

微型浮游动物摄食实验——稀释法中浮游植物负生长的可能原因分析

周林滨^{1,2}, 谭烨辉¹, 黄良民¹

1. 中国科学院海洋生物资源可持续利用重点实验室, 广东 广州 510301; 2. 中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 稀释法(dilution technique)是研究微型浮游动物摄食和浮游植物生长的常用方法之一, 负值浮游植物生长率是稀释实验中常见的现象。分析了造成负值生长率出现的因素, 以及这些因素对实验结果的影响, 并提出了防止不利影响产生的措施。负值生长率的出现不能简单地视为实验失败的标志, 培养光照和温度条件、取样误差、无颗粒水污染、营养盐污染和限制等都可能造成负生长率的出现, 且对实验结果的影响不同。同时, 根据实验结果, 演示浮游植物光适应、取样误差、无颗粒水污染和加富营养盐对稀释实验的影响。结果显示, 光照条件可以改变细胞色素含量, 且不同浮游植物类群对光照条件的响应不同, 从而导致基于色素分析的稀释实验结果出现误差; 取样混合不均, 可造成取值偏低, 导致浮游植物生长率估值偏低, 甚至为负值, 但可能不影响对摄食率的估算。另外, 实验污染(无颗粒水和加富营养盐污染)往往会抑制浮游植物生长, 甚至造成浮游植物死亡。因此, 培养条件模拟和人为干扰控制是稀释实验成功的关键。

关键词: 稀释法; 浮游植物; 负生长率; 微型浮游动物摄食

中图分类号: Q178.53 文献标识码: A 文章编号: 1009-5470(2013)01-0048-07

Negative phytoplankton growth rates in dilution experiments and the possible causes

ZHOU Lin-bin^{1,2}, TAN Ye-hui¹, HUANG Liang-min¹

1. Key Laboratory of Marine Bio-resources Sustainable Utilization, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Dilution technique is one the most commonly-used methods for studies of microzooplankton grazing and phytoplankton growth. Negative phytoplankton growth rates were usually observed in dilution experiments. We reviewed the factors may accounting for these negative values, and analyzed their impact on the results of dilution experiments. Measures can avoid the adverse effects of these factors were reviewed and analyzed. We conclude that it is not reasonable to simply take the negative phytoplankton growth rate as the failure symbol of dilution experiments. A lot of factors including the light and temperature regimes during incubation, sampling error, contamination of particle-free water and the added nutrients, and nutrient limitation can lead to the negative rates of phytoplankton growth, and impact the results of dilution experiments differently. Simultaneously, we demonstrate the effects of phytoplankton photo-acclimation, sampling error, contamination of particle-free water, and nutrient enrichment on dilution experiments based on our experiments. The results indicate that change of light conditions can lead to the changing of cellular pigment content of phytoplankton, and specific groups of phytoplankton responded differently, thus lead to the underestimation or overestimation of dilution experiment results based on pigment analysis; insufficient mixing before pigment sampling may cause the underestimation of the phytoplankton biomass after

收稿日期: 2011-01-11; 修订日期: 2011-04-28。林强编辑

基金项目: 中国科学院创新方向资助项目(KZCX2-YW-T001); 国家自然科学基金(41130855; 41276162)

作者简介: 周林滨(1985—), 男, 山东省鄄城县人, 博士, 主要从事浮游生物生态学研究。E-mail: zhoulinbin2004@163.com

通信作者: 谭烨辉, 女, 湖南省沅江市人, 研究员, 主要从事海洋生态学研究。E-mail: tanyh@scsio.ac.cn

incubation, which lead to the underestimation of phytoplankton growth rate (even negative values), but may play no effect on the estimation of microzooplankton grazing rate; in addition, contamination from the added nutrients or particle-free water may inhibit phytoplankton growth, and even lead to phytoplankton death. In a word, the simulation of incubation conditions, and the control of man-made disturbance are critical factors for the success of the dilution experiment.

