

## 东海原甲藻和中肋骨条藻适宜生长条件及叶绿素荧光特性的对比

沈敏, 林军, 关莹莹

### Comparision on the suitable growth conditions and chlorophyll fluorescence characteristics of *Prorocentrum donghaiense* and *Skeletonema costatum*

SHEN Min, LIN Jun, GUAN Yingying

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12024/jsou.20200603071>

#### 您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

#### 环境因子对中肋骨条藻生长及叶绿素荧光特性的影响

Effects of environmental factors on growth and chlorophyll fluorescence characteristics of *Skeletonema costatum*

上海海洋大学学报. 2020, 29(3): 346 <https://doi.org/10.12024/jsou.20190502667>

#### 东海原甲藻在氮、磷限制胁迫下的补偿生长

Compensatory growth of *Prorocentrum donghaiense* Lu under nitrogen and phosphorus deficiency stress

中国水产科学. 2014, 21(6): 1200 <https://doi.org/10.3724/SP.J.1118.2014.01200>

#### 东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)利用有机磷增殖研究

Study on the growth of *Prorocentrum donghaiense* by using different organic phosphorus

渔业研究. 2019, 41(4): 278 <https://doi.org/10.14012/j.cnki.fjsc.2019.04.002>

#### 福建定海湾一次东海原甲藻与夜光藻双相赤潮浅析

A brief analysis for a bilateral red tide of *Prorocentrum donghaiense* and *Noctiluca scintillans* in Dinghai Sea Zone of Fujian Province

渔业研究. 2016, 38(2): 132 <https://doi.org/10.14012/j.cnki.fjsc.2016.02.006>

#### 氨基酸对铜绿微囊藻生长及叶绿素荧光参数的影响

Effects of amino acids on growth and chlorophyll fluorescence parameters of blue green alga *Microcystis aeruginosa*

大连海洋大学学报. 2021, 36(3): 446 <https://doi.org/10.16535/j.cnki.dlhyxb.2020-177>

#### 不同光强处理对长茎葡萄蕨藻叶绿素荧光特性的影响

Effects of light intensity on chlorophyll fluorescence characteristics of *Caulerpa lentillifera*

中国水产科学. 2017, 24(4): 783 <https://doi.org/10.3724/SP.J.1118.2017.16379>

文章编号: 1674-5566(2021)06-1034-13

DOI: 10.12024/jsou.20200603071

## 东海原甲藻和中肋骨条藻适宜生长条件及叶绿素荧光特性的对比

沈 敏<sup>1</sup>, 林 军<sup>1,2</sup>, 关莹莹<sup>1</sup>

(1. 上海海洋大学 海洋生态与环境学院, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 海洋工程技术研究中心, 上海 201306)

**摘 要:** 为探究东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)和中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)两种赤潮高发藻适宜生长条件及叶绿素荧光参数的差异,选取温度(17、20、23、26 °C)、光照[40、80、120、160 μmol photons / (m<sup>2</sup> · s)]、磷酸盐(0.1、1.0、5.0、10.0 μmol/L)、初始生物量(1 × 10<sup>4</sup>、3 × 10<sup>4</sup>、5 × 10<sup>4</sup>、7 × 10<sup>4</sup> cells/mL)等4个因素4水平试验进行室内培养实验。结果表明,对两种微藻叶绿素 a 峰值质量浓度产生极其显著影响的是磷酸盐(P < 0.01),光照、温度、初始生物量未产生显著影响。磷酸盐添加表明,在0.1、1.0 μmol/L低磷环境中,东海原甲藻生物量及稳定性高于中肋骨条藻,高初始生物量消耗磷酸盐后东海原甲藻能够继续生存,中肋骨条藻则细胞丰度持续衰落;在5.0和10.0 μmol/L高磷环境中,中肋骨条藻较东海原甲藻增殖最快,生物量更高。东海原甲藻的荧光参数F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>、α较中肋骨条藻稳定,表明其光合活性稳定;更小的细胞体积和更大的比表面积使中肋骨条藻于培养初期快速达到峰值,表明其对磷酸盐利用能力强。10.0 μmol/L磷酸盐浓度组,4个荧光参数最大,光合活性最强,更容易发生赤潮。东海原甲藻的光合活性主要受光照的影响,中肋骨条藻的光合活性更大程度受磷酸盐、光照的影响。

**关键词:** 东海原甲藻; 中肋骨条藻; 叶绿素 a 浓度; 叶绿素荧光参数

**中图分类号:** X 505

**文献标志码:** A

在水生生态系统中,浮游植物因作为初级生产者而具有特殊的生态位。藻华是在短期内浮游植物聚集性增殖爆发的现象,又分为水华和赤潮,分别在淡水和海水中出现。赤潮危害次级生产者和消费者<sup>[1-2]</sup>,从而影响海洋生态健康,对水产养殖业等造成损失<sup>[3]</sup>。东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)属于甲藻门(Pyrrophyta),每年5月左右在我国东海海域会引发赤潮<sup>[4-5]</sup>,中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)属于硅藻门(Bacillariophyta),主要分布于我国近海沿岸<sup>[6]</sup>。近年来,在我国东部沿海地区,尤其在江浙沿海海域,常年大面积暴发的主要赤潮种多为东海原甲藻和中肋骨条藻<sup>[7-8]</sup>(表1、表2)等。

浮游藻类在海表进行光合作用产生有机物,维持海洋物质循环及其能量转化<sup>[9]</sup>,是最重要的初级生产者<sup>[10]</sup>。温度、光照、磷酸盐、初始生物量在赤潮发生过程中的作用至关重要<sup>[11-13]</sup>。大量

的陆源排放导致沿海海域氮、磷等营养盐浓度居高不下。其中,相对的高无机氮、低磷酸盐导致的高氮磷比是长江口海域营养盐分布的主要特点<sup>[14]</sup>,磷酸盐成为浮游藻类生长的相对限制性因素<sup>[15]</sup>。综合考虑温度、光照、营养盐等多种因素及其交互作用对中肋骨条藻等赤潮种的影响研究相对较少<sup>[16]</sup>,以往研究<sup>[17-20]</sup>多考虑1~2种环境因子的影响作用。本文旨在对4种环境和生物因素(温度、光照、磷酸盐、初始生物量)共同作用下对上述两种赤潮高发藻的生长条件和光合活性变化进行对比,为我国沿海、特别是长江和江浙近海赤潮的科学防治提供实验依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 藻种培养

除磷酸盐外,按照1/2培养基<sup>[21]</sup>添加方法配置培养液,磷酸盐浓度设置为0.1、1.0、5.0、10.0

收稿日期: 2020-06-01 修回日期: 2020-11-03

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0900905)

作者简介: 沈 敏(1993—),女,硕士研究生,研究方向为海洋赤潮藻类。E-mail:1379518668@qq.com

通信作者: 林 军,E-mail: jlin@shou.edu.cn

$\mu\text{mol/L}$  4 个水平,所有实验组浓度  $N$  的起始浓度为  $f/2$  培养基浓度。藻类实验培养配置盐度 30 的人工海水,由  $0.45 \mu\text{m}$  滤膜过滤后的海水、锥

形瓶等实验所需用品经高温灭菌待用,高温灭菌条件为  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  高压下 20 min。模拟实际海域光照情况,将光照培养箱光暗比调至 12 h:12 h。

表 1 2014—2018 年我国近海东海原甲藻赤潮面积  $\geq 100 \text{ km}^2$  事件(中国海洋灾害公报)

Tab.1 Red tide of *Prorocentrum donghaiensis* with an area  $\geq 100 \text{ km}^2$  off the coast of China from 2014 to 2018 (China Marine Disaster Bulletin)

| 年份/Year | 地点 Location    | 暴发日期 Date of blooming | 面积 Area/ $\text{km}^2$ |
|---------|----------------|-----------------------|------------------------|
| 2014    | 福建莆田南日岛海域      | 5.8—5.15              | 600                    |
|         | 浙江舟山普陀海域       | 5.21—6.3              | 300                    |
|         | 浙江舟山嵊泗海域       | 5.21—6.5              | 170                    |
|         | 浙江舟山朱家尖海域      | 5.27—6.3              | 400                    |
|         | 浙江台州温岭海域       | 5.21—6.9              | 100                    |
|         | 浙江温州苍南海域       | 5.19—6.11             | 320                    |
| 2015    | 浙江渔山列岛         | 4.26—5.3              | 200                    |
|         | 福建霞浦           | 5.26—6.2              | 100                    |
| 2016    | 上海长江口以东        | 5.17—5.20             | 820                    |
|         | 浙江花鸟山以东        | 5.9—5.12              | 470                    |
|         | 浙江舟山朱家尖        | 5.12—5.16             | 200                    |
|         | 浙江渔山列岛         | 5.12—5.22             | 480                    |
|         | 浙江舟山嵊山         | 5.16—5.21             | 120                    |
|         | 浙江苍南鳌江口        | 5.22—5.30             | 100                    |
| 2017    | 浙江舟山嵊山         | 7.18—7.21             | 350                    |
| 2017    | 浙江渔山海域         | 5.20—5.24             | 220                    |
| 2018    | 浙江渔山列岛至檀头山之间海域 | 5.27—6.6              | 210                    |

