

氮磷对微囊藻和栅藻生长及竞争的影响

万蕾¹, 朱伟^{1, 2}, 赵联芳^{1, 2}

(1. 河海大学环境科学与工程学院, 南京 210098; 2. 河海大学水文水资源与水利工程科学国家重点实验室, 南京 210098)

摘要: 为了揭示不同营养条件下, 藻类优势种的形成规律, 选取了 3 种具有代表性水体的营养盐浓度, 对于蓝藻水华的常见种铜绿微囊藻和绿藻水华的常见种四尾栅藻进行了竞争实验. 通过竞争抑制参数对相互间的竞争关系进行了分析. 结果表明, 在贫营养水平下, 栅藻的存在能够刺激微囊藻的生长, N/P 值越小, 刺激作用越明显, 微囊藻也能刺激栅藻的生长; 富营养水平下, 竞争抑制作用与 N/P 有关; 超富营养水平下, 栅藻对微囊藻的抑制能力约为微囊藻对栅藻的抑制能力的 3 倍, N/P 值的变化对竞争抑制作用的影响不明显. 在较低氮磷浓度的水体中, 微囊藻容易成为优势种, 而在较高的氮磷浓度的水体中, 四尾栅藻更容易成为优势种.

关键词: 氮磷; 铜绿微囊藻; 四尾栅藻; 竞争

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)06-1230-06

Effect of Nitrogen and Phosphorus on Growth and Competition of *M. aeruginosa* and *S. quadricauda*

WAN Lei¹, ZHU Wei^{1, 2}, ZHAO Lian-fang^{1, 2}

(1. College of Environmental Science and Engineering, Hohai University, Nanjing 210098, China; 2. State Key Laboratory of Hydrology-Water Resources and Hydraulic Engineering, Hohai University, Nanjing 210098, China)

Abstract: In order to disclosure the formation rule of predominant species in different nutrition conditions, three kinds of nutrition concentration were selected for the competition experiments with the common species of blue-green algae bloom *Microcystis aeruginosa* and the common species of green algae bloom *Scenedesmus quadricauda*. The competition relation was analysed by the competition parameters. The results indicate, in low nutrition, *Scenedesmus quadricauda* can stimulate the growth of *Microcystis aeruginosa* in mixed culture, the simulation becomes evident in low N/P ratio and *M. aeruginosa* can also stimulate the growth of *S. quadricauda*; in eutrophic condition, inhibition effect is connected with N/P; in hyper-eutrophic condition, the inhibition effect of *S. quadricauda* on *M. aeruginosa* is about three times as that of *M. aeruginosa* on *S. quadricauda*, and the effect of N/P ratio on competition inhibition parameters isn't evident. In low concentration N and P water, *M. aeruginosa* is easy to become predominant species, while in high concentration N and P water, *S. quadricauda* is easy to become predominant species.

Key words: N and P; *Microcystis aeruginosa* Kütz.; *Scenedesmus quadricauda*; competition

随着水体污染程度的加剧, 水华暴发越来越频繁, 对人类生产和生活带来了巨大的危害^[1]. 发生水华的水体形态从湖泊、水库到河流不同, 从七八十年代开始, 我国的一些大中型湖泊如江苏太湖、武汉东湖频频暴发水华^[2], 到了 90 年代, 长江支流汉江也开始暴发水华^[3]. 但是, 不同水体产生水华的优势种不同, 如湖泊蓝藻水华的优势种是微囊藻, 而汉江发生硅藻水华的优势种是小环藻^[3], 苏州河网地区常常发生绿藻水华. 调查研究发现, 水体中氮磷浓度不同可能是水体中浮游植物竞争产生优势种不同的原因之一. 研究不同氮磷浓度条件下浮游植物相互间的竞争关系, 对于确定不同水体浮游植物的优势种及解释水华暴发机理具有非常重要的意义.