Key words: Dilution technique; phytoplankton; negative growth rate; microzooplankton grazing

传统观念认为, 浮游植物光合作用所固定的能量通过后生动物摄食向浮游食物链上层传递。然而, 微食物环(microbial loop)概念的提出^[1]及其研究的发展^[2], 改变了人们对浮游生物生态系统能量传递过程的认识。浮游植物所固定的大部分能量不能被后生浮游生物直接摄食, 而是以溶解有机物的形式进入微食物环, 或先被微型浮游动物(< 200 μ m)摄食, 再间接被后生浮游生物利用并向更高营养级传递。微型浮游动物包括多种生物类群, 是微食物环的重要组成部分。微型浮游动物摄食是微食物环与经典食物链连接的重要纽带。因此研究微型浮游动物的摄食可以帮助人们更好地认识浮游生态系统能量传递和物质循环过程。

可用于微型浮游动物摄食研究的方法很多, Gifford 综述评价了多种方法的优点和不足, 认为由 Landry 和 Hassert^[3]提出的稀释方法具有以下特点: 1)可量化; 2)能同时估算浮游植物内禀生长率和微型浮游动物摄食率; 3)对自然群落人为操纵干扰最小^[4], 是微型浮游动物摄食研究最为常用的方法之一^[5]。因此, 了解稀释法估算参数的特点对于正确应用稀释方法, 估算微型浮游动物摄食率具有重要意义。

虽然通常情况下稀释方法所估算的浮游植物内禀生长率为正值, 但是负值生长率也普遍出现^[6-12]。不同学者根据不同的实验条件给出不同的解释^[8,11-13]。然而, 目前还没有针对稀释实验中浮游植物负生长率出现的原因及其对稀释实验参数估算影响的系统报道。本文归纳总结了可能导致浮游植物负生长率出现的因素及其对稀释实验参数估算的影响程度, 以及避免不利影响应该采取的措施; 并通过我们的实验结果辅助说明浮游植物光适应、取样误差、无颗粒水污染和加富营养盐对稀释实验的影响。

1 稀释实验原理及参数估算

稀释实验原理是稀释实验设计和参数估算的基础。稀释实验^[3]有 3 个假设。首先, 浮游植物生长不受密度限制或其他浮游植物种类干扰, 即浮游植

物密度随稀释程度变化不改变浮游植物的生长率。其次, 浮游植物细胞被摄食的概率是微型浮游动物与猎物遭遇率的函数。这意味着自然的浮游植物密度不足以让微型浮游动物饱食, 并且某一微型浮游动物摄食浮游植物的数量与浮游植物密度正相关。最后, 浮游植物密度 P 随时间 t 呈指数方式变化。由以上假设可得关系式如下:

$$P_t = P_0 e^{(k-g)t} \quad (1)$$

$$\mu = k - gD \quad (2)$$

P_t 为 t 时刻浮游植物的密度; P_0 为初始浮游植物密度; 采用色素(如叶绿素 a)表示浮游植物密度具有操作便利、易于实现的优点, 为大多数稀释实验所采用。 μ 为浮游植物净生长率, 也称为表观生长率(apparent growth rate); k 为浮游植物内禀生长率, 本文简称为浮游植物生长率; g 为微型浮游动物摄食率; D 为稀释系数(dilution factor), 表示为自然水样所占的比例(范围为 0—1.0); 可通过加入同源的无颗粒水(particle-free water)改变稀释系数, 调节浮游动物对浮游植物的摄食压力。

由(1)和(2)可得

$$\mu = k - gD = (1/t) \ln(P_t/P_0) \quad (3)$$

一系列表观生长率 μ 值与对应稀释系数直线回归所得的截距与斜率的绝对值分别对应浮游植物生长率 k 和微型浮游动物摄食率 g 。

在富营养化的近岸及河口水域, 浮游植物密度很高, 往往发生微型浮游动物饱和性摄食(saturated grazing)现象, 浮游植物表观生长率不再随稀释系数直线性变化, 不能满足稀释实验的经典假设^[3], 需其他方法计算浮游植物生长率和微型浮游动物摄食率^[14]。本文只关注非饱和性摄食情况下浮游植物生长率与微型浮游动物摄食率的估算。

2 稀释实验设计

在实际实验中, 用与实验用水相同站位、层次的海水制取无颗粒水, 按照不同的自然水样与无颗粒水比例(如 1:0、3:1、1:1、1:3 等)配制不同稀释度的培养水样, 装入培养瓶中, 模拟自然条件^[7-8]或直

