

环境因子对高盒形藻生长 及其生化组成的影响*

李文权 郑爱榕 王 宪 陈清花

(厦门大学海洋系)

摘要 运用 ^{14}C 示踪法测定高盒形藻光合作用速率,并在实验室模拟条件下,研究光、营养盐和温度等环境因子对高盒形藻细胞生化组成的影响。结果表明,在常温和适宜的光照强度范围内,藻类光合作用速率随光强增加而增加,其光合产物碳水化合物和类脂物含量呈增加趋势,而蛋白质含量则降低。当介质氮磷比为16时,高盒形藻生长最佳,蛋白质合成的百分比最高。高盒形藻光合作用过程平均活化能 14.32kJ/mol ,在 27°C 左右有最高光合作用速率和最高的碳水化合物与蛋白质含量之比。

关键词 高盒形藻 环境因子 生化组成

前 言

光、温度和营养盐是影响海洋浮游植物光合作用的重要环境因子。这些环境因子的影响效应不仅表现在藻类生长与繁殖的快慢,还表现在藻类细胞光合产物生化组成的差别。近年来,国外一些研究者作了这方面的报道,并从动力学的观点进行了阐述^[1~4]。我国学者也从事了这方面的研究^[5~7]。本文着重探讨在实验室模拟的条件下,高盒形藻 [*Biddulphia regia* (Schultze) Ostensfeld] 细胞生化组成随环境因子变化的规律。该藻种在福建和广东沿海相当普遍,数量有时很多,甚至成为优势种^[8]。有关高盒形藻的生态和生理研究国内尚无报道。

1 实验方法

1.1 主要试剂与仪器

$^{14}\text{C}\text{-Na}_2\text{CO}_3$, $37\ 000\text{Bq/cm}^3$, 中国科学院原子能研究所产品;自制人工光源培养箱 ($2\times$

本文于1994-08-08收到,修改稿于1995-01-03收到。

*福建省自然科学基金资助项目。

500W 碘钨灯光源);液体闪烁计数器, TRI-CARB 4640 型(美国 Packard Co);分光光度计, 722 型(上海第三分析仪器厂);501 型超级恒温箱.

1.2 藻类培养

取高盒形藻纯种,用消毒的过滤海水(盐度 28.65, pH8.16)配制 $f/2$ 培养基,在 24°C , 光强 $32\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下培养. 本实验所用玻璃器皿均经过高温灭菌后使用.

1.3 分离与测定

藻类光合作用速率用 ^{14}C 示踪法测定^[9]. 藻类细胞生化组分的分离提取按文献方法进行^[1]. 经分离后的类脂物用重铬酸盐氧化-分光光度法测定^[9], 碳水化合物用蒽酮法测定^[9], 蛋白质用 Folin-酚试剂法测定^[10].

2 结果与讨论

2.1 光照强度的影响

人工光源培养箱总光强 $330\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 选择具有不同滤光性能的布料包裹培养瓶, 取高盒形藻细胞密度为 3×10^4 个/ cm^3 , 在 25°C 下培养 2h, 测定藻类光合作用速率 (PR) 和细胞生化组成. 结果表明, 在光强为 $31 \sim 181\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 范围内, 随着光强的提高, 高盒形藻光合作用速率从 $163.3\text{mg}/(\text{m}^3 \cdot \text{h})$ 增加到 $196.9\text{mg}/(\text{m}^3 \cdot \text{h})$, 细胞碳水化合物含量也从 $489.7\text{mg}/\text{dm}^3$ 增加到 $789.3\text{mg}/\text{dm}^3$ (图 1), 细胞内碳水化合物百分含量也相应地提高(见表 1). 碳水化合物含量 (C) 与藻类光合作用速率 (PR) 有很好的相关性(图 2), 回归方程可表达为 $C = 8.5449PR - 870.19$ ($n=5, r=0.9550$).

