

# 海洋胶体中的氮、磷和铁对微藻生长的效应\*

郑爱榕 陈敏 吕娥 杨俊鸿 程远月

厦门大学海洋学系, 亚热带海洋研究所, 厦门 361005

**摘要** 利用错流超滤技术提取海洋胶体, 研究了无氮、无磷和无铁的营养介质中海洋胶体对海水小球藻、亚心形扁藻和球等鞭金藻生长的影响. 结果表明, 在胶体有机碳(COC)浓度为0~238.4  $\mu\text{mol/L}$ 的范围内, 3种微藻在以胶体为N源的介质中的平均相对增长率Y分别为20.7%~44.0%, 80.1%~110.1%和68.6%~106.2%; 在以胶体为P源的介质中的Y值分别为19.3%~43.2%, 78.3%~156.7%和77.9%~115.3%. 3种微藻的Y值随COC浓度增大呈下降趋势. 3种微藻在以胶体为Fe源的介质中的Y值分别为12.7%~35.3%, 171.7%~266.3%和400.5%~498.8%, 3种微藻的Y值随COC浓度增大呈线性上升. 这意味着海洋胶体中存在微藻生长必需的N, P和Fe营养, 对微藻的生长有显著的刺激作用. 胶体中的Fe营养对球等鞭金藻和亚心形扁藻的效应比N和P营养的约大6~7倍, 而胶体中的N和P营养对小球藻的促进作用则约比Fe的大3倍.

**关键词** 海洋胶体 微藻 生长效应

胶体是指分子量介于1~100 kD或粒径介于1 nm~1  $\mu\text{m}$ 的微粒、大分子和分子聚集物<sup>[1]</sup>. 海洋胶体主要由有机高聚物(如多糖、蛋白质、多肽、富里酸、腐植酸和细胞碎屑)和无机颗粒(如铁氧化物、锰氧化物、氧化硅和粘土矿物)及活生物体(病毒和细菌)组成<sup>[1,2]</sup>. 这些胶体绝大多数为无生命的有机物, 与海洋中的生物过程密切相关. 因其粒径小, 比表面积大, 又富含有机官能团, 故是营养性有机碳、营养盐、痕量金属、痕量有机物和色素的重要载体<sup>[3~7]</sup>, 因此, 必定对生物的生长起重要作用. 众所周知, 氮和磷是藻类生长必需的营养物质, 它们构成浮游植物细胞的蛋白质分子、参与生物的新陈代谢, 是自然海区初级生产力的限制因子. 铁是浮游植物利用氮、叶绿素合成和细胞代谢的必需元素, 在海洋“生物泵”中起重要作用, 也是限制浮游植物生长的主要因素之一<sup>[8~10]</sup>. 本文以常见的浮游植物饵料单胞藻(海水小球藻、亚心形

扁藻、球等鞭金藻)为研究对象, 用错流超滤技术提取海洋胶体, 研究微藻在海洋胶体存在下的无N, 无P和无Fe营养介质中的生长, 探讨海洋胶体中的N, P和Fe对微藻生长的营养作用, 为海洋胶体的生物可利用性研究和赤潮形成机制的探索提供基础数据.

## 1 材料与方法

### 1.1 藻种及培养

实验用微藻是海水小球藻(Marine *Chlorella*, 简称小球藻)、亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*, 简称扁藻)和球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*, 简称金藻), 培养液用f/2配方, 121 $^{\circ}\text{C}$ 消毒30 min. 藻类培养在LRH-250-G光照培养箱进行, 温度(25 $\pm$ 0.2) $^{\circ}\text{C}$ , 光暗周期12 h/12 h, 光强(3600 $\pm$ 10)lx.