表 2 2014—2018 年中肋骨条藻赤潮我国近海面积  $\geq 100 \text{ km}^2$  事件(中国海洋灾害公报)

Tab.2 Red tide of *Skeletonema costatum* with an area  $\geq 100 \text{ km}^2$  off the coast of China from 2014 to 2018 (China Marine Disaster Bulletin)

| 时间 Time | 地点 Location     | 暴发时间 Date of blooming | 面积 Area/ $\text{km}^2$ |
|---------|-----------------|-----------------------|------------------------|
| 2014    | 广东湛江流沙湾         | 7.21—8.13             | 140                    |
| 2016    | 上海长江口           | 8.16—8.21             | 2 000                  |
| 2017    | 江苏连云港           | 5.17—5.19             | 100                    |
|         | 浙江舟山朱家尖         | 6.20—6.26             | 180                    |
| 2018    | 浙江舟山朱家尖至桃花岛以东海域 | 7.7—7.11              | 100                    |
|         |                 | 8.9—8.15              | 150                    |

## 1.2 藻细胞丰度计数

培养过程中每 2 天取 1 mL 藻液,用鲁戈氏剂固定后立刻在显微镜下用计数器测定藻液细胞丰度,每个样品计数 3 次,取平均值。

## 1.3 实验方法及数据采集

将处于指数生长期的东海原甲藻和中肋骨条藻接入锥形瓶进行室内培养实验,每组实验条件设置 3 个平行样,为防止藻类附壁生长或者下沉同时保证一致的生长环境,每天定时手动摇动藻液 3 次且随机调整 3 个平行样锥形瓶在培养箱中的位置,实验过程均在超净工作台上采用无菌

操作。实验分为两个阶段,第一阶段培养周期为 10 d,分别于第 0、2、4、6、8、10 天取样测量叶绿素 a 质量浓度、藻细胞丰度、叶绿素荧光参数。第 0 天数据为各实验组适应环境半天后测得,各组初始生物量及实验条件不同,故叶绿素 a 质量浓度及各参数第 0 天初始值具有差异。实验第二阶段为磷酸盐添加实验,生长周期第 10 天进行磷酸盐的添加,浓度添加至之前设置的实验水平,分别于第 12、14、16 天测定各指标。采用叶绿素荧光仪(PHYTO-PAM WALZ)测得  $F_v/F_m$ 、 $\alpha$ 、 $rETR_{\text{max}}$ 、 $I_K$  等荧光参数,即最大量子产量、光能利

用率、最大相对电子传递速率、耐受光强,进而得到快速曲线方程<sup>[22]</sup>:

$$P = R / (a \times R^2 + b \times R + c) \quad (1)$$

式中: $P$ 和 $R$ 分别为相对电子传递速率 $rETR$ 和光强; $a$ 、 $b$ 、 $c$ 为系数。

#### 1.4 正交实验设计

选取温度、光照、磷酸盐浓度、初始生物量4个因素,温度参照我国东海长江口及附近海域赤潮高发期水温,设定17、20、23、26℃4个水平;光照参考不同透明度下照度计在水下0.2~0.5

m测得的数据,设定40、80、120、160  $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ;磷酸盐参照发生赤潮时磷酸盐浓度及浮游植物生长的需求<sup>[23-25]</sup>,设定0.1、1.0、5.0、10.0  $\mu\text{mol/L}$ 等4个水平;东海原甲藻和中肋骨条藻细胞丰度分别超过 $10^6$  cells/L、 $5 \times 10^6$  cells/L判定形成赤潮<sup>[26]</sup>,藻细胞接种密度设定 $1 \times 10^4$ 、 $3 \times 10^4$ 、 $5 \times 10^4$ 、 $7 \times 10^4$  cells/mL等4个水平,均超过两种藻的赤潮发生标准。使用正交表 $L_{16}(4^5)$ 安排室内实验(表3)。

表3 正交实验表及叶绿素a质量浓度峰值

Tab.3 Orthogonal experiment table and the peak value of chlorophyll a mass concentration

| 实验组<br>Test | 温度(A)<br>Temperature/<br>℃ | 光照(B)<br>Light/<br>[ $\mu\text{mol photons}/$<br>( $\text{m}^2 \cdot \text{s}$ )] | 磷酸盐(C)<br>Phosphate/<br>( $\mu\text{mol/L}$ ) | 初始生物量(D)<br>Initial biomass/<br>(cell/mL) | 东海原甲藻叶绿素a<br>峰值<br>Chl. a <sub>max</sub> (PD)/<br>( $\mu\text{g/L}$ ) | 中肋骨条藻叶绿素a<br>峰值<br>Chl. a <sub>max</sub> (SC)/<br>( $\mu\text{g/L}$ ) |
|-------------|----------------------------|---|---|---|---|---|
| 1           | 17                         | 40  | 0.1   | $1 \times 10^4$                           | 80.22   | 39.51   |
| 2           | 17                         | 80  | 1.0   | $3 \times 10^4$                           | 97.63   | 71.76   |
| 3           | 17                         | 160   | 5.0   | $5 \times 10^4$                           | 228.58  | 240.00  |
| 4           | 17                         | 120   | 10.0  | $7 \times 10^4$                           | 389.80  | 457.83  |
| 5           | 20                         | 40  | 1.0   | $5 \times 10^4$                           | 147.79  | 69.92   |
| 6           | 20                         | 80  | 0.1   | $7 \times 10^4$                           | 116.78  | 71.81   |
| 7           | 20                         | 160   | 10.0  | $1 \times 10^4$                           | 208.13  | 388.95  |
| 8           | 20                         | 120   | 5.0   | $3 \times 10^4$                           | 164.44  | 357.68  |
| 9           | 23                         | 40  | 5.0   | $7 \times 10^4$                           | 214.59  | 319.97  |
| 10          | 23                         | 80  | 10.0  | $5 \times 10^4$                           | 325.96  | 637.55  |
| 11          | 23                         | 160   | 0.1   | $3 \times 10^4$                           | 86.04   | 24.41   |
| 12          | 23                         | 120   | 1.0   | $1 \times 10^4$                           | 76.95   | 74.80   |
| 13          | 26                         | 40  | 10.0  | $3 \times 10^4$                           | 287.62  | 402.83  |
| 14          | 26                         | 80  | 5.0   | $1 \times 10^4$                           | 105.75  | 378.09  |
| 15          | 26                         | 160   | 1.0   | $7 \times 10^4$                           | 150.19  | 36.70   |
| 16          | 26                         | 120   | 0.1   | $5 \times 10^4$                           | 103.36  | 65.83   |

注:Chl. a<sub>max</sub>代表叶绿素a达到的峰值,PD代表东海原甲藻,SC代表中肋骨条藻。

Notes:Chl. a<sub>max</sub> represents the peak value of chlorophyll a,PD represents *Prorocentrum donghaiensis*,SC represents *Skeletonema costatum*.

#### 1.5 数据分析与处理

叶绿素a质量浓度是光合作用浮游植物(主要是微藻)生物量的良好指标,并且浮游植物生物量与初级生产力之间存在显著的正相关<sup>[27]</sup>。

各实验组由于培养条件不同导致生长差异显著,故本文选取叶绿素a质量浓度峰值作为分析指标进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),所有数据为3个平行样的均值。见表4。

表4 叶绿素a质量浓度峰值方差分析表

Tab.4 Table of Chlorophyll a mass concentration variance analysis

| 因素<br>Factor               | F值温度(A)<br>Temperature/<br>℃ | 光照(B)<br>Light/<br>[ $\mu\text{mol photons}/$<br>( $\text{m}^2 \cdot \text{s}$ )] | 磷酸盐(C)<br>Phosphate/<br>( $\mu\text{mol/L}$ ) | 初始生物量(D)<br>Initial biomass/<br>(cell/mL) | 临界值 $\alpha = 0.05$ (a)<br>Critical value |
|----------------------------|------------------------------|---|---|---|---|
| Chl. a <sub>max</sub> (PD) | 0.12                         | 0.04  | 13.09 **                                      | 0.88                                      | 3.49                                      |
| Chl. a <sub>max</sub> (SC) | 0.06                         | 0.22  | 38.53 **                                      | 0.03                                      |   |

注:PD代表东海原甲藻,SC代表中肋骨条藻,\*\*代表极其显著, $P < 0.01$ 。

Notes:PD represents *Prorocentrum donghaiensis*,SC represents *Skeletonema costatum*; \*\* represents extremely significant,  $P < 0.01$ .

