

# 光强和营养盐对伪矮海链藻昼夜节律变化的影响\*

## I. 细胞分裂、叶绿素 $a$ 及活体荧光特性

杨小龙 朱明远

(国家海洋局第一海洋研究所, 青岛 266003)

**摘要** 于1989年1月—1989年8月采用连续培养和半连续培养方法进行了伪矮海链藻细胞分裂、叶绿素  $a$  含量和活体荧光特性与光、营养盐关系的研究。结果表明,细胞分裂、活体荧光、叶绿素  $a$  均呈现光照期的增长速率明显高于黑暗期的增长速率的日变化规律,荧光增强比则在光照期开始后或黑暗期结束时出现最高值;光强和营养盐不仅影响各指标日变化的幅度,而且还可改变荧光增强比峰值出现时间。因此,在研究细胞分裂、叶绿素  $a$  和荧光特性的昼夜节律时,必须考虑光和营养盐这两个重要因素。

**关键词** 伪矮海链藻 昼夜节律 光 营养盐 叶绿素  $a$  荧光特性

大量的研究表明,在光暗周期下,海洋浮游植物的生长代谢和光合作用均有昼夜节律变化现象<sup>1)</sup>。因此,在解释现场数据和建立海洋初级生产力的模式时,浮游植物的昼夜变化是应予解决的重要问题之一。海洋浮游植物的昼夜节律变化除了与其种间差异有关外,环境条件的不同也是应该考虑的重要因素。然而,有关这方面的研究报道却很少。本文探讨了光和营养盐对一种海洋硅藻——伪矮海链藻的细胞分裂、叶绿素  $a$  含量和荧光特性的影响,以为海洋浮游植物生理生态的研究提供更为可靠的理论依据。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 实验藻类,伪矮海链藻 (*Thalassiosira pseudonana*) 于1988年11月由美国毕格罗海洋研究所微藻培养中心提供。

**1.2 培养方法** 藻类培养在温度为  $19 \pm 0.5^\circ\text{C}$  的恒温箱中。用荧光灯为光源,光周期为12h光照(L)和12h黑暗(D)。连续培养和半连续培养方法同杨小龙等(1991,1992)。连续培养实验,光强为  $200 \mu\text{E}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,比生长速率(以下简称生长速率)为0.2,0.43,0.59,0.84,  $1.11 \text{d}^{-1}$ 。半连续培养实验,光强为10,25,50,75,100,200,400,  $900 \mu\text{E}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。取样时间为光照期开始后的0,3,6,9,12,24h。

**1.3 样品分析及参数定义** 活体荧光(F)、二氯苯基二甲脲(DCMU)增强荧光(Fd)和叶绿素  $a$ (chl $a$ )的测定依据 Cullen 等人(1986)的方法。DCMU 增强荧光用 Fd/F

\* 美国海军研究基金资助项目, N14-87-K-0311-1 号。

收稿日期: 1990年6月14日;接受日期: 1992年5月29日。

1) Rhee, G.-Y. et al., 1981, Continuous Culture of Cells, Vol. II, 159—186.

来表示;用比增长速率表示各指标的日变化幅度:

$$\mu_x = \frac{\ln(x_2/x_1)}{t_2 - t_1}$$

式中,  $\mu_x$  为参数  $x$  [细胞 (cell), F, chl $a$ ] 的比增长速率 ( $d^{-1}$ );  $x_2, x_1$  分别为参数  $x$  在时间  $t_2, t_1$  时的值。细胞的比增长速率 ( $\mu_{cell}$ ) 即为藻类生长速率。 $\mu_x^L, \mu_x^D, \mu_x^T$  依次表示参数  $x$  在 12h 光照期、12h 黑暗期、日平均的比增长速率(下文同)。

## 2 结果和讨论

**2.1 不同光强下藻类的生长及细胞分裂节律** 伪矮海链藻细胞在光照期和黑暗期均进行分裂,但是,光照期的细胞分裂速率明显大于黑暗期(图 1a)。在最低光强 [ $10 \mu E / (m^2 \cdot s)$ ] 下,  $\mu_{cell}^L, \mu_{cell}^D, \mu_{cell}^T$  依次为 0.18, 0.04, 0.11  $d^{-1}$ ; 随着光强增强, 它们均呈指数增加; 在  $200 \mu E / (m^2 \cdot s)$  光强下达饱和 ( $\mu_{cell}^L, \mu_{cell}^D, \mu_{cell}^T$  依次为 2.13, 1.26, 1.46  $d^{-1}$ ); 至  $900 \mu E / (m^2 \cdot s^{-1})$  光强下, 生长仍未受到明显的抑制。

