千岛湖野外浮游藻类群落蓝藻和绿藻的优势种进行室内生态实验以研究不同氮磷比率对两种蓝藻和绿藻生长的影响,结果表明,4 种藻类的生长均可以用 logistic 生长方程描述,且 logistic 模型拟合度均较高,水华微囊藻和四尾栅藻基本符合低氮磷比适合蓝藻生长和高氮磷比适合绿藻生长的规律,而蓝纤维藻和小球藻并未遵循这样的规律,蓝纤维藻相对更适宜于高氮磷比的环境且在接近于“Redfield 比值”的培养基中 r 值最高,小球藻则在接近于或低于“Redfield 比值”的培养基中会出现爆发性增殖,说明同一门类不同藻种之间最适的营养比率也是有差异的。

参考文献:

- [1] 孔繁翔,高光. 大型浅水富营养化湖泊中蓝藻水华形成机理的思考[J]. 生态学报, 2005, 25(3): 589 - 595.
- [2] 朱广伟. 太湖富营养化现状及原因分析[J]. 湖泊科学, 2008, 20(1): 21 - 26.

- [3] 孔繁翔, 马荣华, 高俊峰, 等. 太湖蓝藻水华的预防、预测和预警的理论与实践[J]. 湖泊科学, 2009, 21(3): 314 - 328.
- [4] SCHINDLER D W, HECKY R E, FINDLAY D L, et al. Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: results of a 37-year whole-ecosystem experiment [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(32): 11254 - 11258.
- [5] WANG H J, WANG H Z. Mitigation of lake eutrophication: loosen nitrogen control and focus on phosphorus abatement. [J]. Progress in Natural Science, 2009, 19(10): 1445 - 1451.
- [6] WELCH E B. Should nitrogen be reduced to manage eutrophication if it is growth limiting? Evidence from Moses Lake [J]. Lake and Reservoir Management, 2009, 25(4): 401 - 409.
- [7] SCHINDLER D W. Evolution of phosphorus limitation in lakes [J]. Science, 1977, 195(4275): 260 - 262.
- [8] SMITH V H. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton [J]. Science, 1983, 221(4611): 669 - 671.
- [9] TILMAN D, KIESLING R, STERNER R, et al. Green, bluegreen and diatom algae: taxonomic differences in competitive ability for phosphorus, silicon and nitrogen [J]. Archiv fur Hydrobiologie, 1986, 106: 473 - 485.
- [10] YUNG Y K, WONG C K, BROOM M J, et al. Long-term changes in hydrography, nutrients and phytoplankton in Tolo Harbour, Hong Kong [J]. Hydrobiologia, 1997, 352: 107 - 115.
- [11] HODGKISS I J, HO K C. Are changes in N: P ratios in coastal waters the key to increased red tide blooms? [J]. Hydrobiologia, 1997, 352(1/3): 141 - 147.
- [12] HODGKISS I J. The N/P ratio revisited [M]. HO K C, WANG Z D, HongKong: the Open University of Hong Kong. Prevention and Mangement of Harmful Algal Blooms in the South China Sea, 2001.
- [13] 金相灿, 郑朔方. 有机磷和无机磷对铜绿微囊藻生长的影响及动力学分析[J]. 环境科学研究, 2006, 19(5): 40 - 44.
- [14] 金相灿, 屠清瑛. 湖泊富营养化调查规范 [M]. 2 版. 北京: 中国科学出版社, 1995.
- [15] 刘其根, 陈立侨, 陈勇. 千岛湖水华发生与主要环境因子的相关性分析[J]. 海洋湖沼通报, 2007(1): 117 - 124.
- [16] SMITH V H. The nitrogen and phosphorus dependence of algal biomass in lakes: An empirical and theoretical analysis [J]. Limnology and Oceanography, 1982, 27: 1101 - 1112.
- [17] KILHAM S S, KILHAM P. The importance of resource supply rates in determining phytoplankton community structure [C]. American Association for the Advancement of Science Symposium, 1984, 85: 7 - 27.
- [18] 秦伯强, 王小冬, 汤祥明, 等. 太湖富营养化与蓝藻水华引起的饮用水危机——原因与对策 [J]. 地球科学进展, 2007, 22(9): 896 - 906.
- [19] TAKAMURA N, OTSUKI A, AIZAKI M, et al. Phytoplankton species shift accompanied by transition from nitrogen dependence to phosphorus dependence of primary production in lake Kasumigaura, Japan [J]. Arch Hydrobiology, 1992, 124: 129 - 48.
- [20] REDFIELD A C. The biological control of chemical factors in the environment [J]. American Scientist, 1958, 46: 205 - 222.
- [21] 钱善勤, 孔繁翔, 史小丽, 等. 不同形态磷酸盐对铜绿微囊藻和蛋白核小球藻生长的影响 [J]. 湖泊科学, 2008, 20(6): 796 - 801.
- [22] 万蕾, 朱伟, 赵联芳. 氮磷对微囊藻和栅藻生长及竞争的影响 [J]. 环境科学, 2007, 28(6): 1230 - 1235.
- [23] BULGAKOV N G, LEVITCH A P. The nitroge phosphorus ratio as a factor regulating phytoplankton community structure [J]. Arch Hydrobiology, 1999, 146(1): 3 - 22.
- [24] FUJIMOTOL N, SUDO R. Nutrient-limited growth of Microcystis aeruginosa and Phomzidium tenue and competition under various N/P supply ratios and temperatures [J]. Limnology & Oceanogr, 1997, 42(2): 250 - 256.
- [25] 沈颂东. 氮磷比对小球藻吸收作用的影响 [J]. 淡水渔业, 2003, 33(1): 23 - 25.
- [26] 姚波, 席北斗, 胡春明, 等. 缺磷胁迫后四尾栅藻在富磷环境中对磷的吸收动力学 [J]. 环境科学研究, 2010, 23(4): 420 - 425.
- [27] 李培培, 史文, 刘其根, 等. 千岛湖叶绿素 a 的时空分布及其与影响因子的相关分析 [J]. 湖泊科学, 2011, 23(4): 568 - 574.
- [28] 王飞儿, 吕唤春, 陈英旭, 等. 千岛湖叶绿素 a 浓度动态变化及其影响因素分析 [J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2004, 30(1): 22 - 26.
- [29] HABIB O A, TIPPETT R, MURPHY K J. Seasonal changes in phytoplankton community structure in relation to physico-chemical factors in Loch Lomond, Scotland [J]. Hydrobiologia, 1997, 350(1/3): 63 - 79.
- [30] HUTCHINS D A, BRULAND K W. Iron-limited diatom growth and Si: N uptake ratios in a coastal upwelling regime [J]. Nature, 1998, 393: 561 - 564.
- [31] 刘春光, 金相灿, 孙凌, 等. 城市小型人工湖围隔中生源要素和藻类的时空分布 [J]. 环境科学学报, 2004, 24(6): 1039 - 1045.
- [32] 刘其根. 千岛湖保水渔业及其对湖泊生态系统的影响 [D]. 上海: 华东师范大学, 2005.
- [33] 刘恩生. 鱼类与水环境间相互关系的研究回顾和设想 [J]. 水产学报, 2007, 31(3): 391 - 399.

