# 营养盐对中肋骨条藻和新月菱形藻部分生化组成和性质的影响*

李 铁 史致丽 李 俊 张金良

(青岛海洋大学化学化工学院 青岛 266003)

**提要** 1995年5月—1996年3月,通过一次(分批)培养实验研究了中肋骨条藻和新月菱形藻部分生化组成和性质随培养介质中硝酸盐和磷酸盐水平的变化。结果表明,在氮限制条件下,藻体叶绿素 *a* 含量和碱性磷酸酶活力较低,与生长速率呈正相关;碳水化合物含量先随硝酸盐浓度增加而升高,当叶绿素 *a* 含量较低时降低。在磷限制条件下,藻体叶绿素 *a*、碳水化合物含量和碱性磷酸酶活力均升高。碳水化合物的积累较氮限制时显著。各生化指标主要在营养盐限制作用系数 $\varphi$ 为0.8—0.9的范围内发生变化,$\varphi$ 小于0.8为限制状态。中肋骨条藻和新月菱形藻生化指标随营养盐水平的变化有一些差异。氮限制对中肋骨条藻影响较小;新月菱形藻对有机磷利用能力较强,磷限制影响较小,而易受氮限制。

**关键词** 营养盐 浮游植物 叶绿素 *a* 碳水化合物 碱性磷酸酶活力

**学科分类号** Q948.11

研究表明,海水营养盐含量影响浮游植物生长速率,同时还影响藻体的生化组成或某些生化性质(Goldman *et al*, 1979; Hunter *et al*, 1981; Perry, 1976; 洪华生等,1992;杨小龙等,1990;李文权等,1996)。本文通过浮游植物实验室模拟培养,选择藻体叶绿素 *a*、碳水化合物以及碱性磷酸酶活力等生化指标,初步研究了培养介质 $NO_3$-N、$PO_4$-P水平的影响,并讨论了这些指标与生长速率和营养盐限制之间的关系,以反映营养盐限制条件下海洋浮游植物生长及生化组成特征。

## 1 材料与方法

### 1.1 培养实验

实验用中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)、新月菱形藻(*Nitzschia closterium*)由本校应用微藻研究所提供。藻种保存及培养实验方法同李铁等(1999)。培养进入指数生长期第4天测定各生化指标。取重复测定的平均值。

### 1.2 测定方法

营养盐浓度:硝酸盐用Cd-Cu还原—重氮-偶氮比色法测定;磷酸盐用磷钼蓝比色法测定(国家海洋局,1991)。

* 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

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

藻细胞密度：血球计数板显微镜目视计数。藻体叶绿素 $a$(Chl-$a$)：藻体经醋酸纤维滤膜(0.45mm)过滤分离，用 90% 丙酮冷冻浸取，荧光分光光度法测定(Parsons *et al*, 1984；国家技术监督局，1991)。藻体碳水化合物(CHO)：藻体经玻璃纤维滤膜(GF/F)过滤分离采用蒽酮光度法测定，含量以葡萄糖计(Parsons *et al*, 1984；唐思齐等，1985)。

碱性磷酸酶活力(APA)：取藻液于灭菌比色管中，加入 Tris-HCl缓冲溶液(经压热灭菌)使 pH = 8.2，加入底物液(0.04mol/L磷酸苯二钠，用灭菌二次水配制)混匀，于 25℃ 水浴中水解 5h。加入 NaOH-EDTA溶液混匀，再分别加入 4-氨基安替比林-碳酸氢钠和铁氰化钾-硼酸溶液显色，于 510nm 测吸光度。标准用苯酚溶液(以 $KBrO_3$-KBr碘量法标定其浓度)。

## 2 结果与讨论

中肋骨条藻和新月菱形藻培养介质营养盐初始浓度、营养盐限制作用系数$\varphi$ (李铁

**表1 培养实验营养盐初始浓度、实验结束时浓度与$\varphi$**

Tab. 1 The initial and the ending concentrations of the nutrients in the culture experiments and $\varphi$