接把培养瓶放入自然水体中^[3]培养一定时间(如24h),根据培养前后不同稀释度样品中浮游植物浓度的变化,按照方程(3)回归得到浮游植物生长率和微型浮游动物摄食率。为保证浮游植物生长不受稀释度影响的假设成立,往往在培养瓶中加入额外的营养盐^[3],实验过程中不可避免地存在人为干扰和对自然条件的模拟不足,进而出现对浮游植物生长率和微型浮游动物摄食率估算的偏差。我们分析可能导致浮游植物生长率低估(甚至为负值)的人为和自然因素,并以现场实验(表1)说明部分因素的影响,探讨稀释实验中浮游植物负生长率的意义。以2008年南海北部实验结果说明光照对细胞色素含量的影响;以2009年5月南海南部 ns25 站位实验结果说明额外添加营养盐可能抑制浮游植物生长;并以2010年1月珠江口实验说明无颗粒水污染对浮游植物生长的不利影响。

2008年8月,选择南海北部3000m以深站位3个(E401、E404、E416)和海南岛东部200m以浅站位3个(E503、E511、E515),在甲板培养箱模拟现场条件进行24h培养实验(表1)。为最大限度地模拟自然条件,实验培养瓶(2.4L聚碳酸酯,每组两个平行)中未加富营养盐。培养期间未加盖中密度遮网,

以确保比现场较强的光照条件。取培养前后水样,用于流式细胞仪(BD FACSCalibur, 488nm激光激发)测定pico级浮游植物平均单细胞色素的变化。通过FL2(橙色荧光)和FL3(红色荧光),FL3(红色荧光)和SSC(side scatter, 侧向散射)双参数图判别聚球藻(*Synechococcus*)和pico-真核生物(pico-eukaryotes)类群。几何平均计算各类群平均单细胞的橙色和红色荧光值,对比培养前后荧光值的变化。其中红色荧光表征叶绿素含量。

2009年5月,南海南部站位 ns25, 具有较低的营养盐,尤其活性磷酸盐较低(表1)。取表层海水装入2.4L聚碳酸酯培养瓶中,对照组不加富,加富组加富 NH_4Cl , KH_2PO_4 和 FeSO_4 的终浓度分别为0.5、 $0.03\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.0\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。每组各两个平行,甲板培养箱培养24h。对比培养前后,及培养后加富组与对照组叶绿素a差异。

2010年1月,选择珠江口5个站位进行稀释实验。5个站位均具有较高的营养盐和叶绿素a浓度(表1)。取表层水,按照1:0、3:1、1:1、1:3比例配制不同稀释度的培养水样,装入2.4L聚碳酸酯培养瓶中(两个平行),在甲板培养箱培养24h,培养箱温度由泵吸循环海水控制。

表1 各实验站位基本信息

Tab. 1 Basic information of experimental sites

区域	站位	日期	经度	纬度	深度/m	取样层次	营养盐浓度/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$			Chla 浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	营养盐加富
							SiO_3^{2-}	$\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$	PO_4^{3-}		
南海北部	E401	2008-08-18	120.00°E	21.50°N	3024	表层	nd	nd	nd	0.048	未加富
南海北部	E404	2008-08-19	120.00°E	20.00°N	3625	表层	3.05	1.73	1.82	0.041	未加富
南海北部	E416	2008-08-27	115.50°E	18.00°N	3790	表层	2.53	1.15	2.01	0.036	未加富
南海北部	E503	2008-08-29	111.05°E	18.71°N	139	表层	2.62	1.52	2.13	0.034	未加富
南海北部	E515	2008-08-30	111.80°E	18.79°N	208	表层	2.52	1.45	2.13	0.062	未加富
南海北部	E511	2008-08-31	110.88°E	19.25°N	62	表层	3.29	1.43	1.88	0.048	未加富
南海南部	ns25	2009-05-28	112.00°E	7.00°N	2025	表层	6.82	1.46	0.06	0.036	加富*
珠江口	w2	2010-01-11	113.68°E	22.64°N	8	表层	134.64	345.07	1.77	0.548	未加富
珠江口	w9	2010-01-12	113.74°E	22.34°N	7	表层	53.36	54.99	1.72	1.295	未加富
珠江口	w17	2010-01-13	113.55°E	22.01°N	10	表层	54.86	58.54	1.39	1.304	未加富
珠江口	w20	2010-01-14	113.72°E	21.98°N	19	表层	16.60	11.27	0.74	1.849	未加富
珠江口	w14	2010-01-14	113.82°E	22.10°N	23	表层	19.98	8.53	0.96	3.142	未加富

注: *表示加富营养盐(终浓度 NH_4Cl 为 $0.5\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 为 $0.03\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, FeSO_4 为 $1.0\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$); 表中 nd 表示无数据