2003-07-03 收稿, 2003-9-03 收修改稿

\* 国家教育部高等学校骨干教师计划基金资助项目

E-mail: arzheng@jingxian.xmu.edu.cn

### 1.2 胶体提取和有机碳含量测定

提取胶体的海水于2003年4月9日取自厦门东部海域近岸, 盐度32.0. 取表层海水约300 L, 经0.22  $\mu\text{m}$ 折叠式过滤芯去除悬浮颗粒物后得到约240 L预过滤液. 用标称截留分子量为10 ku的中空纤维超滤装置(Amicon公司生产, 型号为H10P10-20)切向超滤. 超滤结束时, 截留液体积为5.4 L, 浓缩系数 $f_c = 44.4$ , 超滤过程有机碳回收率为81%. 同时, 分别取截留液和超滤液各20 mL, 加0.4 mL浓磷酸酸化, 置于冰箱 $< 4^\circ\text{C}$ 冷冻保存, 供有机碳分析<sup>[11]</sup>.

样品经高温催化氧化后用总有机碳分析仪(Shimadzu-5000A)测定, 与标准样品的误差 $< 10\%$ <sup>[11]</sup>. 结果表明, 该胶体样品的截留液( $> 10$  ku)有机碳含量 $C_{C,1} = 346.4 \mu\text{mol/L}$ , 超滤液( $< 10$  ku)有机碳含量 $C_{C,2} = 108.0 \mu\text{mol/L}$ .

### 1.3 实验方法

配制截留液与超滤液的体积百分比分别为0, 2%, 50%和100%的4种溶液, 使其分子量 $> 10$  ku的胶体有机碳(COC)浓度分别为0, 4.8, 119.2和238.4  $\mu\text{mol/L}$ , 分子量 $< 10$  ku的溶解有机碳(UOC)浓度均为108.0  $\mu\text{mol/L}$ , 另外以超纯水配制的人工海水作为对照组. 向上述溶液分别添加无N, 无P和无Fe的 $f/2$ 营养液后, 将生长至指数期的3种微藻离心、洗涤、再悬浮后分别等量加入, 置于光照培养箱中按藻种培养的条件进行一次性培养, 每天摇晃3次, 定时用721分光光度计在430 nm波长处测定各培养液的吸光值 $A$ . 实验所用

试剂和玻璃器皿均高温灭菌, 所用试剂为分析纯, 磷酸用优级纯.

### 1.4 藻类生长的表示

通常藻类的生长用细胞生长率 $k$ 表示, 即 $k = \ln(N_t/N_0)/t$ . 其中,  $N_t$ 和 $N_0$ 分别是 $t$ 时间和初始时间的细胞数,  $t$ 为培养时间. 这种表示法,  $k$ 值随 $t$ 值的不同而不同, 难于定量比较一段时间内各种藻类生长的相对大小. 本文微藻的生长用相对增长率 $y$ 表示,  $y = (N_t/N_0 - N_t/N_{0\text{对照}})/(N_t/N_{0\text{对照}})$ . 由于本实验藻类的细胞数与吸光值在实验的细胞浓度内呈线性相关, 故可用 $A/A_0$ 代替 $N_t/N_0$ , 即 $y = (A/A_0 - A/A_{0\text{对照}})/(A/A_{0\text{对照}})$ . 式中,  $A$ 和 $A_0$ 分别为 $t$ 时间和初始时间藻细胞的吸光值;  $A/A_0$ 和 $A/A_{0\text{对照}}$ 分别为藻细胞在胶体存在介质中和对照组中的相对增长率. 胶体对微藻的促进作用以平均相对增长率 $Y$ 表示,  $Y = (\sum y)/n$ ,  $n$ 为藻类生长的天数, 本实验藻类在第5天基本上开始衰亡, 故取 $n = 4$ .

## 2 结果

### 2.1 海洋胶体中的氮对微藻生长的影响

图1是3种微藻在胶体存在下的无N营养介质中的生长曲线. 由图可知, 各藻在胶体存在下的相对增长率均高于人工海水对照组. 在实验的COC的浓度范围内(0~238.4  $\mu\text{mol/L}$ ), 海洋胶体使小球藻、扁藻和金藻的相对增长率相对对照组分别平均提高了20.7%~44.0%, 80.1%~110.1%和68.6%~

