红色中缢虫赤潮衰亡过程中营养盐的循环和利用及对浮游植物种群组成的影响

张亚锋¹, 宋秀贤^{2†}, Paul J. HARRISON³, 刘胜⁴, 俞志明², 阙金军⁵, 钱培元⁶, 刘皓^{1‡}, 殷克东^{1*}

1. 中山大学海洋科学学院, 广州 510006;

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;

3. Department of Earth, Ocean & Atmospheric Sciences, University of British Columbia, Vancouver V6T 1Z4, Canada;

4. 中国科学院南海海洋研究所热带海洋环境动力学重点实验室, 广州 510301;

5. Microbiology Division, Stroud Water Research Center, Avondale, PA 19311, USA;

6. 香港科技大学生命科学部, 香港 999077

* 通讯作者, E-mail: yinkd@mail.sysu.edu.cn

† 通讯作者, E-mail: songxx@qdio.ac.cn

‡ 通讯作者, E-mail: liuhao53@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2018-06-14; 收修改稿日期: 2018-07-11; 接受日期: 2018-07-17; 网络版发表日期: 2018-09-10

国家自然科学基金项目(批准号: U1701247, 91328203, 50339040, 40025614)和广东省科技厅对外科技合作项目(编号: 2013B051000042)资助

摘要 高生物量赤潮频繁地发生在香港的半封闭海湾, 但这些海湾水体中的营养盐不足以支持如此高生物量的浮游植物生长. 这些高生物量赤潮在衰亡期会释放大量无机营养盐到环境水体. 我们假设这些来自赤潮衰亡释放的大量无机营养盐将加速其他种类浮游植物的生长, 进而影响浮游植物种群组成. 我们在香港的一个半封闭的海湾——牛尾海, 利用由红色中缢虫(*Mesodinium rubrum*)引发的一次赤潮事件来检验这一假设. 在赤潮发生水域, 水体中细胞密度的达到 $5.0 \times 10^5 \text{ cells L}^{-1}$, 叶绿素 a 高达 $63.71 \mu\text{g L}^{-1}$. 在赤潮和非赤潮水域, 水体中无机营养盐(硝酸盐: NO_3^- , 铵盐: NH_4^+ , 磷酸盐: PO_4^{3-} , 硅酸盐: SiO_4^{3-})的浓度均较低. 将营养盐添加到赤潮和非赤潮水体中, 进行为期9天的营养盐加富培养实验. 实验发现: 赤潮水体中, 无机营养盐的添加不能维持高细胞密度的红色中缢虫生长, 第1天后红色中缢虫细胞密度迅速下降; 非赤潮水体中, 无机营养盐的添加并不能促使红色中缢虫细胞密度达到赤潮水体中的密度. 这证实了营养盐并不是此次赤潮事件的形成或衰亡的主要驱动因素. 红色中缢虫赤潮在第1天衰亡后, 释放出了高浓度的 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 、 SiO_4^{3-} 、 NH_4^+ 和尿素. 细菌丰度和异养活性明显增加, 在第3天或第4天达到最高, 并随红色中缢虫细胞密度的下降而降低. 赤潮衰亡释放出来的营养盐刺激了诸如: 角毛藻变种(*Chaetoceros affinis* var.)、卷曲鱼腥藻(*circinalis*)、伏氏海毛藻(*Thalassiothrix frauenfeldii*)和菱形藻属(*Nitzschia* sp.)等硅藻生长, 这种刺激作用在添加 SiO_4^{3-} 的处理组中更明显; 同时也刺激其他藻种的生长. 这些结果表明, 海湾中的红色中缢虫赤潮不是直接由营养盐驱动引发的. 然而, 赤潮衰亡时释放的大量无机营养盐会引起寡营养环境水体中藻华的二次爆发, 进而影响浮游植物种群的组成.

中文引用格式: 张亚锋, 宋秀贤, Harrison P J, 刘胜, 俞志明, 阙金军, 钱培元, 刘皓, 殷克东. 2018. 红色中缢虫赤潮衰亡过程中营养盐的循环和利用及对浮游植物种群组成的影响. 中国科学: 地球科学, 48: 1606–1619, doi: 10.1360/N072018-00166

英文引用格式: Zhang Y, Song X, Harrison P J, Liu S, Yu Z, Kan J, Qian P, Liu H, Yin K. 2018. Regeneration and utilization of nutrients during collapse of a *Mesodinium rubrum* red tide and its influence on phytoplankton species composition. Science China Earth Sciences, 61: 1384–1396, <https://doi.org/10.1007/s11430-017-9233-x>

关键词 赤潮, 种群组成, 无机营养盐, 再循环, 红色中缢虫

1 引言

海洋中的红色中缢虫(*Mesodinium rubrum*)是香港海域的一种赤潮种. 这种纤毛虫含有共生的光合色素体, 经常在近岸水体中引发赤潮(Crawford等, 1997; Herfort等, 2012; Yih等, 2013). 红色中缢虫具有运动能力和趋光性, 因此可以在水体中垂直迁移并聚集在湍流较小、光线充足的表层和次表层水体(Fenchel和Hansen, 2006; Dierssen等, 2015; Jiang和Johnson, 2017), 表现出极高的初级生产速率(Crawford等, 1997; Yih等, 2013). 虽然红色中缢虫是无毒种类, 但其大规模的爆发、死亡会对海洋养殖和沿海海底生态系统造成潜在的危害(Gustafson等, 2000; Liu等, 2011; Yih等, 2013).