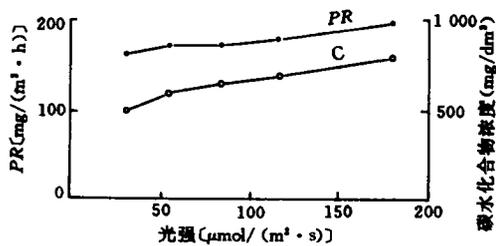


图 1 不同光强下高盒形藻光合作用速率和碳水化合物浓度的变化
PR. 光合作用速率
C. 碳水化合物

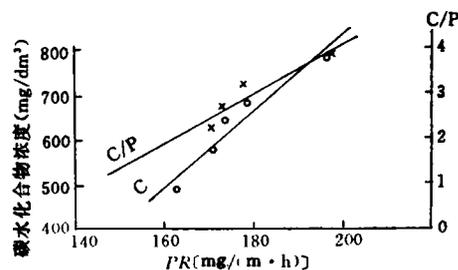


图 2 光强度变化下光合作用速率与生化组成的关系
C. 碳水化合物
C/P. 碳水化合物/蛋白质

当光强高于 $55\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 后, 高盒形藻细胞蛋白质含量由 $362.5\text{mg}/\text{dm}^3$ 减少到 $210.0\text{mg}/\text{dm}^3$, 百分含量也从 38.42% 降至 20.96% . 相对于碳水化合物和蛋白质, 藻类细胞

类脂物含量较小,但随着光强的提高,仍呈上升的趋势,其含量从 $2.270\text{mg}/\text{dm}^3$ 增至 $2.725\text{mg}/\text{dm}^3$.

表 1 环境因子对高盒形藻生长和生化组成的影响

实验条件	光合作用速率		碳水化合物 (C)		蛋白质 (P)		类脂物 (L)		C/P
	[$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]	[$\text{mg}/(\text{m}^3 \cdot \text{h})$]	(mg/dm^3)	(%)	(mg/dm^3)	(%)	(mg/dm^3)	(%)	
光 强 [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]	31	163.3	489.7	72.93	179.5	26.73	2.270	0.34	2.886
	55	171.0	578.6	61.33	362.5	38.42	2.381	0.25	2.262
	84	173.3	647.0	72.37	244.5	27.35	2.486	0.28	2.728
	117	178.0	684.7	76.14	212.0	23.57	2.603	0.29	3.275
	181	196.9	789.3	78.77	210.0	20.96	2.725	0.27	3.865
氮磷比	4	150.8	683.4	90.43	70.0	9.26	2.355	0.31	9.763
	8	135.4	561.9	86.88	82.5	12.76	2.367	0.37	6.811
	16	170.5	643.6	72.03	247.5	27.70	2.395	0.27	2.600
	27	104.4	370.2	86.32	56.3	13.13	2.378	0.55	6.575
	40	113.0	474.6	80.51	112.5	19.09	2.355	0.40	4.219
温度 ($^{\circ}\text{C}$)	23	128.9	285.6	58.23	202.5	41.29	2.357	0.48	1.410
	27	139.3	440.2	64.72	237.5	34.92	2.506	0.37	1.853
	31	126.1	400.9	63.58	227.5	36.08	2.113	0.34	1.762
12L : 12D 培养时间 (h)	0		442.4	63.15	255.0	36.40	3.185	0.45	1.735
	6		509.9	66.20	257.0	33.37	3.322	0.43	1.984
	12		711.6	73.26	256.3	26.39	3.397	0.35	2.776
	24		610.8	68.69	275.0	30.92	3.451	0.39	2.221
	36		729.7	75.10	238.5	24.55	3.417	0.35	3.060
	48		661.7	70.85	268.8	28.78	3.485	0.37	2.462
	60		884.3	71.45	350.0	28.28	3.343	0.27	2.527
	72		721.0	67.71	340.3	31.96	3.513	0.33	2.119

碳水化合物作为藻类光合作用的直接产物,是藻类光合产物重要的组成部分.在本实验条件下,高盒形藻碳水化合物百分含量均超过 60%,其含量变化反映藻类生长的状态,与光强的变化有十分密切的关系.另一方面,蛋白质百分含量相对较低,且随光强提高而降低. Morris 等在美国缅因湾现场调查中,观察到藻类蛋白质含量随光强减弱而增加的趋势,同时伴随着碳水化合物百分比的减少^[2]. Cullen 等在对海藻 *Heterocapsa niei* 的研究中,也发现相同的现象^[11]. 相对而言,类脂物的合成在低温下比较有利. Smith 等发现在南极海域浮游植物类脂物含量可高达 80%^[3]. 在光强变化的条件实验中,温度始终保持在 25°C 左右,藻类细胞类脂物百分含量相对较低.

碳水化合物与蛋白质含量之比 (C/P) 可作为藻类营养状态指标,但不可忽略光强的因

素^[7,12,13]. 当光强大于 $55\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 后, C/P 随光强增加而增加, C/P 与藻类光合作用速率(PR)有很好的相关性(图2), 回归方程 $C/P=0.0543PR-6.7366$ ($n=4, r=0.9232$).

