

不同磷源形态对中肋骨条藻和东海原甲藻生长及磷酸酶活性的影响

赵艳芳^{1,2}, 俞志明^{1*}, 宋秀贤¹, 曹西华¹

(1. 中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室, 青岛 266071; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 研究了磷酸二氢钠 (NaH_2PO_4)、三磷酸腺苷二钠盐 (adenosine disodium triphosphate, ATP)、6-磷酸葡萄糖 (glucose 6-phosphate, G-6-P) 和 β -甘油磷酸钠 (sodium β -glycerophosphate, G-P) 对中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 和东海原甲藻 (*Prorocentrum donghaiense*) 的生长以及磷酸酶活性的影响. 结果发现, 中肋骨条藻和东海原甲藻均既可利用无机磷酸盐又能利用有机磷化合物生长繁殖, 且有机磷化合物的作用比无机磷酸盐的作用稍高. 对于中肋骨条藻, 8 d 后的细胞密度分别为 48×10^4 (NaH_2PO_4)、 73×10^4 (ATP)、 63×10^4 (G-6-P) 和 54×10^4 (G-P) cells/mL; 对于东海原甲藻, 10 d 后 4 种磷源形态下的细胞密度分别为 8.7×10^4 、 15.5×10^4 、 12.4×10^4 和 9.5×10^4 cells/mL. 2 种藻在 4 种形态磷源下的磷酸酶活性在前 3~4 d 均呈下降趋势, 而后变化不同. 以 NaH_2PO_4 为磷源的处理组, 2 种藻的碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, AP) 和酸性磷酸酶 (acid phosphatase, AcP) 活性均呈现升高趋势; 3 种有机磷处理组比较, 对于中肋骨条藻, ATP 和 G-6-P 为磷源的处理组酶活性较低且 AP 活性无明显变化趋势, AcP 活性在试验后期呈微弱的升高趋势, 以 G-P 为磷源的处理组酶活性最高且有升高趋势, 至第 8 d 时, 以 ATP、G-6-P 和 G-P 为磷源处理组的 AP 活性分别为 0.004×10^{-5} 、 0.014×10^{-5} 和 0.029×10^{-5} U/cell, AcP 活性分别为 0.006×10^{-5} 、 0.011×10^{-5} 和 0.018×10^{-5} U/cell, 对于东海原甲藻, 酶活性变化趋势与中肋骨条藻相同, 至第 10 d 时, 3 种磷源处理组的 AP 和 AcP 活性顺序也为 $\text{ATP} < \text{G-6-P} < \text{G-P}$. 中肋骨条藻比东海原甲藻含有较高的 AP 和 AcP 活性, 能较快吸收环境中的磷.

关键词: 中肋骨条藻; 东海原甲藻; 有机磷化合物; 磷酸酶

中图分类号: X55 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)03-0693-07

Effects of Different Phosphorus Substrates on the Growth and Phosphatase Activity of *Skeletonema costatum* and *Prorocentrum donghaiense*

ZHAO Yan-fang^{1,2}, YU Zhi-ming¹, SONG Xiu-xian¹, CAO Xi-hua¹

(1. Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The effects NaH_2PO_4 , adenosine disodium triphosphate (ATP), glucose 6-phosphate (G-6-P) and sodium β -glycerophosphate (G-P) on the growth and phosphatase activity of *Skeletonema costatum* and *Prorocentrum donghaiense* were studied. The results showed that both species could utilize both dissolved inorganic phosphate (DIP) and dissolved organic phosphorus (DOP), and DOP had more effects on the growth of two species than DIP. For *S. costatum*, after 8 days, the cell abundances of the four treatments (NaH_2PO_4 , ATP, G-6-P and G-P) were 48×10^4 , 73×10^4 , 63×10^4 and 54×10^4 cells/mL, respectively; For *P. donghaiense*, after 10 days, the cell abundances of the four treatments were 8.7×10^4 , 15.5×10^4 , 12.4×10^4 and 9.5×10^4 cells/mL, respectively. On the first 3-4 days, the phosphatase activity of all treatments of the two species showed a decreasing trend, but different changes were observed for the different phosphorus substrate treatments in latter days. For the NaH_2PO_4 treatment, both the AP and AcP activity of two species increased from the fifth day onwards. For *S. costatum*, the AP activity of the ATP and G-6-P treatment groups showed no obvious changes and AcP activity had a slight increase from the fifth day to the eighth day, while the activity of G-P treatment had highest phosphatase activity which increased from the fifth day on. At the end of the experiment, the AP activity of the three DOP treatment groups (ATP, G-6-P and G-P) was 0.004×10^{-5} , 0.014×10^{-5} and 0.029×10^{-5} U/cell, respectively, and the AcP activity was 0.006×10^{-5} , 0.011×10^{-5} and 0.018×10^{-5} U/cell, respectively. For *P. donghaiense*, both the AP and AcP activity of the three DOP treatments had similar trends, i. e., $\text{ATP} < \text{G-6-P} < \text{G-P}$. Under the same nutrient conditions, *S. costatum* had a much higher phosphatase activity and could absorb P from the environment much faster than *P. donghaiense*.

