

中肋骨条藻和新月菱形藻对营养盐的吸收速率及环境因素影响的研究*

李 铁 史致丽 仇赤斌 王巧玲

(青岛海洋大学化学化工学院 青岛 266003)

提要 于1995年3月—1996年1月,通过实验室模拟培养,研究了中肋骨条藻和新月菱形藻对磷酸盐和硝酸盐的吸收速率,以及温度、光照等环境因素对新月菱形藻吸收磷酸盐的影响。结果表明,用 Michaelis-Menton 方程处理,求得中肋骨条藻和新月菱形藻吸收磷酸盐的半饱和常数分别为 $0.61\mu\text{mol/L}$ 和 $0.48\mu\text{mol/L}$, 吸收硝酸盐的半饱和常数分别为 $7.8\mu\text{mol/L}$ 和 $6.0\mu\text{mol/L}$ 。新月菱形藻对磷酸盐的吸收速率较高,而中肋骨条藻对硝酸盐的吸收速率较高。温度和光照影响营养盐吸收速率及有关动力学参数。新月菱形藻吸收磷酸盐的速率和半饱和常数随温度的降低而降低。在 $1\ 000\text{—}3\ 000\text{lx}$ 的光照范围内,新月菱形藻对磷酸盐的吸收速率和半饱和常数基本一致;无光时,吸收速率和半饱和常数降低。

关键词 浮游植物 营养盐 吸收速率 温度 光照

学科分类号 Q948.11

浮游植物是海洋中主要初级生产者,营养盐是影响初级生产力的主要因素之一。研究浮游植物对营养盐的吸收速率,可进一步揭示营养盐与浮游植物间的相互影响以及对海洋生态环境的作用 (Yasuo *et al.*, 1983; Yasuo, 1985; Harrison *et al.*, 1989; Garside *et al.*, 1991; 黄邦钦等, 1993; 洪华生等, 1994; 焦念志, 1995)。浮游植物对营养盐的吸收速率与海水营养盐含量和温度、光照等环境因素有关,且因浮游植物种类不同而有不同的影响特征 (黄邦钦等, 1993)。本文研究了中肋骨条藻和新月菱形藻对磷酸盐和硝酸盐的吸收速率以及温度、光照等环境因素对新月菱形藻吸收磷酸盐动力学参数的影响,以期对近海水产养殖中两种饵料藻培养的生态环境管理提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 藻种和培养液

中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 和新月菱形藻 (*Nitzschia closterium*) 由本校应用微藻研究所提供。藻种保存于 $f/2$ 培养液中。取处于指数生长期的藻种液离心分离,除去上清液,用灭菌海水洗涤、离心数次,再加入适量灭菌海水,在与培养实验相同的条件下放置 1 昼夜使其稳定。取上层藻液接种培养。

陈化海水 ($\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度为 $0.1\text{—}0.2\mu\text{mol/L}$; $\text{PO}_4\text{-P}$ 浓度为 $0.02\mu\text{mol/L}$) 过滤煮沸冷却

* 国家自然科学基金资助项目,49476286号。李铁,男,出生于1967年10月,讲师,E-mail:sude@public.qd.sd.cn

收稿日期:1999-03-12, 收修改稿日期:1999-05-25

后通入 CO_2 ，调节至 $\text{pH} = 7.9-8.1$ ，加入硼酸-硼砂溶液以缓冲 pH 值的变化。添加 NaNO_3 和 KH_2PO_4 使之具有实验所需的氮、磷浓度，其它物质均参照 $f/2$ 配方。

1.2 吸收速率实验

1.2.1 磷酸盐 培养液磷酸盐初始浓度为中肋骨条藻约 $2\mu\text{mol/L}$ 、新月菱形藻约 $4\mu\text{mol/L}$ 。接入藻种 ($40 \times 10^{-4}-80 \times 10^{-4}\text{cell/L}$)，每隔 2min 取样过滤测磷酸盐浓度。实验约进行 30—60min。温度为 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ，光照强度为 $2000 \pm 100\text{lx}$ 。