## 2 结果

### 2.1 东海原甲藻和中肋骨条藻叶绿素 a 质量浓度峰值对比

通过方差分析(表 4)表明,本研究 4 个因素中磷酸盐浓度对东海原甲藻和中肋骨条藻叶绿素 a 质量浓度峰值有极其显著的影响( $P < 0.01$ ),温度、光照、初始生物量的影响不显著,故下文以磷酸盐浓度分组,分析两种微藻叶绿素 a 质量浓度在不同磷酸盐浓度组的变化规律(图 1)。在 0.1  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,东海原甲藻叶绿素 a 质量浓度峰值均值  $\pm$  标准差为(70.64  $\pm$  6.96)  $\mu\text{g/L}$ ; 1.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组为(79.22  $\pm$  8.05)  $\mu\text{g/L}$ ; 5.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组为(137.85  $\pm$  16.91)  $\mu\text{g/L}$ ; 10.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组为(206.31  $\pm$  10.57)  $\mu\text{g/L}$ 。在 0.1  $\mu\text{mol/L}$  和 1.0  $\mu\text{mol/L}$  两组低磷酸盐浓度组,除  $A_4B_3C_2D_4$ (NO. 15)从第 0 天持续下降,第 8 天降至 0  $\mu\text{g/L}$  外,其他实验组叶绿素 a 质量浓度较稳定,分别在培养期间第 0~2、0~4、0~6 天增长,达到峰值后缓慢下降。在 5.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,  $A_3B_1C_3D_4$ (NO. 9)、 $A_4B_2C_3D_1$ (NO. 14)培养初期上升,在第 4 天达到峰值后下降,  $A_1B_3C_3D_3$ (NO. 3)、 $A_2B_4C_3D_3$ (NO. 8)在培养周期内持续上升;在 10  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,除  $A_3B_2C_4D_3$ (NO. 10)在第 4 天达到峰值外,其余 3 组持续增加。

在 0.1  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,中肋骨条藻叶绿素 a 质量浓度峰值均值  $\pm$  标准差为(29.97  $\pm$  4.21)  $\mu\text{g/L}$ ; 1.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组为(38.46  $\pm$  3.36)  $\mu\text{g/L}$ ; 5.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组为(188.73  $\pm$  12.62)  $\mu\text{g/L}$ ; 10.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组为(294.63  $\pm$  19.30)  $\mu\text{g/L}$ 。5.0  $\mu\text{mol/L}$ 、10.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组叶绿素 a 浓度显著高于其他两组。在 0.1  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,叶绿素 a 浓度于第 2 或第 4 天达到峰值,在培养末期均降至较低水平( $< 40 \mu\text{g/L}$ ),其中  $A_3B_3C_1D_2$ (NO. 11)、 $A_4B_4C_1D_3$ (NO. 16)分别于第 8、10 天降至 0  $\mu\text{g/L}$ 。在 1.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,  $A_2B_1C_2D_3$ (NO. 5)在培养周期内持续上升;  $A_4B_3C_2D_4$ (NO. 15)持续下降并于第 6 天降至 0  $\mu\text{g/L}$ ;其余两组于第 4 天达到峰值,其中  $A_3B_4C_2D_1$ (NO. 12)第 8 天降至 0  $\mu\text{g/L}$ 。在 5.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,

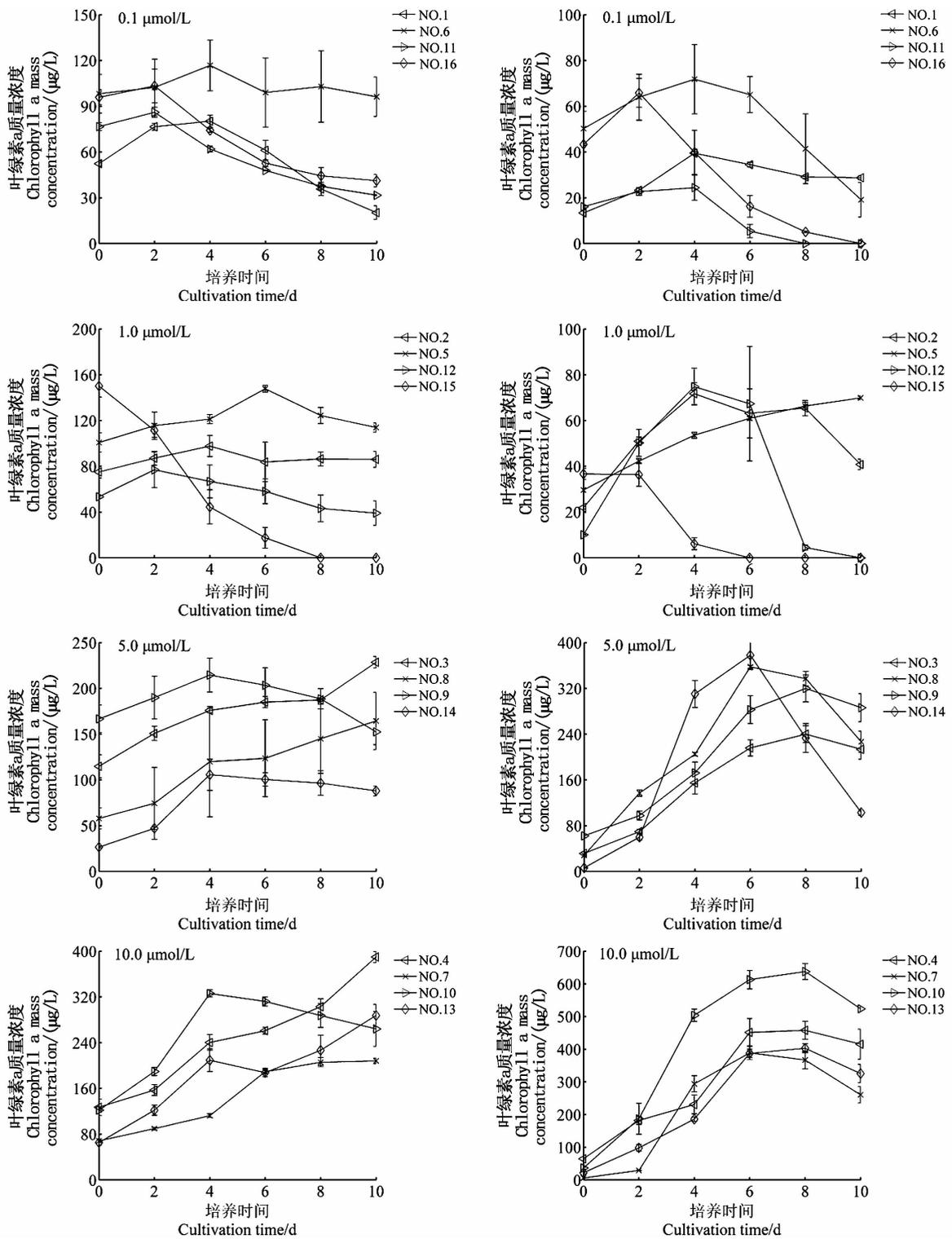
各组于第 6 天或第 8 天达到峰值后下降,在 10.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,各组同样于第 6 天或第 8 天达到峰值后下降,且培养末期在 4 组磷酸盐浓度水平叶绿素 a 质量浓度值最高( $> 200 \mu\text{g/L}$ )。

在 0.1  $\mu\text{mol/L}$ 、1.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,东海原甲藻中除  $A_4B_3C_2D_4$ (NO. 15)叶绿素 a 质量浓度在培养周期内持续下降,其余各组较稳定;中肋骨条藻随时间变化的幅度较大,而东海原甲藻叶绿素 a 质量浓度相对稳定,且质量浓度峰值大于中肋骨条藻。在 5.0  $\mu\text{mol/L}$ 、10.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,东海原甲藻中除  $A_3B_1C_3D_4$ (NO. 9)、 $A_3B_2C_4D_3$ (NO. 10)两组,叶绿素 a 质量浓度呈不断上升趋势;中肋骨条藻生长周期较完整,叶绿素 a 质量浓度呈现由上升到峰值继而下降的变化,与低磷酸盐浓度的 2 组相比,中肋骨条藻叶绿素 a 质量浓度显著大于东海原甲藻。东海原甲藻和中肋骨条藻叶绿素 a 质量浓度在培养周期内分别于  $A_1B_4C_4D_4$ (NO. 4)、 $A_3B_2C_4D_3$ (NO. 10)达到最大值。

### 2.2 东海原甲藻和中肋骨条藻添加磷酸盐后的生长对比

考虑到实际海域海水平流和垂向对流带来的营养盐补给,在实验第一阶段培养末期对各组进行磷酸盐的添加,讨论磷酸盐的添加对东海原甲藻和中肋骨条藻细胞丰度的影响。藻细胞丰度是用来表征微藻生长状态的重要参数之一,叶绿素 a 质量浓度是浮游植物生物量的良好指示<sup>[27]</sup>,经测定东海原甲藻、中肋骨条藻叶绿素 a 质量浓度与细胞丰度呈显著的线性正相关关系,分别为  $y = 0.05x + 0.57, R^2 = 0.88, n = 96, P < 0.01$  和  $y = 0.18x - 0.99, R^2 = 0.98, n = 76, P < 0.01$ ,故本部分赤潮种生物量以细胞丰度来表示。

在 0.1  $\mu\text{mol/L}$ 、1.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,东海原甲藻[除  $A_4B_3C_2D_4$ (NO. 15)]细胞丰度由下降转为上升趋势;中肋骨条藻细胞丰度持续下降,其中,  $A_1B_2C_2D_2$ (NO. 2)、 $A_2B_1C_2D_3$ (NO. 5)两组在培养末期降至较低水平,其余各组在培养周期内降至 0。在 5.0  $\mu\text{mol/L}$  和 10.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,磷酸盐的添加使两种微藻细胞丰度上升,东海原甲藻生长缓慢,中肋骨条藻快速增殖。在 10.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组细胞丰度增加最快,  $A_3B_2C_4D_3$ (NO. 10)持续上升,在培养周期内达到最大值。



NO. 表示正交实验组。

NO. represents orthogonal experiment group.