高生物量赤潮的衰亡及随后死亡细胞的分解可以在局部赤潮水域释放出大量的营养盐(Saba等, 2011). 例如, 香港海域中最常见的赤潮生物——夜光藻(*Noctiluca scintillans*)(Yin, 2003), 已被证实其体内含有高浓度的 NH_4^+ , 及其死亡后会释放出 NH_4^+ (Huang和Qi, 1997). 循环产生的营养盐可以迅速被其他浮游植物吸收利用, 进而改变局部海域的物种演替, 当然这种改变效应受赤潮发生的时空尺度影响. 然而, 赤潮衰亡对营养盐循环的影响和随后其他浮游植物对营养物质的利用很少被关注.

1983~2016年, 香港附近海域共发生了数百次赤潮, 其中包括经常发生的红色中缢虫赤潮(EPD, 2017). 牛尾海是香港东北部的一个半封闭海湾, 高生物量的赤潮经常发生在该水域一个等深的狭长型地带. 然而, 该水域水体中的营养盐浓度并不足以支持如此高生物量的赤潮(Yin等, 2008). 以往的研究表明, 甲藻的物理聚集和垂直迁移是推动这一海域赤潮形成的驱动机制(Yin等, 2008; Lai和Yin, 2014). 这些高生物量的赤潮消退很快. 因此, 我们假设高生物量赤潮衰亡所产生的循环营养盐会促进其他藻种的生长, 进而影响浮游植物种群组成.

为检验这一假设, 我们于2000年12月1日在牛尾海发生红色中缢虫赤潮期间, 收集了赤潮水域和赤潮外围水域的水样. 我们对自然水样和添加了营养盐水样

进行培养, 来调查赤潮水样中营养盐的释放量, 并研究释放的营养盐能否被其他浮游植物生长所利用.

2 材料与方法

2.1 采样

牛尾海是一个半封闭海湾, 位于香港东北部, 水深范围是4.8~22.8m, 其南端与南海北部相通. 冬季主要受南海海水影响, 水质较好. 在2000年11月30日, 牛尾海发生红色中缢虫赤潮, 我们在2000年12月1日进行了为期一天的航次, 以调查整个海湾的营养状况(图1). 我们利用YSI®6600调查了水柱的盐度和温度分布. 在P5和P6之间收集了赤潮水样. 将采集到的100mL赤潮水样和其他站位500mL非赤潮水样分别通过Whatman GF/F滤膜(25mm)过滤, 以收集不同水体中的叶绿素 a (chl a), 过滤后滤膜在 -20°C 黑暗条件下保存. 收集过滤后水样, 贮存在 -20°C 条件下, 于两周内在实验室中使用营养盐分析仪测量营养盐. 分别在赤潮水域和赤潮水域1km外采集表层水样到20L培养瓶中, 带回实验室进行营养盐加富培养实验. 采样用的所有容器均用10% HCL浸泡并用纯水充分清洗.

2.2 营养盐加富实验

在赤潮和非赤潮水样中添加的营养盐包括 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 、 SiO_4^{3-} 、微量元素和维生素. 实验共设9个处理组: 对照组(不添加任何营养盐)和8个添加不同营养盐的处理组. $+\text{N}(+\text{NO}_3^-)$ 、 $+\text{P}(+\text{PO}_4^{3-})$ 、 $+\text{Si}(+\text{SiO}_4^{3-})$ 、 $+\text{NP}(+\text{NO}_3^- + \text{PO}_4^{3-})$ 、 $+\text{NSi}(+\text{NO}_3^- + \text{SiO}_4^{3-})$ 、 $+\text{PSi}(+\text{PO}_4^{3-} + \text{SiO}_4^{3-})$ 、 $+\text{NPSi}(+\text{NO}_3^- + \text{PO}_4^{3-} + \text{SiO}_4^{3-})$ 、 $+\text{全部}(+\text{NO}_3^- + \text{PO}_4^{3-} + \text{SiO}_4^{3-} + \text{微量元素} + \text{维生素})$. 所添加的 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 和 SiO_4^{3-} 的终浓度为 $150\sim 200\mu\text{mol L}^{-1}$. 每个处理组设2个平行样, 将装满水样的2L Nalgene聚碳酸酯培养瓶放置在屋顶用自来水水浴控温的水槽中培养9天(培养温度与海表水体温度相似), 水槽用一层遮光网覆盖以减少约50%的环境光. 使用Turner Designs荧光计每日测量活体荧光值. 在培养期间, 每日

图1 牛尾海研究海域和采样站位示意

进行叶绿素 a 、营养盐、浮游植物物种、细菌丰度和生产力等参数采集。

2.3 样品分析

利用营养盐自动分析仪(Skalar San Plus)(Slawyk和Macisaac, 1972)测定硝酸盐(包含亚硝酸盐)、铵、磷酸盐和硅酸盐浓度, 并基于改进的方法(Price和Harison, 1987)进行尿素浓度测定。将叶绿素 a 滤膜放入10ml的90%丙酮, 在黑暗冰水中超声振荡15min, 然后置于 -4°C 黑暗条件下萃取24h, 使用Turner Designs荧光光度计进行分析(Knap等, 1996)。

细菌丰度的测量使用DAPI计数法。用荧光显微镜对甲醛固定的样品进行计数(Porter和Feig, 1980)。利用 ^3H -[甲基]-胸腺嘧啶核苷酸吸收法(Amersham 85 Ci mmol^{-1})估计细菌生产力(Fuhrman和Azam, 1982)。将20mL样品加入到干净的1mL离心管中, 加入 ^3H -[甲基]-胸腺嘧啶核苷酸后置于黑暗原位温度下, 通过加入甲醛和三氯乙酸终止反应。沉淀后的样本通过 $0.2\mu\text{m}$ 硝酸纤维素滤膜过滤。滤膜按顺序用冰的5%三氯乙酸、冰的80%乙醇依次冲洗三遍(Knap等, 1996)。用细菌生产力除以细菌丰度, 计算单个细胞的胸腺嘧啶核苷酸吸收速率(细菌比生长速率)。