| | $NO_3$-N影响实验 | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 中肋骨条藻，$C^0_{PO_4\text{-}P}=1.82$，$\varphi_P=0.77$ | | | | | | | 新月菱形藻，$C^0_{PO_4\text{-}P}=1.99$，$\varphi_P=0.80$ | | | | | | |
| $C^0_{NO_3\text{-}N}$ | 4.9 | 8.8 | 16.0 | 29.7 | 60.4 | 122 | 256 | 6.1 | 10.4 | 18.7 | 35.3 | 67.1 | 127 | 228 |
| $\varphi_N$ | 0.55 | 0.69 | 0.80 | 0.88 | 0.94 | 0.97 | 0.98 | 0.29 | 0.42 | 0.56 | 0.71 | 0.82 | 0.90 | 0.94 |
| $C_{NO_3\text{-}N}$ | – | – | – | – | 0.09 | 36.2 | 158 | – | – | – | – | – | 47.2 | 151 |
| $C_{PO_4\text{-}P}$ | 0.08 | 0.09 | 0.03 | – | – | – | – | 0.02 | 0.02 | 0.02 | – | – | – | – |
| | $PO_4$-P影响实验 | | | | | | | | | | | | | |
| | 中肋骨条藻，$C^0_{NO_3\text{-}N}=40.5$，$\varphi_N=0.91$ | | | | | | | 新月菱形藻，$C^0_{NO_3\text{-}N}=35.2$，$\varphi_N=0.71$ | | | | | | |
| $C^0_{PO_4\text{-}P}$ | 0.09 | 0.39 | 0.59 | 1.16 | 2.05 | 3.99 | 7.99 | 0.37 | 0.55 | 0.73 | 1.17 | 1.99 | 3.57 | 7.79 |
| $\varphi_P$ | 0.13 | 0.42 | 0.52 | 0.68 | 0.79 | 0.88 | 0.94 | 0.43 | 0.52 | 0.59 | 0.70 | 0.80 | 0.88 | 0.94 |
| $C_{NO_3\text{-}N}$ | 7.4 | 3.1 | 0.5 | – | – | – | – | 25.2 | 10.5 | 9.5 | 8.5 | – | – | – |
| $C_{PO_4\text{-}P}$ | – | – | – | – | 0.02 | 0.02 | 0.04 | – | – | – | – | – | 0.05 | 0.08 |

$C^0$：初始浓度，$C$：实验结束时浓度；“–”为未检出。单位为μmol/L

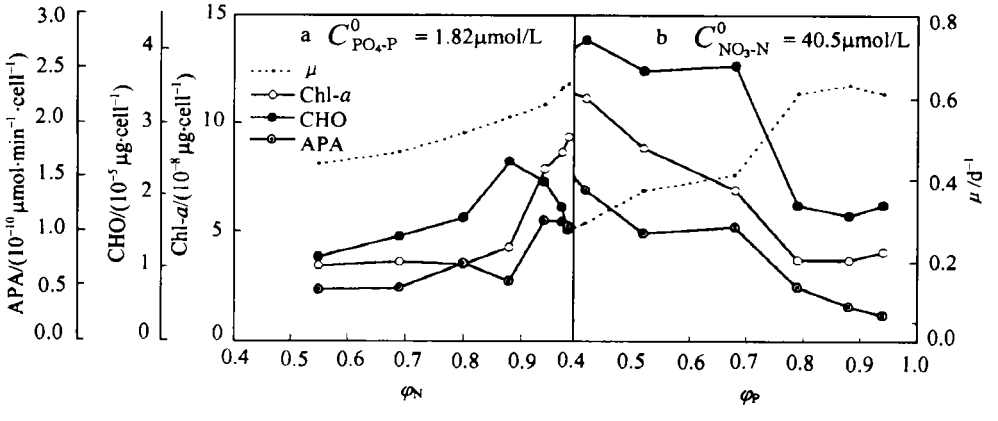



图1 中肋骨条藻的生长速率($\mu$)和各生化指标随$\varphi_N$、$\varphi_P$的变化

Fig.1 The variation of $\mu$ and the biochemical factors of *S. costatum* with $\varphi_N$ and $\varphi_P$

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

等，2000)和实验结束时浓度见表 1。两种藻生长速率(李铁等，2000)和各生化指标随限制作用系数$\varphi_N$、$\varphi_P$的变化见图 1、图 2。Chl-*a*、CHO 均为单位藻体含量。