Key words: *Skeletonema costatum*; *Prorocentrum donghaiense*; dissolved organic phosphorus; phosphatase activity

富营养化程度的加剧导致我国长江口外海区赤潮发生频率增加、规模扩大、危害程度加重. 有记录赤潮事件的约 1/4 发生在这个海域^[1].

研究表明, 当海水中无机磷酸盐限制藻类生长时, 有机磷化合物具有促进特定藻类增殖的重要作

收稿日期: 2008-03-25; 修订日期: 2008-06-05

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KZCX3-SW-232); 国家重点基础研究发展规划 (973) 项目 (2007CB407305); 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KZCX2-YW-208); 创新研究群体基金项目 (40821004)

作者简介: 赵艳芳 (1979~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为环境生物学, E-mail: zhaoyanfang@qdio.ac.cn

*通讯联系人: E-mail: yuzm@qdio.ac.cn <http://www.cnki.net>

用^[2~4]. 磷酸酶能水解有机磷化合物为溶解态无机磷化合物, 根据其作用的最适 pH 不同可分为碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AP)和酸性磷酸酶(acid phosphatase, AcP), 其中 AP 主要在细胞膜表面而 AcP 主要在酸性环境的胞内起水解作用. 藻类对水体中溶解态有机磷化合物的利用主要依赖藻类合成的碱性磷酸酶, 通过将有机磷化合物水解成为溶解态无机磷化合物, 使藻类能够吸收利用. 研究发现不同藻类对不同形态的磷源利用特性也有明显区别^[5]. 此外, 在外界磷限制条件下, 藻类也可以利用酸性磷酸酶来水解利用胞内储存的磷维持生长^[6].

长江口水域的营养盐分布特征是高无机氮, 低磷酸盐^[7,8], 对浮游植物生长是磷限制的^[9]. 但是在赤潮形成的季节, 长江口水域中含有高浓度溶解有机磷的区域常伴随较高浓度的叶绿素 a, 在这些区域溶解有机磷约占总磷的 40% 左右^[10]. 中肋骨条藻和东海原甲藻是长江口水域 2 种主要赤潮藻种^[11]. 因此研究这 2 种藻对不同形态磷源的利用特性对解释 2 种藻的赤潮形成机制有重要的现实意义.

1 材料与方法

1.1 试验藻种与材料

中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*) 和东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense* Lu) 分离自长江口赤潮高发海域, 经纯化后保存在中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室藻种室. 藻生长培养实验的化学试剂磷酸二氢钠(NaH_2PO_4)、三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate, ATP)、6-磷酸葡萄糖(Glucose 6-phosphate, G-6-P)和 β -甘油磷酸钠(Sodium β -glycerophosphate, G-P)等均为分析纯.

1.2 培养条件

本实验所用所有玻璃器皿全部在 10% HCl 浸泡 24 h, 用蒸馏水冲洗至少 3 遍后 121 °C 高压湿热灭菌 30 min. 培养液选用 f/2 营养盐配方. 培养用海水为自然海水, pH 值为 7.9 ± 0.1 , 盐度为 30 ± 1 , 经孔径为 0.45 μm 的混合纤维滤膜过滤, 煮沸, 室温冷却后备用.

实验藻类培养温度为 (20 ± 0.5) °C, 光照为 4 000 lx, 光暗比(L/D)为 12 h/12 h. 实验采用 5 L 的锥形瓶进行批量培养.

1.3 实验方法

1.3.1 藻培养

取对数生长期的藻细胞接种于未添加营养盐的过滤消毒海水中. 72 h 后, 至母液中的磷消耗殆尽.

向各处理组中分别加入 NaH_2PO_4 、ATP、G-6-P 和 G-P, 各形态磷的初始浓度为 4 $\mu\text{mol/L}$, 其他各种元素浓度按 f/2 培养液配方添加(东海原甲藻不添加 Na_2SiO_3), 每个处理均设 3 个重复. 中肋骨条藻试验时间为 8 d, 而东海原甲藻实验时间为 10 d.

1.3.2 藻细胞计数

加入各种含磷营养物质后, 每天用活体荧光仪(TD-700)对藻细胞进行活体荧光测定, 同时通过显微镜计数加以校正. 经过测定, 本实验采用以下公式计算:

中肋骨条藻细胞浓度(个/mL)

$= 1964.5 \times \text{活体荧光值}$

东海原甲藻细胞浓度(个/mL)

$= 1427.4 \times \text{活体荧光值} - 1677.5$

1.3.3 培养液中总磷浓度和藻细胞中总磷含量

每天取 20 mL 培养液通过醋酸纤维膜抽滤用于测定培养液中溶解有机磷(dissolved organic phosphorus, DOP)和溶解无机磷(dissolved inorganic phosphorus, DIP)的浓度. DIP 用以抗坏血酸为还原剂的磷钼蓝比色法测定, 总溶解态磷(total dissolved phosphorus, TDP)用 50 g/L 的过硫酸钾氧化, 121 °C 消化 30 min, 用以抗坏血酸为还原剂的磷钼蓝比色法测定. DOP 的浓度以 TDP 减去 DIP 的差值表示.