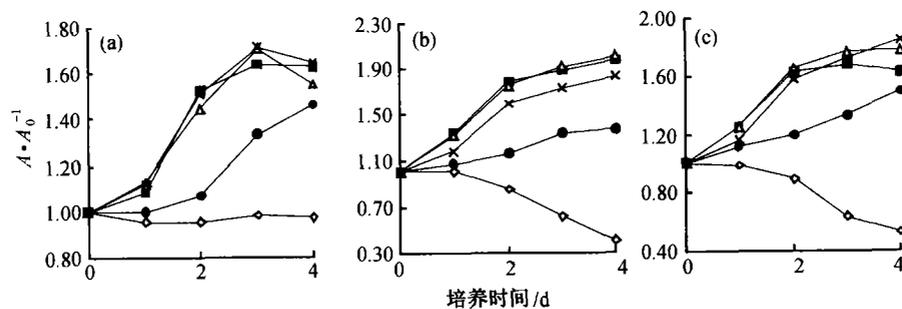


图1 微藻在胶体存在下的无N营养介质中的相对生长曲线

(a)小球藻; (b)扁藻; (c)金藻.  $\diamond$ —人工海水对照组;  $\blacksquare$ —COC=0;  $\triangle$ —COC=4.8  $\mu\text{mol/L}$ ;  $\times$ —COC=119.2  $\mu\text{mol/L}$ ;  $\bullet$ —COC=238.4  $\mu\text{mol/L}$ ; 以下各图均同此图

~106.2% (图2(a)). 因此, 胶体对扁藻生长的促进作用 > 金藻 > 小球藻. 此外, COC=0 的低分子量(LMW)胶体或 COC 为 4.8~119.2 μmol/L 的高分子量(HMW)胶体对各藻生长的效应均高于 COC = 238.4 μmol/L 的高浓度 HMW 胶体 (图2(a)), 但

胶体浓度对微藻生长的效应因藻而异. 小球藻和金藻的 Y 值随 COC 浓度增大呈多项式下降; 扁藻的 Y 随 COC 浓度升高呈线性下降 (表1). 这些结果表明, 海洋胶体中存在着微藻生长必需的 N 营养, 但胶体浓度增大, 对微藻生长的促进作用减弱.

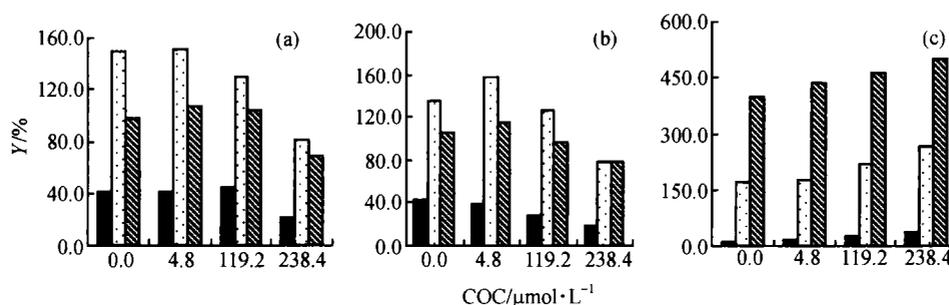


图2 微藻在胶体存在下的无 N, 无 P 和无 Fe 营养介质中的平均相对增长率 Y

(a) 无 N; (b) 无 P; (c) 无 Fe. ■—小球藻; □—扁藻; ▨—金藻

表1 微藻平均相对增长率 Y 与 COC 浓度的相关关系

营养 介质	藻类	Y = a + b COC		n	相关 系数	置信 度/%
		a	b			
无氮	小球藻	$R = -0.0009COC^2 + 0.138COC + 40.70$		4	0.9980	99
	扁藻	152.84	-0.248	4	-0.9783	95
	金藻	$R = -0.0014COC^2 + 0.191COC + 101.24$		4	0.9825	95
无磷	小球藻	38.267	-0.081	3	-0.9983	95
	扁藻	160.86	-0.034	3	-0.9940	95
	金藻	116.11	-0.016	3	-1.0000	99
无铁	小球藻	14.90	0.087	4	0.9834	95
	扁藻	173.19	0.389	4	0.9994	99
	金藻	417.74	0.352	4	0.9459	90