在 $2000 \pm 100\text{lx}$ 的光照强度条件下，测定新月菱形藻在 20.5°C 和 14.5°C 时吸收磷酸盐的速率。在温度为 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ，光照强度分别为无光照、1000、2000 和 $3000 \pm 100\text{lx}$ 的条件下，测定新月菱形藻对磷酸盐的吸收速率。

1.2.2 硝酸盐 培养液硝酸盐初始浓度约为 $30\mu\text{mol/L}$ ，接入藻种 ($100 \times 10^{-4}-100 \times 10^{-4}\text{cell/L}$)，每隔 20min 取样过滤，测硝酸盐浓度。实验在 4h 内完成(计数表明细胞在 4h 内无明显分裂)。温度、光照条件同上。

1.3 测定方法

1.3.1 藻细胞密度 血球计数板显微镜目视计数。

1.3.2 硝酸盐浓度的测定 采用 $\text{Cd}-\text{Cu}$ 还原-重氮-偶氮分光光度法；磷酸盐浓度的测定采用磷钼蓝分光光度法(国家海洋局, 1991)。

2 结果与讨论

2.1 磷酸盐吸收速率

中肋骨条藻和新月菱形藻吸收磷酸盐的动力学曲线见图 1。藻种刚接入后有短暂的延缓期。随后磷酸盐浓度 ($C_{\text{PO}_4\text{-P}}$) 在很大范围内几乎呈直线下降，即吸收速率保持近恒定值，该值应接近于磷酸盐吸收速率最大值。 $C_{\text{PO}_4\text{-P}}$ 较低时， $C_{\text{PO}_4\text{-P}}$ 变化幅度下降，吸收速率降低。

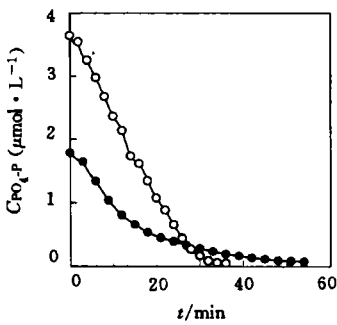


图1 磷酸盐吸收动力学曲线
Fig.1 Dynamic curves of uptake of phosphate

—●—中肋骨条藻；—○—新月菱形藻

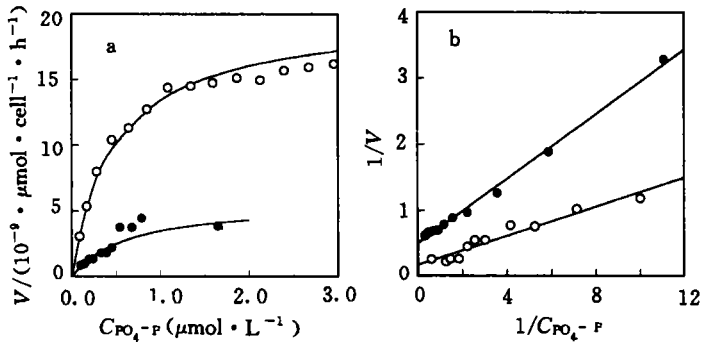


图2 藻类对磷酸盐吸收速率与磷酸盐浓度的关系
Fig.2 The relationship between uptake rates of alga and the concentration of phosphate

●—中肋骨条藻；○—新月菱形藻

取延缓期之后的数据，计算磷酸盐浓度的瞬时变化值，再以藻数平均得到单位藻细胞的吸收速率 $V_{(P)}$ 。 $V_{(P)}$ 随培养液 $C_{\text{PO}_4\text{-P}}$ 变化见图 2a 中的数据点。