3 浮游植物负生长率的产生原因及对策

稀释实验中培养光照、温度条件,取样误差,实验污染,营养盐等都可能导致负值浮游植物生长率的出现,且对稀释实验参数的估算有不同影响。

因此为防止不利因素的出现,需要采取不同的对策。

3.1 光照和温度

光照和温度能够直接影响浮游植物细胞的色素含量^[11, 15],甲板培养光照和温度条件往往有别于采样海域,光照和温度条件的改变会导致浮游植物细

胞色素含量的变化, 发生浮游植物光或温度适应现象。当培养环境中的光照或/和温度条件与实际光照温度条件有差异时, 就有可能使浮游植物细胞色素含量降低(也可能升高)。在此情况下, 即使培养后浮游植物生物量比培养前有所增加, 色素(如叶绿素 a)指标所反映的浮游植物浓度仍可能低于培养前的值, 此时得出的浮游植物表观生长率为负值。由负值表观生长率与稀释系数回归所得出的浮游植物生长率就可能为负值。在此种情况下, 得出的微型浮游动物摄食率仍然具有意义。并且由光照和温度改变所导致的负值浮游植物生长率一般绝对值较小^[16]。

现场培养模拟自然环境可以减少由光照和温度改变引起的浮游植物色素的变化^[4], 从而避免由此引起的负值浮游植物生长率的发生。用锚定的方法, 使培养瓶与采水深度一致可最大限度地模拟现场条件(称为原位培养)。然而原位培养操作相对复杂, 且需要船舶长时间锚定, 如此则会明显增加船时(培养周期一般为 24h), 并且在深水区锚定十分困难; 另外, 有证据表明甲板模拟现场光照和水温条件的培养效果不逊于原位培养^[8], 因此多数现场实验都采用甲板培养箱培养的方式, 通过泵取自然海水来控制培养温度, 加盖中密度遮网控制光照。

对于甲板培养箱培养方式而言, 往往只能模拟表层海水温度, 虽然基本无需考虑温度变化对表层浮游植物细胞色素含量的影响, 但表层水温往往高

于更深层次的自然海水温度。并且, 人为控制的恒温或变温条件, 则可能出现对自然水体温度的模拟不足。如河口或近岸等不便于甲板培养的区域, 往往需要采集水样后, 在陆地模拟培养^[17]。

甲板上的光照往往比采水层强, 较强的光照容易使浮游植物发生光适应, 浮游植物细胞色素含量发生变化。此时可在培养箱上加盖中密度遮网, 模拟自然光照强度。虽然采取了以上措施, 仍然有可能发生浮游植物光适应, 可采集样品用流式细胞仪测定培养前后某些浮游植物类群的色素含量的变化情况, 以此确定是否发生浮游植物光适应^[8], 并可根据单细胞色素荧光变化修正对浮游植物生长率的估算^[18-19], 如图 1 所示。

尽管甲板面往往比水体具有更强的光照条件, 然而出乎意料的是, 除 E503 站 pico-真核生物与聚球藻细胞色素值都减少以外, 其余绝大多数站位培养后的细胞色素值都有所增加(图 1), 似乎强光条件有利于细胞色素的增加, 这与通常认为的强光使细胞色素含量减少的认识相悖。总体上看, pico-真核生物与聚球藻培养后的红色荧光值都较培养前显著地增加(P 值分别为 0.018 和 0.007), 然而两种类群的红色荧光值变化程度有所差异(图 1)。遗憾的是我们未能测定培养期间光照强度的变化, 无法定性地确定培养光照强度与采样水体光照强度的差异。可以肯定的是, 培养前后 pico-真核生物和聚球藻的细胞色素含量发生了明显变化。