关于水华暴发机理的研究, 对 N、P 浓度及 N/P 值与蓝藻尤其是微囊藻的生长关系的研究较多, 如赵孟绪等^[4]通过对影响蓝藻水华发生的主要因子进

行分析发现, 汤溪水库蓝藻的生长基本不受氮磷浓度的影响; 刘镇盛等^[5]认为磷是抚仙湖浮游植物生长的主要限制因子; Xie 等^[6]认为较低的 N/P 不是蓝藻水华发生的条件而是结果. 但关于藻类种间竞争关系的研究较少, Hyenstrand 等^[7]研究了栅藻和聚胞藻在不同的无机氮的供给方式下的生长竞争情况; 陈德辉等^[8]研究了在特定氮磷浓度下微囊藻和斜生栅藻的生长及竞争关系, 初步揭示了在多种藻类竞争条件下微囊藻水华形成的原因. 目前的研究没有涉及藻类的竞争结果与氮磷浓度的关系, 为了进一步明确不同营养水平下各种藻类在混生条件下, 优势种的形成机理, 必须对在不同氮磷浓度水平下浮

收稿日期: 2006-08-30; 修订日期: 2006-10-24
基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2003AA601070, 2003AA601100)
作者简介: 万蕾(1981~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为污染水体的生态修复技术及藻华暴发机理, E-mail: hjwanl@163.com

游植物的种间竞争关系进行系统的研究. 本实验选取了蓝藻水华常见的优势种铜绿微囊藻和绿藻水华常见的四尾栅藻, 进行不同营养条件下的竞争实验, 研究竞争条件下二者之间的相互影响, 揭示了在不同营养水平下优势种在与其它藻类共同生长过程中竞争取胜的机理.

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 购自中国科学院武汉水生生物研究所, 四尾栅藻 (*Scenedesmus quadricauda*) 分离自水华暴发期间的苏州苗家河表层水体, 两者均经室内扩大培养用于实验. 实验用培养基为微囊藻和栅藻均适宜的 BG11 培养基^[9], 在配制不同氮磷浓度时, 以培养基为基础, 改变了氮磷浓度及氮磷比.

1.2 方法

1.2.1 培养方法

培养采用国际标准的“瓶法”, 即采用 250 mL 锥形瓶, 每瓶加入 100 mL 培养液, 实验所用藻液经 15 mg/L 的 NaHCO₃ 离心洗涤^[10]. 为了使实验时培养基的营养水平保持相对恒定, 研究竞争关系时采用半连续培养的方法, 考虑藻类对环境的适应性和营养盐浓度的变化, 在实验前期每隔 2~3 d 离心更换培养液的 30% 左右, 上清液的藻类数量在总量的 2% 以内, 忽略不计. 实验在光照培养箱中进行, 培养温度 24℃ ± 1℃, 光暗比 12 h/12 h, 光强 2 500 ~ 3 000 lx, 每隔 2~4 h 手工摇晃 1 次, 并随机更换锥形瓶的位置. 每个实验设置了 2 个平行样.

1.2.2 现存量的计数方法

现存量的计数是从接种的次日起, 每天或隔天相同时间在显微镜下采用 0.1 mL 的生物计数框用视野法^[11]计数, 并按下式计算细胞数量.

$$N = \left[\frac{A}{A_c} \times \frac{1}{V_a} \right] n \tag{1}$$

式中, N 为每 mL 水样中的藻类数量 (cell/mL); A 为计数框面积 (mm²); A_c 为计数面积 (mm²); V_a 为计数框的体积 (mL); n 为计数所得藻类的数目.

1.2.3 竞争抑制参数的计算

(1) 生长曲线的拟合 以逻辑斯谛方程拟合藻类的增长过程. 首先进行参数估计, 每个处理组的最大生物量 ($X_{\max}$) 作为各自 K 的估计值. 应用逻辑斯谛方程的对数形式:

$$\ln[(K - N)/N] = a - rt \tag{2}$$

以最小二乘法进行回归分析, 获得该方程的斜率和截距作为 a 和 r 的估计值.