浮游植物对营养盐的吸收速率与营养盐浓度的关系可用 Michaelis-Menton 方程描述 (Fogg, 1975; Fogg et al, 1987)，即

$$V = V_m \frac{C}{K + C} \tag{1}$$

式(1)中, V 为吸收速率, V_m 为吸收速率最大值, C 为限制营养盐的浓度, K 为半饱和常数。以 $1/V$ 对 $1/C$ 作图, 可求得 K 和 V_m 。由图 2b 可见其线性关系非常好, 相关系数 r 分别为 0.997 和 0.969, 显著性水准 $\alpha < 0.001$ 。两种藻吸收磷酸盐的 $K_{(P)}$ 、 $V_{m(P)}$ 见表 1。按照求得的 $K_{(P)}$ 、 $V_{m(P)}$ 及式(1)绘制 $V_{(P)}$ 与 C_{PO_4-P} 的关系, 见图 2a 中的实线, 与数据点较为一致。

表1 中肋骨条藻、新月菱形藻吸收磷酸盐、硝酸盐的半饱和常数和最大吸收速率

Tab.1 The half-saturation constants of phosphate and nitrate uptake by *Skeletonema costatum* and *Nitzschia closterium* and the maximum uptake rates

	PO ₄ -P		NO ₃ -N	
	K _(P) (μmol/L)	V _{m(P)} (μmol/cell · h)	K _(N) (μmol/L)	V _{m(N)} (μmol/cell · h)
中肋骨条藻	0.61	5.6 × 10 ⁻⁹	7.8	2.1 × 10 ⁻⁹
新月菱形藻	0.48	19.8 × 10 ⁻⁹	6.0	1.1 × 10 ⁻⁹

当 $C \gg K$ 时, 式(1)可表示为 $V \cong V_m$, 即在高浓度下营养盐吸收速率趋近最大值, 此时不受营养盐浓度影响。当 $C \ll K$ 时, 若令 $k = V_m/K$, 则式(1)变为

$$V = kC \tag{2}$$

即低浓度时营养盐吸收可描述为一级动力学过程, k 为吸收速率常数。此时吸收速率受营养盐浓度的限制, 为成正比关系。黄邦钦等(1993)和洪华生等(1994)用这一关系研究了浮游植物对磷酸盐的吸收。

半饱和常数 K 反映了藻类对环境中的营养盐条件的适应性, K 值较高的藻类对营养盐吸收易受到限制。在低营养盐水平下, 具有低 K 值的藻类仍可维持相对较高的吸收速率以生长繁殖, 并有可能演替为优势种。由图 2a 可知, 在相同磷酸盐浓度时新月菱形藻的吸收速率比中肋骨条藻高, 最大吸收速率是中肋骨条藻的 3 倍多。比较两者的半饱和常数, 中肋骨条藻的 $K_{(P)}$ 略大, 因此在低磷酸盐浓度时受到的限制比新月菱形藻略为明显。

