海藻光合作用测定新方法—— 海水流通式测定法*

高坤山[1,2]　　华文青[1]

([1] 汕头大学科学研究院能源与环境科学研究所 515063)
([2] 中国科学院水生生物研究所 武汉 430072)

提要　　新测定方法采用开放式测定系统。测定时, 海水不断地流过海藻, 使其周围的环境与在海中相似, 避免了传统封闭式测定系统中的"瓶效应"。这种新方法根据海水的流量、流入与流出海水中溶解氧浓度的差以及管内海藻的生物量算出光合作用速度, 具有简便、可靠以及能够测定个体较大海藻的优点。

关键词　　海藻, 光合作用, 溶解氧, 封闭系统, 开放系统

*　以传统的封闭式方法测定海藻光合作用速度时, 藻体或海藻片断周围的微环境与海藻在海水中的自然环境有很大的差异, 所以会带来较大的误差。这在利用光合作用估量初级生产力时不能忽视。当海藻的藻体或其片断被封闭在培养瓶时, 靠近藻体的表面存在着营养盐、无机碳和溶解氧的浓度梯度。这种浓度梯度越接近藻体越大, 生物物理学上称为扩散临界层(Diffusion boundary layer)。这种扩散临界层的厚度会影响光合作用速度, 营养成分的浓度以及溶解氧的浓度都影响光合作用速度[3,5,6,7]。另外, 光合作用的进行能使海水中的 pH 急剧升高[3,4]。以封闭系统测定光合作用时, 光合固碳能使瓶内 pH 急剧上升。由此可见, 封闭式光合作用测定法会产生许多不良效应。为此, 作者开发了一种开放系统式的海藻光合作用测定法: 海水流通式测定法。这种方法能一边将海藻维持在恒定流速的海水中, 一边测定其光合作用。在恒定的流速下, 海藻周围的扩散临界层的厚度也是恒定的(流速临界层和扩散临界层厚度的比值是一个常数)。

1　材料与方法

海藻开放系统式光合作用测定法简称为海水流通式(Flow-through)测定法。测定系统包括同化管、同化管连接末端、取水管和流量计(图 1)。同化管的连接末端与同化管是螺丝拧进或拧出, 形状是逐渐变细的圆锥体型, 细端接塑料管。因为水的流速是与管的横断面积成反比的, 所以海水流出同化管末端时流速随着管径的变小而加快。因为连接末端是圆锥形, 所以流速的增加不会影响管内流速的分布(不因出口阻力产生涡流)。海水是非压缩性液体, 同化管内海水的流速(V)与管的内横断面积(A)和流量(F)有以下关系:

$$V = F/A,$$

流速与流量成正比, 与同化管内横断面面积成反比, 即管内流速与内径成反比。管内流速(V, cm/s)与内径(D, mm)和流量(F, L/min)的关系可用下式表示:

$$V = 2122 \times D^{-2} \times F,$$

如图 2 所示, 流速是同化管内径的指数函数, 随着内径的增大而减少。

测定前, 在一定高度处设置一水槽, 将干净或过滤海水储于其中, 利用落差形成水流。实验时, 根据海藻的大小和实验需要选定同化管的直径和长度, 将海藻的假根插入松弛的绳内, 将绳固定在玻璃棒或杆上, 然后将其放入同化管内, 再将同化管的末端拧上, 与流量计接通; 海水开始流入同化管时, 将其流出端抬高, 让所有的气泡都流出后, 再将同化管放平。海水流量通过调节流量计控制。测定呼吸作用时, 用不透明管或将透明管用黑塑料纸包起来。光合作用速度(P)或呼吸作用速度(R)根据流入和流出海水中的溶解氧浓度的差以下式求出:

*　国家杰出青年科学基金资助(39625002), 中科院"百人计划"资助(1997~ 1999)。
收稿日期: 1996 年 6 月 24 日

$$P(R) = (O_{out} - O_{in}) \times F \times 60 \times 1/W,$$

O_{out} 和 O_{in} 分别表示流出与流入海水中的溶解氧浓度(分子浓度或每升海水中溶解氧的容量或重量), F 表示流量(L/min), W 表示海藻的干重或鲜重(g)。光合作用速度表示为每克藻体每小时放氧的微摩尔数、毫克数或毫升数。

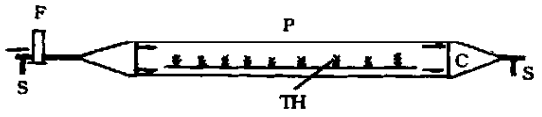

图 1　流通式海藻光合作用测定系统

F. 流量计; P. 同化管; C. 连接末端; TH. 藻体; S. 采水管

Fig. 1　Outline of the flow - through system for measuring photosynthesis of seaweeds