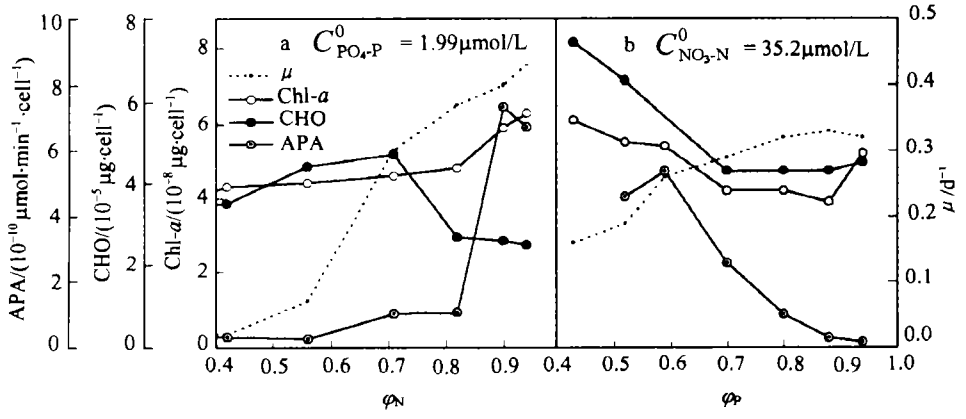



图2　新月菱形藻的生长速率($\mu$)和各生化指标随$\varphi_N$、$\varphi_P$的变化

Fig.2　The variation of $\mu$ and the biochemical factors of *N. closterium* with $\varphi_N$ and $\varphi_P$

## 2.1　各生化指标的变化

**2.1.1**　藻体叶绿素 *a* 含量(Chl-*a*)　　$NO_3$-N 影响实验中两种藻藻体 Chl-*a* 含量均随 $NO_3$-N初始浓度增加而增加，这与黄晓航等(1997)对原甲藻培养的现象一致。$NO_3$-N相对缺乏会限制 Chl-*a*合成。当 $NO_3$-N相对过剩时，Chl-*a*含量较高且增加幅度减缓。中肋骨条藻藻体 Chl-*a*含量变化幅度较大，主要在$\varphi_N$为 0.80—0.94 的范围内变动，Chl-*a*最小值约为最大值的 1/3。新月菱形藻藻体 Chl-*a*变化幅度比中肋骨条藻小，主要在$\varphi_N$为 0.82—0.90 的范围内变动。Chl-*a*含量与$\mu$呈正相关关系(表 2)，且与藻体氮含量变化现象(李铁等，2000)较一致。

$PO_4$-P影响实验中，两种藻的 Chl-*a*含量随 $PO_4$-P初始浓度增加而降低，变化幅度较大。当 $PO_4$-P浓度较高时 Chl-*a*趋于较恒定的低值。藻体 Chl-*a*含量与$\mu$为负相关关系(见表 2)，与通常认为磷缺乏时浮游植物细胞 Chl-*a*含量减少(杨小龙等，1990)不一致。这可能是一次培养实验中 $PO_4$-P缺乏并明显限制藻生长时的一种现象，结合 $NO_3$-N影响实验的结果分析，藻体 Chl-*a*的含量似受 $NO_3$-N充足与否影响，当 $PO_4$-P缺乏藻生长受到限制时，可能因 $NO_3$-N相对充足而合成较多 Chl-*a*。但这种推测需进一步证实。实验中当 $PO_4$-P浓度为 7.79μmol/L时新月菱形藻 Chl-*a*含量有所增加。将 $PO_4$-P浓度增大到 32μmol/L 培养中肋骨条藻，Chl-*a*含量可达 $1.40\times10^{-7}$μg/cell，可见在高磷环境中藻体 Chl-*a*含量会处于较高水平。

**2.1.2**　藻体碳水化合物含量(CHO)　　$NO_3$-N影响实验中，两种藻藻体 CHO 含量随着 $NO_3$-N初始浓度的变化相似，在低 $NO_3$-N浓度时 CHO 含量随 $NO_3$-N浓度增加而升高并达到最高值(中肋骨条藻和新月菱形藻分别在 $NO_3$-N浓度为 60.4μmol/L和 35.3μmol/L时达最高值)，之后逐渐降低。$NO_3$-N浓度很低时藻体 Chl-*a*很低，光合作用微弱，CHO 合成量少。随着 $NO_3$-N浓度升高 Chl-*a*含量升高使 CHO 合成量增加，因 $NO_3$-N仍有缺乏 CHO 不能有效转化为其它功能物质如蛋白质等而积累。随 $NO_3$-N浓度继续增加，光合生成的