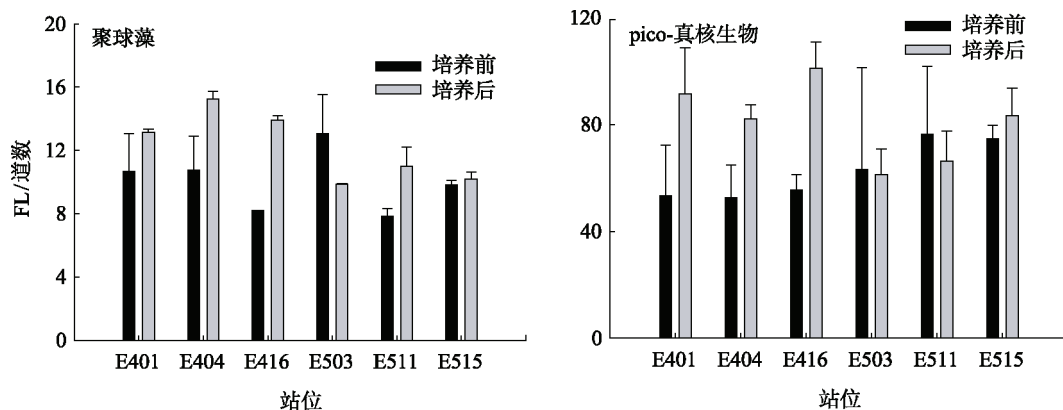


图 1 培养前后聚球藻和 pico-真核生物单细胞红色荧光的变化

FL 表示红色荧光值

Fig. 1 Cellular red fluorescence of *Synechococcus* and pico-eukaryotes before and after incubation.

由上可知, 甲板培养光照条件的改变确实可以导致浮游植物细胞色素的变化, 从而影响基于色素估算的稀释实验结果。并且不同浮游植物类群对光照条件改变的响应不同, 因此很难根据某一浮游植

物类群单细胞色素的变化去校正所有浮游植物平均细胞色素的变化。用高效液相色谱法 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) 进行色素分析结合稀释实验具有可以测定不同浮游植物类

群的生长率和微型浮游动物对其摄食率的优点,然而我们的实验结果表明培养前后浮游植物细胞色素含量的变化可能使 HPLC 方法的估算结果出现偏差,应该引起注意。细胞计数可以避免色素变化的干扰,但传统显微计数工作费时不便,流式细胞方法受测定粒径范围的限制。因此,控制培养条件,尽量模拟自然环境,对基于色素分析的稀释实验至关重要。

3.2 取样前未充分混合

取样前混合不充分,链状大型硅藻的聚集和沉降也可能是导致浮游植物负值生长率出现的因素^[8, 11]。此种情况会导致采样代表性不足,即采样所反映的浮游植物生物量值往往低于实际值,从而有可能导致负值生长率的出现。混合不充分、藻类聚集和沉降在近岸和上升流区域容易出现,需要特别注意。从理论上讲,只要采样前由不充分的混合、藻类聚集和沉降等原因造成的采样代表性(采样值与实际值的比例)不足在各个稀释度相同,就不会影响对微型浮游动物摄食率的估算。如图 2 所示:表观生长率 $\mu = \ln(a_1/a_0)$, a_1 为培养后浮游植物量, a_0 为培养前浮游植物量;如果各梯度采样值与实际值的比例即 b 值相同,且 $b < 1$,那么所得各稀释度表观生长率与实际表观生长率都相差 $|\ln b|$ 。因此由稀释法得出的浮游植物生长率(图 2 直线的截距)偏低,而微型浮游动物摄食率不受影响(图 2 直线的斜率)。

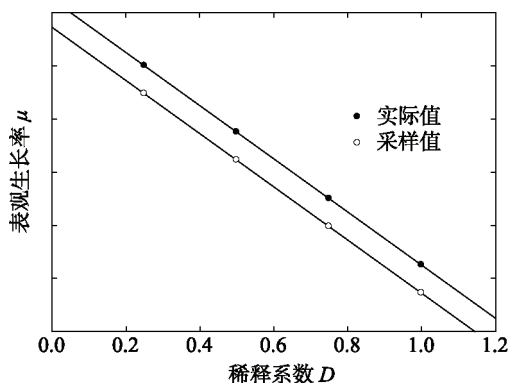


图 2 非充分混合或浮游植物光适应对稀释实验参数的影响示意图

各稀释度浮游植物生物量实际值与采样值的比率相同。两回归线具有相同的斜率,说明所反映的微型浮游动物摄食率相同

Fig. 2 The schematic showing the impact of insufficient mixing or phytoplankton photo-acclimation on the parameters of dilution experiment

然而,取样前混合不均造成的浮游植物生长率的明显低估,甚至为负值,使浮游植物生长率数据不可信,进而导致基于浮游植物生长率的各种参数(微型浮游动物对浮游植物现存量和潜在初级生产