2.4 计算

在相同培养时间内, 利用营养盐和红色中缢虫细

胞密度的变化, 定量计算单位细胞的红色中缢虫营养盐的摄取或释放浓度(Upt_x 或 Rel_x):

$$\text{Upt}_x \text{ 或 } \text{Rel}_x = (X_t - X_0) / (C_t - C_0), \quad (1)$$

式中, X_0 和 X_t 分别为培养开始和结束时的营养盐浓度; C_0 和 C_t 分别为开始和结束时的红色中缢虫细胞密度。本研究计算了红色中缢虫在生长和死亡过程中 NO_3^- 的摄取以及 NH_4^+ 和尿素的释放。

根据细菌细胞的元素组成, 计算细菌吸收氮的浓度。细菌细胞内C:N比率在3.8~9.5:1(Vrede等, 2002)。Chrzanowski和Kyle(1996)计算的值为7.6:1, 而且该比值在细菌不同生长率或不同培养基条件下变化不大。Fukuda等(1998)测量了沿海细菌细胞C:N比为 (5.9 ± 1.1) 。在本研究中, 我们使用7C:1N作为细菌C:N比和20fg作为细菌细胞的碳含量, 以计算在第2天和第4天被细菌吸收的氮浓度。

3 结果

3.1 赤潮和非赤潮水体营养盐

在2000年12月1日, 牛尾海表层盐度和温度呈轻微的水平梯度, 盐度范围为31.17~32.08, 温度范围为22.16~22.83 $^{\circ}\text{C}$ (数据未显示)。赤潮水体中叶绿素 a 达到63.71 $\mu\text{g L}^{-1}$, 且>80%的叶绿素 a 是>5 μm 的粒级; 红色中缢虫的细胞密度高达 $5.0 \times 10^5 \text{ cells L}^{-1}$ 。而非赤潮水

体中表层叶绿素 a 要低得多($<1.80\mu\text{g L}^{-1}$)(表1). 非赤潮水体中 NO_3^- (包括 NO_2^-)浓度范围为 $4.10\sim6.91\mu\text{mol L}^{-1}$, 远高于赤潮水体的 $0.58\mu\text{mol L}^{-1}$ (表1). 非赤潮水体中 NH_4^+ 、 PO_4^{3-} 和 SiO_4^{3-} 浓度分别为 $1.12\sim1.51$ 、 $0.45\sim0.76$ 和 $20.61\sim23.84\mu\text{mol L}^{-1}$, 同样分别高于赤潮水体中的 1.10 、 0.4 和 $20.60\mu\text{mol L}^{-1}$. 而非赤潮水体中尿素浓度范围为 $0.20\sim0.24\mu\text{mol L}^{-1}$, 显著高于非赤潮水体的 $0.46\mu\text{mol L}^{-1}$. 另外, 非赤潮水体的 $(\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-+\text{NH}_4^+)/\text{PO}_4^{3-}$ (N/P)比值和 $(\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-+\text{NH}_4^+)/\text{SiO}_4^{3-}$ (N/Si)比值范围分别为 $9.8\sim15.5:1$, $0.3\sim0.4:1$, 均高于赤潮水体中的 $4.8:1$, $<0.1:1$ (表1).

3.2 营养盐加富实验中浮游植物生物量

在营养盐加富实验中, 赤潮水样中红色中缢虫的细胞密度在第1天增加但随后开始下降, 到第5天时几

乎全部消失. 这种变化模式同样出现在非赤潮水样的培养过程中, 但其细胞密度较低(图2). 由于红色中缢虫在浮游植物群落中占主导地位, 因此赤潮水样的活体荧光值随红色中缢虫(细胞密度)增长而变化, 但在非赤潮水样中并非如此(图3). 在赤潮水样中, 活体荧光值在培养第3天开始降低, 并在第4天达到最低值, 之后开始增加. 在赤潮水样+NSi、+NPSi和+全部的处理组中活体荧光值增加最多, 可能主要因为硅藻和其他浮游植物的增加(图4). 例如, 第6天时, 在赤潮水样+S处理组中硅藻细胞密度大于 $1.5\times10^4\text{cells mL}^{-1}$. 相比之下, 在非赤潮水样中, 活体荧光值在+N的处理组中有增加(图3), 表明浮游植物的生长面临着潜在的N限制. 这与初始环境水体中低N/P和N/Si比值相符合. 增加的主要藻类是: 角毛藻变种(*Chaetoceros affinis* var.)、卷曲鱼腥藻(*circinalis*)、伏氏海毛藻(*Thalassiothrix frauenfeldii*)和菱形藻属(*Nitzschia* sp.).

表 1 赤潮与非赤潮表层水体中无机营养盐($\mu\text{mol L}^{-1}$)和叶绿素 a ($\mu\text{g L}^{-1}$)以及 $(\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-+\text{NH}_4^+)/\text{PO}_4^{3-}$ (N/P)比值和 $(\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-+\text{NH}_4^+)/\text{SiO}_4^{3-}$ (N/Si)比值的对比

位置	叶绿素 a	$\text{NO}_3^-+\text{NO}_2^-$	NH_4^+	PO_4^{3-}	SiO_4^{3-}	尿素	N/P	N/Si
非赤潮水体	<1.82	$4.10\sim6.91$	$1.12\sim1.51$	$0.45\sim0.76$	$20.61\sim23.84$	$0.20\sim0.24$	$9.8\sim15.5:1$	$0.3\sim0.4:1$
赤潮水体	63.71	0.58	1.10	0.45	20.60	0.46	$4.8:1$	$0.1:1$