(2) 竞争抑制参数的计算 利用 Lotka-Volterra 的竞争模型的差分形式:

$$\begin{aligned} (N_{sn} - N_{sn-1}) / (t_n - t_{n-1}) = \\ r_s N_{sn-1} (K_s - N_{sn-1} - \alpha N_{mn-1}) / K_s \end{aligned} \tag{3}$$

$$\begin{aligned} (N_{mn} - N_{mn-1}) / (t_n - t_{n-1}) = \\ r_m N_{mn-1} (K_m - N_{mn-1} - \beta N_{sn-1}) / K_m \end{aligned} \tag{4}$$

式中, N_{sn} , N_{mn} 分别为共培养中栅藻和微囊藻在时间 t_n 时的数量 ($\times 10^4$ cell/mL); N_{sn-1} , N_{mn-1} 分别为共培养中栅藻和微囊藻在时间 t_{n-1} 时的数量 ($\times 10^4$ cell/mL); r_s , r_m 分别为栅藻和微囊藻的增长率 (由单种培养经回归计算获得); K_s , K_m 分别为栅藻和微囊藻的最大环境容量 (由单种培养获得); α , β 分别为共培养中微囊藻对栅藻和栅藻对微囊藻竞争抑制参数.

应用上述公式计算共培养藻类增长曲线在拐点以后的每一单位时间的所有竞争抑制参数, 取其平均值作为该种竞争抑制参数的估计值.

(3) 抑制起始点的确定 即藻类增长曲线的拐点, 为逻辑斯谛方程二阶导数等于零时的时间 t_p 值, 这时 $N = K/2$, $t_p = (a - \ln 2)/r$. 因为是差分形式, 故 t_p 对 $(a - \ln 2)/r$ 取整数.

1.3 营养水平的确定

为了研究微囊藻和栅藻在不同营养水平下的生长竞争情况, 必须确定几种有代表性的水体营养水平. 根据实地调查, 参考浙江的千岛湖、江苏的太湖以及苏州的城市河道苗家河 3 类水体的营养水平及实际水体和藻类适宜生长的 N/P 范围, 确定竞争实验采用的氮磷浓度见表 1.

表 1 实验采用的氮磷比及氮磷浓度/(mg·L ⁻¹)			
Table 1 Concentration of N and P and N/P ratio/(mg·L ⁻¹)			
N/P	贫营养	富营养	超富营养
10	N = 0.1, P = 0.01	N = 2, P = 0.2	N = 10, P = 1
15	N = 0.15, P = 0.01	N = 3, P = 0.2	N = 15, P = 1
20	N = 0.2, P = 0.01	N = 4, P = 0.2	N = 20, P = 1

2 结果与分析

2.1 贫营养水平下藻类的竞争

在贫营养水平下培养 10 d 左右后藻类的数量基本趋于稳定. 将这一时期内显微镜下计数得到的藻类数量随时间的变化结果整理为图 1. 从图 1 中可以看出, 在贫营养水平下, 随 N/P 值的增大, 单独培养微囊藻和栅藻的最大现存量都有所增加, 但微

囊藻的增加更为明显.在共同培养条件下,栅藻的最大现存量都比单独培养的有所增加,增加倍率在 0.6~1.6 之间不等.而微囊藻则根据不同 N/P 值条件,生长状况有一定的变化.

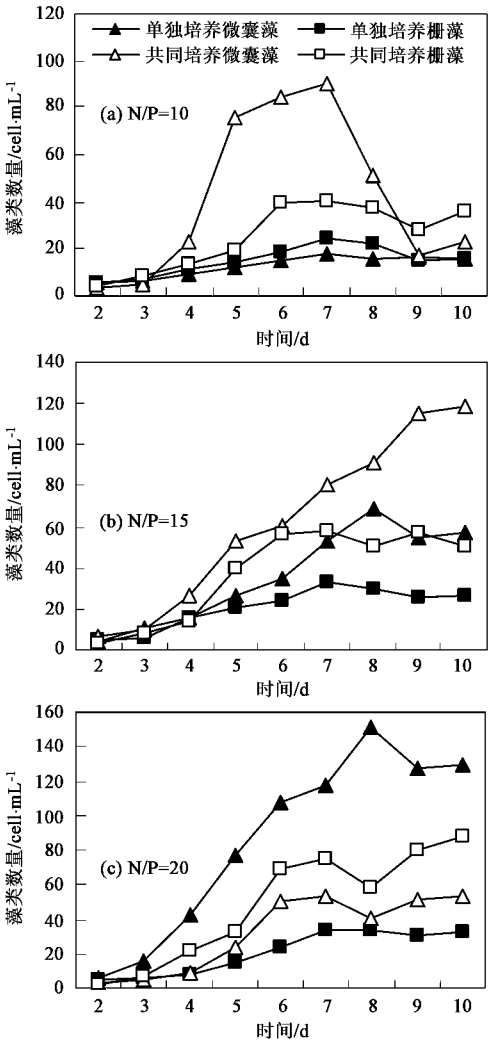


图 1 贫营养条件下栅藻和微囊藻的生长曲线
Fig.1 Growth curve of *M. aeruginosa* and *S. quadricauda* in low nutrition