样比对照组好 (图3), 仍然呈指数生长. 在所选的 COC 浓度范围内, 小球藻、扁藻和金藻的平均相对增长率 Y 分别为 19.3%~43.2%, 78.3%~156.7% 和 77.9%~115.3% (图2(b)). 显然, 胶体对3种微藻生长的促进作用与无 N 营养介质中的一样, 是扁藻 > 金藻 > 小球藻. 同样地, COC=0 的 LMW 胶体或 4.8~119.2 μmol/L 的 HMW 胶体对各藻的生长效应 > 高浓度的 HMW 胶体 (238.4 μmol/L) (图2(b)), 尤其是扁藻更显著. COC 浓度对各藻生长的效应趋势一致, 即3种微藻的 Y 值随 COC 浓度的增大均呈线性下降 (表1). 这表明, 海洋胶体可提供微藻生长必需的 P 营养, 胶体浓度增大, 对微藻生长的促进作用减弱.

## 2.2 海洋胶体中的磷对微藻生长的影响

微藻在胶体存在下的无 P 营养介质中的生长同

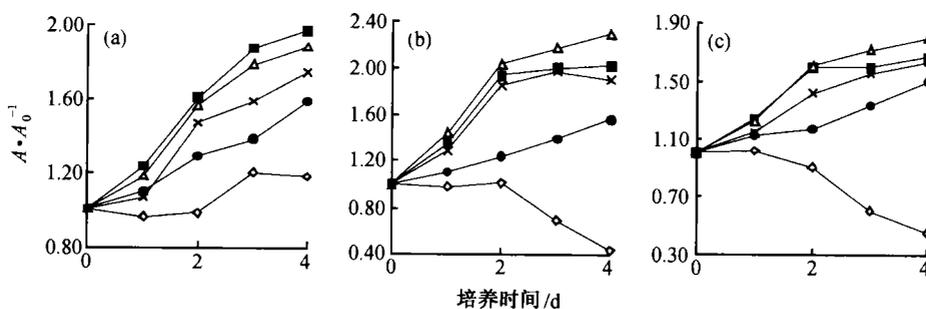


图3 微藻在胶体存在下的无 P 营养介质中的相对生长曲线

图注均同图1

### 2.3 海洋胶体中铁对微藻生长的影响

由微藻在胶体存在下的无 Fe 营养介质中的相对生长情况可知, 各藻均呈指数快速增长. 在 COC 为 0~238.4  $\mu\text{mol/L}$  的范围内, 海洋胶体使小球藻、扁藻和金藻的相对生长率与对照组相比分别平均提高了 12.7% ~ 35.3%, 171.7% ~ 266.3% 和

400.5%~498.8%(图 2(c)). 胶体对各藻生长的促进作用大小与无 N 或无 P 营养介质不同, 是金藻 > 扁藻 > 小球藻. 3 种微藻的 Y 值随 COC 浓度的增大均呈线性上升(表 1). 说明海洋胶体中存在着微藻生长必需的 Fe 营养, 胶体浓度增大, 胶态 Fe 含量增加, 对微藻生长的促进作用增强.