图 2 培养实验过程中红色中缢虫细胞密度在不同处理组中随时间的变化

图3 培养实验过程中活体荧光值在不同处理组中随时间的变化

图4 培养实验过程中硅藻细胞密度在不同处理组中随时间的变化

3.3 培养实验期间营养盐的时间变化

3.3.1 NH_4^+ 、尿素和 NO_3^- 的释放和吸收

营养盐加富实验阐明了赤潮水样中营养盐再循环和吸收的动态过程. 在所有处理组中, NH_4^+ 的最初浓度约为 $1\mu\text{mol L}^{-1}$, 在培养过程中迅速增加, 第4~6天达到

最大值(图5). 其中在对照组和不添加N的处理组中, 第4天 NH_4^+ 浓度增加到约 $30\mu\text{mol L}^{-1}$. 然而, 在添加N的处理中, NH_4^+ 浓度增加到约 $60\mu\text{mol L}^{-1}$. 4~6天后, 所有培养组中 NH_4^+ 浓度均下降, 添加Si的处理组中 NH_4^+ 浓度降至 $<3\mu\text{mol L}^{-1}$, 没添加Si的处理组中 NH_4^+ 浓度

图 5 培养实验过程中 NH_4^+ 浓度在不同处理组中随时间的变化

$>20\mu\text{mol L}^{-1}$ (图5). 培养前4天内, 尿素浓度的变化与 NH_4^+ 浓度的变化非常相似, 在没有添加N的处理组中, 尿素浓度从 <0.5 增加到 $3\sim4\mu\text{mol L}^{-1}$, 在添加N的处理组中增加到 $6\sim8\mu\text{mol L}^{-1}$ (图6). 在没有添加N的处理组中尿素浓度减少, 但在添加了N的处理中尿素浓度仅略微减少(图6). 相比之下, 非赤潮水样中 NH_4^+ 浓度要低得多, 并且在培养期间浓度变化很小(图5); 尿素浓度的变化类似(图6).

在赤潮水样中, NO_3^- 浓度在第1天从约 $150\mu\text{mol L}^{-1}$ 下降至约 $110\mu\text{mol L}^{-1}$, 随后在+N、+NP和+NSi处理组中保持在约 $110\mu\text{mol L}^{-1}$, 但+NPSi和+全部的处理组中, 在培养后期进一步下降至约 $80\mu\text{mol L}^{-1}$ (图7). 另一方面, 对照组和没有添加N的处理组中 NO_3^- 初始浓度较低, 为 $2.5\mu\text{mol L}^{-1}$ (图7). 在非赤潮水样+N、+NP和+NSi处理组中, NO_3^- 浓度在前4天从约 $150\mu\text{mol L}^{-1}$ 下降至约 $120\mu\text{mol L}^{-1}$, 并在之后培养中保持不变; 但在+NPSi和+全部的处理组, NO_3^- 浓度持续下降至约 $85\mu\text{mol L}^{-1}$ (图7).

在赤潮水样培养前4天内, 红色中缢虫是浮游植物群落的优势种. 因此, 我们可以用红色中缢虫的细胞密度作为赤潮阶段的指示. 我们采用两种定量方法比较

红色中缢虫生长和死亡期间的 NH_4^+ 和尿素的变化, 以此来计算红色中缢虫生长和死亡期间每个细胞对 NO_3^- 的摄取量($\text{Upt}_{(\text{NO}_3^-)}$)与其自身 NH_4^+ 和尿素的释放量($\text{Rel}_{(\text{NH}_4^+ + \text{urea})}$)(表2). 在红色中缢虫生长期, +N的处理组中 $\text{Upt}_{(\text{NO}_3^-)}$ 和 $\text{Rel}_{(\text{NH}_4^+ + \text{urea})}$ 明显高于没添加N的处理组. 然而在红色中缢虫死亡期间, 赤潮水样+N和没添加N的处理组中 $\text{Upt}_{(\text{NO}_3^-)}$ 和 $\text{Rel}_{(\text{NH}_4^+ + \text{urea})}$ 的差异均要小得多. 这些变化表明, 不同营养物质条件下, 红色中缢虫细胞对 NO_3^- 的摄取量随营养物质水平而变化, 但每个细胞 NH_4^+ 和尿素的释放量相似.

3.3.2 培养期间 SiO_4^{3-} 和 PO_4^{3-} 的摄取量

在赤潮水样中, SiO_4^{3-} 初始浓度约为 $20\mu\text{mol L}^{-1}$, 培养结束时对照组和不添加Si的处理组中 SiO_4^{3-} 浓度几乎为0(图8). 在所有+Si的处理组中, 前6天都消耗了相近量的 SiO_4^{3-} , 在6天后 SiO_4^{3-} 浓度迅速降低; 在培养结束时, +N的处理组的 SiO_4^{3-} 浓度低于不添加N的处理组(图8). 非赤潮水样中不添加Si处理组中的 SiO_4^{3-} 浓度比对应的赤潮水样处理组中的 SiO_4^{3-} 浓度下降得更快, 并

图6 培养实验过程中尿素浓度在不同处理组中随时间的变化

图7 培养实验过程中 NO_3^- 浓度在不同处理组中随时间的变化

且能在前4天降低到接近0. 同时+NSi的处理组中 SiO_4^{3-} 的减小比+Si和+PSi的处理组中快, 即N的添加可以增加 SiO_4^{3-} 的吸收(图8). 在非赤潮水样中, +NSi、+NPSi和+全部的处理组中 SiO_4^{3-} 浓度消失的时间早于赤潮

水样.