2.2 硝酸盐吸收速率

两种藻吸收硝酸盐的动力学曲线见图 3。与吸收磷酸盐相比, 一次培养中藻吸收硝酸

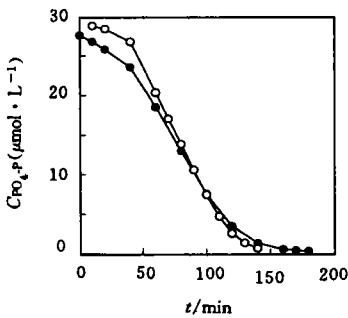


图3 硝酸盐吸收动力学曲线

Fig.3 Dynamic curves of uptake of phosphate

—●—中肋骨条藻; —○—新月菱形藻

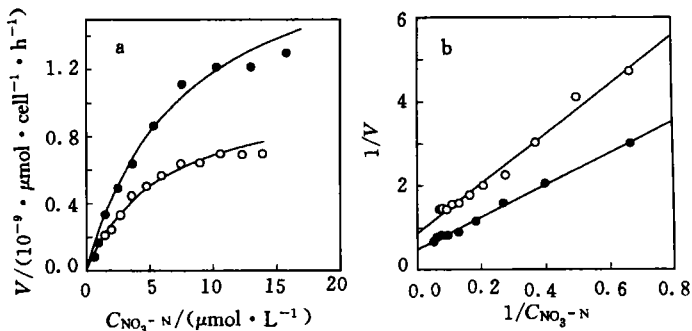


图4 藻类对硝酸盐吸收速率与硝酸盐浓度的关系

Fig.4 The relationship between uptake rates of alga and the concentration of nitrate

●—中肋骨条藻; ○—新月菱形藻

盐的延缓时间更长。取延缓期之后的数据计算吸收速率 $V_{(N)}$ ，作图求得 $K_{(N)}$ 、 $V_{m(N)}$ 见表 1 ($r = 0.988, \alpha < 0.001$)。 $V_{(N)}$ 与 C_{NO_3-N} 的关系及 $K_{(N)}$ 、 $V_{m(N)}$ 求算见图 4a、图 4b。

当硝酸盐浓度相同时，中肋骨条藻的最大吸收速率约为新月菱形藻的 2 倍。与中肋骨条藻相比，新月菱形藻的 $K_{(N)}$ 、 $V_{m(P)}$ 都小，表明新月菱形藻对硝酸盐的吸收能力相对较弱。但当硝酸盐含量较低时，新月菱形藻受到的限制作用比中肋骨条藻受到的略低。

2.3 磷酸盐和硝酸盐吸收速率的比较

本实验是将藻从低氮、磷环境接入到含一定浓度磷酸盐和硝酸盐的培养介质中，对于藻细胞而言，测得的吸收速率相当于环境中氮、磷突然增加而引起的吸收。由表 1 可知，实验中藻细胞对磷酸盐的吸收速率要大于对硝酸盐的吸收速率。可能的原因是，增加介质磷酸盐浓度时藻细胞对磷酸盐的最初吸收为快速吸收 (Heath, 1986; 洪华生等, 1994)，与稳定条件下藻细胞对磷酸盐的吸收 (稳定吸收) 不同。本实验中这种快速吸收在 30min 内都保持了同样的动力学模式。藻细胞有积累过量磷酸盐的能力 (Fogg, 1975)，究其原因，一方面磷酸盐浓度增大时吸收速率加快有利于积累，另一方面也与磷酸盐容易在藻细胞表面吸附有关。相比之下，硝酸盐浓度增加时的吸收较为恒定，与稳定吸收的差别不大。

2.4 环境因素对新月菱形藻吸收磷酸盐的影响

2.4.1 温度 新月菱形藻在

20.5℃ 和 14.5℃ 时吸收磷酸盐的速率与磷酸盐浓度关系见图 5a，求得的 $K_{(P)}$ 、 $V_{m(P)}$ 见表 2。

吸收速率与磷酸盐浓度曲线在不同温度下有明显差异，温度低时吸收速率变小，

表2 温度和光照对新月菱形藻吸收磷酸盐速率的影响

Tab.2 The influence of temperature and light on the uptake rates of phosphate by *Nitzschia closterium*

温度 (°C)	$K_{(P)}$ ($\mu\text{mol/L}$)	$V_{m(P)}$ ($\mu\text{mol/cell} \cdot \text{h}$)
14.5	0.31	9.3×10^{-9}
20.5	0.48	19.8×10^{-9}
光照强度 (lx)	$K_{(P)}$ ($\mu\text{mol/L}$)	$V_{m(P)}$ ($\mu\text{mol/cell} \cdot \text{h}$)
无光照	0.25	11.4×10^{-9}
1 000	0.53	18.6×10^{-9}
2 000	0.48	19.8×10^{-9}
3 000	0.46	20.7×10^{-9}