图 1 东海原甲藻 (左图) 和中肋骨条藻 (右图) 不同磷酸盐浓度组叶绿素 a 质量浓度变化

Fig. 1 Mass concentration variation with time of chlorophyll a in different phosphate concentration groups of *Prorocentrum donghaiensis* (left panel) and *Skeletonema costatum* (right panel)

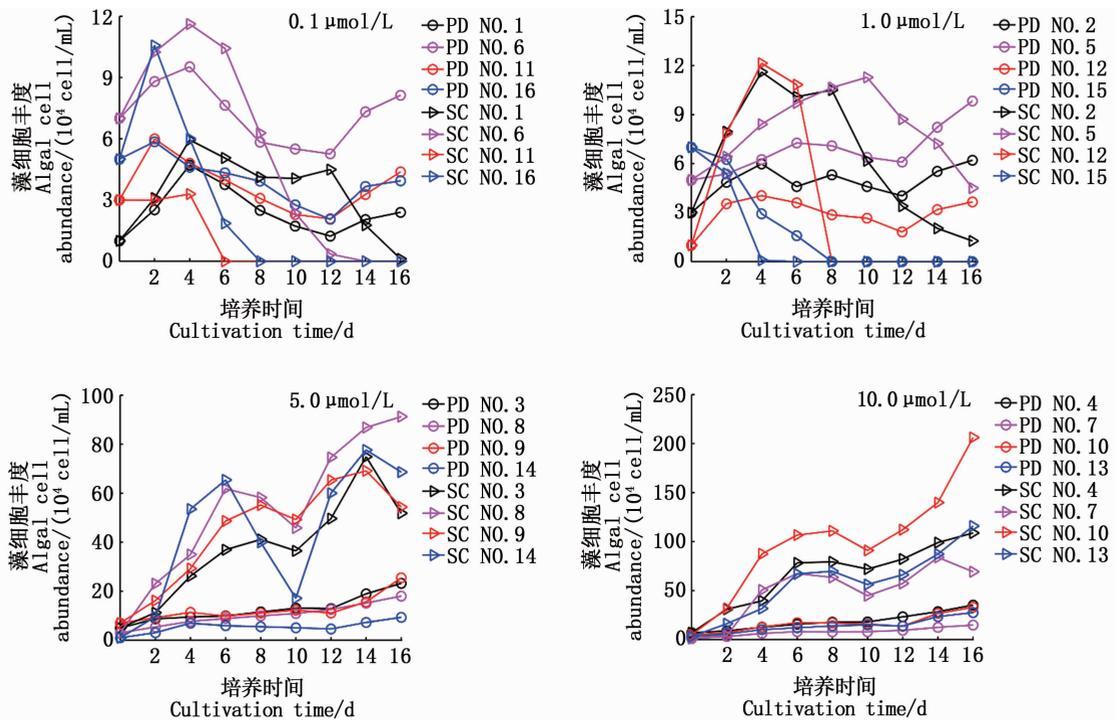


图2 磷酸盐添加对东海原甲藻和中肋骨条藻细胞丰度的影响

Fig. 2 Effect of phosphate addition on algal cell abundance of *Prorocentrum donghaiensis* and *Skeletonema costatum*

### 2.3 东海原甲藻和中肋骨条藻荧光参数的对比

对叶绿素荧光参数的对比分析,发现东海原甲藻[除 A<sub>4</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>4</sub>(NO. 15)] $F_v/F_m$  稳定于 0.5 左右,波动较小 (<0.2),且一般高于中肋骨条藻,中肋骨条藻  $F_v/F_m$  波动范围较大 (>0.5) (图3)。东海原甲藻 A<sub>4</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>4</sub>(NO. 15)  $F_v/F_m$  从接入环境的第 0 天持续下降,第 8 天降至 0,此时叶绿素 a 质量浓度也降至 0。除 A<sub>4</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>4</sub>(NO. 15),在 0.1 μmol/L 和 1.0 μmol/L 磷酸盐浓度组中其余组东海原甲藻  $F_v/F_m$  较 5 μmol/L、10 μmol/L 磷酸盐浓度组稳定,表明东海原甲藻对低磷环境的耐受力更强。中肋骨条藻  $F_v/F_m$  分别于第 0、2、4 天快速达到峰值, A<sub>4</sub>B<sub>4</sub>C<sub>1</sub>D<sub>3</sub>(NO. 16)、A<sub>3</sub>B<sub>4</sub>C<sub>2</sub>D<sub>1</sub>(NO. 12) 在培养末期出现异常高值,表明叶绿素 a 质量浓度为 0 时短期内可能造成藻细胞内部系统紊乱。在 5.0 mol/L、10.0 μmol/L 磷酸盐浓度组,中肋骨条藻  $F_v/F_m$  在培养初期上升速度最快,光化学反应潜力大于东海原甲藻;同时此两组磷酸盐浓度组,两种微藻分别达到最大值,此时光合活性最强。在 10.0 μmol/L 磷酸盐浓度组,东海原甲藻和中肋骨条藻

的两组不同环境组合  $F_v/F_m$  变化趋势相近,表示在磷酸盐充足条件下,温度、光照、初始生物量对光合活性的影响较小。

藻类的光能利用率  $\alpha$  与  $F_v/F_m$  变化趋势相似(图4),  $F_v/F_m$  与  $\alpha$  具有显著的线性正相关关系,  $y = 0.38, R^2 = 0.83, n = 192, P < 0.01$ ,表明光能利用率代表最大光合活性,最大电子传递速率与光合作用能力共同促进藻类生长。东海原甲藻中除 A<sub>4</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>4</sub>(NO. 15) 持续下降并于第 6 天降至 0,其余各组  $\alpha$  值稳定于 0.2 左右,5.0 μmol/L 磷酸盐组最高,表明此时东海原甲藻的光能利用率最强。中肋骨条藻整体变化较大 (>0.2),表明东海原甲藻光合器官对光能的利用率稳定。

在 0.1 μmol/L 和 1.0 μmol/L 磷酸盐浓度组,东海原甲藻  $rETR_{max}$  变化稳定(图5),在 1.0 μmol/L 磷酸盐浓度组,中肋骨条藻  $rETR_{max}$  变化较小。在 5.0 μmol/L、10.0 μmol/L 磷酸盐浓度组,两种微藻  $rETR_{max}$  波动较大,说明磷酸盐浓度过高导致细胞相对电子传递速率不稳定。