在赤潮水样的对照组和3个不添加P的处理组中, PO_4^{3-} 浓度呈波动状态, 其中 PO_4^{3-} 浓度在第1天增加, 随后减小, 然后在第4天再次增加. 相反, 在非赤潮水样的

表 2 营养盐加富实验过程中赤潮水样中红色中缢虫细胞的密度变化^{a)}

培养处理组	Upt _(NO₃⁻)	Rel _(NH₄⁺+urea)	
	生长	生长	死亡
对照组	0.17	0.99	5.99
+P	0.27	4.35	2.86
+Si	0.69	1.19	6.48
+PSi	2.42	5.28	6.06
+N	18.25	5.32	9.57
+NP	61.19	23.61	7.97
+NSi	93.87	52.34	12.84
+NPSi	40.04	29.85	4.15
+全部	52.83	33.09	5.97

a) 计算了红色中缢虫在生长和死亡期间, 每个细胞NO₃⁻的摄取量Upt_(NO₃⁻)与NH₄⁺和尿素的释放量Rel_(NH₄⁺+urea)($\times 0.1 \text{ nmol Cell}^{-1}$). 注意, NO₃⁻包括NO₃⁻和NO₂⁻. 赤潮水样中红色中缢虫细胞密度在第1~2天增加, 然后在第2~4天下降

4个对应平行处理组中PO₄³⁻浓度逐渐减小并在第4天消失(图9). 在赤潮和非赤潮水样培养过程中, PO₄³⁻浓度均下降, 并且添加P的对应平行处理组中, 下降趋势相似(图9).

3.4 细菌丰度和生产力

在赤潮水样对照组中, 细菌的初始丰度较低($< 2.0 \times 10^6 \text{ cells L}^{-1}$), 然后在第3天升高并在第4天达到最大值($2.2 \times 10^7 \text{ cells L}^{-1}$), 随后开始下降到初始水平. 在其他所有处理组中, 细菌丰度随时间的变化表现出与对照组相似的模式(图10). 在非赤潮水样中, 细菌初始丰度与赤潮水样相似, 培养开始后一直下降直到第4天. 在第5天, +NSi、+NPSi和+全部的处理组中细菌丰度增加, 但没有添加N的处理组中不增加(图10). 细菌生产力随时间的变化与细菌丰度相似, 赤潮水样所有处理组在第3天或第4天达到最大值, 但在非赤潮水样+NSi、+NPSi和+全部的处理组中没有出现峰值(图11).

4 讨论

4.1 营养盐与浮游植物生物量

赤潮, 表现为有颜色的水体, 通常被称为高生物量的藻华. 一般来说, 营养富集是造成赤潮越来越频发的原因(Anderson等, 2002; Glibert等, 2005). 然而, 在赤潮频发地之一的牛尾海, 无机营养盐含量较低且10年间月平均叶绿素a浓度小于 4 mg L^{-1} (Yin, 2003; Yin等, 2008). 本研究中, 赤潮水体的叶绿素a和红色中缢虫细

图 8 培养实验过程中SiO₄³⁻浓度在不同处理组中随时间的变化

图9 培养实验过程中 PO_4^{3-} 浓度在不同处理组中随时间的变化

图10 培养实验过程中细菌丰度在不同处理组中随时间的变化

胞密度远高于当地环境营养物质可以支持的程度。此外, 营养盐加富实验表明, 无机营养盐添加到含有低浓度红色中缢虫的非赤潮水样中, 红色中缢虫细胞密度并不会增加到与赤潮水样中的一样高, 这表明营养盐不是此次赤潮爆发的主要驱动因素。之前的研究还

表明, 该水域中甲藻(*Scrippsiella trochoidea*)赤潮的起始、维持和消退并不直接受营养盐变化的驱动(Yin等, 2008), 以及后续利用高分辨率河口环流模型的研究表明, 物理聚合(风和潮汐造成汇聚)和甲藻的垂直迁移促进了这个低营养盐地区赤潮的形成(Lai和Yin,

图 11 培养实验过程中细菌生产力在不同处理组中随时间的变化

2014). 红色中缢虫赤潮的形成机制可能与甲藻赤潮相同。

基于之前的研究, 红色中缢虫含有能够实现高光合作用速率并吸收无机营养盐的共生藻类(Yih等, 2004; Myung等, 2013; Tong等, 2015). 在本研究中, 赤潮水样中的无机营养盐含量低于非赤潮水样, 表明聚集的红色中缢虫主动地消耗了营养盐。

4.2 赤潮与营养盐再利用

浮游植物光合作用过程中可以利用 NO_3^- 并释放出 NH_4^+ . 硅藻可能减少对 NO_3^- 吸收并释放诸如: NO_2^- 、 NH_4^+ 或者溶解有机氮等含氮底物, 作为当能量超过其生物合成需求时散耗光能的保护机制(Lomas和Glibert, 1999; Raven, 2011). 之前的研究表明, 在富含 NO_3^- 的环境中藻类摄取的80~90% NO_3^- 可以被还原为 NO_2^- 或 NH_4^+ , 并随后释放(Lomas等, 2000; Glibert等, 2016). 此外, 营养物质在混营生物体内的同化比无机氮离子的同化作用要复杂得多(Mitra和Flynn, 2010; Flynn等, 2013; Glibert等, 2016). 其进食和消化的动力学以及相当多的代谢物循环, 都涉及许多N-同化酶, 包括脲酶、水解酶、肽酶和氨基转移酶(Dagenais-