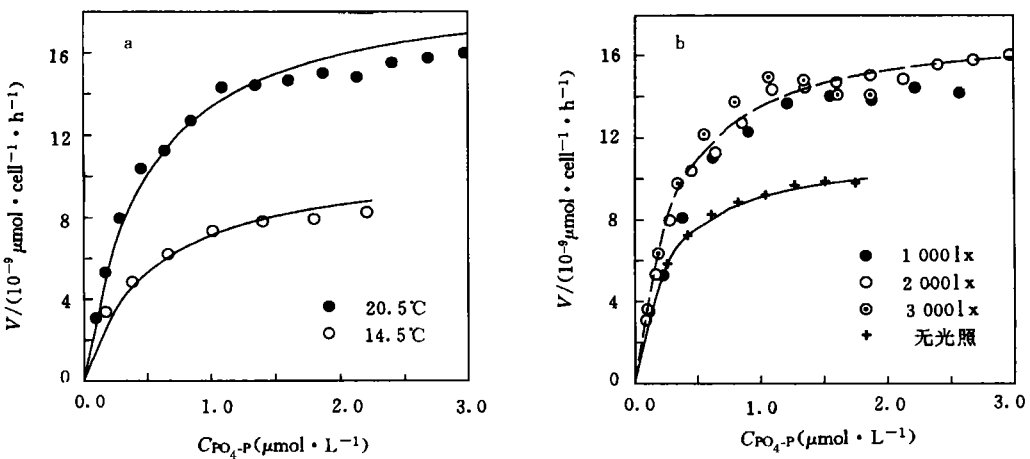


图5 温度和光照对新月菱形藻吸收磷酸盐速率的影响

Fig.5 The influence of temperature and light on the uptake rates of phosphate by *Nitzschia closterium*

14.5℃时的吸收速率约为 20.5℃时的一半,因此温度对吸收速率的影响较为显著。14.5℃时 $K_{(P)}$ 减小为 0.31 $\mu\text{mol/L}$,表明温度降低会使营养盐含量对吸收速率的限制作用因吸收速率本身降低而有所下降。

2.4.2 光照 不同光照条件下新月菱形藻对磷酸盐的吸收速率与磷酸盐浓度的关系见图 5b。求得的 $K_{(P)}$ 、 $V_{m(P)}$ 见表 2。

在 1 000—3 000lx 范围内,光照强度对磷酸盐吸收速率略有影响,但三种光照条件下的吸收速率的数据点没有明显分开。表 2 中 $K_{(P)}$ 、 $V_{m(P)}$ 数值亦无明显差异,可认为在 1 000—3 000lx 范围内新月菱形藻对磷酸盐吸收速率基本恒定。无光照条件下藻细胞吸收磷酸盐的速率明显降低,半饱和常数减小为 0.25 $\mu\text{mol/L}$ 。与温度影响相似,光限制条件下在吸收速率降低的同时,磷酸盐浓度对吸收速率的限制作用减弱了。

3 结语

3.1 一次培养实验中,营养盐浓度对吸收速率的影响用 Michaelis-Menton 方程处理,得到中肋骨条藻和新月菱形藻吸收磷酸盐的半饱和常数分别为 0.61 $\mu\text{mol/L}$ 和 0.48 $\mu\text{mol/L}$,吸收硝酸盐的半饱和常数分别为 7.8 $\mu\text{mol/L}$ 和 6.0 $\mu\text{mol/L}$ 。

3.2 在相同的环境条件下新月菱形藻对磷酸盐的吸收速率较高,大于中肋骨条藻,而中肋骨条藻对硝酸盐的吸收速率大于新月菱形藻。环境中磷酸盐、硝酸盐浓度增加,二种藻对磷酸盐有快速吸收,吸收速率大于硝酸盐。硝酸盐吸收速率则相对稳定。