每天取 20 mL 藻液, 7 000 r/min 离心 15 min, 除上清, 沉淀物加入 1 mL 50 g/L 的过硫酸钾, 121 °C 消化 30 min, 用以抗坏血酸为还原剂的磷钼蓝比色法测定藻细胞中磷含量.

1.3.4 磷酸酶活性分析

每天中午取样用于磷酸酶活性分析. 取样时根据细胞密度调整采样量, 在第 1 d 和第 2 d 时, 取 200 mL, 第 3 d 和第 4 d 时, 取 150 mL, 以后几天取 100 mL 培养液通过 GF/F 玻璃纤维膜(450 °C 预热 4~5 h)抽滤收集藻细胞进行磷酸酶活性分析. 收集到的藻在冰浴中匀浆 1~2 min. 碱性磷酸酶活性测定以 0.05 mol/L Tris-HCl(pH 9)为缓冲液匀浆, 酸性磷酸酶活性测定以 0.2 mol/L 冰醋酸钠(pH 5)为缓冲液匀浆. 匀浆后离心, 取上清, 立即测定酶活性^[12]. 酶活力单位定义为: 在 30 °C 下, 每个藻细胞提取的磷酸酶 1 h 释放 1 μg 对硝基苯酚为一个活力单位(U).

2 结果与分析

2.1 中肋骨条藻和东海原甲藻的生长

4 种含磷营养物质均能促进中肋骨条藻和东海原甲藻的生长. 对中肋骨条藻(见图 1), 前 3 d 所有

处理组藻生长比较相似,但从第4d至试验结束,不同磷形态下,藻生长差异明显.试验结束时,以ATP为磷源的处理组中,中肋骨条藻细胞密度最大(73×10^4 cells/mL),以G-6-P为磷源的次之(63×10^4 cells/mL),以 NaH_2PO_4 为磷源的最低(48×10^4 cells/mL).图2显示了4种磷源下东海原甲藻的生长趋势.对于以 NaH_2PO_4 和G-P为磷源的处理组,藻细胞生长趋势及细胞密度相近.以ATP为磷源的处理组藻细胞生长最好,细胞密度从第5d开始远远超过其他3种处理组,至第10d时,细胞密度达到 15.5×10^4 cells/mL.以G-6-P为磷源的处理组次之,第10d时细胞密度约为 12.4×10^4 cells/mL.以G-P和 NaH_2PO_4 为磷源的2组较低,分别约为 9.5×10^4 cells/mL和 8.7×10^4 cells/mL.

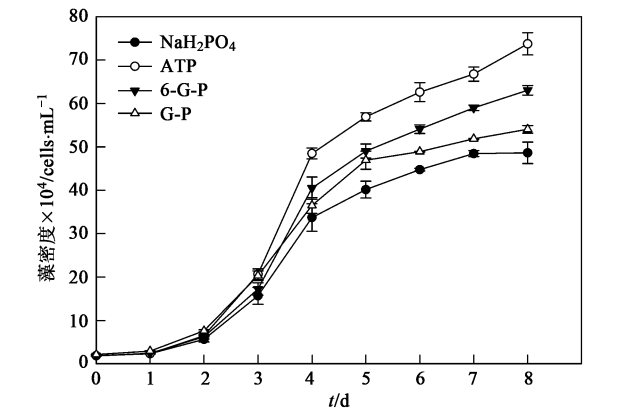


图1 4种磷源形态对中肋骨条藻生长的影响
Fig. 1 Effects of four phosphorus substrates on the growth of *S. costatum*

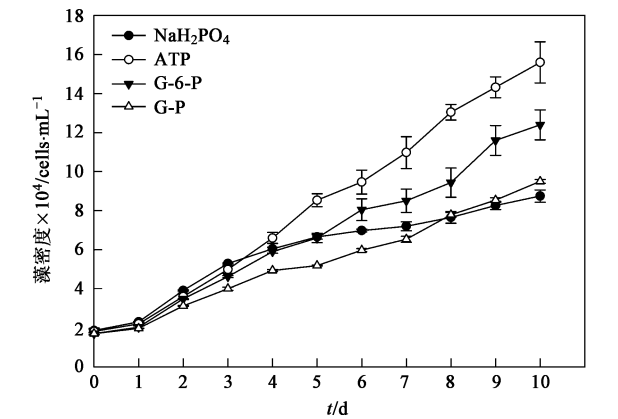


图2 4种磷源形态对东海原甲藻生长的影响
Fig. 2 Effects of four phosphorus substrates on the growth of *P. donghaiense*