Bellefeuille和Morse, 2013). 在本研究赤潮水样添加N的处理组中, 红色中缢虫第1天就吸收了 $39\sim 50\mu\text{mol L}^{-1}$ 的 NO_3^- , 意味着同时释放了很多的 NH_4^+ (图5)和尿素(图6). 另外, 高生物量赤潮衰亡时, 有机物分解会释放 NH_4^+ 和尿素(Bratbak等, 1996; Buchan等, 2014). 因此, 红色中缢虫的生长和消亡均会导致 NH_4^+ 和尿素的浓度发生变化. 在本研究中, 红色中缢虫单个细胞 NO_3^- 的摄取量随营养盐的不同而改变, 但在不同营养条件下, 红色中缢虫单个细胞 NH_4^+ 和尿素的释放量相似(表2). 此外, 在添加N的处理组中, 红色中缢虫生长期间摄取的 $(52\pm 16)\%\text{NO}_3^-$ 会释放回水中(表2). 但由于两个原因, 这种摄入量可能会被低估: 首先, NO_3^- 的测量包含 NO_2^- ; 其次, 其他数量级较小的浮游植物物种光合作用过程中消耗红色中缢虫死亡时释放的N. 另外, 当我们计算红色中缢虫氮的吸收量时, 忽略了细菌生长对氮浓度的影响. 事实上, 细菌细胞同化的氮的最大浓度在第2天和第4天, 分别为约 1.2×10^{-3} 和 $6.0\times 10^{-3}\mu\text{mol L}^{-1}$, 远低于红色中缢虫和其他浮游植物吸收的最大浓度(小于1%). 在红色中缢虫的生长和死亡过程中, 在前5天内赤潮水样内细菌比生长速率下降(表3). 营养盐是调节细菌比生长率的控制因素

表 3 营养盐加富实验中赤潮水样中的细菌丰度和生产力的变化^{a)}

培养处理组	细菌比生长率		
	第1天	第2天	第4天
对照组	0.46	0.31	0.07
+P	0.17	0.10	0.06
+Si	0.21	0.10	0.93
+PSi	0.27	0.10	0.06
+N	0.27	0.24	0.09
+NP	0.09	0.05	0.10
+NSi	0.23	0.08	0.07
+NPSi	0.12	0.10	0.07
+全部	0.15	0.13	0.05

a) 比较了第1、2和4天的细菌特异生长率($\times 10^{-22}$ mol thymidine cell⁻¹ h⁻¹)。赤潮水样中的细菌丰度和生产力在第1天和第2天缓慢增加, 从第2天到第4天迅速增加

(Shiah和Ducklow, 1994; Adams等, 2010; Sinsabaugh和Shah, 2010), 因此, 不同的处理组中细菌比生长速率不同。与对照组相比, 营养盐加富处理组中细菌比生长速率在前2天内相对较低, 但在第4天两者相似, 表明营养加富没有促进, 反而抑制了细菌比生长速率。之前的研究证明, NH_4^+ 会限制细菌生长(Shiah和Ducklow, 1994)。在本研究中, 在所有处理组的前5天内, NH_4^+ 浓度均增加了。此外, 对照组中 NH_4^+ 浓度在前2天非常低, 而在第4天显著升高, 而在其他处理组中的 NH_4^+ 浓度则一直相对较高(图5)。因此, 由于 NH_4^+ 浓度不同造成的抑制作用差异, 可能是造成不同处理组中细菌比生长速率不同的原因。

4.3 浮游生物种群演替

在营养盐加富实验的第6~9天, 活体荧光值(图3)和硅藻丰度(图4)的增加表明赤潮水样中出现二次硅藻藻华, 这与培养过程中 SiO_4^{3-} 的显著降低一致(图8)。在非赤潮水样中同样出现了硅藻藻华, 不过其发生时间更早(在第3天)。赤潮水样中的硅藻藻华比非赤潮水样出现得晚, 这一时间滞后可能是由于红色中缢虫对硅藻的影响而引起的。但确切的影响机制需要进一步的研究。纤毛虫摄食对硅藻藻华产生影响是可能的, 同时赤潮衰亡所释放出的高浓度 NH_4^+ 也可能对硅藻的

生长产生抑制作用。由于细胞吸收 NH_4^+ 所需能量较低, 因此 NH_4^+ 是浮游植物最喜欢摄取的N形式(Mccarthy和Goldman, 1979; Raven, 1991)。Glibert等(2016)最近在回顾经典生理学文献和N限制的相关研究时, 发现这种对 NH_4^+ 的偏好随处可见。然而, 越来越多的研究证实了 NH_4^+ 对 NO_3^- 吸收和同化的抑制作用, 尽管 NH_4^+ 的抑制浓度范围为 $0.1\sim 10\mu\text{mol L}^{-1}$ (Wilkerson等, 2006; Dugdale等, 2007; Parker等, 2012; Glibert等, 2014)。硅藻很可能是喜好 NO_3^- 策略者, 在 NO_3^- 丰富的环境下更易生存(Lomas和Glibert, 1999; Donald等, 2011, 2013), 因此, 高浓度的 NH_4^+ 可能抑制赤潮水样中硅藻的生长。这些因素可能导致了赤潮水样中硅藻藻华的爆发。

赤潮水样+NPSi和+全部的处理组中, 高活体荧光值和低硅藻丰度表明其他浮游植物物种的生长被刺激。它们可能是喜爱 NH_4^+ 和尿素的甲藻或蓝藻(Glibert, 1997; Donald等, 2013; Glibert等, 2016), 这一推测与这些处理组中第9天时 NH_4^+ (图5)和尿素(图6)浓度显著减少相符合。此外, 虽然营养盐加富促进了浮游植物的生长, 特别是在初始浮游植物浓度较低的非赤潮水样, 但其优势种可能有所不同。在本研究中, 只有 NO_3^- 作为氮源引入, 由于不同的浮游植物有不同的N形式选择策略, 这也可能影响了浮游植物的物种组成。

在赤潮与非赤潮水体中都存在细菌和浮游植物的竞争机制。随着浮游植物的生长, 细菌的丰度和生产力都会减小, 但细菌的异养活动在浮游植物生长的高峰和下降期间都有所增加(图2和11)。赤潮衰亡时释放的有机物可以被细菌分解和再矿化成为无机营养盐, 为二次藻华提供养分(图12)。因此, 细菌在寡营养环境水体的营养盐循环中起着重要作用。如示意图(图12)所示, 此次发生在牛尾海陆坡辐合区红色中缢虫赤潮事件是由于红色中缢虫聚集而发生, 其发生区域与寡营养环境条件区域相一致; 赤潮衰亡时释放的有机物被细菌分解成为无机营养盐(N、P和Si), 从而促进二次藻华爆发。从赤潮中释放出来的N主要是 NH_4^+ , 其可以根据浮游植物对不同N形态的偏好调节浮游植物种类组成。本研究清楚地展示了高生物量赤潮是如何在营养限制的水体中发生, 以及再生的营养盐如何影响浮游植物种群的组成。