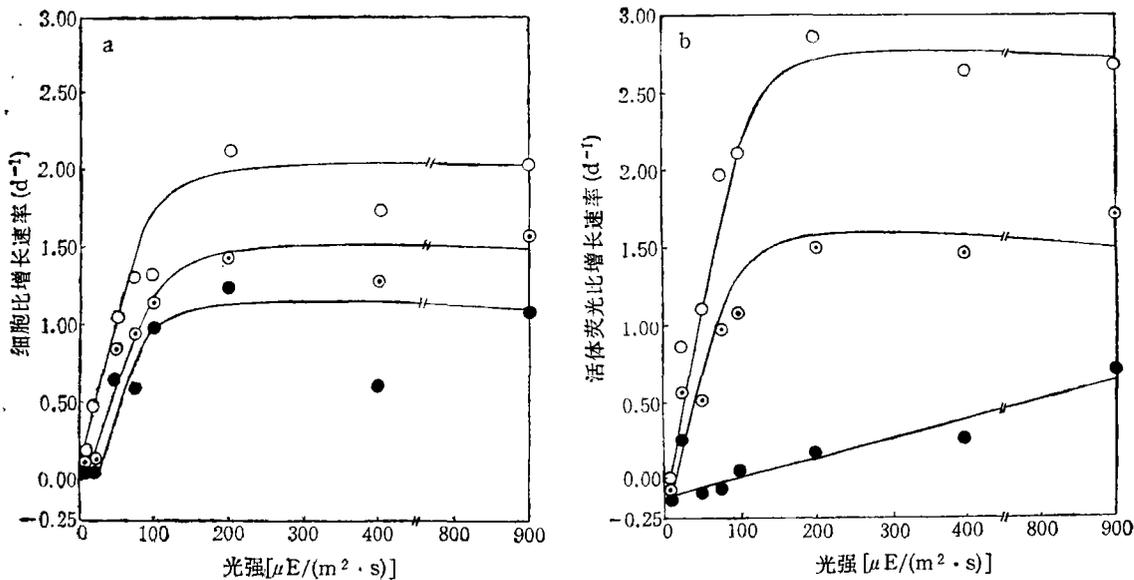


图 1 不同光强下伪矮海链藻细胞的比增长速率(a)和活体荧光的比增长速率(b)

Fig. 1 The specific increase rate of cells and *in vivo* fluorescence at different light intensities in *T. pseudonana*

○  $\mu_{cell}^L(\mu_F^L)$ ; ●  $\mu_{cell}^D(\mu_F^D)$ ; ◐  $\mu_{cell}^T(\mu_F^T)$ 。

伪矮海链藻细胞分裂的日变化特性与 Nelson 等(1979)的研究结果相吻合,也符合大多数硅藻细胞分裂的日变化规律。然而, Nelson 等人在连续光照下培养伪矮海链藻,光强达  $600 \mu E / (m^2 \cdot s)$  时,其生长速率受到明显抑制;而本实验在  $900 \mu E / (m^2 \cdot s)$  光强下,其生长仍无明显抑制现象。由此看来,黑暗在藻类的能量负荷中起了缓冲作用。藻类在黑暗期的生长速率随光强增强而增加的现象,说明了它在高光强下可贮存更多的能量和细胞物质,以用于黑暗期的细胞分裂。

### 2.2 光强和营养盐对藻类活体荧光日变化的影响

**2.2.1 光强的影响** 结果表明,  $\mu_F^L$ ,  $\mu_F^D$ ,  $\mu_F^T$  均随光强的增强而增加;但是,  $\mu_F^L$ ,  $\mu_F^T$  在  $200 \mu E/(m^2 \cdot s)$  光强下即达饱和, 分别为  $2.88$  和  $1.53 d^{-1}$ ; 而  $\mu_F^D$  呈直线增加, 至  $900 \mu E/(m^2 \cdot s)$  光强下仍未饱和(图 1b)。活体荧光的比增长速率, 在光照期高于黑暗期的结果是大多数海洋浮游植物活体荧光日变化的规律 (Brand, 1982)。然而, 本实验结果又进一步说明, 在光强高于光饱和和光强时, 藻类活体荧光在黑暗期的增长速率随光强增强却相对增加。