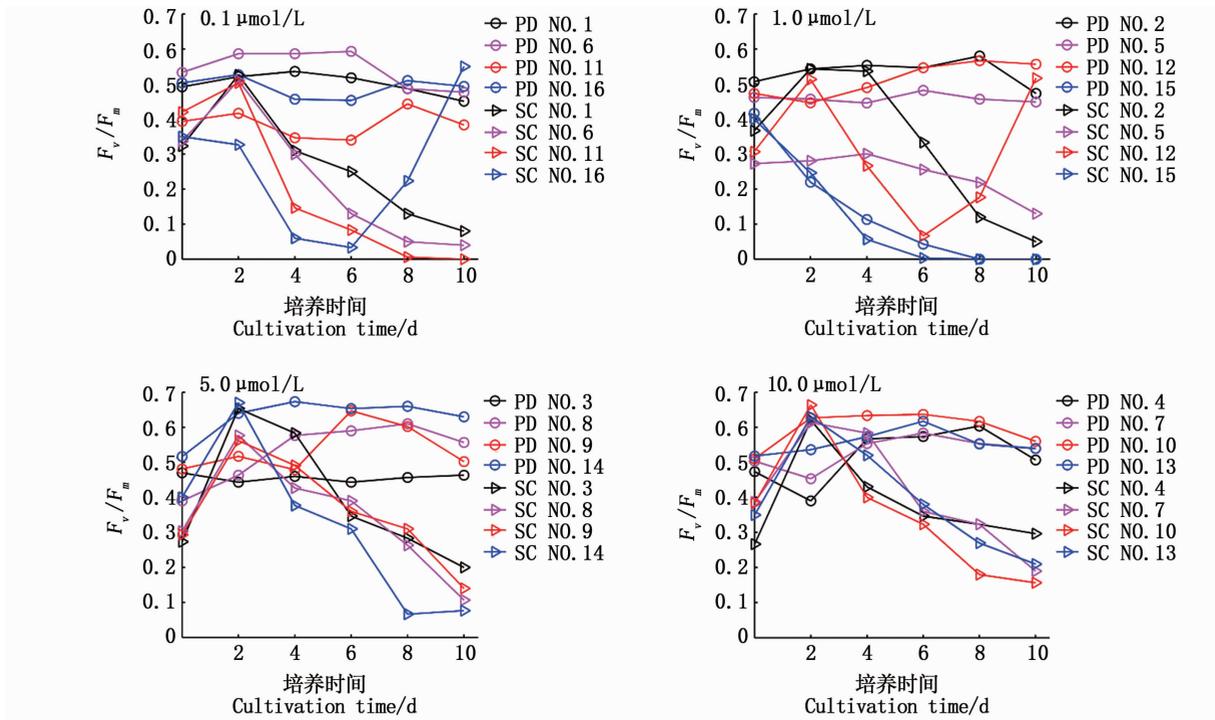


图3 两种赤潮藻  $F_v/F_m$  变化对比

Fig. 3  $F_v/F_m$  variation between the two red tide algae

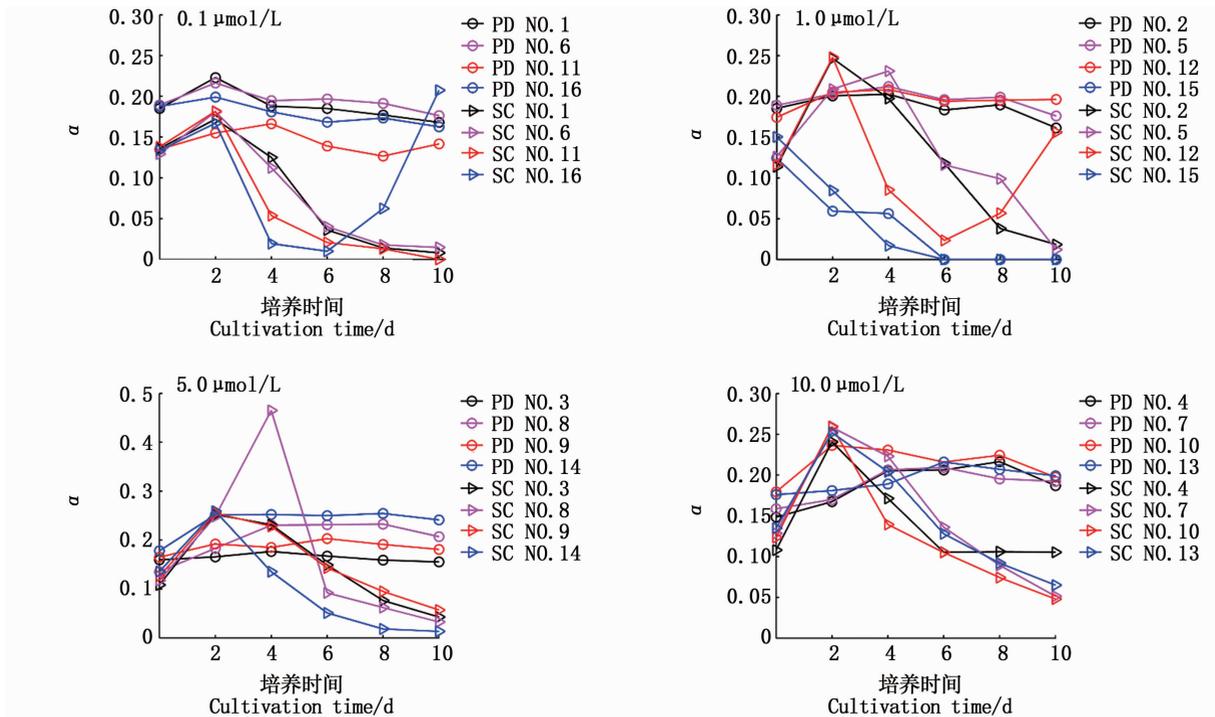


图4 两种赤潮藻  $\alpha$  变化对比

Fig. 4  $\alpha$  variation between the two red tide algae

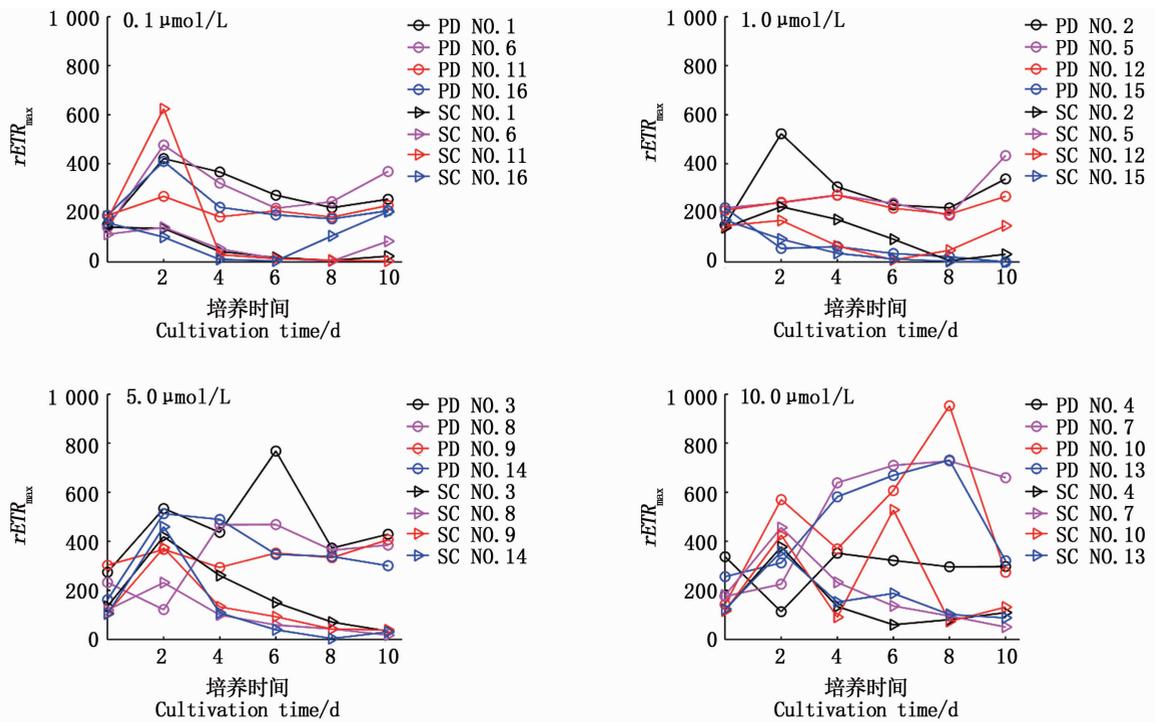


图 5 两种赤潮藻  $rETR_{max}$  变化

Fig. 5  $rETR_{max}$  variation between the two red tide algae

$I_k$  与  $rETR_{max}$  变化趋势相近 (图 6),  $rETR_{max}$  与  $I_k$  呈线性正相关关系,  $y = 0.36x + 583.88$ ,  $R^2 = 0.48, n = 96, P < 0.01$ 。总体来说,东海原甲藻和中肋骨条藻在  $0.1 \mu\text{mol/L}$  与  $1.0 \mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组波动范围较小,在  $5.0 \mu\text{mol/L}$ 、 $10.0 \mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组波动最大 ( $> 5\ 000$ )。在  $10.0 \mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,  $I_k$  耐受光强达到最大值 (东海原甲藻  $> 4\ 000$ 、中肋骨条藻  $> 5\ 000$ ) ,高磷酸盐条件下耐受光强范围越大,表示藻类对强光的耐受力越强,适应环境的能力越强。

各环境因子对荧光参数的方差分析 (表 5) 表明,光照对东海原甲藻  $F_v/F_m$ 、 $\alpha$  均有显著影响 ( $P < 0.05$ ),温度、磷酸盐、初始生物量均未产生显著影响,表明东海原甲藻进行光化学反应的最大潜力和光能的利用效率受光照的制约明显。磷酸盐对中肋骨条藻  $F_v/F_m$  造成极其显著的影响 ( $P < 0.01$ ) (表 5),光照对  $I_k$  产生显著影响 ( $P < 0.05$ ),温度、初始生物量均未对荧光参数造成显著影响,表明磷酸盐对光化学反应潜力的影响效能最大。

### 3 讨论

#### 3.1 叶绿素 a 质量浓度峰值对比

叶绿素 a 质量浓度在一定程度上可表示浮游植物的细胞丰度,是表示浮游植物生物量的常用变量,其时空分布可直观反映浮游植物细胞生长是否受到环境因子的胁迫。叶绿素 a 质量浓度随时间的变化则可反映环境因子变化对藻类光合活性的影响<sup>[28]</sup>。

东海原甲藻叶绿素 a 质量浓度在  $17 \text{ }^\circ\text{C}$  时达到最高,  $26 \text{ }^\circ\text{C}$  时相对较低,温度在  $20 \sim 26 \text{ }^\circ\text{C}$  各水平差异不显著。温度过低阻碍细胞脂膜相态转换,降低相对电子传递速率<sup>[29]</sup>;温度过高藻细胞新陈代谢加快,细胞活性增加,维持生长需要的能量不足致细胞死亡增加<sup>[30]</sup>。东海原甲藻适温范围分别为  $15 \sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$ <sup>[26]</sup>,表明  $17 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $26 \text{ }^\circ\text{C}$  并未达到限制生长的阈值。叶绿素 a 质量浓度在  $120 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  时最高,在其他 3 个光强水平下差异不显著,因为东海原甲藻适宜生存在低光照条件下或次表层水中,且在强光下不会发生光抑制现象<sup>[18]</sup>。

