

doi: 10.7541/2016.15

磷浓度对小环藻、大型溞和金鱼藻三者相互作用的影响

靳萍¹ 徐婷婷¹ 杨佩昀¹ 高伟¹ 王洁玉¹ 马剑敏^{1,2}

(1. 河南师范大学生命科学学院, 新乡 453007; 2. 河南师范大学中原文化生态研究中心, 新乡 453007)

摘要: 为了解磷浓度对水生植被恢复和生物操纵效果的影响, 分别用小环藻(*Cyclotella* sp.)、大型溞(*Daphnia magna*)和金鱼藻(*Ceratophyllum demersum*)代表浮游植物、浮游动物和大型沉水植物建立水生微宇宙模型, 在25℃、2600 lx光强和11 mg/L氮浓度条件下, 分别研究小环藻与大型溞、小环藻与金鱼藻、小环藻-大型溞-金鱼藻共培养时4种磷浓度(0.05、0.1、0.5和2 mg/L)下小环藻、大型溞、金鱼藻的增长率以及培养液中氮磷去除率的变化。结果表明: 小环藻与大型溞、小环藻与金鱼藻两两共培养时, 磷浓度为0.05—2 mg/L时, 金鱼藻和大型溞均生长良好, 小环藻受到明显抑制, 其密度保持较小幅度的正增长。在小环藻-大型溞-金鱼藻三者共培养时, 在0.05—2 mg/L的磷浓度范围内大型溞和金鱼藻生长良好, 与两两共培养相比, 小环藻则受到了更大程度的抑制, 在磷浓度为0.05—0.1 mg/L时藻密度呈现负增长。这说明在水生生态系统中, 大型浮游动物和沉水植物对浮游藻类的联合控制效果远好于各自单独的控制效果, 该控制效果随磷浓度的提高而减弱, 以≤0.1 mg/L的磷浓度为最佳。在实验结束后测定氮磷去除率发现, 在最低磷浓度(0.05 mg/L), 即磷限制时, 水中磷去除率最高, 在最高磷浓度(2 mg/L), 即氮限制时, 水中氮去除率最高。

关键词: 小环藻; 大型溞; 金鱼藻; 磷浓度; 生物操纵

中图分类号: Q178.1; X171 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2016)01-0103-06

目前, 水体富营养化已经成为我国一个较为突出的环境问题。据统计, 我国因氮磷污染而导致富营养化的湖泊占统计湖泊的56%。严重的富营养化可造成水生态结构的破坏, 加快水体老化过程。如何控制水体富营养化以及随之而来的水华暴发则成为环境科学、淡水生态学和湖沼学研究的热点之一^[1]。大量研究表明, 生态修复是控制水华的有效方式, 可以通过重建大型水生植物和实施生物操纵两种措施来完成^[2]。恢复和重建水生高等植物被普遍认为水环境污染治理和维持清洁水体的重要手段。而这两种措施能否实施的关键是水体磷负荷阈值, 因为水体中溶解磷酸盐不但对浮游植物生物量造成影响, 还会对群落组成, 特别是浮游植物丰度产生重要影响^[3]。

但在什么磷浓度范围下生物操纵的效果较好, 学者们的看法不尽相同, 国外有研究者认为生物操纵在磷浓度0.05—0.15 mg/L时才能取得较好效果^[4], 而另一些学者认为该范围是0.05—0.25 mg/L^[5], 但这个结论能否适用于我国的水体值得进一步验证。同时, 磷浓度对大型水生植物的成活和生长也有显著影响, 水中的磷浓度超过某一范围后, 湖泊生态系统就会由清洁型草型稳态转化为浑浊型藻型稳态^[6]。因此磷浓度对浮游植物、浮游动物和大型水生植物相互作用的影响有必要进行研究。

本研究室曾分别以大型溞(*Daphnia magna*)和金鱼藻(*Ceratophyllum demersum*)作为浮游动物和大型沉水植物的代表, 先后以小球藻(*Chlorella vulgaris*)和铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)作为