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

CHO 可及时转化而降低。

$PO_4$-P影响实验中藻体 CHO 随 $PO_4$-P初始浓度变化的情况基本为，$PO_4$-P浓度低时由于细胞 Chl-*a*较高，光合生成 CHO 积累而含量增加(Fogg, 1975)。随 $PO_4$-P浓度升高，CHO 因及时转化而明显下降并趋于较恒定的低值。该实验中藻体 CHO 含量总体上高于 $NO_3$-N影响实验。CHO 含量与 $\mu$ 呈负相关关系(表 2)。

**2.1.3** 碱性磷酸酶活力(APA) 藻类在环境中 $PO_4$-P不足时可利用一部分溶解有机磷。一些磷酸单酯在细胞表面碱性磷酸酶的作用下水解为 $PO_4$-P被利用(Perry, 1976; 洪华生等, 1992)。本文中碱性磷酸酶活力(APA)是单位时间内每个藻细胞水解生成 $PO_4$-P 的量，该值反映出藻细胞对有机磷的利用能力。APA 升高是无机磷不足的表现。

$PO_4$-P影响实验中，当 $PO_4$-P初始浓度较高时 APA 维持在一较低的恒定值。随着浓度降低，$PO_4$-P不足，藻体 APA 开始升高，藻细胞利用溶解有机磷来满足生长需要。图 1b 中，中肋骨条藻 APA 与 $\mu$ 的变化有一致的对映关系，而图 2b 中随着 $PO_4$-P浓度降低新月菱形藻 APA 升高比 $\mu$ 降低有所提前($PO_4$-P已消耗完全)，说明新月菱形藻利用溶解有机磷仍可满足较高的生长速率，可见其利用溶解有机磷的能力较中肋骨条藻强。

$NO_3$-N影响实验中，藻体 APA 随 $NO_3$-N初始浓度升高而升高，反映了 $PO_4$-P相对不足对藻类生长的限制作用。两组实验中 APA 与 $\mu$ 亦具有相关关系(表 2)。

**表2 浮游植物各生化指标与生长速率($\mu$)的关系**

Tab. 2 The relationship between the biochemical factors and $\mu$ of the phytoplankton

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $NO_3$-N影响实验 | | | | | | | |
| 中肋骨条藻 | | | | 新月菱形藻 | | | |
| Chl-*a*=−11.4+31.9$\mu$ | $r$=0.91 | $n$=7 | $\alpha$<0.01 | Chl-*a*=3.85+4.30$\mu$ | $r$=0.85 | $n$=7 | $\alpha$<0.01 |
| APA=−1.08+3.46$\mu$ | $r$=0.89 | $n$=7 | $\alpha$<0.01 | APA=−0.49+12.7$\mu$ | $r$=0.74 | $n$=7 | $\alpha$<0.05 |
| $PO_4$-P影响实验 | | | | | | | |
| 中肋骨条藻 | | | | 新月菱形藻 | | | |
| Chl-*a*=16.7−21.0$\mu$ | $r$=−0.99 | $n$=7 | $\alpha$<0.01 | Chl-*a*=7.63−10.1$\mu$ | $r$=−0.83 | $n$=6 | $\alpha$<0.01 |
| CHO=64.6−91.4$\mu$ | $r$=−0.98 | $n$=6 | $\alpha$<0.01 | CHO=10.1−18.1$\mu$ | $r$=−0.98 | $n$=6 | $\alpha$<0.01 |
| APA=3.17−4.77$\mu$ | $r$=−0.93 | $n$=7 | $\alpha$<0.01 | APA=24.3−73.5$\mu$ | $r$=−0.98 | $n$=5 | $\alpha$<0.01 |

## 2.2 营养水平与各生化指标变化的关系

以营养盐限制作用系数 $\varphi$ 作为营养水平的定量化参数，根据图 1、2，并结合表 1 中 $NO_3$-N、$PO_4$-P 剩余情况，分析了 $\varphi$ 与各生化指标变化的关系。主要特征列入表 3 中。

由表 3 可见，两种藻在氮限制、氮剩余，磷限制、磷剩余四种营养状态下各生化指标的变化特征基本相同，发生变化的 $\varphi_N$、$\varphi_P$ 值也基本接近。在 $\varphi$ 值由营养盐剩余向限制过渡区间各生化指标变化幅度较大。总的来看，以 $\varphi_N$、$\varphi_P$ 等于 0.8 为界限可作为判断氮、磷限制的区分点。

此外，两种藻生化指标变化的某些区别是由于对氮、磷吸收及有机磷利用的差异引起的。中肋骨条藻对氮吸收能力较强，氮限制对其影响较小；新月菱形藻对磷吸收能力(李铁等, 1999)和利用有机磷能力较强，磷限制对其影响较小，而易受到氮限制。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