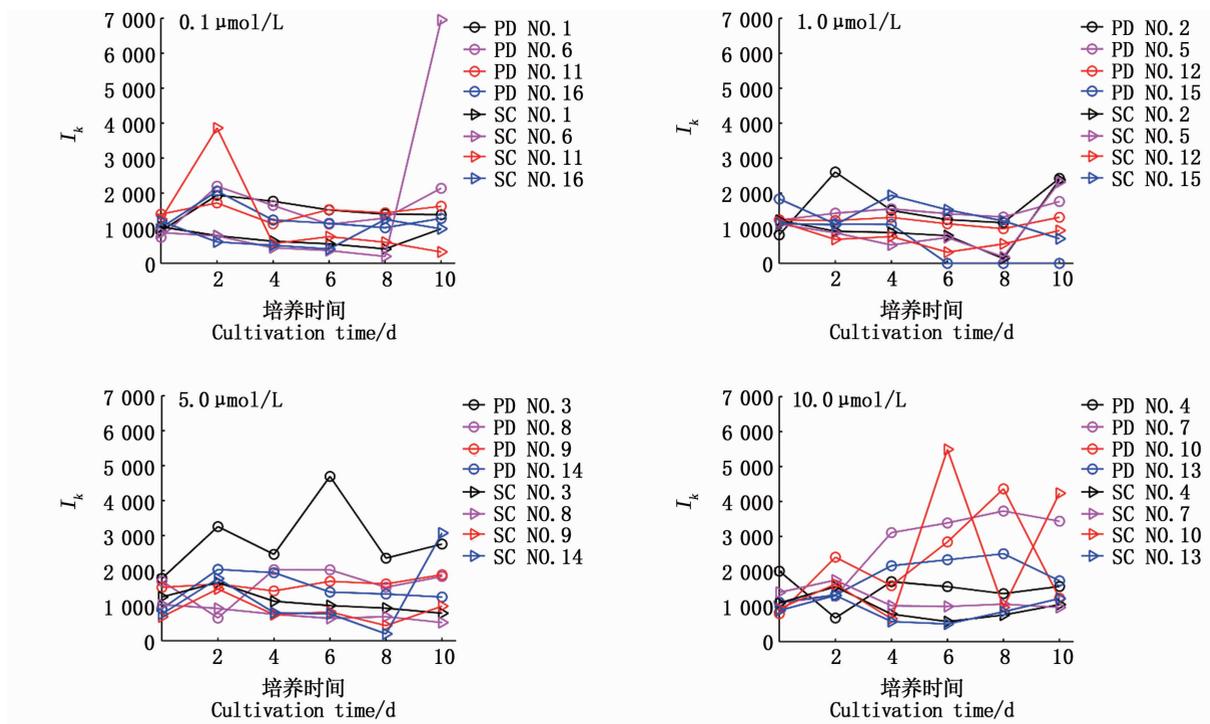


图 6 两种赤潮藻  $I_k$  变化

Fig. 6  $I_k$  variation between the two red tide algae

表 5 环境因子对叶绿素荧光参数的方差分析

Tab. 5 Analysis of variance of environmental factors on chlorophyll fluorescence parameters

| 因素<br>Factor                              | $F_v/F_m$             | $\alpha$ | $rETR_{max}$ | $I_k$ | 临界值 $\alpha = 0.05$ (a)<br>Critical value |
|---|-----------------------|----------|--------------|-------|---|
| 东海原甲藻<br><i>Prorocentrum donghaiensis</i> | 温度 Temperature        | 0.07     | 0.25         | 0.07  | 0.31                                      |
|   | 光照 Light              | 4.00 *   | 5.13 *       | 0.92  | 1.45                                      |
|   | 磷酸盐 Phosphate         | 2.24     | 1.00         | 3.16  | 1.72                                      |
|   | 初始生物量 Initial biomass | 0.38     | 0.80         | 1.34  | 1.34                                      |
| 中肋骨条藻<br><i>Skeletonema costatum</i>      | 温度 Temperature        | 0.50     | 0.67         | 0.37  | 0.66                                      |
|   | 光照 Light              | 0.57     | 0.96         | 2.81  | 5.71 *                                    |
|   | 磷酸盐 Phosphate         | 7.75 **  | 3.24         | 0.95  | 0.56                                      |
|   | 初始生物量 Initial biomass | 0.23     | 0.88         | 0.85  | 0.36                                      |

注: \*\* 代表极其显著,  $P < 0.01$ ; \* 代表显著,  $P < 0.05$ 。

Notes: \*\* represents extremely significant,  $P < 0.01$ ; \* represents significant,  $P < 0.05$ .

本文实验中,中肋骨条藻叶绿素 a 质量浓度峰值出现在 23 °C、80  $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、10.0  $\mu\text{mol/L}$ 、 $5 \times 10^4$  cells/mL 水平条件下,中肋骨条藻在 22 ~ 28 °C<sup>[6]</sup> 时细胞分裂增殖较快,其中 15 ~ 25 °C 会出现明显的指数增长<sup>[31]</sup>。叶绿素 a 质量浓度在一定范围内随着光照的增加而增加,80  $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  达到峰值后下降。

中肋骨条藻对磷酸盐的利用能力更强,藻细胞丰度快速增加,过高的生物密度产生遮蔽作用,从而降低藻细胞内部对光能的利用效率<sup>[32]</sup>,故在  $5 \times 10^4$  cells/mL 时叶绿素 a 质量浓度达到

最高;东海原甲藻叶绿素 a 质量浓度相对稳定,故在  $7 \times 10^4$  cells/mL 初始生物量时达到峰值。磷酸盐对两种微藻叶绿素 a 质量浓度峰值产生显著影响,温度、光照、初始生物量对其影响不显著。

### 3.2 磷酸盐添加藻细胞丰度对比

磷酸盐添加后,东海原甲藻在不同磷酸盐浓度组藻细胞丰度均增加,表明东海原甲藻更适宜在低磷环境中较好生存。中肋骨条藻在 0.1  $\mu\text{mol/L}$ 、1.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,  $A_1B_1C_1D_1$  (NO. 1)、 $A_2B_1C_2D_3$  (NO. 5) 在第一阶段培养周期内,叶绿素 a 质量浓度和藻细胞丰度处于低值,磷

酸盐添加未阻止藻细胞持续衰落;在 5.0  $\mu\text{mol/L}$ 、10.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组藻细胞快速分裂增殖,表明中肋骨条藻对磷酸盐利用效率高,较低磷酸盐浓度因不能满足其生长需求,藻细胞持续衰落,在较高磷酸盐浓度时藻细胞急剧增长,高磷酸盐浓度组的中肋骨条藻细胞丰度明显高于东海原甲藻。

### 3.3 荧光参数对比

两种微藻不同生长环境的荧光参数对比分析反映藻类的生长状况。东海原甲藻和中肋骨条藻细胞大小差异较大,东海原甲藻细胞长 15 ~ 22  $\mu\text{m}$ ,宽 9 ~ 14  $\mu\text{m}$ <sup>[33]</sup>,根据 SUN 等<sup>[34]</sup>得出:东海原甲藻细胞体积为 636 ~ 2 257  $\mu\text{m}^3$ ;中肋骨条藻细胞呈圆柱形,直径约 6 ~ 7  $\mu\text{m}$ ,细胞单体体积约 195  $\mu\text{m}^3$ <sup>[35]</sup>。细胞的体积越小,其比表面积越大,细胞的物质运输效率和对光子利用的效率更高。东海原甲藻较中肋骨条藻细胞比表面积小,物质运输效率和光照利用率低,从而东海原甲藻生物量随时间变化较中肋骨条藻稳定,中肋骨条藻更容易产生生物量的大起大落。

$F_v/F_m$  为最大光量子产量,反映植物进行光化学反应的最大潜力<sup>[6]</sup>,作为衡量光合活性的主要指标,在环境胁迫条件下会明显下降<sup>[36-37]</sup>。 $F_v/F_m$ 、 $\alpha$  具有显著的线性正相关关系, $y = 0.38x$ ,  $R^2 = 0.83$ ,  $n = 192$ ,  $P < 0.01$ ,东海原甲藻除  $A_4B_3C_2D_4$  (NO. 15) 持续下降,其他各组变化稳定, $F_v/F_m$  在值 0.5 上下波动, $\alpha$  在 0.2 上下波动,东海原甲藻体内存在磷库<sup>[19]</sup>,耐低磷胁迫能力更强;中肋骨条藻各组变化较大,由于对藻液中磷酸盐吸收利用强,分别于第 0、2、4 天快速达到峰值。 $rETR_{\max}$ 、 $I_k$  呈线性正相关,关系式为  $y = 0.36x + 583.88$ ,  $R^2 = 0.48$ ,  $n = 192$ ,  $P < 0.01$ 。两种微藻在 0.1  $\mu\text{mol/L}$ 、1.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组变化相对稳定,在 5.0  $\mu\text{mol/L}$ 、10.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组出现较大值且波动较大,表示高磷酸盐条件下相对电子转化速率和对光强的耐受力越大,在磷酸盐充足条件下对其温度、光照、初始生物量不同环境因子适应能力强。