收稿日期: 2014-12-31; 修订日期: 2015-04-27

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2012ZX07101007-005); 河南省重点科技攻关项目(152102310087); 河南省教育厅科学技术重点研究项目(14B180009)资助 [Supported by the Chinese State Major Science and Technology Program for Water Pollution Control and Treatment (No. 2012ZX07101007-005); the Key Science and Technology Research Project of Henan Province (No.152102310087); the Key Science And Technology Research Project of the Education Department of Henan Province (No. 14B180009)]

作者简介: 靳萍(1969—), 女, 河南滑县人; 大学本科, 实验师; 主要从事环境生物学方面的研究。E-mail: jinping@htu.cn

通信作者: 马剑敏, E-mail: mjm6495@sina.com

浮游植物代表, 建立水生微宇宙, 研究了磷浓度对三者间相互作用的影响^[7, 8], 还在模拟自然条件下初步探讨了氮、磷浓度对小球藻、大型溞和金鱼藻三者间相互作用的影响^[9], 初步发现了磷浓度对藻-溞-草三者间相互作用影响的一般规律。为使该研究更加全面, 本实验再选取硅藻类代表——小环藻(*Cyclotella* sp.)作为浮游植物代表, 继续进行该研究, 为生物操纵技术的有效实施、控制水华和水体生态修复提供更充分理论依据。小环藻是一种较常见的单细胞浮游硅藻, 可生活于淡水、咸水或半咸水中, 适应性较强, 对温度和光照的要求不高, 常在早春大量出现, 春末至秋季生殖速度较快, 有时形成硅藻水华。

1 材料与方法

1.1 实验材料与培养

本实验所用的小环藻(FACHB-1654)购自中国科学院野生生物种质库——淡水藻种库。使用D1培养基^[10]进行培养保存, 培养于光照培养箱中, 温度25℃, 光照强度2600 lx, 光暗比14h:10h。

大型溞: 由本研究室长期培养。实验前选取健康大型溞进行单独培养驯化, 得到同一母体繁殖的纯种大型溞。驯化条件为温度25℃, 光照强度2600 lx, 光暗比14h:10h, 以小环藻作为饵料饲养, D1培养基进行培养。在实验中所选取的实验材料是体积相似的幼龄大型溞, 通常出生不到24h。

金鱼藻: 采自新乡市牧野湖近岸水域。采集后在实验室用蒸馏水冲洗数次, 洗去表面附着的生物及泥土, 然后用D1培养基进行培养。培养条件同上述大型溞和小环藻。培养数周之后, 截取生长旺盛, 颜色和长势类似的顶枝作为实验材料。

预实验发现使用D1培养基单独培养小环藻、金鱼藻、大型溞, 它们的生长状况良好, 均不受抑制。因此本研究以D1培养基为基础, 用硝酸钾和磷酸二氢钾配制氮浓度为11 mg/L、磷浓度分别为0.05、0.1、0.5和2 mg/L的梯度培养液, pH调至7.5。所用器材和培养液均高压灭菌。

接种方法: 先将保存的小环藻液提取一部分进行扩大培养, 培养20d后, 将藻液离心, 3000 r/min, 10min, 去除上清液, 再将藻种沉淀物用蒸馏水再悬浮, 如此重复3次, 将最后收集到的小环藻液接种到无氮磷的D1培养液中进行饥饿培养, 2d后将处理过的藻液进行离心, 3000 r/min, 10min, 去除上清液, 再将藻种沉淀物用蒸馏水再悬浮, 如此重复3次, 将最后收集到的小环藻液, 按实验所需密度接种到不同处理后的培养基中。所有操作均在无菌条件下进行。

小环藻初始密度的确定: 在250 mL的锥形瓶中加入150 mL D1培养液及5个大型溞, 设置小环藻的初始密度梯度为 10^3 、 10^4 、 10^5 和 5×10^5 ind./mL (每个梯度设3个重复), 培养10d, 根据各梯度大型溞的数量变化情况(表 1), 确定小环藻的密度为 10^5 ind./mL时, 最适宜大型溞的生长和繁殖。