3.3 浮游植物对营养盐的吸收速率及动力学参数受温度和光照的影响。温度降低新月菱形藻吸收磷酸盐的速率和半饱和常数降低。在 1 000—3 000lx 的光照范围内,新月菱形藻对磷酸盐吸收速率和半饱和常数基本一致,无光时吸收速率和半饱和常数降低。温度和光照限制条件下磷酸盐浓度对吸收速率的限制作用减弱。

参 考 文 献

- 国家海洋局,1991. 海洋监测规范 (HY003.4-91). 北京:海洋出版社,205—282
- 洪华生,戴民汉,黄邦钦等,1994. 厦门港浮游植物对磷酸盐吸收速率的研究. 海洋与湖沼,25:54—59
- 黄邦钦,洪华生,戴民汉,1993. 环境因子对海洋浮游植物吸收磷酸盐速率的影响. 海洋学报,15:64—67
- 焦念志,1995. 海洋浮游生物氮吸收动力学及粒级特征. 海洋与湖沼,26:191—198
- Fogg G E, 1975. Primary Production. In: Riley J P, Skirrow G ed. Chemical Oceanography. London: Academic Press, 390—441
- Fogg G E, Thake B, 1987. Algal Cultures and Phytoplankton Ecology. Madison: The University of Wisconsin Press, 57—80
- Garside C, Glover H E, 1991. Chemiluminescent measurement of nitrate kinetics. J Plank Rea, 13(Suppl):5—19
- Harrison P J, Parslow J S, Conway H L, 1989. Determination of nutrient uptake kinetic parameters: a comparison of methods. Mar Ecol Prog Ser, 52:302—312
- Heath R T, 1986. Dissolved organic compounds: do they satisfy planktonic phosphate demand in summer. Can J Fish Aquat Sci, 40:147—155
- Yasuo Nalamura, 1985. Ammonium uptake kinetics and interaction between nitrate and ammonium uptake in *Chattonella antiqua*. J Oceanogr Soc Japan, 41:33—38
- Yasuo Nalamura, Maloto M Watanbe, 1983. Nitrate and phosphate uptake kinetics of *Chattonella antiqua* grown in light/dark cycles. J Oceanogr Soc Japan, 39:167—170

A STUDY ON THE UPTAKE RATE OF THE NUTRIENTS BY *SKELETONEMA COSTATUM* AND *NITZSCHIA CLOSTERIUM* AND THE ENVIRONMENTAL EFFECTS

LI Tie, SHI Zhi-li, QIU Chi-bin, WANG Qiao-ling

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of Qingdao, Qingdao, 266003)

Abstract The uptake rates of phosphate and nitrate by *Skeletonema costatum* and *Nitzschia closterium* were studied in Mar., 1995—Jan., 1996. The effects of temperature and light on the uptake parameters of phosphate by *Nitzschia closterium* were also studied in this paper. The data of the experiments were processed using the Michaelis-Menton equation. The half-saturation constants for the uptake of phosphate by *Skeletonema costatum* and *Nitzschia closterium* are 0.61 and 0.48 $\mu\text{mol/L}$, respectively. Those for the uptake of nitrate by the two species are 7.8 and 6.0 $\mu\text{mol/L}$, respectively. The uptake rate of phosphate by *Nitzschia closterium* is higher than that of phosphate by *Skeletonema costatum*, and the uptake rate of nitrate by *Skeletonema costatum* are higher than that of phosphate by *Nitzschia closterium* under the same culture condition.

The uptake rates of phosphate by *Nitzschia closterium* are also influenced by the condition of light and temperature. The uptake rate and the half-saturation constants decrease with the temperature of the culture medium decreasing; they are similar when the light changes from 1 000—3 000 lx, and decrease when no light. The effects of the phosphate concentration of the culture medium on the uptake rates are the same as the situation under the condition of light or temperature limitation.

Key words Phytoplankton Nutrients Uptake rate Temperature Light

Subject classification number Q948.11