2.2 中肋骨条藻和东海原甲藻的磷酸酶活性

中肋骨条藻在4种磷源下,碱性磷酸酶(AP)和

酸性磷酸酶(AcP)的活性随时间变化如图3所示.2种酶的变化趋势相似,在第1d时,中肋骨条藻各处理组均有较高的酶活性,且在前3~4d里,2种酶活性均显著下降.以 NaH_2PO_4 为磷源的处理组,AP活性从第5d(0.008×10^{-5} U/cell)开始出现升高,且上升趋势保持到第8d(0.018×10^{-5} U/cell),AcP活性也从第5d开始出现升高趋势.3种DOP处理组中,以ATP为磷源的处理组,从第2~8d,酶活性最低,AP活性从第4d开始无明显变化趋势,AcP活性从第5d开始呈微弱的升高趋势.以G-6-P为磷源的酶活性次之,变化趋势同ATP处理组.以G-P为磷源的处理组,AP活性最高,且从第4d开始,高于以 NaH_2PO_4 为磷源的处理组,AcP活性也是3种DOP处理组中最高的,且从第5d开始明显升高.第8d时,以ATP、G-6-P和G-P为磷源的处理组的AP活性依次为 0.004×10^{-5} 、 0.014×10^{-5} 和 0.029×10^{-5} U/cell,AcP活性依次为 0.006×10^{-5} 、 0.011×10^{-5} 和 0.018×10^{-5} U/cell.

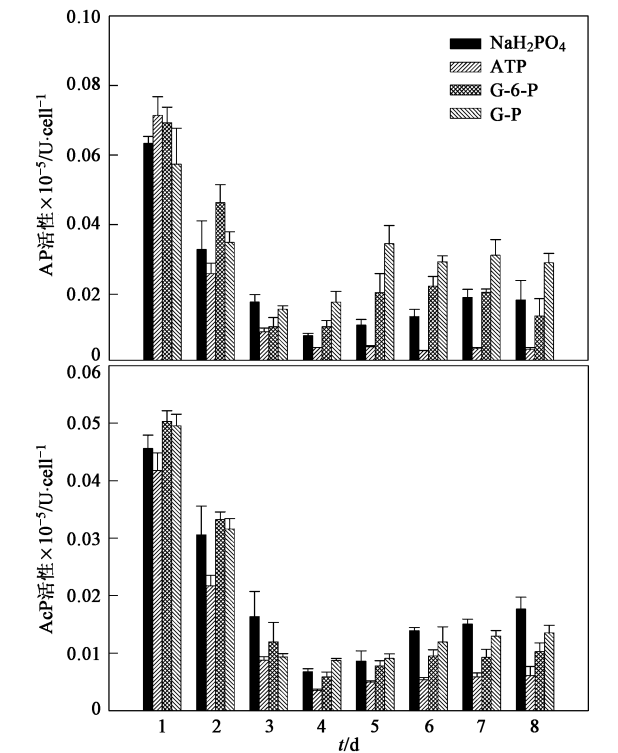


图3 4种磷源形态下中肋骨条藻AP和AcP活性变化
Fig. 3 AP and AcP activity of *S. costatum* under four phosphorus substrates

东海原甲藻在4种磷源形态下,AP和AcP活性变化趋势如图4所示.从中可以看出,以 NaH_2PO_4 为磷源的处理组,AP活性在试验期间呈现先下降后上

升的趋势,而以 ATP 为磷源的处理组,酶活性则一直呈下降的趋势,且从第 5 d 开始,与其他 3 组相比较,酶活性一直保持在最低的水平.以 G-6-P 为磷源的处理组,酶活性在前 4 d 有明显的下降趋势,此后无显著性变化.以 G-P 为磷源的处理组,酶活性较以 ATP 和 G-6-P 为磷源的处理组高,且有升高的趋势.至实验结束时,3 种 DOP 处理组中,酶活性由高到低的顺序为 G-P> G-6-P> ATP.所有处理组的 AcP 活性呈现先下降后升高的趋势.至试验结束时,3 种 DOP 处理组中,胞内 AcP 活性与 AP 活性顺序相同.