1.2 实验设置

小环藻的单独培养预实验 根据上述实验所确定的适宜的小环藻密度, 将处于对数生长期的藻种接种到盛有150 mL D1培养液的250 mL三角瓶中, 培养条件25℃, 2600 lx, 培养20d, 每个处理设3个重复, 隔天添加适量培养液以补充营养盐消耗。实验结束后测量小环藻密度变化。

小环藻和大型溞共培养 将处于对数生长期的的小环藻液接种到盛有150 mL D1培养液(有4个磷浓度梯度)的250 mL三角瓶中, 放入5个健康、一致的大型溞, 设3个重复, 置于2600 lx、25℃条件下培养20d, 隔天添加适量培养液。测定实验前后各培养液中的氮、磷浓度, 以及20d后大型溞的数目和小环藻的密度。

金鱼藻和小环藻共培养 将处于对数生长期的的小环藻液接种到盛有800 mL D1培养液(有4个磷浓度梯度)的1 L三角瓶中, 再放入湿重为1 g的金鱼藻茎尖, 设3个重复, 置于2600 lx、25℃条件下培养20d, 隔天添加适量培养液。测定实验前后各培养液中的氮、磷浓度, 以及20d后金鱼藻的质量和和小环藻的密度。

表 1 大型溞在不同密度的小环藻中培养时的数量变化

Tab. 1 The number's change of *D. magna* cultured in different *Cyclotella* sp. density

项目 Item	小环藻密度 Density of <i>Cyclotella</i> sp. (ind./mL)				
	0	10^3	10^4	10^5	5×10^5
初始大型溞数目(个) Initial number of <i>D. magna</i>	5	5	5	5	5
培养后大型溞数目(个) End number of <i>D. magna</i>	2	4	42	63	7

小环藻、大型溞和金鱼藻三者共培养 培养方法和条件同上述金鱼藻和小环藻共培养, 只是同时在培养液中加入了5个健康、一致的大型溞, 同样测定实验前后各培养液中的氮、磷浓度, 以及20d后三者各自的密度或质量。

1.3 实验监测

小环藻细胞密度的测定: 用分光光度计在可见光波长范围扫描小环藻藻液的吸光值, 确定其最大吸收峰的波长为674 nm。以相同条件培养三瓶小环藻14d, 每隔2天测定藻液的吸光值(A), 同时在显微镜下计数小环藻密度, 得到小环藻的细胞密度与吸光值 A 间的回归方程: $y=42.346x-1.6933$, 其中 x 为吸光值, y 为藻细胞密度($\times 10^5$ ind./mL), $R^2=0.9555$, $P<0.05$, 可以用吸光值反映藻细胞密度。

大型溞数目: 用肉眼直接计数。

金鱼藻生物量: 吸去植株表面水分后称其鲜重测得。

总氮和总磷测定: 藻培养液离心后上清液用于测定总氮和总磷^[8], 氮磷测定按标准方法进行^[11]。

1.4 数据处理

小环藻、大型溞和金鱼藻增长率的计算公式和方法参考靳萍等^[12]。作图及数据统计分析用SPSS 19.0进行。

2 结果

2.1 小环藻的单独培养实验

对小环藻进行单独培养后, 测得小环藻在不受氮磷胁迫, 不受生物胁迫的情况下生长20d, 增长率为253.13。

2.2 小环藻和大型溞共培养

图1显示, 在各个磷浓度下小环藻的增长率均小于200%, 大型溞的增长率远远大于小环藻, 可见磷浓度 ≤ 2 mg/L时, 大型溞对小环藻密度增加具有明显抑制作用($P<0.05$); 随着磷浓度增加, 该抑制程度减小, 小环藻增长率增大($P<0.05$)。

2.3 小环藻和金鱼藻共培养

图2显示, 小环藻与金鱼藻共培养时, 随着磷浓度的增高, 小环藻的增长率明显增大, 金鱼藻的增长率在磷浓度为0.05—0.5 mg/L时逐渐增大, 为2 mg/L时保持稳定。磷浓度不大于0.5 mg/L时, 金鱼藻对小环藻有较强的抑制作用, 随着磷浓度增高, 金鱼藻对小环藻的抑制程度减小 ($P<0.05$), 磷浓度为2 mg/L时, 小环藻的增长率大于金鱼藻, 培养液变的较浑浊。