2.2 营养盐的影响

配制一系列具不同氮磷比培养介质的高盒形藻液 3×10^4 个/ cm^3 , 在 $32\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强和 24°C 下连续培养 12h, 测定 PR 和藻类生化组成.

当氮磷比为 16 时, PR 有峰值(表1), 高盒形藻处于最佳生长状态, 此时蛋白质含量呈最高值 $247.5\text{mg}/\text{dm}^3$, 其百分比也最高 27.70%. 氮磷比小于或大于 16, 蛋白质含量和百分比都下降(图3). 可见环境中的氮磷比值与藻类蛋白质

合成有密切的关系, 其中无机氮可获量的多少, 影响藻类光合直接产物碳水化合物向蛋白质的转化. 当氮磷比降低为 8 和 4 时, 蛋白质的合成受氮不足所限制; 当氮磷比为 27 和 40 时, 尽管无机氮的比例提高, 但藻类生长状态欠佳, 也不利于蛋白质的合成.

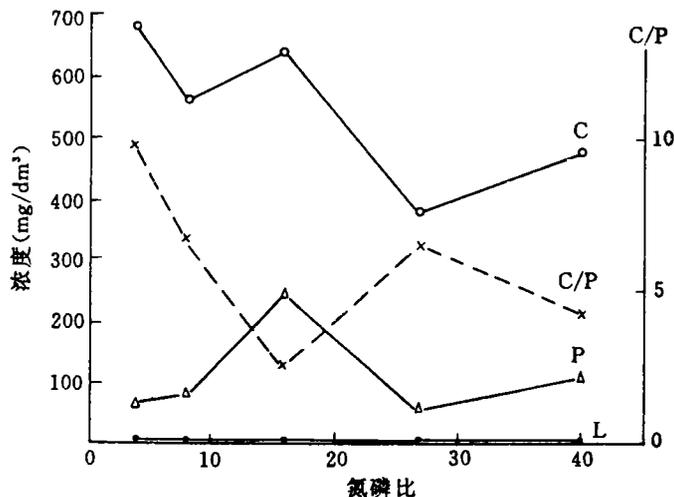


图3 营养盐对生化组成的影响

C. 碳水化合物 P. 蛋白质 L. 类脂物

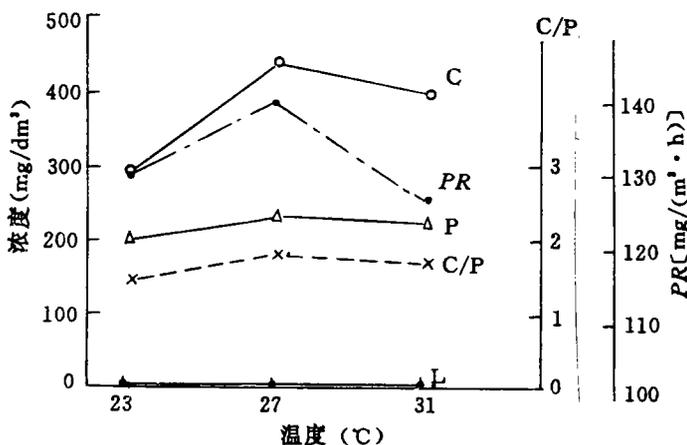


图4 温度对生化组成的影响

C. 碳水化合物 P. 蛋白质 L. 类脂物

$106\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下, 分别于 23°C 、 27°C 和 31°C 三个温度下培养 3h, 超级恒温箱控温误差 $\pm 0.5^\circ\text{C}$. 实验结果表明, 在 27°C , 高盒形藻有最高 PR , $139.3\text{mg}/(\text{m}^3 \cdot \text{h})$, 碳水化合

由于类脂物含量基本不变, 当氮磷比 16 时, 尽管碳水化合物含量较高 $643.6\text{mg}/\text{dm}^3$, 但碳水化合物的百分含量却由于蛋白质含量的提高而降低至最小值 72.03%. 同时, C/P 也最低 2.600, 在此情况下, C/P 比值可用于指示藻类碳水化合物进一步合成蛋白质的效率, 较低的 C/P 表示有较高的转化效率.