在贫营养水平下,对栅藻和微囊藻的生长过程进行参数拟和并计算二者之间的竞争抑制参数,结果见图 2.图中 α 为微囊藻对栅藻的竞争抑制参数, β 为栅藻对微囊藻的竞争抑制参数.从图 2 中可以看出,微囊藻对栅藻的竞争抑制参数 α 均为负值,也就是说在贫营养条件下,微囊藻的存在不但不能抑制栅藻的生长反而刺激栅藻的生长,这种刺激作用随 N/P 值的增大而更加明显.从栅藻对微囊藻的竞争抑制参数 β 来看,当 N/P 值较小时,栅藻的存在也对微囊藻的生长起到了极大的刺激作用,随 N/P 值的

增大,刺激作用减小,当 N/P 值为 20 时,栅藻对微囊藻的生长产生了一定的抑制作用.

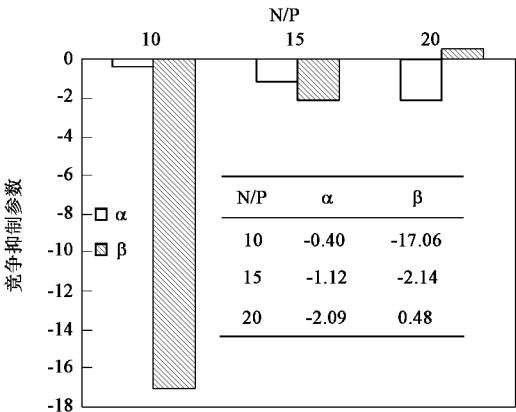


图 2 微囊藻和栅藻之间的竞争抑制参数(贫营养)
Fig.2 Competitive inhibition parameters of *M. aeruginosa* and *S. quadricauda* (in low nutrition)

2.2 富营养水平下的竞争

在富营养水平情况下,铜绿微囊藻和四尾栅藻虽在第 20 d 时生长基本趋于稳定,由于这一营养水平在我国污染水体中有较大的代表性,因此对竞争条件下的微囊藻和栅藻的生长情况延长了实验的时间,实验得到的微囊藻和栅藻生长曲线见图 3.从图 3 中可以看出,在富营养水平下,随 N/P 值的增大,单独培养微囊藻和栅藻的最大现存量都呈增加趋势,但变化并不明显.与单独培养相比,在存在竞争的共同培养条件下,微囊藻和栅藻的数量都有所减少,表现出互相抑制的作用.

在富营养水平下,对单独培养和共同培养中栅藻和微囊藻的生长过程(衰亡期之前)进行逻辑斯谛方程的参数估计,并计算竞争抑制参数(图 4).从图 4 中可以看出, α 和 β 值均随 N/P 值的增加而呈增加趋势,在低 N/P 为 10 时,无论是栅藻对微囊藻还是微囊藻对栅藻的抑制作用还不甚明显;但 N/P 为 15 时,抑制作用渐趋显著,两者的相互抑制作用强度相当;但当 N/P 值增加到 20 时,栅藻对微囊藻的竞争抑制参数是微囊藻对栅藻的近 4 倍.

2.3 超富营养水平下的竞争

在超富营养水平下,微囊藻和栅藻的生长情况见图 5.由于在试验进行到 14 d 时,微囊藻培养中出现杂藻,因此,实验周期定为 14 d.从图 5 中可以看出,当水体中氮磷的浓度较高时,单独培养的四尾栅藻的生长情况明显好于铜绿微囊藻.从实验期间的最大现存量(第 10 d 的数据)分析,单独培养微囊藻