2.4 藻-溞-草共培养

图3、图4表明: 小环藻增长率在磷浓度 ≤ 0.1 mg/L时为负增长, 种群数量受到显著抑制 ($P<0.05$), 随着磷浓度的升高其增长率由负到正,

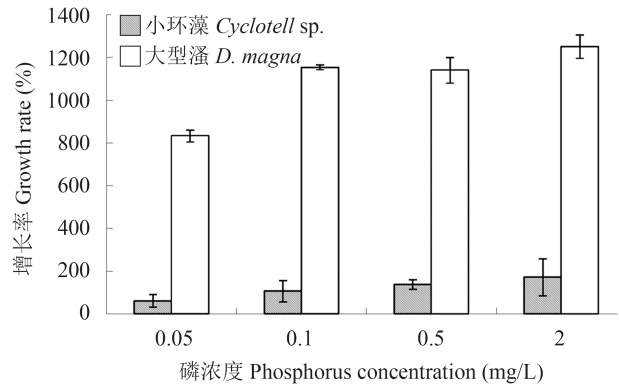


图1 20d内小环藻和大型溞共培养时增长率变化情况

Fig. 1 The change of the growth rate of *Cyclotella* sp. and *D. magna* when co-cultured in 20 days

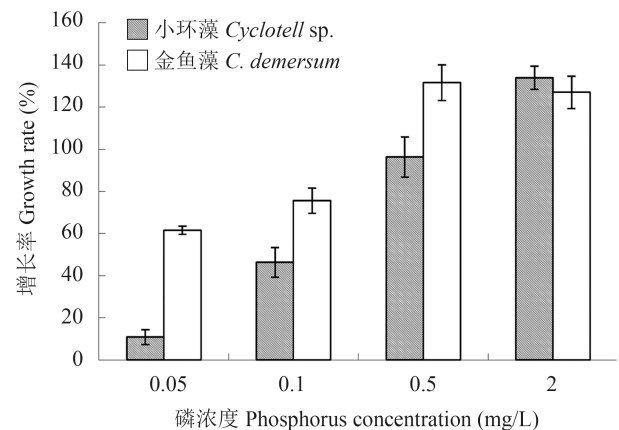


图2 20d内小环藻和金鱼藻的增长率变化情况

Fig. 2 The change of the growth rate of *Cyclotella* sp. and *C. demersum* in 20 days

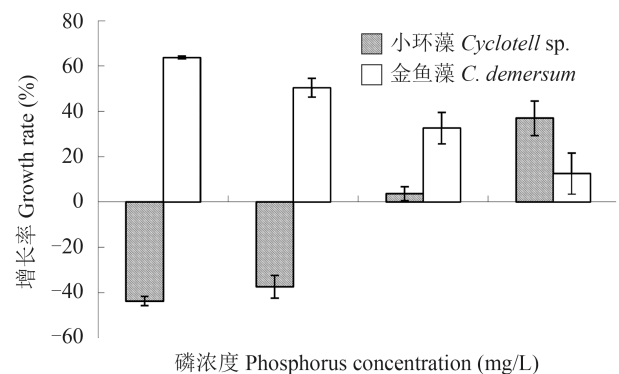


图3 20d内三者共培养时小环藻和金鱼藻的增长率变化

Fig. 3 The change of the growth rate of *Cyclotella* sp. and *C. demersum* when *Cyclotella* sp., *D. magna* and *C. demersum* were co-cultured in 20 days