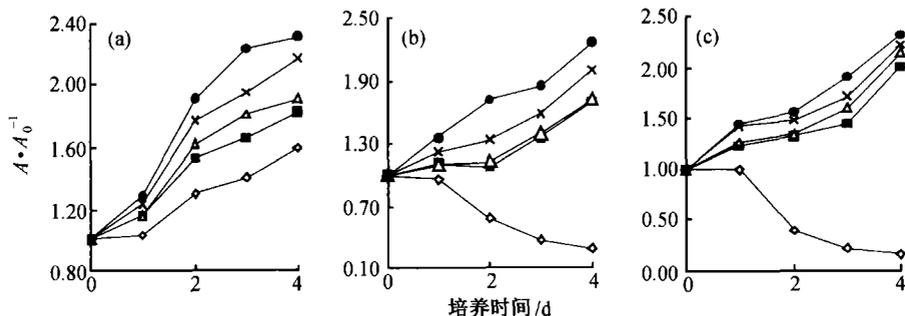


图 4 微藻在胶体存在下的无 Fe 营养介质中的相对生长曲线

图注均同图 1

## 3 讨论

### 3.1 海洋胶体中的氮、磷和铁对微藻的营养作用

已有研究<sup>[12-14]</sup>显示, 海洋、湖泊溶解有机物是细菌和浮游生物可利用氮的一个重要来源, 它们含量的增加可促进藻类的繁殖和生长, 甚至诱发赤潮. Bauer 等<sup>[15]</sup>对大洋水样总溶解有机物、胶体有机物和真溶解 LMW 有机物进行 C, N 成分的分析表明, 胶体有机部分的 N 较匮乏, C/N 比为 20~22, 而 LMW 有机物的 N 含量较丰富, C/N 比为 2~5. 本实验培养介质中 N 营养的状况正是如此, 随着截留液与超滤液的体积百分比分别由 0 上升为 100%, 培养体系中 COC 增加的同时, 超滤液体积则由 100% 下降为 0, LMW 胶体含量下降, 即 N 营养减少(因为分子量 < 10 kD 的超滤液中含有 LMW 的胶体), 因此胶体对藻生长的促进作用减弱.

关于胶体中磷的报道很少. Bauer<sup>[16]</sup>用 Amicon 膜提取了 Vineyard Sound 近岸海水的胶体(1 kD~0.2  $\mu\text{m}$ ), 测定了其中的无机和有机 P, 结果胶体有机部分有机 P 占 76%~95%. 而 600m 深的寡营养的大洋水, 胶体有机部分有机 P 占 17%~69%, 显然近岸海水胶体中浮游植物可直接吸收的无机 P >

大洋深水. 本文胶体取自近岸海湾, 无机 P 较多地分布在真溶解态中. 故随着截留液与超滤液的体积百分比的升高, 培养介质中 COC 增加的同时, 无机 P 的营养减少, 胶体对藻生长的促进作用减弱.

研究发现<sup>[4-7]</sup>, 海洋胶体中含有 50 余种痕量金属, 其中包括生物活性的或营养性金属 Fe. 在许多河口和海湾水体中, 胶体态 Fe 占溶解态 Fe 的比例高达 4%~100%, 绝大多数 > 30%. 本实验微藻在胶体存在下的无 Fe 营养介质中的生长率随 COC 浓度增大而升高的原因就是胶体中 Fe 的营养作用的结果. 因为 Wen<sup>[4]</sup>研究 Galveston 湾水体金属形态分布时发现, Fe 优先和 HMW 胶体(10 kD~0.45  $\mu\text{m}$ )结合. Wells 等<sup>[5]</sup>也发现, 在 Narragansett 湾中, Fe 主要存在于较大颗粒的胶体相中(8 kD~0.2  $\mu\text{m}$ ). 同时, 有研究表明, Fe 是限制浮游植物生长的主要因素之一, 部分海域 Fe 浓度升高可能刺激赤潮发生<sup>[17]</sup>. 而且, 不同形态的铁, 如  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ -EDTA,  $\text{Fe}^{2+}$ -EDTA 以及胶体水合氧化铁在不同条件下均促进了海生小球藻的生长繁殖; 铁对小球藻生长的主要活性形式是有机络合态铁, 通过络合剂的络合作用及光诱导还原等作用可以转化为藻类直接吸收利用的生物活性形式<sup>[18]</sup>. 本文的结果有力地支持了以上观点.