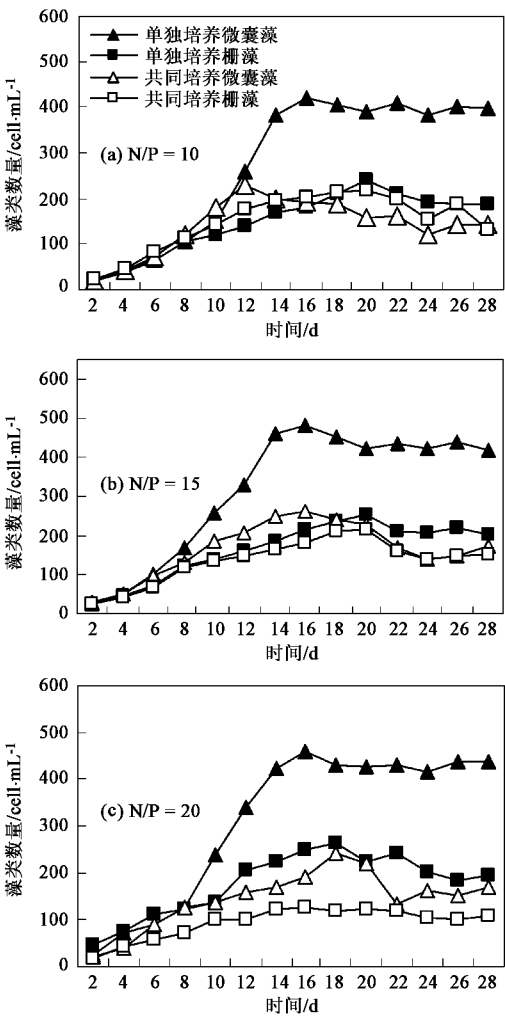


图3 富营养条件下微囊藻和栅藻生长曲线

Fig.3 Growth curve of *M. aeruginosa* and *S. quadricauda* in eutrophic condition

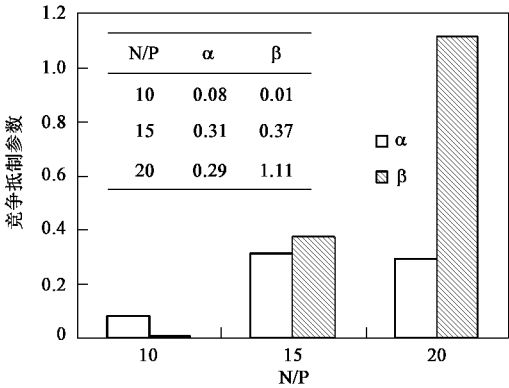


图4 微囊藻和栅藻之间的竞争抑制参数(富营养)

Fig.4 Competitive inhibition parameters of *M. aeruginosa* and *S. quadricauda* (in eutrophic condition)

在 N/P 值为 15 时的最大现存量最大,单独培养栅藻

的最大现存量变化不大.共同培养条件下,微囊藻的数量比单独培养大幅度减少.共同培养栅藻的数量也比单独培养栅藻的数量少,最大现存量减少的百分比从 27% ~ 44% 不等.

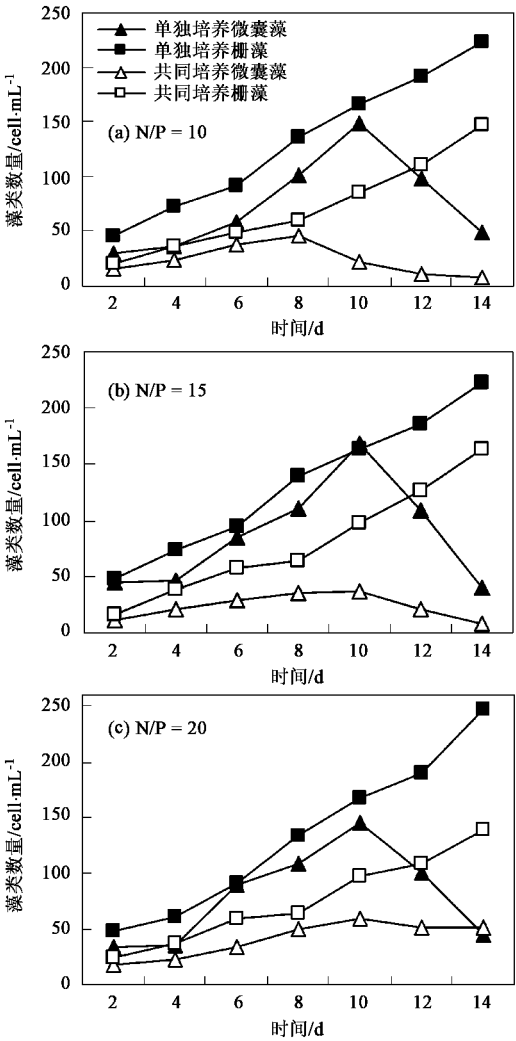


图5 超富营养条件下微囊藻和栅藻生长曲线

Fig.5 Growth curve of *M. aeruginosa* and *S. quadricauda* in hyper-eutrophic condition