的摄食压力^[20-23]、微型浮游动物次级生产力^[16]等)估算无法进行,限制整体数据的应用价值。因此取样前充分的摇匀是防止此类误差发生的关键。需要注意的是,过多的人为干扰(如搅动)等可能造成微型浮游动物的死亡,由此可能导致稀释实验失败。因此培养前取样应即保证充分的混合,又不能对微型浮游动物过多干扰,搅拌或摇动需掌握力度(以不产生气泡为宜)与时间。

3.3 实验污染

培养瓶毒性或者采水及过滤过程中的污染也可能是浮游植物细胞死亡,进而出现负值生长率的原因^[8, 13]。培养瓶毒性主要来自于培养瓶材质及其体积。使用无生物毒性的材质(如聚碳酸酯),体积尽量大的培养瓶可减少培养瓶毒性发生的可能。每次实验前的清洁程序可减少污染风险^[3]。

以 Liu 等^[8]的实验方法为基础,建议清洁程序如下:

1) 每个航次前所有的培养瓶、过滤器、管线及其他容器都必须在 10% (体积比) 的盐酸溶液中浸泡 10 个小时以上,随后用去离子水、超纯水(milli-Q water)彻底润洗;

2) 在制备无颗粒水时,先过滤的若干升无颗粒水废弃不用,可避免污染;3) 每次实验后的培养瓶、过滤器、管线及其他容器应先后用淡水、10% 的盐酸溶液、去离子水和超纯水清洗干净,再用于下一次实验。

制备无颗粒水污染,会明显影响实验结果,使回归参数所表示的浮游植物生长率和微型浮游动物摄食率都为负值,导致实验失败。2010 年 1 月,在珠江口水域的 5 个站位的实验就发生了无颗粒水污染的状况。表现为浮游植物表观生长率随稀释系数的增加而直线增加,未稀释组表观生长率为正值或近似为 0,加入无颗粒水的稀释组都出现了负值表观生长率。由回归直线截距所反映的浮游植物生长率为负值(-1.19d^{-1}),斜率所反映的微型浮游动物摄食率也为负值(-1.28d^{-1})(图 3)。后经检查发现,承接无颗粒水的容器曾受到三氯乙酸(TCA)污染。虽然实验前对该容器进行了酸浸处理,但仍有少许 TCA 残留。低浓度的 TCA 往往被用来杀灭细菌,正是 TCA 污染了无颗粒水,导致了浮游植物的死亡,因而出现负值浮游植物生长率。因此,某些情况下,先用无残留清洗剂清洗无颗粒水制备器具是必要的。

3.4 营养盐污染及限制

为满足稀释实验中各稀释度浮游植物生长不受

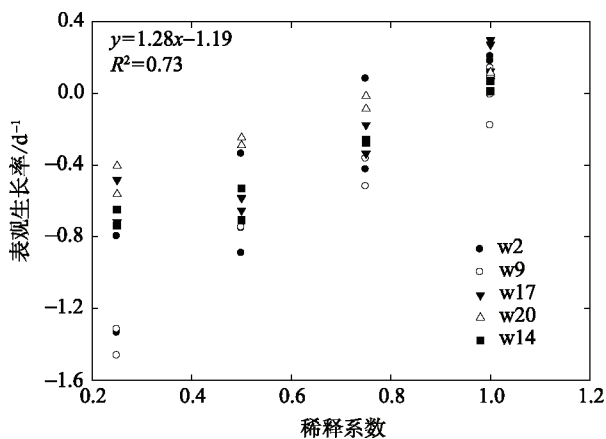


图3 无颗粒水污染后表观生长率与稀释系数的关系

Fig. 3 The relationship between apparent growth rate and dilution factor when particle-free water is contaminated.

营养盐限制的假设,通常在稀释实验培养瓶中加入额外的营养盐。而额外添加营养盐造成营养盐与原采样海域不同,可能会导致浮游植物粒径或种类组成的改变,或浮游生物毒害。并且营养盐本身或营养盐存储容器可能有污染^[3],也会造成浮游生物毒害。此种情况在寡营养海域更容易发生,因为那里的浮游生物比较脆弱。2009年5月,我们在南沙海域 ns25 站位 (112°E、7°N) 进行培养实验,相同条件培养 24h 后发现,加富组叶绿素 a 小于对照组(图 4),很有可能是营养盐毒害的结果。另外在营养盐极度贫乏的情况,加富营养盐不能立即(24h 内)促进浮游植物的生长,浮游植物甚至不生长^[7],此时则可能观测到负值的浮游植物生长率。因此,控制加富营养盐的质量,防止营养盐污染(如用离子交换树脂除去重金属离子^[24]),并延长培养时间是减少加富营养盐可能产生的不利作用的途径。但增加了实验的难度,不容易实现。