### 3.2 海洋胶体中氮、磷和铁对微藻生长效应的相对大小

比较各藻在相同浓度胶体的无 N, 无 P 和无 Fe 营养介质中的平均相对增长率  $Y$  (图 2), 可以发现, 在 LMW 胶体 ( $\text{COC} = 0$ ) 或浓度为  $4.8 \sim 119.2 \mu\text{mol/L}$  的 HMW 胶体中, N 和 P 营养对小球藻生长的促进作用大于 Fe 营养的作用, 小球藻在以胶体为惟一 N 和 P 源的介质中的平均相对增长率  $Y$  分别是以胶体为惟一 Fe 源的  $1.7 \sim 3.3$  和  $1.1 \sim 3.4$  倍. 当 COC 高达  $238.4 \mu\text{mol/L}$  时, 胶体中 Fe 的营养促进作用凸现, 小球藻以胶体为惟一 Fe 源的  $Y$  值分别是以胶体为惟一 N 和 P 源的  $1.7$  和  $1.8$  倍. 在实验的浓度范围内, 胶体中的 Fe 对金藻的促进作用远大于胶体中的 N 和 P. 金藻在含胶态 Fe 介质中的平均相对增长率  $Y$  分别是含胶态 N 和 P 的  $4.1 \sim 7.3$  倍和  $3.8 \sim 6.4$  倍; 但胶体中的 Fe 对扁藻的促进作用不如金藻显著, 扁藻在含胶态 Fe 介质中的  $Y$  分别是含胶态 N 和 P 介质的  $1.2 \sim 3.3$  倍和  $1.1 \sim 3.4$  倍.

此外, 小球藻在超纯水配制的无 N, 无 P 和无 Fe 的  $f/2$  人工海水对照组中, 呈指数生长, 而扁藻和金藻却呈指数衰减; 但它们在胶体存在下的相同介质中却呈显著指数生长, 这进一步证明了胶体对微藻生长的促进作用和营养作用.

### 参 考 文 献

- Buffle J, et al. Characterization of aquatic colloids and macromolecules 1. Structure and behavior of colloidal material. *Environ Sci Technol*, 1995, 29: 2169
- Ogura N. High molecular weight organic matter in seawater. *Mar Chem*, 1977, 5: 535
- Guo L, et al. Trace metal composition of colloidal organic material in marine environments. *Mar Chem*, 2000, 70(4): 257
- Wen L S, et al. Estuarine trace metal distributions in Galveston Bay: Importance of colloidal forms in the speciation of the dissolved phase. *Mar Chem*, 1999, 63(3-4): 185
- Wells M L, et al. The distribution of colloidal and particulate bioactive metals in Narragansett Bay, RI. *Mar Chem*, 2000, 71: 143
- Wu, J, et al. Soluble and colloidal Fe in the oligotrophic north Atlantic and north Pacific. *Science*, 2001, 293: 847
- Benoit G, et al. Portioning of Cu, Pb, Ag, Fe, Al, and Mn between filter-retained particles, colloids, and solution in six Texas estuaries. *Mar Chem*, 1996, 55(1-2): 129
- Sunda W G, et al. Interrelated influence of iron, light and cell size on marine phytoplankton growth. *Nature*, 1997, 390: 389
- Chen M, et al. Marine diatom uptake of iron bound with natural colloids of different origins. *Mar Chem*, 2003, 81: 177
- Chen M, et al. Bioavailability of natural colloidal Fe to marine plankton: Influence of colloidal size and aging. *Limnol Oceanogr*, 2001, 46: 1956
- 陈敏, 等. 错流超滤技术在海水胶体态铀、钍、镭同位素和有机碳研究中的应用. *海洋学报*, 2000, 22(5): 51
- Berman T, et al. Algal growth on organic compounds as nitrogen sources. *J Plankton Res*, 1999, 21(8): 1423
- Maestrini S Y, et al. Nitrogenous organic substances as potential nitrogen sources, for summer phytoplankton in the Gulf of Riga, eastern Baltic Sea. *Plankton Biol Ecol*, 1999, 46(1): 8
- Bushwa K, et al. Photochemical release of biologically available nitrogen from aquatic dissolved organic matter. *Nature*, 1996, 381: 404
- Bauer J E, et al. Seasonal isotopic ( $^{13}\text{C}$  and  $^{14}\text{C}$ ) signature of dissolved and colloidal organic carbon in the eastern North Pacific Ocean. *Trans Am Geophys Union*, 1994, 75: 236
- Bauer J E, et al. Cross-flow filtration of dissolved and colloidal nitrogen and phosphorus in seawater: Results from an intercomparison study. *Mar Chem*, 1996, 55: 33
- Cullen J J. Oceanography-iron, nitrogen and phosphorus in the ocean. *Nature*, 1999, 402: 372.
- 欧明明, 等. 海水中铁的几种形态对海生小球藻生长的影响. *青岛海洋大学学报(自然科学版)*, 2002, 32(4): 627