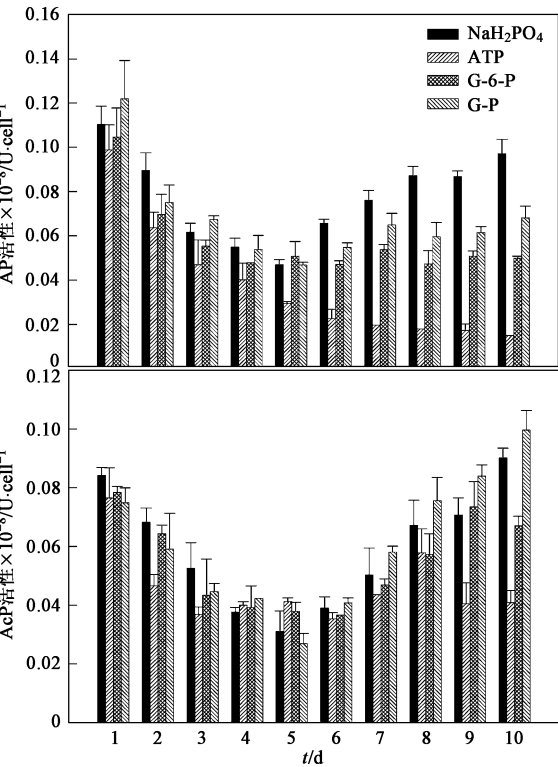


图 4 4 种磷源形态下东海原甲藻 AP 和 AcP 活性变化
Fig. 4 AP and AcP activity of *P. donghaiense* under four phosphorus substrates

比较中肋骨条藻和东海原甲藻的酶活性变化可以发现,2 种藻具有相似的变化趋势.3 种形态有机磷源相比较,AP 和 AcP 活性由高到低的顺序为 G-P> G-6-P> ATP.以 NaH_2PO_4 为磷源的处理组的酶活性呈先下降后升高的趋势.另外比较 2 种藻的酶活性可以发现,中肋骨条藻具有较高的 AP 和 AcP 活性.

2.3 中肋骨条藻和东海原甲藻的胞内总磷和培养液中磷浓度变化

中肋骨条藻胞内总磷浓度变化如图 5 所示.胞内总磷在前 4 d 下降趋势较为明显,由约 $0.13 \times$

$10^{-6} \mu\text{mol}/\text{cell}$ 左右降至 $0.012 \times 10^{-6} \sim 0.023 \times 10^{-6} \mu\text{mol}/\text{cell}$,从第 4 d 至试验结束,胞内总磷浓度变化很小,基本处于平稳状态.试验结束时,以 NaH_2PO_4 为磷源的处理组,胞内总磷浓度最低约为 $0.008 \times 10^{-6} \mu\text{mol}/\text{cell}$,以 G-P 为磷源的处理组最高约为 $0.016 \times 10^{-6} \mu\text{mol}/\text{cell}$,以 ATP 和 G-6-P 为磷源的处理组胞内总磷分别为 $0.014 \times 10^{-6} \mu\text{mol}/\text{cell}$ 和 $0.012 \times 10^{-6} \mu\text{mol}/\text{cell}$.培养液中 DIP 和 DOP 的浓度下降速度很快,以 NaH_2PO_4 为磷源的处理组,1 d 后,培养液中 DIP 浓度降至 $0.66 \mu\text{mol}/\text{L}$,此后下降速度减慢,基本保持平稳状态.以有机磷化合物为磷源的处理组,2 d 后, DOP 均下降至 $0.4 \mu\text{mol}/\text{L}$ 左右,此后下降速度减慢且基本保持平稳状态.

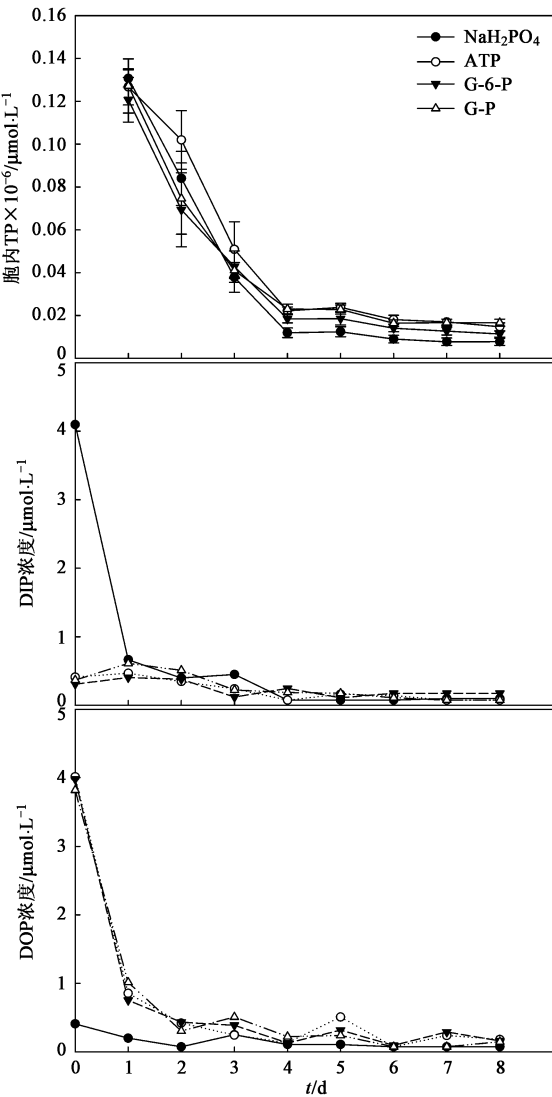


图 5 4 种磷源形态下中肋骨条藻胞内总磷
和培养液中 DIP 及 DOP 浓度变化

Fig. 5 Cellular total phosphorus and DIP and DOP concentration in the culture of *S. costatum* under four phosphorus substrates