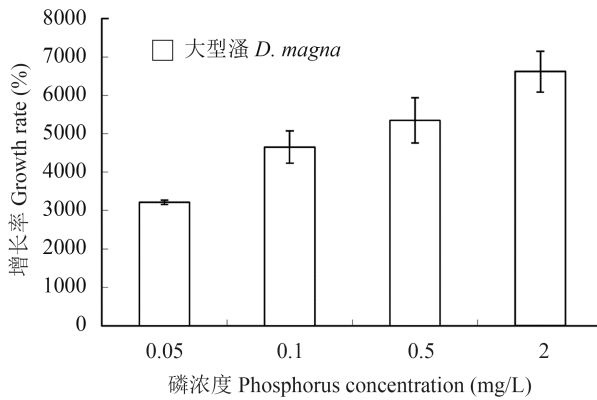


图4 20d内三者共培养时大型溞的增长率变化情况

Fig. 4 The change of the growth rate of *D. magna* when *Cyclotella* sp., *D. magna* and *C. demersum* were co-cultured in 20 days

逐渐增大,最大增长率为37%;而金鱼藻的生物量则随磷浓度的增加而减少,与小环藻增长率的变化趋势相反,在磷浓度为0.05 mg/L时,金鱼藻生物量的增长率显著高于其他3个磷浓度组($P < 0.05$)。大型溞密度随磷浓度的升高而持续增加,各处理组之间差异显著($P < 0.05$)。

2.5 藻-溞-草不同组合培养时对水中氮磷的去除效果

图5表明,大型溞与小环藻共培养时,4个磷浓度处理组间水中的氮去除率均小于10%;磷去除率

较高,平均在75%以上,低磷浓度(0.05和0.1 mg/L)时去除率较高。小环藻与金鱼藻共培养时,磷去除率最大,最高达98%;而4个磷浓度梯度间的氮去除率为10%—15%。在三者共培养时,磷去除率随着初始磷浓度的升高而减小,磷浓度为0.05 mg/L时,磷的去除率最高,显著高于其他浓度下的去除率($P < 0.05$);随着磷浓度升高,水中氮的去除率增大,4个处理组之间有显著差异($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 小环藻和大型溞共培养

在本实验中小环藻与大型溞共培养时,两者的种群数量都随磷浓度的升高而增加,磷的相对缺乏有利于大型溞控制藻。随着磷浓度增高,大型溞对小环藻的抑制程度减小,表明由于上行效应的存在,生物操纵的效果确实与水体的营养水平有关。本实验结果显示,在0.05—2 mg/L的磷浓度范围内,大型溞虽然可以抑制小环藻,使其增长率控制在200%以下,但藻细胞的总量仍在增加。这表明生物操纵的效果的确与水中的磷浓度有密切关系,不少学者的研究结果也如此,大型浮游动物的摄食在短期内可以抑制藻类数量,但不能长期有效地控制藻类数量的增加,不能维持生物操纵效果的长效性和稳定性。