2.3 温度的效应

在 2.5×10^4 个/ cm^3 的高盒形藻实验体系中, 于

物、蛋白质和类脂物均有最高的含量, C/P 也达峰值 (表 1, 图 4)。此时, 碳水化合物百分比最高 64.72%, 而蛋白质百分比最低 34.92%。

浮游植物光合作用包括光化学反应和酶促反应, 后者与温度密切相关, 因此温度是影响藻类生长的重要环境因子。通过不同温度下 PR 的变化可以计算藻类光合作用过程的平均活化能 E 和温度系数 Q_{10} ^[14,15],

$$\frac{d \ln PR}{dT} = \frac{E}{RT^2}$$

$$Q_{10} = \left(\frac{PR_2}{PR_1} \right)^{10/(T_2 - T_1)}$$

其中, R 为气体常数。 T 为绝对温度。 由计算结果可知, 高盒形藻 E 为 14.32 kJ/mol, Q_{10} 为 1.21。

表 2 列出了本实验室完成的几种海洋藻类 E 、 Q_{10} 和最适生长的温度范围的实验结果。 相对而言, 高盒形藻 E 和 Q_{10} 比较小。 高盒形藻细胞形状和大小与中华盒形藻 (*Biddulphia sinensis* Greville) 基本相似, 纵轴长 90~340 μm ^[8]。 按本实验结果, 高盒形藻生长的最适温度范围在 27℃ 左右, 与中华盒形藻 25~28℃^[16] 相近。

表 2 几种藻类光合作用活化能、温度系数和最适温度范围

藻 类	活化能 E (kJ/mol)	温度系数 Q_{10}	最适温度 (℃)	参考文献
高盒形藻 (<i>Biddulphia regia</i>)	14.32	1.21	~27	本 文
亚心形扁藻 (<i>Platymonas subcordiformis</i>)	17.75	1.21	20~28	[17]
小球藻 (<i>Chlorella</i> sp.)	23.07	1.48	25~29	[18]
钙质角刺藻 (<i>Chaetoceros calcitrons</i>)	66.15	1.61	29~33	[18]
牟氏角刺藻 (<i>Chaetoceros muelleri</i>)	29.56	1.51	23~27	[14]
聚生角刺藻 (<i>Chaetoceros socialis</i>)	51.91	1.95	26~30	[14]

2.4 亮暗交替变化的影响

模拟自然海区光照的亮暗变化, 采用 12L : 12D 的实验条件。 在 24℃, 光强 32 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和氮磷比 16 等条件下, 对高盒形藻 7×10^4 个/ cm^3 连续 72h 亮暗交替变化的培养。 结果表明, 高盒形藻细胞类脂物含量变化很小, 百分比均小于 0.5%。 碳水化合物含量呈周期性变化, 而蛋白质含量变化规律不明显 (图 5)。

从实验初始至 72h, 高盒形藻光合产物碳水化合物和蛋白质含量均呈现增加趋势, 表明这 3 天内藻类生长繁殖正常。 在光照周期 0~12、24~36、48~60h, 由于藻类光合作用的进行, 同化作用占主导地位, 碳水化合物作为光合直接产物获得积累, 其含量增加。 在黑暗周期 12~24、36~48、60~72h, 由于藻类光合作用减弱至几乎为零, 以呼吸作用为代表的异化作用为主导, 致使作为细胞内主要储能物质的碳水化合物被消耗。 如此周而复始, 在 72h 内碳

水化合物含量呈锯齿状有规则的变化。

蛋白质含量的变化相对比较平缓。0~48h, 蛋白质含量变化不大, 48h后的亮周期时其含量增加, 而在暗周期60~72h时则略有下降。48h后藻类生长状态渐趋良好, 碳水化合物含量明显提高, 其中一部分转化为蛋白质和类脂物。碳水化合物含量的变化直接反映藻类生长和能量代谢的情况, 而蛋白质则更多地参与了细胞含氮物质的代谢, 其变化比较缓慢, 而且明显地滞后于碳水化合物含量的变化。

C/P变化在0~48h内与碳水化合物的变化趋势相似, 即亮周期C/P增加, 暗周期C/P减少, 这时主要受制于碳水化合物含量的改变。48h后, C/P变化幅度很小, 反映碳水化合物向蛋白质转化效率的提高。

类脂物含量变化不大, 但还能观察到亮周期略下降而暗周期略升高的微小变化(见表1), 可能与暗周期温度较低有关。

3 结语

海洋主要环境因子对高盒形藻的生长及其生化组成有显著影响。在常温和适宜的光照强度范围内, 高盒形藻光合作用速率随光强增加而增加, 其光合产物碳水化合物和类脂物含量呈增加趋势, 而蛋白质含量则降低。高盒形藻碳水化合物含量和C/P与光合作用速率有正相关关系。