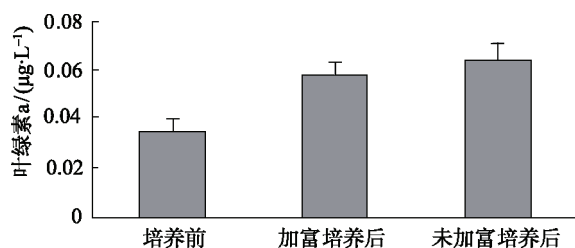


图4 添加营养盐对浮游植物叶绿素 a 含量的影响

Fig. 4 Adverse impact of nutrient enrichment on phytoplankton growth

另外,营养盐较低或缺乏也可导致负值浮游植物生长率的出现^[11, 25]。现场围隔实验添加营养盐,使围隔水体达到富营养水平,可引起藻华。随着时间的推移,水体中的营养盐被藻类吸收积累于藻体。水体中的营养盐水平开始降低甚至缺乏^[26],无法维持藻类的现存量。此时出现藻华衰退,大量的藻类细胞死亡。在此情况下用稀释法所测定的微型浮游动物摄食率也往往不显著,甚至为负值。藻华后期营养盐限制阶段稀释实验是否仍然具有意义,目前没有报道,但是我们认识是有意义的。以下研究可以证实这一点。

2008年7月,在粤东大陆架海域进行的稀释实验,培养瓶中未添加额外的营养盐,大多数实验结果都显示浮游植物生长率为负值^[27],然而不同于围隔实验的是,此时仍能得出显著($P < 0.05$)的微型浮游动物摄食率。我们认为,稀释实验正处在上升流减弱或衰退所导致的藻类衰退期。营养盐缺乏不能维持原有的高浮游植物量,浮游植物因营养盐不足而直接死亡,或因营养盐不足而抵抗力下降,被病毒感染分解而死亡^[11],因而出现浮游植物负生长。Sherr 等^[19]认为藻华后期浮游植物衰老是浮游植物负值生长率出现的原因,也支持这一观点。尽管营养盐缺乏,水体中所积累的足够的浮游植物现存量,仍能满足微型浮游动物的摄食。也就是说在藻华衰退期,微型浮游动物摄食仍发挥作用,加速藻华的衰退。在浮游植物负生长情况下,用稀释法探讨微型浮游动物摄食是可行的。

4 结语

培养光照和温度、取样误差、营养盐污染及限制等都可能造成稀释实验中负值浮游植物生长率的出现。各因素对实验结果的影响程度不同,不能把负值浮游植物生长率的出现作为实验失败的标志。影响稀释实验的因素较多,培养条件模拟质量和减少人为干扰是实验成功的关键,谨慎细致的操作是保障实验质量的基础。另外需要注意的是,浮游植物负生长可发生在自然水体,添加营养盐可能会干扰或掩盖自然过程,因此,根据实验目的和条件的不同,要斟酌是否添加营养盐。

参考文献

[1] AZAM F, FENCHEL T, FIELD J G, et al. The ecological role of water-column microbes in the sea[J]. Mar Ecol Prog Ser,

1983, 10: 257-263.