Effect of nitrogen and phosphorus ratios on the growth of cyanobacteria and chlorophyta

LIU Lian¹, ZHOU Xiao-yu^{1,2}, ZHAO Liang-jie¹, LIU Qi-gen¹

(1. Key Laboratory of Freshwater Fishery Germplasm Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai 201306, China; 2. Nanjing Institute of Environment Science, Nanjing 210042, Jiangsu, China)

Abstract: Planktonic algae have the considerable periodicity in species composition and abundance, and this seasonal succession pattern is the important characteristic of algae fluctuations. The mechanisms by which environmental factors affect algae succession are complex. Besides, algae succession varies in lakes or reservoirs of different limnological features and trophic state. Although hypotheses of algae succession have been stated in some researches, there is uncertainty for specific lake and specific species. Based on planktonic algae succession in Qiandao Lake during 2009 – 2010, the effect of nitrogen and phosphorus ratios on the growth of cyanobacteria and chlorophyta under the laboratory conditions is studied in order to further verify the impact of nutrients on the succession pattern. The main results and conclusions are as follows: Under the laboratory conditions, we set five N/P ratio treating groups (N/P = 307.06, N/P = 153.53, N/P = 76.77, N/P = 15.35 and N/P = 3.84) based on the BG-11 cultures to explore the effects of different N/P ratio on blue-green algae (*Microcystis flos-aquae*, *Dactylococcopsis* sp.) and chlorophyta (*Chlorella* sp., *Scenedesmus quadricauda*) growth. The results indicated that the logistic model can well describe the growth of four kinds of algae. *Microcystis flos-aquae* grew better with the decrease of N/P ratio (the maximum biomass K and the specific growth rate r increased significantly). *Scenedesmus quadricauda* had the higher value of K and r with the increase of N/P ratio. *Dactylococcopsis* sp. favored the relative high N/P ratio cultures and the highest value of r at N/P = 15.35 group which was close to Redfield ratio. *Chlorella* sp. presented algal bloom in N/P = 15.35 and N/P = 3.84 groups. At the end of the experiment, the accumulated TN concentration of *Microcystis flos-aquae* was the significantly lower in N/P = 307.06 and N/P = 153.53 groups than that in others ($P < 0.05$), *Scenedesmus quadricauda* had the lower TN concentration per cell in N/P = 3.84 group than that in others ($P < 0.05$). TP concentration per cell in four kinds of algal body significantly increased with the decrease of N/P ratio ($P < 0.05$).

Key words: planktonic algae; Qiandao Lake; succession pattern; blue-green algae; chlorophyta; N/P ratio