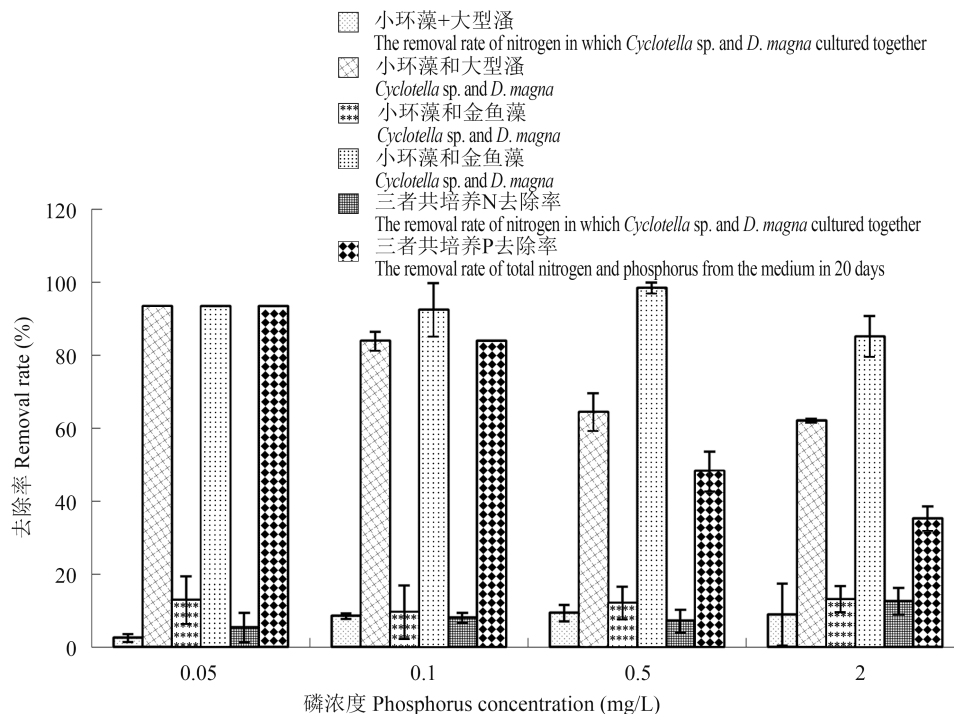


图5 20d内水中总氮和总磷去除率

Fig. 5 The removal rate of total nitrogen and phosphorus from the medium in 20 days

3.2 小环藻和金鱼藻共培养

小环藻与金鱼藻共培养时, 磷浓度 $\leq 0.5 \text{ mg/L}$ 时, 金鱼藻在竞争中占据优势, 小环藻受到抑制, 但其数量仍在增加; 随着磷浓度升高, 小环藻的种群数量迅速增大, 当磷浓度为 2 mg/L 时, 其增长率超过金鱼藻。国内学者研究了短期内不同营养状态下金鱼藻的生理响应, 研究发现总氮、总磷浓度的改变会影响金鱼藻的生物合成, 尽管金鱼藻适应于富营养水体, 但水中过高的营养盐对金鱼藻有胁迫作用, 影响其抗逆能力^[13]。从氮/磷比的角度看, 在高浓度氮条件下的藻-草竞争中, 较高的氮/磷比对沉水植物的生长有利。而本实验也证实, 在金鱼藻生物量最大时, 小环藻的生长受到明显抑制, 说明沉水植物通过对光照和营养盐等资源的竞争甚至释放克藻物质从而抑制浮游植物的生长^[14]。有报道在磷浓度低于 0.25 mg/L 时, 浅水湖泊可以通过大量生长的沉水植物固定营养盐而维持清洁状态, 高于此浓度浮游植物将会占据优势^[5]。在本研究中, 金鱼藻在 $0.05\text{—}2 \text{ mg/L}$ 的磷浓度范围内均能良好生长, 在 $0.05\text{—}0.5 \text{ mg/L}$ 的磷浓度时对小环藻抑制效果较好。

3.3 藻-溞-草三者共培养

在小环藻、大型溞、金鱼藻三者共培养时, 小环藻在 $0.05\text{—}0.1 \text{ mg/L}$ 磷浓度下处于负增长状态, 在 $0.5\text{—}2 \text{ mg/L}$ 磷浓度下增长率较小。在各个磷浓度下, 大型溞和金鱼藻均为正增长状态, 尤其是前者增加的幅度更为明显。与小环藻+大型溞、小环藻+金鱼藻共培养实验相比, 只有在三者共培养、磷浓度不大于 0.1 mg/L 的情况下, 小环藻才真正地呈现出负增长, 受到控制; 这说明在水生态系统中, 单独依靠生物操纵(浮游动物控制浮游植物), 或依靠大型沉水植物来有效抑制浮游植物, 均达不到最佳效果, 必须在较低的磷浓度、发育良好的大型沉水植物和较丰富的浮游动物的条件下, 才会实现对浮游植物的有效控制。

在藻-溞-草系统中, 大型沉水植物一方面可通过分泌他感物质直接抑制藻类生长繁殖^[14], 与藻类竞争营养盐和光照等资源而抑制藻类、净化水质, 有助于使水体氮磷浓度, 特别是磷浓度趋向于生物操纵能够发挥较好效果的阈值范围, 另一方面为摄食藻类的大型浮游动物提供躲避鱼类捕食的庇护所, 有利于浮游动物的生存繁殖; 同时, 浮游动物对藻类的牧食, 又可以减轻藻类对大型沉水植物的资源竞争、提高水的高透明度, 有利于沉水植物的生长。沉水植物和浮游动物之间为相辅相成的关系,