东海原甲藻胞内总磷在 10 d 内一直保持下降的趋势(见图 6). 至第 10 d 时, 4 种磷源形态处理组胞内总磷的浓度由高到低的顺序为 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 > \text{G-P} > \text{G-6-P} > \text{ATP}$. 培养液中 DIP 和 DOP 浓度下降速度较中肋骨条藻慢, 以 NaH_2PO_4 为磷源的处理组, 3 d 后, 培养液中 DIP 浓度降至 $0.54 \mu\text{mol/L}$, 此后下降速度减慢. 以有机磷化合物为磷源的处理组, 3 d 后, DOP 下降至 $0.4 \sim 0.5 \mu\text{mol/L}$, 此后下降速度减慢.

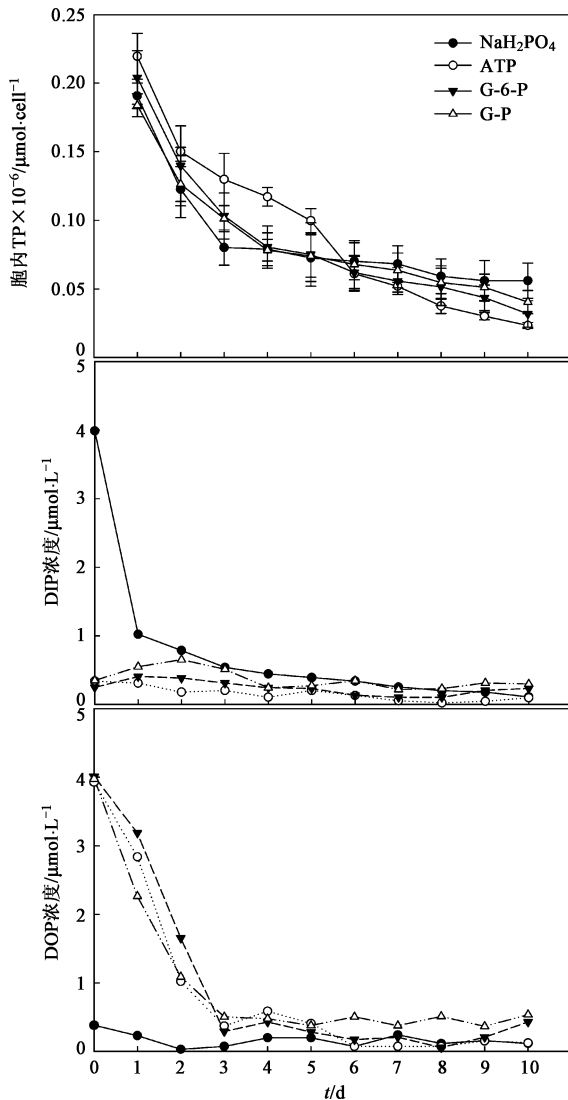


图 6 4 种磷源形态下东海原甲藻胞内总磷和培养液中 DIP 及 DOP 浓度变化

Fig. 6 Cellular total phosphorus and DIP and DOP concentration in the culture of *P. donghaiense* under four phosphorus substrates

3 讨论

3.1 不同形态磷源对中肋骨条藻和东海原甲藻生长的影响

目前, 关于天然海水中溶解性有机结合态磷地

性质还不清楚, 研究表明其是一类从低分子到高分子的、种类繁多和结构复杂的有机化合物, 主要有葡萄糖-6-磷酸、2-磷酸甘油、磷肌酸、核苷酸、三磷酸腺苷等形态^[13]. 已有的试验表明, 微小亚历山大藻 (*Alexandrium minutum*)、球形棕囊藻 (*Phaeocystis globosa*)、铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*)、利玛原甲藻 (*Prorocentrum lima*)、三角褐指藻 (*Phacalactylum tricornutum*)、湛江叉鞭金藻 (*Dicrateria zhanjiangensis*) 和小球藻 (*Chlorella* sp.) 等可以利用磷酸葡萄糖、磷酸甘油和 ATP 等作为磷的来源^[14-18], 这说明许多浮游植物都能利用有机磷化合物作为营养物质来源. 对于中肋骨条藻和东海原甲藻, 试验所用的有机磷化合物和无机磷对其生长表现出了相似的效应, 在指数生长期具有相似的生长速率. 至试验的最后 1 d, 有机磷化合物处理组的细胞密度比无机磷酸盐处理组的细胞密度大, 表明含磷有机物的作用比无机磷酸盐的作用要高. 因此, 2 种赤潮藻在自然海水中可以利用的磷源比较广泛, 其中有机磷化合物在它们形成赤潮过程中的作用不可忽视.