中肋骨条藻在叶绿素 a 质量浓度降至 0  $\mu\text{g/L}$  时, $F_v/F_m$ 、 $\alpha$ 、 $rETR_{\max}$ 、 $I_k$  也降至 0 或在培养末期测得异常值,可能是因为叶绿素 a 浓度刚刚降至 0  $\mu\text{g/L}$ ,导致叶绿素荧光参数不稳定,更深层原因还有待开展更多实验研究。

结合实际海域赤潮发生时,磷酸盐浓度大都为 1.0  $\mu\text{mol/L}$ <sup>[38]</sup>,东海原甲藻  $A_3B_4C_2D_1$  (NO. 12) 的  $F_v/F_m$ 、 $\alpha$  始终维持较高水平,中肋骨条藻  $A_3B_4C_2D_1$  (NO. 12)、 $A_4B_3C_2D_4$  (NO. 15) 在第 2 ~ 6 天急剧下降,光合活性变弱,中肋骨条藻  $A_3B_4C_2D_1$  (NO. 12)、 $A_4B_3C_2D_4$  (NO. 15) 叶绿素 a 质量浓度和藻细胞丰度不断下降,在第一阶段培养周期内降至 0  $\mu\text{g/L}$ ,且磷酸盐的添加并未使叶绿素 a 质量浓度出现上升,未扭转藻细胞死亡。东海原甲藻  $A_3B_4C_2D_1$  (NO. 12) 叶绿素 a 质量浓度培养初期上升,第 2 天达到峰值,在培养周期内较稳定,磷酸盐添加后藻细胞稳定增长,各荧光参数均保持稳定。此时,接近现场海域日常磷酸盐浓度 ( $\leq 1.0 \mu\text{mol/L}$ ) 环境中,中肋骨条藻达到峰值浓度后逐渐衰落,若有营养盐的持续供给,往往东海原甲藻慢慢成长为优势种。

## 4 结论

(1) 在 0.1  $\mu\text{mol/L}$ 、1.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,东海原甲藻叶绿素 a 质量浓度峰值均值大于中肋骨条藻;在 5.0  $\mu\text{mol/L}$ 、10.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,中肋骨条藻生物量显著大于东海原甲藻。

(2) 本文实验中,两种赤潮高发藻最适宜的生长条件不同,东海原甲藻实验组最适宜生长条件为 17  $^{\circ}\text{C}$ 、120  $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、10.0  $\mu\text{mol/L}$ 、 $7 \times 10^4$  cells/mL,中肋骨条藻为 23  $^{\circ}\text{C}$ 、80  $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、10.0  $\mu\text{mol/L}$ 、 $5 \times 10^4$  cells/mL。对两种微藻叶绿素 a 质量浓度峰值产生极其显著影响的是磷酸盐 ( $P < 0.01$ ),其他 3 个环境因子温度、光照、初始生物量未对其产生显著影响。

(3) 磷酸盐添加表明:在 0.1  $\mu\text{mol/L}$ 、1.0  $\mu\text{mol/L}$  低磷环境中东海原甲藻能够生存,高初始生物量下中肋骨条藻细胞丰度难以维持,快速衰落;在 5.0 和 10.0  $\mu\text{mol/L}$  高磷环境中,中肋骨条藻较东海原甲藻快速增殖,增速最快,对磷酸盐利用能力强,6 ~ 8 天后开始衰落。

(4) 荧光参数的对比分析显示,10.0  $\mu\text{mol/L}$  磷酸盐浓度组,4 个荧光参数最大,光合活性最强,藻类叶绿素 a 质量浓度最高,生长条件最好。东海原甲藻荧光参数  $F_v/F_m$ 、 $\alpha$  较中肋骨条藻稳定,东海原甲藻体内存在磷库从而对低磷环境耐

受力强,故光合活性稳定;中肋骨条藻于培养初期快速达到峰值,对磷酸盐利用能力强,但衰落期更早,生物量衰落时间与荧光参数下降时间对应良好。由于两种细胞体积和比表面积的差异,东海原甲藻的光合活性在更大程度上受光照的影响,中肋骨条藻的光合活性在更大程度上受磷酸盐、光照的影响。

### 参考文献:

- [1] 曹洁茹, 桓清柳, 吴霓, 等. 光照、温度和氮磷限制对6种典型鱼毒性藻类生长及产毒的影响 [J]. 海洋环境科学, 2015, 34(3): 321-329.  
CAO J R, HUAN Q L, WU N, et al. Effects of temperature, light intensity and nutrient condition on the growth and hemolytic activity of six species of typical ichthyotoxicalgae [J]. Marine Environmental Science, 2015, 34(3): 321-329.
- [2] 谭志军, 颜天, 周名江. 有害赤潮藻对鱼类影响的研究进展 [J]. 水产学报, 2002, 26(6): 561-568.  
TAN Z J, YAN T, ZHOU M J. Current status of studies on the effects of harmful algae on fish [J]. Journal of Fisheries of China, 2002, 26(6): 561-568.
- [3] 陈舜, 佟蒙蒙, 江天久, 等. 赤潮灾害对水产养殖业损失的分级评估 [J]. 水产学报, 2009, 33(4): 610-616.  
CHEN S, TONG M M, JIANG T J, et al. The assessment of aquaculture loss caused by red tides [J]. Journal of Fisheries of China, 2009, 33(4): 610-616.
- [4] LU D D, GOEBEL J. Five red tide species in genus *Prorocentrum* including the description of *Prorocentrum donghaiense* Lu SP. nov. from the East China Sea [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2001, 19(4): 337-344.
- [5] LU D D, GOEBEL J, QI Y Z, et al. Morphological and genetic study of *Prorocentrum donghaiense* Lu from the East China Sea, and comparison with some related *Prorocentrum* species [J]. Harmful Algae, 2005, 4(3): 493-505.
- [6] 王志宝, 赵奎峰, 梁黎明, 等. 温度、盐度和硅酸钠浓度对中肋骨条藻生长的影响 [J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2018, 31(3): 275-282.  
WANG Z B, ZHAO K F, LIANG L M, et al. Effects of temperature, salinity and silicate density on growth of *Skeletonema costatum* [J]. Journal of Yantai University (Natural Science and Engineering Edition), 2018, 31(3): 275-282.
- [7] 邓光, 耿亚洪, 胡鸿钧, 等. 几种环境因子对高生物量赤潮甲藻——东海原甲藻光合作用的影响 [J]. 海洋科学, 2009, 33(12): 34-39.  
DENG G, GENG Y H, HU H J, et al. Effects of environmental factors on photosynthesis of a high biomass bloom forming species *Prorocentrum donghaiense* [J]. Marine Sciences, 2009, 33(12): 34-39.
- [8] 陈炳章, 王宗灵, 朱明远, 等. 温度、盐度对具齿原甲藻生长的影响及其与中肋骨条藻的比较 [J]. 海洋科学进展, 2005, 23(1): 60-64.  
CHEN B Z, WANG Z L, ZHU M Y, et al. Effects of temperature and salinity on growth of *Prorocentrum dentatum* and comparisons between growths of *Prorocentrum dentatum* and *Skeletonema costatum* [J]. Advances in Marine Science, 2005, 23(1): 60-64.
- [9] KALNAY E, KANAMITSU M, KISTLER R, et al. The NCEP/NCAR 40-year reanalysis project [J]. Bulletin of the American Meteorological Society, 1996, 77(3): 437-472.
- [10] RAMARAJ R, TSAIDD W, CHEN P H. Algae growth in natural water resources [J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2010, 42(4): 439-450.
- [11] DAVIDSON K, GOWEN R J, HARRISON P J, et al. Anthropogenic nutrients and harmful algae in coastal waters [J]. Journal of Environmental Management, 2014, 146: 206-216.
- [12] SIGNORINI S R, MCCLAIN C R. Environmental factors controlling the Barents Sea spring-summer phytoplankton blooms [J]. Geophysical Research Letters, 2009, 36(10): L10604.
- [13] 郭文霞, 丁洪昌, 严兴洪. 光强和温度对圆紫菜叶状体细胞发育分化的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2020, 29(2): 209-217.  
GUO W X, DING H C, YAN X H. The effects of light intensity and temperature on the development and differentiation of single somatic cells isolated from the gametophytic blades in *Pyropia suborbiculata* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2020, 29(2): 209-217.
- [14] CHAI C, YU Z M, SONG X X, et al. The status and characteristics of eutrophication in the Yangtze River (Changjiang) estuary and the adjacent East China Sea, China [J]. Hydrobiologia, 2006, 563(1): 313-328.
- [15] 金月梅. 氮磷限制对8株微藻叶绿素荧光特性及生长的影响 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008.  
JIN Y M. Effects of nitrogen and phosphorus limitation on the chlorophyll fluorescence and growth of eight microalga strains [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2008.
- [16] 宋娅婷, 林军, 沈敏, 等. 环境因子对中肋骨条藻生长及叶绿素荧光特性的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2020, 29(3): 346-354.  
SONG Y T, LIN J, SHEN M, et al. Effects of environmental factors on growth and chlorophyll fluorescence characteristics of *Skeletonema costatum* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2020, 29(3): 346-354.
- [17] 许珍, 殷大聪, 陈进, 等. 温度和光强对4种常见水华藻叶绿素荧光特性的影响 [J]. 长江科学院院报, 2017, 34(6): 39-44.  
XU Z, YIN D C, CHEN J, et al. Effects of temperature and