**表3　各生化指标与营养盐限制作用系数的关系**

Tab. 3　The relationship between the biochemical factors and the nutrients limitation coefficients

| | 中肋骨条藻 | | 新月菱形藻 |
|---|---|---|---|
| $\varphi_N < 0.80$氮限制 | 1. 培养液$PO_4$-P出现剩余<br>2. Chl-*a* 处于恒定低值<br>3. CHO因Chl-*a* 不足随$\varphi_N$减小而自最高值($\varphi_N = 0.88$)下降<br>4. APA较低 | $\varphi_N < 0.82$氮限制 | 1. 新月菱形藻对$PO_4$-P吸收能力较强，$\varphi_N < 0.56$后$PO_4$-P出现剩余<br>2. Chl-*a* 处于恒定低值<br>3. CHO因氮不足出现积累达最高值，后随$\varphi_N$减小因 Chl-*a* 不足而下降<br>4. APA较低 |
| $\varphi_N > 0.90$氮剩余 | 1. 培养液$NO_3$-N出现剩余<br>2. Chl-*a*处于较高值并继续升高<br>3. CHO因氮充足而转化，随$\varphi_N$增加而下降<br>4. APA因$PO_4$-P相对不足而升高 | $\varphi_N > 0.90$氮剩余 | 1. 培养液$NO_3$-N出现剩余<br>2. Chl-*a*处于较高值并继续升高<br>3. CHO因氮充足而转化，自$\varphi_N$=0.71始而下降<br>4. APA因$PO_4$-P相对不足而升高 |
| $\varphi_P < 0.80$磷限制 | 1. 培养液中$PO_4$-P消耗完全，APA升高<br>2. 中肋骨条藻对氮吸收能力较强，在$\varphi_P < 0.52$后$NO_3$-N才出现剩余<br>3. Chl-*a*随$\varphi_P$降低而上升<br>4. CHO随$\varphi_P$降低而上升 | $\varphi_P < 0.88$磷限制 | 1. 培养液中$PO_4$-P消耗完全，APA升高<br>2. 新月菱形藻对有机磷利用能力较强，在$PO_4$-P消耗完全后仍维持较低高生长率，至$\varphi_P < 0.70$后$NO_3$-N出现剩余<br>3. $\varphi_P < 0.70$后Chl-*a*开始上升<br>4. $\varphi_P < 0.70$后CHO开始上升 |
| $\varphi_P > 0.80$磷剩余 | 1. 培养液中$PO_4$-P出现剩余<br>2. Chl-*a*因生长率高细胞分裂快而较低，但高于氮限制状态的低值。CHO因转化而降低<br>3. 当$PO_4$-P继续增加而$\mu$不再增加时，Chl-*a*出现上升趋势，CHO也有所增高<br>4. APA较低 | $\varphi_P > 0.88$磷剩余 | 1. 培养液中$PO_4$-P出现剩余<br>2. Chl-*a*因生长率不再升高充足而出现上升现象<br>3. CHO同样出现轻微升高<br>4. APA较低 |

## 3　结语

**3.1**　营养盐水平影响浮游植物的生化组成和性质。藻体中叶绿素 *a* 含量受氮的影响较密切，碳水化合物含量又明显受叶绿素 *a* 影响。在氮限制条件下，藻体叶绿素 *a* 含量较低。碳水化合物含量先因积累而升高，随后因叶绿素 *a* 含量不足而降低。碱性磷酸酶活力因磷相对充足而较低。在磷限制条件下，藻体叶绿素 *a*、碳水化合物含量和碱性磷酸酶活力均升高。碳水化合物的积累较氮限制时显著。

**3.2**　受营养盐水平的影响，浮游植物生化组成的变化与生长速率有近似线性关系。氮限制条件下，叶绿素 *a* 含量和碱性磷酸酶活力与生长速率呈正相关。磷限制条件下，叶绿素 *a*、碳水化合物含量、藻体碱性磷酸酶活力与生长速率皆为负相关。

**3.3**　浮游植物各生化指标主要在营养盐限制作用系数$\varphi_N$和$\varphi_P$为 0.8—0.9 的范围内发生显

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

著变化。$\varphi > 0.9$ 基本为剩余，$\varphi < 0.8$ 可认定为营养盐限制状态。

**3.4** 中肋骨条藻和新月菱形藻生化指标随营养盐水平的变化有一定差异，即某些指标的变化形式或$\varphi$的范围有所不同。主要由于中肋骨条藻对氮吸收能力较强，氮限制对其影响较小；新月菱形藻对磷酸盐吸收和对有机磷利用能力较强，磷限制对其影响较小，而易受氮不足的限制。