在常温和低照度下, 当氮磷比为16时, 高盒形藻有最高的光合作用速率, 蛋白质百分比最高, 而C/P最低。

在一定的温度范围内, 高盒形藻光合作用速率随温度升高而增加, 在27℃左右呈最大值, 其时C/P最高。计算结果表明, 高盒形藻光合作用的平均活化能和温度系数相对较低。

亮暗交替变化的实验结果表明, 亮周期碳水化合物含量增加, 暗周期则减少; 蛋白质含量的变化比较平缓, 且明显地滞后于光合直接产物碳水化合物的变化。

参考文献

- 1 Li W K W and W G Harrison. Carbon flow into the end-products of photosynthesis in short and long incubations of a natural phytoplankton population. *Mar. Biol.*, 1982, **72**, 175~182
- 2 Morris I and W Skea. Products of photosynthesis in natural populations of marine phytoplankton from the Gulf of Maine. *Mar. Biol.*, 1978, **47**, 303~312
- 3 Smith A E and I Morris. Synthesis of lipid during photosynthesis by phytoplankton of the Southern Ocean. *Science*,

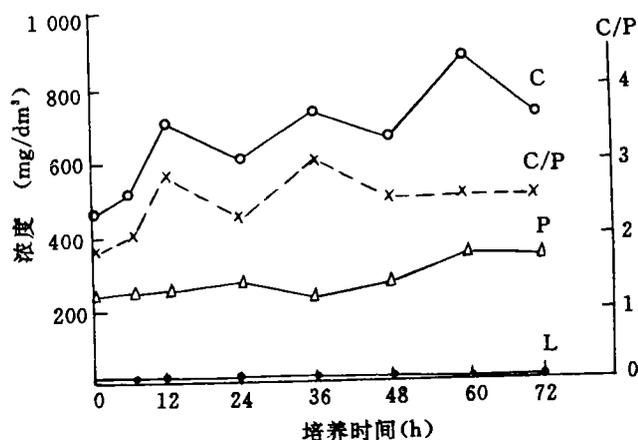


图5 亮暗交替变化对生化组成的影响

C. 碳水化合物 P. 蛋白质 L. 类脂物

- 1980, **207**, 197~199
- 4 Smith R E H and R J Geider. Kinetics of intracellular carbon allocation in a marine diatom. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 1985, **93**, 191~210
 - 5 杨庆霄. 温度对一些浮游植物中脂肪酸组成的影响. *海洋与湖沼*, 1988, **19**(5):439~446
 - 6 杨小龙等. 光暗周期下一种海洋硅藻荧光特性和生化组成的研究, 1. 营养盐的影响. *海洋学报*, 1991, **13**(6): 822~830
 - 7 杨小龙等. 光暗周期下一种海洋硅藻荧光特性和生化组成的研究, II. 光强的影响. *海洋学报*, 1992, **14**(1): 97~104
 - 8 金德祥等. *中国海洋浮游硅藻类*. 上海: 上海科学技术出版社, 1965, 154~155
 - 9 Parsons T R *et al.*. *A Manual of Chemical and Biological Methods for Sea Water Analysis*. Oxford: Pergamon Press, 1984, 173.
 - 10 上海植物生理学会编. *植物生理学实验手册*. 上海: 上海科学技术出版社, 1985, 210~213
 - 11 Cullen J J *et al.* Vertical migration, carbohydrate synthesis and nocturnal nitrate uptake during growth of *Heterocapsa niei* in a laboratory water column. *Mar. Science Contribution*, 1985, **660**, 189~194
 - 12 Mykkestad S. Production of carbohydrates by marine planktonic diatoms, I. Comparison of nine different species in culture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 1974, **15**, 261~274
 - 13 李文权等. 光和营养盐对三角褐指藻生化组成的影响. *中国环境科学*, 1994, **14**(3):185~189
 - 14 李文权等. 光照强度及环境要素对海洋初级生产力的影响. *厦门大学学报 (自然科学版)*, 1989, **28**(4): 423~426
 - 15 王 宪, 李文权. 聚生角毛藻 *Chaetoceros socialis* 生长的动力学模式初探. *海洋通报*, 1992, **11**(4):47~51
 - 16 湛江水产专科学校主编. *海洋饵料生物培养*. 北京: 农业出版社, 1980, 80~82
 - 17 李文权等. 亚心形扁藻吸收葡萄糖的动力学研究. *厦门大学学报 (自然科学版)*, 1993, **32**(3):356~359
 - 18 王 宪, 李文权. 4种单胞藻同化速率与温度关系的实验研究. *台湾海峡*, 1990, **9**(3),287~290