而它们对藻类则分别为竞争和捕食关系。因此, 在实施生物操纵时, 如能同时恢复沉水植被, 则会起到最佳效果, 并能够建立起健康稳定的生态系统, 实现长效控藻和水质改善的效果。

实验表明, 在一定的富营养条件下, 实施生物操纵和恢复沉水植物相结合, 可以有效地控制藻类的过量生长, 净化水质, 其联合抑藻效果优于单独的沉水植物抑藻和浮游动物抑藻效果, 而且无论是沉水植物抑藻、还是浮游动物抑藻、以及沉水植物和浮游动物的联合抑藻, 其效果均与水中磷浓度有关。由于本实验是在实验室内建立水生微宇宙模型实施的, 其得到的抑藻磷浓度边界条件, 尚不能直接应用于自然水体的控藻实践, 具体阈值范围还有待进一步验证。

参考文献:

- [1] Huang H H, Li X, Du C L. The research situation of the lake eutrophication in China [J]. *China Urban Economy*, 2011, **18**: 259—260 [黄慧慧, 李祥, 杜春兰. 我国湖泊富营养化研究情况概述. 中国城市经济, 2011, **18**: 259—206]
- [2] Pu P M, Li Y H, Zhang J F, et al. Eutrophication control in local area through phytoplankton population regulation by eco-remediation: a case study on aqua-eco-remediation engineering in Lake Hongfeng Guizhou Province [J]. *Journal of Lake Science*, 2012, **24**(4): 503—512 [濮培民, 李裕红, 张晋芳, 等. 用生态修复调控浮游植物种群局部控制富营养化-以贵州红枫湖水质生态修复工程为例. 湖泊科学, 2012, **24**(4): 503—512]
- [3] Yoshimasa A, Yusuke S, Takumi S, et al. Effect of phosphorus fluctuation caused by river water dilution in eutrophic lake on competition between blue-green alga *Microcystis aeruginosa* and diatom *Cyclotella* sp. [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2010, **22**(11): 1666—1673
- [4] Jorgensen S E, Bernardi R D. The use of structural dynamic models to explain the successes and failures of biomanipulation [J]. *Hydrobiologia*, 1998, **379**: 147—158
- [5] Scheffer M, Carpenter S, Foley J A, et al. Catastrophic shifts in ecosystems [J]. *Nature*, 2001, **413**: 591—596
- [6] Ju Z W, Yu Z Q, Deng H. Effects of aquatic vegetation on phosphorus waters [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2015, **27**(2): 234—242 [琚泽文, 蔚枝沁, 邓泓. 水生植被恢复对城市景观水体磷浓度及沉积物磷形态的影响. 湖泊科学, 2015, **27**(2): 234—242]
- [7] Ma S, Wang C L, Zhang Y J, et al. Influences of nitrogen and phosphorus concentration on interactions among *Chlorella vulgaris*, *Daphnia magna* and *Ceratophyllum demersum* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2012, **36**(1): 66—72 [马帅, 王程丽, 张亚捷, 等. 氮磷浓度对藻-溞-草间相互作用的影响. 水生生物学报, 2012, **36**(1): 66—72]
- [8] Ma J M, Jin P, Guo M, et al. Influences of phosphorus concentration on interactions among *Microcystis aeruginosa*,