在超富营养水平下,对单独培养和共同培养中栅藻和微囊藻的生长过程(第 10 d 之前)进行逻辑斯谛方程的参数估计并计算竞争抑制参数,结果见图 6.从图 6 中可以看出,在高浓度氮磷情况下,无论 N/P 值的大小,四尾栅藻对铜绿微囊藻的竞争抑制参数 β 明显大于铜绿微囊藻对四尾栅藻的抑制参数 α ,并且 α 和 β 均随 N/P 值的增大而减小.栅藻对微囊藻的抑制参数为微囊藻对栅藻的竞争抑制参数的 3 倍左右.

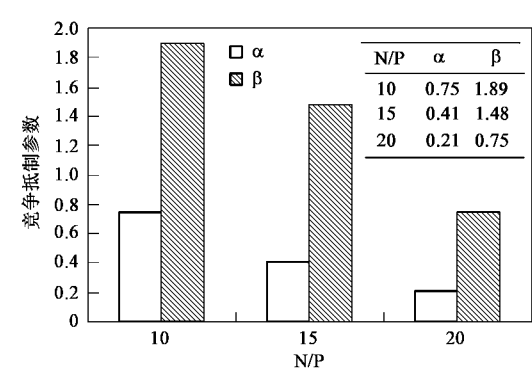


图6 微囊藻和栅藻之间的竞争抑制参数(超富营养)

Fig.6 Competitive inhibition parameters of *M. aeruginosa* and *S. quadricauda* (in hyper-eutrophic condition)

3 讨论

通常认为铜绿微囊藻适宜在较低 N/P 值的水体中生活,如果在氮和磷含量均较高的水体中,这一结论也应是正确的.但从实验结果看,在营养盐浓度较低的水体中,无论是氮还是磷只要有一种营养盐浓度较高,均会刺激铜绿微囊藻的生长.由于铜绿微囊藻对氮磷亲和力(半饱和常数)的不同,氮磷比对铜绿微囊藻生长的影响并不表现在一个确定值上,也不能用某一确定比例来衡量一个特定水环境中影响铜绿微囊藻生长的限制性营养元素,而应结合氮、磷浓度与氮磷比进行综合考察确定^[12].而四尾栅藻单独培养时的最大现存量均随 N/P 值的增大而增大.

在本研究确定的 3 种营养水平中,铜绿微囊藻最为适宜的是富营养水平,也就是 N 为 2~4 mg/L, P = 0.2 mg/L 的范围,这时它的最大现存量远远大于本次实验设定的贫营养水平和超富营养水平.同样,四尾栅藻也在富营养水平时出现了最大现存量.与铜绿微囊藻不同的是,在超富营养水平下四尾栅藻仍然保持了较高的现存量,与富营养水平的差异不是非常明显,也就是说,与铜绿微囊藻相比四尾栅藻更耐污一些.

从共同培养的实验结果可以看出,在富、超富营养条件下,铜绿微囊藻与四尾栅藻的最大现存数都低于单独培养实验得到的数值,说明了两者之间存在着明显的互相竞争和互相抑制.而在贫营养条件下,铜绿微囊藻与四尾栅藻的最大现存数却高于单独培养实验得到的数值.在实验中发现,在贫营养水平下形体较小的微囊藻可以寄生于四尾栅藻藻体内(见图 7).显微镜下的这种现象在贫营养水平下较为多见,而在富、超富营养水平下没有观察到.说明

在营养较少的条件下,有可能通过寄生、互相依存提高了营养的利用率.