图 12 赤潮衰亡过程中营养盐再循环和利用示意图

5 结论

利用寡营养水体中红色中缢虫赤潮水样的营养加富培养实验,证实了寡营养环境水体的赤潮衰亡会释放大量无机营养盐,并刺激其他浮游植物生长,从而影响浮游植物种群组成的假设。由于牛尾海的N:P比值小于16:1,浮游植物的生长可能受N限制。由于浮游植物物种对不同N形态的偏好不同,而从赤潮衰亡释放的N以 NH_4^+ 为主,因此这个过程可以调节浮游植物种群组成。这一发现暗示着:大规模的赤潮事件可能会重新分配局部水域的营养盐并影响沿海大面积海域的浮游植物种群组成。

致谢 感谢Sam Cheung和Mandy Tsoi在实地取样和培养实验过程中提供的帮助。

参考文献

Adams H E, Crump B C, Kling G W. 2010. Temperature controls on aquatic bacterial production and community dynamics in arctic

- lakes and streams. *Environ Microbiol*, 12: 1319–1333
- Anderson D M, Glibert P M, Burkholder J M. 2002. Harmful algal blooms and eutrophication: Nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries*, 25: 704–726
- Bratbak G, Wilson W H, Heldal M. 1996. Viral control of *Emiliania huxleyi* blooms? *J Mar Syst*, 9: 75–81
- Buchan A, LeClerc G R, Gulvik C A, González J M. 2014. Master recyclers: Features and functions of bacteria associated with phytoplankton blooms. *Nat Rev Microbiol*, 12: 686–698
- Chrzanowski T, Kyle M. 1996. Ratios of carbon, nitrogen and phosphorus in *Pseudomonas fluorescens* as a model for bacterial element ratios and nutrient regeneration. *Aquat Microb Ecol*, 10: 115–122
- Crawford D W, Purdie D A, Lockwood A P M, Weissman P. 1997. Recurrent red-tides in the southampton water estuary caused by the phototrophic ciliate *Mesodinium rubrum*. *Estuar Coast Shelf Sci*, 45: 799–812
- Dagenais-Bellefeuille S, Morse D. 2013. Putting the N in dinoflagellates. *Front Microbiol*, 4: 369
- Dierssen H, McManus G B, Chlus A, Qiu D, Gao B C, Lin S. 2015. Space station image captures a red tide ciliate bloom at high spectral