[2] LENZ J. Microbial loop, microbial food web and classical

- food chain; their significance in pelagic marine ecosystems[J]. *Archiv für Hydrobiologie, Beiheft, Ergebnisse der Limnologie*, 1992, 37: 265–278.
- [3] LANDRY M R, HASSETT R P. Estimating the grazing impact of marine micro-zooplankton[J]. *Mar Biol*, 1982, 67: 283–288.
- [4] GIFFORD D J. Impact of grazing by microzooplankton in the Northwest Arm of Halifax Harbour, Nova Scotia[J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1988, 47: 249–258.
- [5] LESSARD E J, MURRELL M C. Microzooplankton herbivory and phytoplankton growth in the northwestern Sargasso Sea[J]. *Aquat Microb Ecol*, 1998, 16: 173–188.
- [6] BURKILL P H, MANTOURA R F C, LLEWELLYN C A, et al. Microzooplankton grazing and selectivity of phytoplankton in coastal waters[J]. *Mar Biol*, 1987, 93: 581–590.
- [7] PARANJAPE M A. Grazing by microzooplankton in the eastern Canadian arctic in summer 1983[J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1987, 40: 239–246.
- [8] LIU H, SUZUKI K, SAINO T. Phytoplankton growth and microzooplankton grazing in the subarctic Pacific Ocean and the Bering Sea during summer 1999[J]. *Deep-Sea Res I*, 2002, 49: 363–375.
- [9] STROM S L, FREDRICKSON K A. Intense stratification leads to phytoplankton nutrient limitation and reduced microzooplankton grazing in the southeastern Bering Sea[J]. *Deep-Sea Res II*, 2008, 55(16-17): 1761–1774.
- [10] LOEBL M, BEUSEKON J E E V. Seasonality of microzooplankton grazing in the northern Wadden Sea[J]. *J Sea Res*, 2008, 59: 203–216.
- [11] SUZUKI K, TSUDA A, KIYOSAWA H, et al. Grazing impact of microzooplankton on a diatom bloom in a mesocosm as estimated by pigment-specific dilution technique[J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2002, 271: 99–120.
- [12] LIE A A Y, WONG C K. Selectivity and grazing impact of microzooplankton on phytoplankton in two subtropical semi-enclosed bays with different chlorophyll concentrations[J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2010, 390(2): 149–159.
- [13] LANDRY M R, CONSTANTINOU J, KIRSSTEIN J. Microzooplankton grazing in the central equatorial Pacific during February and August, 1992[J]. *Deep-Sea Res* 1995, 42: 657–671.
- [14] GALLEGOS C L. Microzooplankton grazing on phytoplankton in the Rhode River, Maryland: nonlinear feeding kinetics[J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1989, 57: 23–33.
- [15] GEIDER R J, MACINTYRE H L, and KANA T M. A dynamic regulatory model of phytoplanktonic acclimation to light, nutrients, and temperature[J]. *Limnol Oceanogr*, 1998, 43: 679–694.
- [16] LANDRY M R, CALBET A. Microzooplankton production in the oceans[J]. *ICES J Mar Sci*, 2004, 61: 501–507.
- [17] 孙军, 宋秀贤, 殷克东, 等. 香港水域夏季微型浮游动物摄食研究[J]. *生态学报*, 2003, 23(4): 712–724.
- [18] CHEN B, LIU H, LANDRY M R, et al. Close coupling between phytoplankton growth and microzooplankton grazing in the western South China Sea[J]. *Limnol Oceanogr*, 2009, 54(4): 1084–1097.
- [19] SHERR E B, SHERR B F, HARTZ A J. Microzooplankton grazing impact in the Western Arctic Ocean[J]. *Deep-Sea Res II*, 2009, 56: 1264–1273.
- [20] 李超伦, 孙松, 吉鹏, 等. 南极普里兹湾边缘浮冰区微型浮游动物的摄食及其氮的排泄[J]. *海洋与湖沼*, 2000, 31(6): 657–663.
- [21] 孙军, 刘东艳, 王宗灵, 等. 春季赤潮频发期东海微型浮游动物摄食研究[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(7): 1073–1080.
- [22] 苏强, 黄良民, 谭烨辉, 等. 南海北部秋季微型浮游动物摄食和种类组成的初步研究[J]. *海洋科学通报*, 2007, 9(2): 43–53.
- [23] 王学峰, 李纯厚, 贾晓平, 等. 大亚湾春季微型浮游动物摄食研究[J]. *南方水产*, 2006, 2(5): 30–35.
- [24] SEDWICK P N, BLAIN S, QU GUINER B, et al. Resource limitation of phytoplankton growth in the Crozet Basin, Subantarctic Southern Ocean[J]. *Deep-Sea Res II*, 2002, 49: 3327–3349.
- [25] 曾祥波, 黄邦钦. 围隔实验研究台湾海峡 2005 年夏季小型浮游动物对硅藻水华的摄食[J]. *海洋学报*, 2008, 30(6): 140–146.
- [26] IRIGOIEN X, FLYNN K J, HARRIS R P. Phytoplankton blooms: a 'loophole' in microzooplankton grazing impact? [J] *J Plankton Res*, 2005, 27(4): 313–321.
- [27] ZHOU L, TAN Y, HUANG L, et al. Phytoplankton growth and microzooplankton grazing in the continental shelf area of northeastern South China Sea after Typhoon Fengshen[J]. *Cont Shelf Res*, 2011, 31: 1663–1671.