**2.2.2 营养盐的影响** 伪矮海链藻的活体荧光在各种营养状态(生长速率)下均呈现光

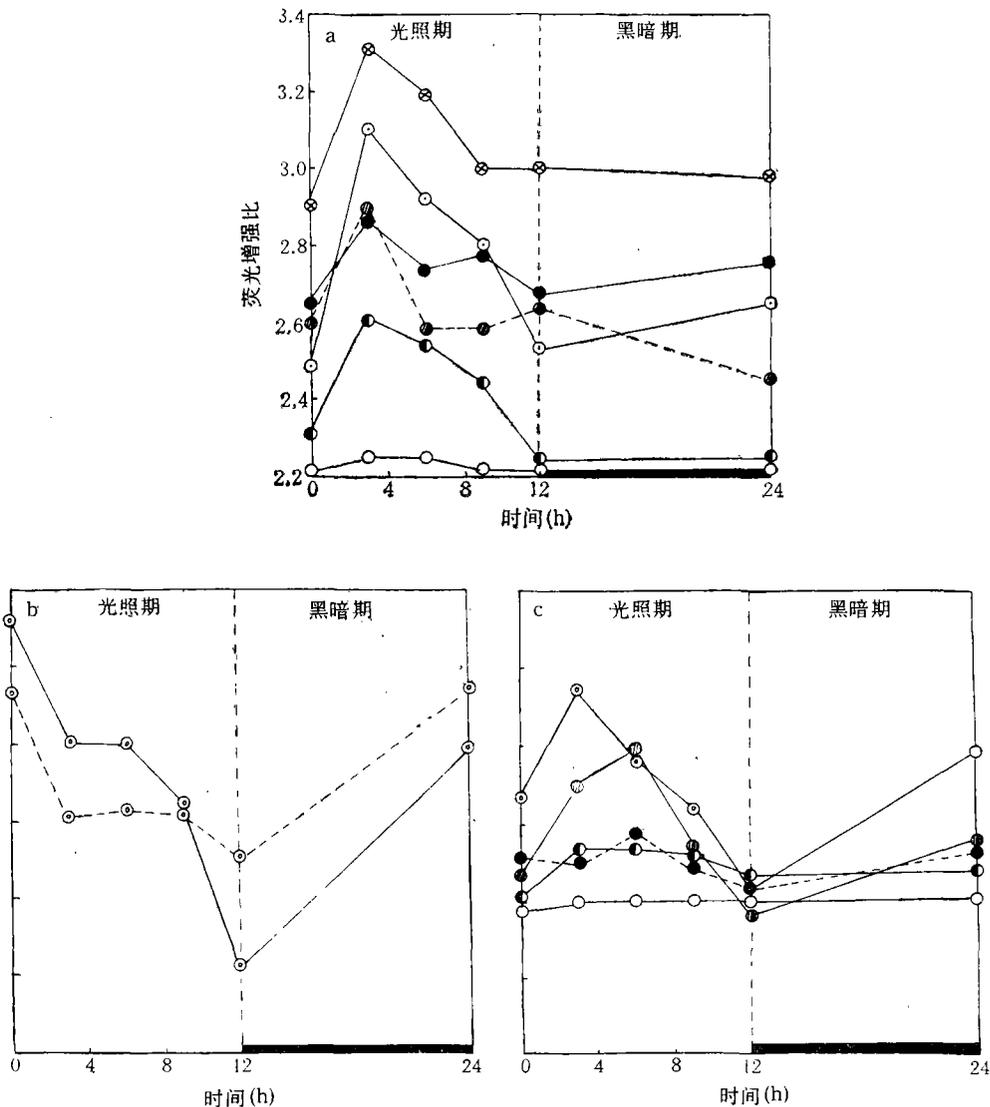


图 2 不同光强和生长速率下伪矮海链藻荧光增强比的日变化

Fig. 2 The diel variation of enhanced fluorescence ratio in *T. pseudonana* under different light intensities and growth rates

a, b. 光强 [ $\mu E/(m^2 \cdot s)$ ]:  $\circ$  10,  $\bullet$  25,  $\bullet$  50,  $\bullet$  75,  $\otimes$  100,  $\odot$  200,  $\odot$  400,  $---\odot---$  900; c. 生长速率( $d^{-1}$ ):  $\circ$  0.20,  $\bullet$  0.43,  $\bullet$  0.59,  $\bullet$  0.84,  $\odot$  1.11.