## 参 考 文 献


李 铁，史致丽，仇赤斌等，1999．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．海洋与湖沼，30(6)：640—645

李 铁，胡立阁，史致丽，2000．营养盐对中肋骨条藻和新月菱形藻生长和氮磷组成的影响．海洋与湖沼，31(1)：46—52

李文权，郑爱榕，王 宪等，1996．环境因子对高盒形藻生长及其生化组成的影响．海洋学报，18：50—56

杨小龙，朱明远，1990．浮游植物营养代谢研究新进展．黄渤海海洋，8：65—74

洪华生，戴民汉，郑效成，1992．海水中碱性磷酸酶活力的测定及其在磷的循环中的作用初探．海洋与湖沼，23：415—420

国家技术监督局，1991．海洋调查规范——海洋生物调查(GB12763.6-91)．北京：中国标准出版社，4—6

国家海洋局，1991．海洋监测规范，HY003.4-1．北京：海洋出版社，205—282

唐思齐，宫明岗，陈德昌，1985．海水中碳水化合物测定方法研究(二)、蒽酮法测定颗粒态碳水化合物．山东海洋学院学报，15：47—54

黄晓航，史冬梅，张京浦等，1997．赤潮发生机理研究——海洋原甲藻的氮营养生理特征．海洋与湖沼，28：33—38

Fogg G E, 1975. Primary Production. In: Riley J P, Skirrow G ed. Chemical Oceanography. Academic Press, Ltd., 57—80

Goldman J C, McCarthy J J, Peavey D G, 1979. Growth rate influence on the chemical composition of phytoplankton in ocean waters. Nature, 279:210—215

Hunter B L, Laws A, 1981. ATP and Chlorophyll-*a* as estimators of phytoplankton carbon biomass. Limnol Oceanogr, 26:944—956

Parsons T R, Maita Y, Lalli C M, 1984. A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis. Pergamon Press, 67—71

Perry M J, 1976. Phosphate utilization by oceanic diatom in phosphorus-limited chemostal culture and in the oligotrophic waters of the central North Pacific. Limnol Oceanogr, 21:88—107


© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

# EFFECTS OF NUTRIENTS ON SOME BIOCHEMICAL CONSTITUENTS AND PROPERTIES OF *SKELETONEMA COSTATUM* AND *NITZSCHIA CLOSTERIUM*

LI Tie, SHI Zhi-li, LI Jun, ZHANG Jin-liang

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

**Abstract** Variations of some biochemical constituents and properties of the two marine diatoms *Skeletonema costatum* and *Nitzschia closterium* with nutrients concentrations of culture medium, and their relationship with growth rate are studied in batch culture from May 1995 to Mar. 1996. The biochemical factors include chlorophyll-*a*, carbohydrate and the activity of alkaline phosphatase.

The results indicate that the contents of chlorophyll-*a* in the algal cells are mainly influenced by nitrate, and the contents of carbohydrate are obviously affected by chlorophyll-*a*. Under the condition of nitrogen limitation, the contents of chlorophyll-*a* and the activity of alkaline phosphatase in the algal cells are low and are positively correlated with relative growth rates ($\mu$). The content of carbohydrate in the algal cells increases accumulation, then decreases because of the low contents of chlorophyll-*a*. Under the conditions of phosphorus limitation, the contents of chlorophyll-*a*, carbohydrate and the activity of alkaline phosphatase increase and are negatively correlated with $\mu$. Carbohydrate accumulate more than that under the condition of nitrogen limitation.

The biochemical factors vary distinctly in the range of $\varphi$ from 0.8 to 0.9. It is surplus when $\varphi > 0.9$, limited while $\varphi < 0.8$.

The biochemical factors of the two species vary differently with nutrients. *S. costatum*'s uptake ability of nitrogen is high so nitrogen limitation has little effect on it. The uptake ability of phosphorus and the ability of utilizing organic phosphorus by *N. closterium* are high, and it is affected little by phosphorus limitation, but is likely to be influenced by nitrogen insufficiency.

**Key words** Nutrients Phytoplankton Chlorophyll-*a* Carbohydrate The activity of alkaline phosphatas

**Subject classification number** Q948.11

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net