3.2 不同形态磷源下 AP 和 AcP 活性变化

当水体中无机磷酸盐浓度很低时, 碱性磷酸酶可以水解水体中的溶解态有机磷化合物, 释放无机磷酸盐供藻利用^[10, 19]. 碱性磷酸酶可以指示藻受磷限制的状况, AP 活性与水体中无机磷浓度呈显著的负相关关系^[20, 21]. 在本实验中, 对于以 NaH_2PO_4 为磷源的处理组, AP 活性在试验后期升高, 营养盐分析也显示此时环境中的磷酸盐浓度很低, 说明缺磷条件下, 不管是否存在有机磷化合物, 中肋骨条藻和东海原甲藻均能表现出较高的磷酸酶活性. 在 3 种有机磷处理组中, 以 ATP 为磷源的处理组, 磷酸酶活性最低, 以 G-6-P 为磷源的处理组次之, 并且这 2 种处理组中, 磷酸酶活性变化无明显规律, 以 G-P 为磷源的处理组中的磷酸酶活性最高. 关于藻类对有机磷的利用可能有 2 条途径: 一是直接吸收利用, 主要是对于小分子的有机磷; 二是对于较大分子有机磷, 则需经过如碱性磷酸酶等水解后吸收利用^[16, 22]. 李英等^[23] 研究东海原甲藻对不同磷源的利用特征时提出, 东海原甲藻对 ATP 和 G-6-P 可能是直接吸收, 而对 G-P 可能是第二条利用途径. Cembella 等^[2] 也报道了一种蓝细菌运输和代谢 G-6-P 时没有通过胞外磷酸酶. 本研究得出相同的结论, 并且发现中肋骨条藻和东海原甲藻对这 3 种磷源具有相似的利用特征.

许多试验证明,除了胞外的磷酸盐,胞内磷酸盐也是影响藻生长的主要因子^[10,24],并且一些藻类已被证实能够在外界磷酸盐充足的条件下积累和储存大量胞内磷酸盐^[25].本实验中,当向培养液中补充各种磷源后,2~3 d后,培养液中磷浓度降至很低的水平,并一直维持低水平至实验结束.但从藻类的生长曲线中可以发现,藻类在胞外磷浓度很低的条件下,生长速率并没有立即下降.酶活性检测发现2种藻在试验后期胞内AcP活性均明显升高,AcP可以水解胞内储存的多聚磷酸盐,供藻类维持生长.因此本实验证明,中肋骨条藻和东海原甲藻均可以储存胞内磷酸盐,并且在外界磷浓度较低条件下诱导合成AcP利用胞内磷酸盐维持生长.另外,本实验中,2种藻在试验初始具有较高的酶活性,可能是由于试验前72 h的饥饿,藻已经处于磷限制,导致酶活性升高.

本研究表明中肋骨条藻和东海原甲藻能够合成磷酸酶,并利用有机磷化合物.这种特性使藻类可以在无机磷酸盐限制的环境中维持生长.研究表明并不是所有藻类能诱导磷酸酶或者利用有机磷化合物^[21,25],因此这2种藻在无机磷限制条件下诱导AP活性升高,竞争利用其他磷源(如有机磷化合物)的能力和策略可能是它们能在长江口水域形成赤潮的主要优势.另外中肋骨条藻和东海原甲藻均可以在外界磷充足的条件下大量积累和储存胞内磷酸盐,并在外界磷限制的条件下,诱导胞内AcP活性升高来利用储存的胞内磷酸盐,这一特性也为这2种藻能在长江口水域形成赤潮提供优势.中肋骨条藻和东海原甲藻对试验所选用的3种有机磷化合物具有相似的利用特征,比较两者的酶活性发现,中肋骨条藻具有较高的磷酸酶活性,说明它可能具有较高的利用有机磷化合物的能力,营养盐分析也表明中肋骨条藻能较快速的吸收利用磷,再加上中肋骨条藻具有较高的生长速率,能较快的繁殖,这些生理特性可能促使它在相同的营养盐条件下比东海原甲藻更早更快的大规模繁殖,从而形成赤潮.

4 结论

中肋骨条藻和东海原甲藻均能生长于有机磷化合物(ATP、G-6-P和G-P).3种磷源对藻生物量的贡献由高到低的顺序为ATP>G-6-P>G-P.从AP活性可以发现2种藻对3种磷源的利用方式存在区别:对ATP和G-6-P可能是直接吸收,对G-P可能是先通过磷酸酶水解后再吸收.AcP活性变化说明2种

藻在外界磷限制的条件下能充分利用胞内储存的磷酸盐,供藻维持生长.另外中肋骨条藻具有较高的磷酸酶活性,且能较快地吸收环境中的磷,说明其吸收利用有机磷化合物的能力高于东海原甲藻.