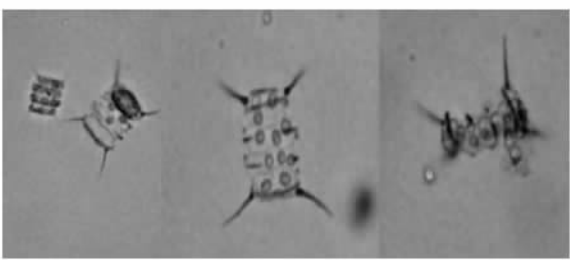


图7 微囊藻寄生于栅藻的照片

Fig.7 Photos of *M. aeruginosa* eroded *S. quadricauda*

在不同的富营养化水体中,水华的优势种有所不同.秦伯强^[2,13]指出,在富营养化之前,水体中以甲藻和绿藻居多,发生富营养化后,水体中蓝藻的数量急剧增多,但是在水体进一步污染,氮磷浓度进一步升高以后,原先具有竞争优势的蓝藻等会逐渐失去优势.根据本研究的实验结果,从机理上进一步明确了在竞争过程种优势种的形成机理,仅仅以栅藻和微囊藻而言,在较贫营养的条件下,易于发生微囊藻水华,而较富营养的条件下更易于发生栅藻水华.

4 结论

- (1)无论在单独培养条件下还是在共同培养条件下,富营养水平,也就是本实验所设定的 N 为 2~4 mg/L, P = 0.2 mg/L 的范围均适宜微囊藻和栅藻的生长.
- (2)在竞争条件下,铜绿微囊藻更适宜于中等偏低的营养水平,而四尾栅藻却适宜于中等偏高的营养水平,这也许是解释污染严重的水体更容易暴发绿藻水华的机理.
- (3)在大多数营养条件下,铜绿微囊藻与四尾栅藻表现出相互竞争、相互抑制的作用.但是在贫营养水平、N/P 值小的情况下,也会表现出互相促进的共生现象,这可能是由于微囊藻寄生提高了营养的利用效率.
- (4)在氮和磷浓度均较低的贫营养的水体中 N/P 值会对藻类的生长、繁殖产生明显的影响.一旦氮、磷浓度达到一定水平, N/P 值对藻类生长、繁殖的影响不再明显.

参考文献:

[1] 王扬才,陆开宏.蓝藻水华的危害及治理动态[J].水产学杂志,2004,17(1):90~94.

[2] 秦伯强.长江中下游浅水湖泊富营养化发生机制与控制途径初探[J].湖泊科学,2002,14(3):193~202.

[3] 卢大远,刘培刚,范天俞,等.汉江下游突发“水华”的调查研究[J].环境科学研究,2000,13(2):28~31.

[4] 赵孟绪,韩博平.汤溪水库蓝藻水华发生的影响因子分析[J].生态学报,2005,25(7):1554~1561.

[5] 刘镇盛,王春生,倪建宇,等.抚仙湖叶绿素 a 的生态分布特征[J].生态学报,2003,23(9):1773~1780.

[6] Xie L, Xie P, Li S, et al. The low TN: TP ratio, a cause or a result of Microcystis blooms? [J]. Water Res, 2003,37(9):2073~2080.

[7] Hyenstrand P, Burkert U, Pettersson A, et al. Competition between the green alga *Scenedesmus* and the cyanobacterium *Synechococcus* under different modes of inorganic nitrogen supply [J]. Hydrobiologia, 2000,435(9):91~98.

[8] 陈德辉,刘永定,袁峻峰,等.微囊藻和栅藻共培养试验及其竞争参数的计算[J].生态学报,1999,19(6):908~913.

[9] 胡小贞,马祖友,易文利,等.4 种不同培养基下铜绿微囊藻和四尾栅藻生长比较[J].环境科学研究,2004,17(增刊):55~57.

[10] 金相灿,屠清瑛.湖泊富营养化调查规范[M].北京:中国环境科学出版社,1990.239~285.

[11] 章宗涉,黄祥飞.淡水浮游生物研究方法[M].北京:科学出版社,1991.333~357.

[12] 陈德辉,刘永定,章宗涉,等.微囊藻栅藻资源竞争的动力学过程 I . 光能和磷营养的半饱和参数及其生长率动态[J].环境科学学报,2000,20(3):349~354.

[13] 秦伯强.太湖水环境面临的主要问题、研究动态与初步进展[J].湖泊科学,1998,10(4):1~9.