照期增加、黑暗期降低到原来水平的日变化规律。生长速率由  $0.20\text{d}^{-1}$  增加到  $1.11\text{d}^{-1}$ ,  $\mu_{\text{F}}^{\text{I}}$  增加了 32 倍多。由此看来,藻类营养状态对活体荧光的日变化有较大的影响,这是在解释现场数据时应该考虑的问题。

### 2.3 光强和营养盐对藻类荧光增强比日变化的影响

**2.3.1 光强的影响** 在小于  $200\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  光强下,伪矮海链藻的荧光增强比均在光照后 3h 达到最高值,其后逐渐降低(图 2a);而在高光强下 [ $\geq 400\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ], 其值在光照期逐渐降低,直到黑暗期末才恢复到原来的水平(图 2b)。

由于荧光增强比是表示藻类光合作用能力的重要参数 (Prezelin, 1981), 因此, 在低光强下,荧光增强比的昼夜节律不与光、暗周期吻合的现象反映了光合作用的内部节律性。在高光强下,荧光增强比在光照期逐渐降低,反映了藻类光抑制的出现;在黑暗期逐渐增加这反映了光合活性的恢复。在不同光强下光合作用节律的不同,说明浮游植物的光合作用节律受内部节律和外部环境两个因子的控制。

**2.3.2 营养盐的影响** 在最高生长速率 ( $1.11\text{d}^{-1}$ ) 时, 荧光增强比日变化幅度较大且最大值出现在光照后 3h; 当生长速率低于  $0.84\text{d}^{-1}$  时, 荧光增强比日变化幅度降低且最大值转移到光照后 6h; 在最低生长速率 ( $0.2\text{d}^{-1}$ ) 下, 荧光增强比无明显的日变化(图 2c)。本实验结果首先从侧面说明,营养盐不仅影响着光合作用的日变化幅度,而且还影响其最大值出现时间。

### 2.4 光强和营养盐对叶绿素 *a* 日变化的影响

**2.4.1 光强的影响**  $\mu_{\text{chl}a}^{\text{I}}$ ,  $\mu_{\text{chl}a}^{\text{T}}$  均随光强增强而增加,到  $200\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  达饱和,随后,随着光强的增强而略有降低。 $\mu_{\text{chl}a}^{\text{D}}$  则随光强增强呈直线增加,到  $900\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  仍未见

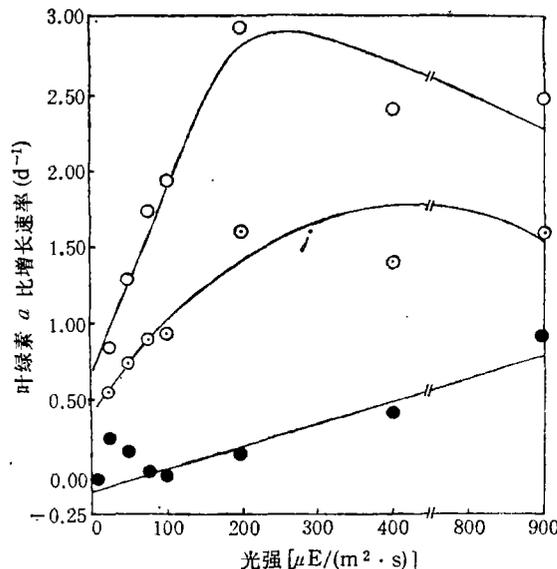


图 3 不同光强下伪矮海链藻叶绿素 *a* 的比增长速率(标记同图 1)

Fig. 3 The specific increase rate of chlorophyll *a* in *T. pseudonana* under different light intensities

饱和现象(图 3)。细胞叶绿素 *a* 含量则在光照期增加,在黑暗期降低。

有关叶绿素 *a* 日变化的研究,大多是在单一光强下进行的。得出的结论是,海洋浮游植物叶绿素 *a* 的合成只局限于光照期 (Hitchcock, 1980, [Owens et al., 1980])。本实验结果又进一步表明,在高光强下,浮游植物的叶绿素 *a* 在黑暗中可有明显的合成。我们认为,在高光强下,浮游植物叶绿素 *a* 暗合成增加是因为它们在高光强下的光照期比低光强下的光照期可累积更多的叶绿素 *a* 前体和能量 (ATP),从而在黑暗中仍可合成较多的叶绿素 *a*。在光强高于  $200\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  时,  $\mu_{\text{chl}a}^{\text{L}}$  略有降低,可能与叶绿素 *a* 在高光强下发生光氧化而“漂白”有关 (Glooschenko, et al., 1972)。