参考文献:

- [1] 周名江, 颜天, 邹景忠. 长江口临近海域赤潮发生区基本特征初探[J]. 应用生态学报, 2003, **14**(7): 1031-1038.
- [2] Cembella A D, Antia N J, Harrison P J. The utilization of inorganic and organic phosphorous compounds as nutrients by eukaryotic microalgae: a multidisciplinary perspective: part I [J]. CRC Cr Rev Microbiol, 1984, **10**(4): 317-391.
- [3] Huang B Q, Hong H S. Alkaline phosphatase activity and utilization of dissolved organic phosphorus by algae in subtropical coastal waters [J]. Mar Pollut Bull, 1999, **39**: 205-211.
- [4] Björkman K, Karl D M. Bioavailability of inorganic and organic phosphorus compounds to natural assemblages of microorganisms in Hawaiian coastal waters [J]. Mar Ecol Prog Ser, 1994, **111**: 265-273.
- [5] 张民, 史小丽, 蒋晓娟, 等. 两种外源性磷及振荡对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)生长的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2002, **8**(5): 507-510.
- [6] Duff S M G, Sarath G, Plaxton W C. The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism [J]. Physiol Plant, 1994, **90**: 791-800.
- [7] Chai C, Yu Z, Song X, et al. The status and characteristics of eutrophication in the Yangtze River (Changjiang) Estuary and the adjacent East China Sea, China [J]. Hydrobiologia, 2006, **563**(1): 313-328.
- [8] 柴超, 俞志明, 宋秀贤, 等. 长江口水域富营养化特性的探索性数据分析[J]. 环境科学, 2007, **28**(1): 53-58.
- [9] 蒲新明, 吴玉霖, 张永山. 长江口区浮游植物营养限制因子的研究. II 春季的营养限制情况[J]. 海洋学报, 2001, **23**(3): 57-65.
- [10] Huang B, Ou L, Hong H, et al. Bioavailability of dissolved organic phosphorus compounds to typical harmful dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense* Lu [J]. Mar Pollut Bull, 2005, **51**: 838-844.
- [11] Li M T, Xu K Q, Watanabe M, et al. Long-term variations in dissolved silicate, nitrogen, and phosphorus flux from the Yangtze River into the East China Sea and impacts on estuarine ecosystem [J]. Estuar Coast Shelf Sci, 2007, **71**: 3-12.
- [12] Kruskopf M M, Plessis S D. Induction of both acid and alkaline phosphatase activity in two green algae (chlorophyceae) in low N and P concentrations [J]. Hydrobiologia, 2004, **513**: 59-70.
- [13] Duursma E K, Dawson R. Marine Organic Chemistry [M]. New York: Elsevier Scientific Publication, 1981. 125-127.
- [14] Hong H S, Wang H L, Huang B Q. The availability of dissolved organic phosphorus to marine phytoplankton [J]. Chin J Oceanol Limnol, 1995, **13**(2): 169-176.
- [15] 王海黎, 洪华生, 黄邦钦. 海洋环境中溶解有机磷的生物活性初探[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 1995, **34**(3): 416-420.

[16] 邹迪,肖琳,杨柳燕,等. 不同形态磷源对铜绿微囊藻与附生假单胞菌磷代谢的影响[J]. 环境科学, 2005, **26**(3): 118-121.

[17] 张青春,于仁诚,周名江,等. 不同类型含磷营养物质对微小亚历山大藻(*Alexandrium minutum*) 生长和毒素产生的影响[J]. 海洋与湖沼, 2005, **36**(5): 465-474.

[18] James B, Cotner J. Uptake of dissolved inorganic and organic phosphorus by phytoplankton and bacterioplankton [J]. Limnol Oceanogr, 1992, **37**(2):232-243.

[19] Oh S J, Yamamoto T, Kataoka Y, *et al.* Utilization of dissolved organic phosphorus by the two toxic dinoflagellates, *Alexandrium tamarense* and *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) [J]. Fisheries Sci, 2002, **68**: 416-424.

[20] Currie D J, Bentzen E, Kalff J. Does algal-bacterial phosphorus partitioning vary among lakes? A comparative study of orthophosphate uptake and alkaline phosphatase activity in freshwater[J]. Can J Fish Aquat Sci, 1986, **43**(2): 311-318.

[21] Vidal M, Duarte C M, Agustí S, *et al.* Alkaline phosphatase activities in the central Atlantic Ocean indicate large areas with phosphorus deficiency [J]. Mar Ecol Prog Ser, 2003, **262**:43-53.

[22] 黄邦钦,黄世玉,洪华生,等. 溶解态磷在海洋微藻碱性磷酸酶活力变化中的调控作用[J]. 海洋学报, 1999, **21**(1):55-60.

[23] 李英,吕颂辉,徐宁,等. 东海原甲藻对不同磷源的利用特征[J]. 生态科学, 2005, **24**(4): 314-317.

[24] Hoppe H. Phosphatase activity in the sea [J]. Hydrobiologia, 2003, **493**:187-200.

[25] Hernández I, Niell F X, Whitton B A. Phosphatase activity of benthic marine algae. An overview [J]. J Appl Phycol, 2002, **14**: 475-487.