- and spatial resolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112: 14783–14787
- Donald D B, Bogard M J, Finlay K, Bunting L, Leavitt P R. 2013. Phytoplankton-specific response to enrichment of phosphorus-rich surface waters with ammonium, nitrate, and urea. *Plos One*, 8: e53277–14
- Donald D B, Bogard M J, Finlay K, Leavitt P R. 2011. Comparative effects of urea, ammonium, and nitrate on phytoplankton abundance, community composition, and toxicity in hypereutrophic freshwaters. *Limnol Oceanogr*, 56: 2161–2175
- Dugdale R C, Wilkerson F P, Hogue V E, Marchi A. 2007. The role of ammonium and nitrate in spring bloom development in San Francisco Bay. *Estuar Coast Shelf Sci*, 73: 17–29
- EPD. 2017. Marine Water Quality in Hong Kong in 2016. Monitoring Group, Water Policy and Planning Group, EPD, HKSAR
- Fenchel T, Hansen P J. 2006. Motile behaviour of the bloom-forming ciliate *Mesodinium rubrum*. *Mar Biol Res*, 2: 33–40
- Flynn K J, Stoecker D K, Mitra A, Raven J A, Glibert P M, Hansen P J, Granéli E, Burkholder J M. 2013. Misuse of the phytoplankton-zooplankton dichotomy: The need to assign organisms as mixotrophs within plankton functional types. *J Plankton Res*, 35: 3–11
- Fuhrman J A, Azam F. 1982. Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: Evaluation and field results. *Mar Biol*, 66: 109–120
- Fukuda R, Ogawa H, Nagata T, Koike I. 1998. Direct determination of carbon and nitrogen contents of natural bacterial assemblages in marine environments. *Appl Environ Microbiol*, 64: 3352–3358
- Glibert P M. 1997. Interactions of top-down and bottom-up control in planktonic nitrogen cycling. *Hydrobiologia*, 363: 1–12
- Glibert P, Seitzinger S, Heil C, Burkholder J A, Parrow M, Codispoti L, Kelly V. 2005. The role of eutrophication in the global proliferation of harmful algal blooms. *Oceanography*, 18: 198–209
- Glibert P M, Wilkerson F P, Dugdale R C, Parker A E, Alexander J, Blaser S, Murasko S. 2014. Phytoplankton communities from San Francisco Bay Delta respond differently to oxidized and reduced nitrogen substrates—Even under conditions that would otherwise suggest nitrogen sufficiency. *Front Mar Sci*, 1: 1–16
- Glibert P M, Wilkerson F P, Dugdale R C, Raven J A, Dupont C L, Leavitt P R, Parker A E, Burkholder J A M, Kana T M. 2016. Pluses and minuses of ammonium and nitrate uptake and assimilation by phytoplankton and implications for productivity and community composition, with emphasis on nitrogen-enriched conditions. *Limnol Oceanogr*, 61: 165–197
- Gustafson D E, Stoecker D K, Johnson M D, Van Heukelem W F, Sneider K. 2000. Cryptophyte algae are robbed of their organelles by the marine ciliate *Mesodinium rubrum*. *Nature*, 405: 1049–1052
- Herfort L, Peterson T D, Prah F G, McCue L A, Needoba J A, Crump B C, Roegner G C, Campbell V, Zuber P. 2012. Red waters of *Myrionecta rubra* are biogeochemical hotspots for the columbia river estuary with impacts on primary/secondary productions and nutrient cycles. *Estuar Coast*, 35: 878–891
- Huang C, Qi Y. 1997. The abundance cycle and influence factors on red tide phenomena of *Noctiluca scintillans* (Dinophyceae) in Dapeng Bay, the South China Sea. *J Plankton Res*, 19: 303–318
- Jiang H, Johnson M D. 2017. Jumping and overcoming diffusion limitation of nutrient uptake in the photosynthetic ciliate *Mesodinium rubrum*. *Limnol Oceanogr*, 62: 421–436
- Knap A H, Michaels A, Close A R, Ducklow H, Dickson A G. 1996. Protocols for the joint global ocean flux study (JGOFS) core measurements. JGOFS, Reprint of the IOC Manuals and Guides No. 29, UNESCO 1994, 19
- Lai Z, Yin K. 2014. Physical-biological coupling induced aggregation mechanism for the formation of high biomass red tides in low nutrient waters. *Harmful Algae*, 31: 66–75
- Liu H, Song X, Huang L, Tan Y, Zhang J. 2011. Phytoplankton biomass and production in northern South China Sea during summer: Influenced by Pearl River discharge and coastal upwelling. *Acta Ecologica Sin*, 31: 133–136
- Lomas M W, Glibert P M. 1999. Temperature regulation of nitrate uptake: A novel hypothesis about nitrate uptake and reduction in cool-water diatoms. *Limnol Oceanogr*, 44: 556–572
- Lomas M W, Rumbley C J, Glibert P M. 2000. Ammonium release by nitrogen sufficient diatoms in response to rapid increases in irradiance. *J Plankton Res*, 22: 2351–2366
- Mccarthy J J, Goldman J C. 1979. Nitrogenous nutrition of marine phytoplankton in nutrient-depleted waters. *Science*, 203: 670–672
- Mitra A, Flynn K J. 2010. Modelling mixotrophy in harmful algal blooms: More or less the sum of the parts? *J Mar Syst*, 83: 158–169
- Myung G, Kim H S, Park J W, Park J S, Yih W. 2013. Sequestered plastids in *Mesodinium rubrum* are functionally active up to 80 days of phototrophic growth without cryptomonad prey. *Harmful Algae*, 27: 82–87
- Parker A E, Hogue V E, Wilkerson F P, Dugdale R C. 2012. The effect of inorganic nitrogen speciation on primary production in the San Francisco Estuary. *Estuar Coast Shelf Sci*, 104–105: 91–101
- Porter K G, Feig Y S. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol Oceanogr*, 25: 943–948
- Price N M, Harrison P J. 1987. Comparison of methods for the analysis of dissolved urea in seawater. *Mar Biol*, 94: 307–317
- Raven J A. 1991. Physiology of inorganic C acquisition and implications for resource use efficiency by marine phytoplankton: Relation to increased CO₂ and temperature. *Plant Cell Environ*, 14: 779–794

- Raven J A. 2011. The cost of photoinhibition. *Physiologia Plantarum*, 142: 87–104
- Saba G K, Steinberg D K, Bronk D A, Place A R. 2011. The effects of harmful algal species and food concentration on zooplankton grazer production of dissolved organic matter and inorganic nutrients. *Harmful Algae*, 10: 291–303
- Shiah F K, Ducklow H W. 1994. Temperature and substrate regulation of bacterial abundance, production and specific growth rate in Chesapeake Bay, USA. *Mar Ecol Prog Ser*, 103: 297–308
- Sinsabaugh R L, Shah J J F. 2010. Integrating resource utilization and temperature in metabolic scaling of riverine bacterial production. *Ecology*, 91: 1455–1465
- Slawyk G, Macisaac J J. 1972. Comparison of two automated ammonium methods in a region of coastal upwelling. *Deep Sea Res Oceanogr Abstr*, 19: 521–524
- Tong M, Smith J L, Kulis D M, Anderson D M. 2015. Role of dissolved nitrate and phosphate in isolates of *Mesodinium rubrum* and toxin-producing *Dinophysis acuminata*. *Aquat Microb Ecol*, 75: 169–185
- Vrede K, Heldal M, Norland S, Bratbak G. 2002. Elemental composition (C, N, P) and cell volume of exponentially growing and nutrient-limited bacterioplankton. *Appl Environ Microbiol*, 68: 2965–2971
- Wilkerson F P, Dugdale R C, Hogue V E, Marchi A. 2006. Phytoplankton blooms and nitrogen productivity in San Francisco Bay. *Estuar Coast*, 29: 401–416
- Yih W, Kim H S, Jeong H J, Myung G, Kim Y G. 2004. Ingestion of cryptophyte cells by the marine photosynthetic ciliate *Mesodinium rubrum*. *Aquat Microb Ecol*, 36: 165–170
- Yih W, Kim H S, Myung G, Park J W, Yoo Y D, Jeong H J. 2013. The red-tide ciliate *Mesodinium rubrum* in Korean coastal waters. *Harmful Algae*, 30: S53–S61
- Yin K. 2003. Influence of monsoons and oceanographic processes on red tides in Hong Kong waters. *Mar Ecol Prog Ser*, 262: 27–41
- Yin K, Song X X, Liu S, Kan J, Qian P Y. 2008. Is inorganic nutrient enrichment a driving force for the formation of red tides? *Harmful Algae*, 8: 54–59

(责任编辑: 张锐)