**2.4.2 营养盐的影响** 伪矮海链藻的细胞叶绿素 *a* 含量,在光照期增加,在黑暗期降低到原来的水平上。生长速率由  $0.2\text{d}^{-1}$  升高到  $1.11\text{d}^{-1}$ ,  $\mu_{\text{chl}a}^{\text{L}}$  呈直线增加,由  $0.21\text{d}^{-1}$  增至  $0.85\text{d}^{-1}$ ,增加了 3 倍多。现场调查中常常观察到海洋浮游植物叶绿素 *a* 无日变化的现象 (Prezelin et al., 1980)。Owens 等人(1980)也曾发现一次培养的骨条藻 (*Skeletonema costatum*),当生长到静止期时,细胞叶绿素 *a* 日变化幅度降低。本实验结果首次说明,营养盐的限制作用可能是这些现象的原因之一。

### 3 结语

本实验首次全面、系统地研究了光和营养盐对伪矮海链藻细胞分裂、叶绿素 *a* 及荧光特性日变化的影响。研究结果表明,光和营养盐对各指标的日变化规律均有较大影响,因此,在研究这些指标的日变化时,光和营养盐是必须考虑的重要因素。

### 参 考 文 献

- 杨小龙等,1991,光照周期下一种海洋硅藻荧光特性和生化组成的研究 I. 营养盐的影响,海洋学报, **13**: 822—830。
- 杨小龙等,1992,光照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 **14**: 97—104。
- Brand, L. E., 1982. Persistent diel rhythms in chlorophyll fluorescence of marine phytoplankton species, *Mar. Biol.*, **69**: 253—262.
- Cullen, J. J. et al., 1986, A technique to assess the harmful effects of sampling and contaminant for determination of primary production, *Limnol. Oceanogr.*, **31**: 149—156.
- Glooschenko, W. A. et al., 1972, Diel periodicity of chlorophyll *a* concentration in Oregon coastal waters, *J. Fish. Res. Board Can.*, **29**: 1253—1259.
- Hitchcock, G. L., 1980, Diel variation in chlorophyll *a*, carbohydrate and protein content of diatom *Skeletonema costatum*, *Mar. Biol.*, **57**: 271—278.
- Nelson, D. M. and Brand, L. E., 1979, Cell division periodicity in 13 species of marine phytoplankton on a light: dark cycle, *J. Phycol.*, **15**: 67—75.
- Owens, T. G. et al., 1980, Diel periodicity in cellular chlorophyll content in marine diatoms, *Mar. Biol.*, **59**: 71—77.
- Prezelin, B. B., 1981, Light reactions in photosynthesis, *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.*, **210**: 1—43.
- Prezelin, B. B. and Ley, A. C., 1980, Photosynthesis and chlorophyll *a* fluorescence rhythms of marine phytoplankton, *Mar. Biol.*, **55**: 295—307.

## EFFECT OF LIGHT AND NUTRIENT ON THE DIEL VARIATION OF *THALASSIOSIRA PSEUDONANA*

### I. CELL DIVISION, CHLOROPHYLL *a* AND ITS *IN VIVO* FLUORESCENCE CHARACTERISTICS

Yang Xiaolong and Zhu Mingyuan

(First Institute of Oceanography, SOA, Qingdao 266003)

#### ABSTRACT

During Jan. to Aug. 1989, continuous and semi-continuous culture method were used to explore the relationships between light, nutrient and the diel variation of cell division, chlorophyll *a* content, *in vivo* fluorescence characteristics in *Thalassiosira pseudonana*. The results indicate that cell division, *in vivo* fluorescence, chlorophyll *a* exhibited a more rapid increase during the light period than during the dark period.

The increase of light intensity not only enhanced the specific growth rate of cell division, *in vivo* fluorescence, chlorophyll *a* during the light period but also changed the diel pattern of enhanced fluorescence ratio; its maximum value occurred 3 h after exposure to low light intensity, at high light intensity the end of the dark period, maximum values occurred. Nutrients also enhanced the changing amplitude of the diel variations of *in vivo* fluorescence, enhanced fluorescence ratio, chlorophyll *a* and changed the timing of daily maxima in enhanced fluorescence ratio.

It can be concluded from the results of experiments that light and nutrient have profound effects on the amplitude and timing of the diel variations in the parameters studied. Thus light and nutrient must be considered in the study of the diel variations of growth and metabolism in phytoplankton. The mechanism of the diel variation of these parameters is also discussed in this paper.

**Key words** *Thalassiosira pseudonana* Diel variation Light Nutrient Chlorophyll *a* Fluorescence characteristics