- Daphnia magna* and *Ceratophyllum demersum* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, **34**(6): 1520—1526 [马剑敏, 靳萍, 郭萌等. 磷浓度对铜绿微囊藻、大型溞和金鱼藻三者相互作用的影响. 生态学报, 2014, **34**(6): 1520—1526]
- [9] Ma J M, Jin P, Wang C L, *et al.* Study on the interactions among *Chlorella vulgaris*, *Daphnia magna* and *Ceratophyllum demersum* in simulated natural water [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2013, **33**(2): 528—534 [马剑敏, 靳萍, 王程丽等. 模拟自然水体中藻-溞-草间的相互作用研究. 环境科学学报, 2013, **33**(2): 528—534]
- [10] Zheng L L. The physiological and ecological research about the dominant species in han-jiang river ditom bloom [D]. Thesis for Master of Science. Fujian Normal University, Fujian. 2005 [郑凌凌. 汉江水华优势种生理生态学研究. 硕士学位论文, 福建师范大学. 2005]
- [11] Environmental Protection Administration of China. Water and Wastewater Monitoring Analysis Method (4th edition) [M]. Beijing: China Environmental Science Press. 2007, 243—257 [国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法(第四版). 北京: 中国环境科学出版社. 2007, 243—257]
- [12] Jin P, Guo M, Xu T T, *et al.* Influences of temperature and illumination on co-cultivation among *Microcystis aeruginosa*, *Daphnia magna* and *Ceratophyllum demersum* [J]. *Journal of Hydroecology*, 2013, **34**(5): 65—70 [靳萍, 郭萌, 徐婷婷, 等. 温度和光照对铜绿微囊藻、大型溞和金鱼藻共同培养的影响. 水生态学杂志, 2013, **34**(5): 65—70]
- [13] Xiong J, Huang J T, Nie L, *et al.* The effects of nutrient concentration on purification ability and eco-physiology of *Ceratophyllum demersum* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, **37**(6): 1066—1072 [熊剑, 黄建团, 聂雷, 等. 不同营养条件对金鱼藻净化作用及其生理生态的影响. 水生生物学报, 2013, **37**(6): 1066—1072]
- [14] Yu Z W, Sun W H, Guo K Q, *et al.* Allelopathic effects of several aquatic plants on algae [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1992, **16**(1): 1—7 [俞子文, 孙文浩, 郭克勤. 几种高等水生植物的克藻效应. 水生生物学报, 1992, **16**(1): 1—7]

EFFECTS OF PHOSPHORUS CONCENTRATION ON INTERACTIONS AMONG *CYCLOTELLA* SP., *DAPHNIA MAGNA* AND *CERATOPHYLLUM DEMERSUM*

JIN Ping¹, XU Ting-Ting¹, YANG Pei-Yun¹, GAO Wei¹, WANG Jie-Yu¹ and MA Jian-Min^{1,2}

(1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China; 2. Research Center of Zhongyuan Cultural Ecology, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: In the present study, the effects of phosphorus concentration on bio-manipulation and restoration of aquatic vegetation were determined. *Cyclotella* sp., *Daphnia magna* and *Ceratophyllum demersum* were selected to be respectively as the representative of phytoplankton, zooplankton and submerged macrophyte to construct an aquatic microcosm system. The growth rate of *Cyclotella* sp., *D. magna*, and *C. demersum* and removal rate of nitrogen and phosphorus were tested in the certain conditions [25, 2600 lx illumination, 11 mg/L nitrogen concentration, four phosphorus concentration (0.05, 0.1, 0.5, 2 mg/L) and three types of co-culture operations]. Our results showed that *D. magna* and *C. demersum* grew well but *Cyclotella* sp. was suppressed and its consistency kept slowly positive growth at 0.05—2 mg/L phosphorus concentration in the two co-culture systems (*Cyclotella* sp. and *D. magna* co-culture system, *Cyclotella* sp. and *C. demersum* co-culture system). In the co-culture system of *Cyclotella* sp., *D. magna* and *C. demersum*, the growth of *D. magna* and *C. demersum* was improved, but *Cyclotella* sp. was suppressed greater at 0.05—2 mg/L phosphorus concentration. *Cyclotella* sp. showed negative growth at 0.05—0.1 mg/L phosphorus concentration. Our results illustrated that the inhibition effect of zooplankton and large aquatic plants co-culture on the algae was better than that the single zooplankton or large aquatic plants. This inhibition effect decreased with the phosphorus concentration increasing. And the best inhibition effect presented at the phosphorus concentration ≤ 0.1 mg/L. The highest phosphorus removal presented in the lowest phosphorus treatment (0.05 mg/L), while the highest nitrogen removal presented in the highest concentration of nitrogen (2 mg/L) at the end of the experiment.

Key words: *Cyclotella* sp.; *Daphnia magna*; *Ceratophyllum demersum*; Phosphorus concentration; Biomanipulation