- illumination on chlorophyll fluorescence characteristics of four common bloom algae [J]. Journal of Yangtze River Scientific Research Institute, 2017, 34(6): 39-44.
- [18] 孙百晔, 王修林, 李雁宾, 等. 光照在东海近海东海原甲藻赤潮发生中的作用 [J]. 环境科学, 2008, 29(2): 362-367.
- SUN B Y, WANG X L, LI Y B, et al. Effects of irradiance on blooms of the dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense* Lu in the coastal area in East China Sea [J]. Environmental Science, 2008, 29(2): 362-367.
- [19] 周钦. 甲藻细胞磷库变化特征及赤潮生消周期内浮游生物群落结构变化研究 [D]. 温州: 温州大学, 2017.
- ZHOU Q. Studies on cellular phosphorus pool characteristics of dinoflagellates and changes in plankton community during the occurrence and vanishment process of algal blooms [D]. Wenzhou: Wenzhou University, 2017.
- [20] 纪鹏, 王伟隆, 黄旭雄. 不同 C/N 对绿球藻生长和细胞组分的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2020, 29(4): 542-551.
- JI P, WANG W L, HUANG X X. Effects of different C/N ratios on growth and cell biochemical components of *Chlorococum* sp. [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2020, 29(4): 542-551.
- [21] GUILLARD R R L, RYTHER J H. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* hustedt, and *detonulaconfervacea* (Cleve) gran [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1962, 8(2): 229-239.
- [22] EILERS P H C, PEETERS J C H. A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton [J]. Ecological Modelling, 1988, 42(3/4): 199-215.
- [23] 刘慧, 董双林, 方建光. 全球海域营养盐限制研究进展 [J]. 海洋科学, 2002, 26(8): 47-53.
- LIU H, DONG S L, FANG J G. The progress of nutrient salts control research in global oceans [J]. Marine Sciences, 2002, 26(8): 47-53.
- [24] 张传松, 王修林, 石晓勇, 等. 东海赤潮高发区营养盐时空分布特征及其与赤潮的关系 [J]. 环境科学, 2007, 28(11): 2416-2424.
- ZHANG C S, WANG X L, SHI X Y, et al. Seasonal variation and spatial distribution of nutrients and their relationships with harmful algal blooms in coastal area of the East China Sea [J]. Environmental Science, 2007, 28(11): 2416-2424.
- [25] 秦伯强, 高光, 朱广伟, 等. 湖泊富营养化及其生态系统响应 [J]. 科学通报, 2013, 58(10): 855-864.
- QING B Q, GAO G, ZHU G W, et al. Lake eutrophication and its ecosystem response [J]. Chinese Science Bulletin, 2013, 58(9): 961-970.
- [26] 霍文毅, 俞志明, 邹景忠, 等. 胶州湾中肋骨条藻赤潮与环境因子的关系 [J]. 海洋与湖沼, 2001, 32(3): 311-318.
- HUO W Y, YU Z M, ZOU J Z, et al. Outbreak of *Skeletonema costatum* red tide and its relations to environmental factors in Jiaozhou Bay [J]. Oceanologia Limnologia Sinica, 2001, 32(3): 311-318.
- [27] PLATT T, SATHYENDRANATH S. Estimators of primary production for interpretation of remotely sensed data on ocean color [J]. Journal of Geophysical Research: Oceans, 1993, 98(C8): 14561-14576.
- [28] LORENZEN C J. A method for the continuous measurement of in vivo chlorophyll concentration [J]. Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts, 1966, 13(2): 223-227.
- [29] KRAUSE G H, WEIS E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics [J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1991, 42(1): 313-349.
- [30] 郭瑾, 杨维东, 刘洁生, 等. 温度、盐度和光照对球形棕囊藻生长和产毒的影响研究 [J]. 环境科学学报, 2007, 27(8): 1341-1346.
- GUO J, YANG W D, LIU J S, et al. Effects of salinity, temperature and light intensity on the growth and toxin production of *Phaeocystis globosa* [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2007, 27(8): 1341-1346.
- [31] BISHOP D G. Chilling sensitivity in higher plants: the role of phosphatidylglycerol [J]. Plant, Cell & Environment, 1986, 9(8): 613-616.
- [32] 王爱军, 王修林, 韩秀荣, 等. 光照对东海赤潮高发区春季赤潮藻种生长和演替的影响 [J]. 海洋环境科学, 2008, 27(2): 144-148.
- WANG A J, WANG X L, HAN X R, et al. Effects of solar radiation on the growth and succession of harmful algae in the East China Sea in spring [J]. Marine Environmental Science, 2008, 27(2): 144-148.
- [33] 沈益绿. 东海原甲藻和米氏凯伦藻种间竞争对海水温度变化的响应机制 [D]. 上海: 华东师范大学, 2014.
- SHEN A L. Response mechanism of interspecific competition between *Prorocentrum donghaiense* and *Kareniamikimotoito* to the changes of seawater temperature [J]. Shanghai: East China Normal University, 2014.
- [34] SUN J, LIU D Y. Geometric models for calculating cell Biovolume and surface area for phytoplankton [J]. Journal of Plankton Research, 2003, 25(11): 1331-1346.
- [35] 林军, 朱建荣, 张经, 等. 长江口外海区浮游植物生物量分布及其与环境因子的关系 [J]. 水产学报, 2011, 35(1): 74-87.
- LIN J, ZHU J R, ZHANG J, et al. Distribution of phytoplankton biomass and its relationships with the environmental factors off the Changjiang (Yangtze River) Estuary [J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(1): 74-87.
- [36] RAE R, VINCENT W F. Phytoplankton production in subarctic lake and river ecosystems: development of a photosynthesis-temperature-irradiance model [J]. Journal of Plankton Research, 1998, 20(7): 1293-1312.

- [37] LIPPEMEIER S, FRAMPTON D M F, BLACKBURN S I, et al. Influence of phosphorus limitation on toxicity and photosynthesis of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) monitored by in-line detection of variable chlorophyll fluorescence [J]. *Journal of Phycology*, 2003, 39(2): 320-331.
- [38] 邹双燕. 福建海域东海原甲藻赤潮初探 [J]. *江西水产科技*, 2018, 157(1): 47-48.  
ZOU S Y. A preliminary study on the red tide of *Prorocentrum donghaiense* in the East China Sea in Fujian Sea [J]. *Jiangxi Fishery Sciences and Technology*, 2018, 157(1): 47-48.

## Comparison on the suitable growth conditions and chlorophyll fluorescence characteristics of *Prorocentrum donghaiense* and *Skeletonema costatum*

SHEN Min<sup>1</sup>, LIN Jun<sup>1,2</sup>, GUAN Yingying<sup>1</sup>

(1. College of Marine Ecology and Environment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Ocean Engineering Technology Research Center, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** In order to explore the suitable growth conditions and chlorophyll fluorescence parameters of two red algae *Prorocentrum donghaiense* and *Skeletonema costatum*, temperature (17, 20, 23, 26 °C) and light (40, 80, 120, 160  $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ), phosphate (0.1, 1.0, 5.0, 10.0  $\mu\text{mol/L}$ ), initial biomass ( $1 \times 10^4, 3 \times 10^4, 5 \times 10^4, 7 \times 10^4$  cells/mL), the algae culture experiment of the 4 factors with 4 levels was carried out. The results showed that the phosphate concentration ( $P < 0.01$ ) had the most significant effect on the peak chlorophyll a concentration of the two algae. And it was not significantly affected by light, temperature, and initial biomass. Phosphate addition experiment showed that in the low phosphate environment of 0.1  $\mu\text{mol/L}$  and 1.0  $\mu\text{mol/L}$ , the biomass and its stability of *Prorocentrum donghaiense* were higher than that of *Skeletonema costatum*. *Prorocentrum donghaiense* can survive after the high initial biomass depleting the phosphate, while the cell abundance of *Skeletonema costatum* declined continuously. In the environment of 5.0 and 10.0  $\mu\text{mol/L}$  high phosphate, *Skeletonema costatum* proliferated faster and with higher biomass than *Prorocentrum donghaiense*. The fluorescence parameters  $F_v/F_m$  and  $\alpha$  of *Prorocentrum donghaiense* were more stable than those of *Skeletonema costatum*, which showed the photosynthetic activity of *Prorocentrum donghaiense* was also stable. The smaller cell volume and larger specific surface area made *Skeletonema costatum* reach the peak value of biomass rapidly in the early stage of culture, which indicates that it has strong phosphate utilization ability. In the 10.0  $\mu\text{mol/L}$  phosphate group, the four fluorescence parameters were the largest and the photosynthetic activity was the strongest, so it is necessary to prevent and control eutrophication. The photosynthetic activity of *Prorocentrum donghaiense* was more affected by light, and the photosynthetic activity of *Skeletonema costatum* was more affected by phosphate and light.

**Key words:** *Prorocentrum donghaiense*; *Skeletonema costatum*; concentration of chlorophyll a; Chlorophyll fluorescence parameters