F. flowmeter; P. assimilation pipe; C. connector; TH. thallus; S. water sampling tube

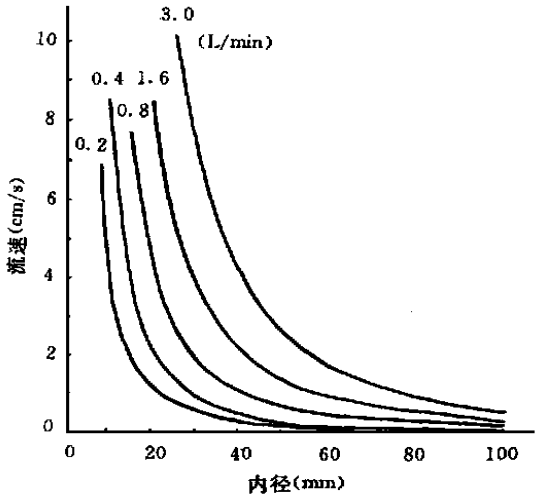

图 2　同化管内径与管内海水流速的关系

Fig. 2　Relationship of current speed to inner diameter of the pipe and flow rate

2　结果与讨论

作者利用海水流通式光合作用测定法测定了鼠尾藻和铜藻的光合作用。因为, 将海藻放入同化管后流出海水的溶解氧浓度需要一定的时间才能达到稳定值, 所以, 首先估量了出水口海水中溶解氧浓度达到稳定状态的时间。这个时间与同化管的大小、海水的流速有关。图 3 表示在不同流量条件下出水口海

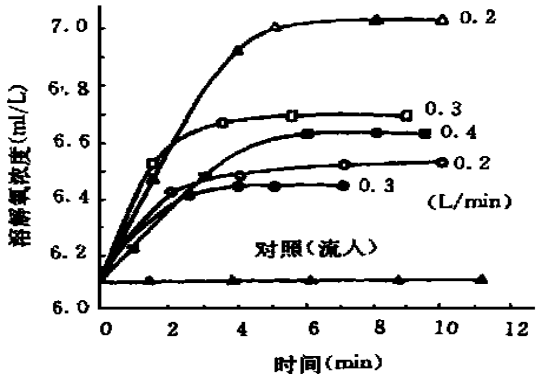

图 3　不同光照及流量条件下测定鼠尾藻光合作用时, 流出海水溶解氧浓度的经时变化

同化管内径为 3 cm, 长为 70 cm; 光量子通量密度为 160 (●, ○) 和 960(△, □, ■) $\mu E\ m^{-2}s^{-1}$

Fig. 3　Time courses of change of dissolved oxygen concentrations in outflowing seawater during the measurement of photosynthesis of *Sargassum thunbergii* plants under varied light and current speed conditions

Assimilation pipe is 3 cm in inner diameter and 70 cm long). Photon flux density were 160 (●, ○) and 960 (△, □, ■) $\mu E\ m^{-2}s^{-1}$

水中溶解氧浓度的稳定状态时间。在流量 0.2~ 0.4 L/min 的范围内, 稳定状态时间为 4~ 5 min, 即同化管出口海水的溶解氧浓度在接通后 4~ 5 min 可达到稳定值。在鼠尾藻光合作用不饱和的低光照下与饱和的高光照下测定的结果表明, 光合放氧速度的快慢对稳定时间的影响不大。增大流量时出水口溶解氧的浓度达到稳定值的时间短一点。图 3 的实验所用的同化管内径为 3 cm, 长为 70 cm。当换成内径为 10 cm 同化管时, 稳定时间拉长为 15~ 20 min(图 4)。用长度为 70 cm 以内的同化管测定光合作用时, 同化管的内径在 3 cm 以下的情况下, 出水口溶解氧的浓度 5 min 后达到稳定值, 也就是说, 分析溶解氧浓度时海水必须 5 min 后采取出水口的水样; 同化管内径在 10 cm 以下的情况下, 必须 20 min 后采取。

作者利用开放系统和封闭系统分别测定了同一种海藻的光合作用速度, 并进行了比较。图 5 是用海水流通式测定法与产氧检容仪(Productmeter, Niko Ka-

gaku Ltd., 日本)两种方法测定的铜藻的光合作用-光曲线。两种方法测定的呼吸作用速度以及低光照条件下的光合作用速度很接近, 然而, 在高光照强度下, 海水流通式测定的光合作用速度远远超过检容仪的测定值, 前者的光饱和光合作用速度是后者的1.6倍, 即铜藻的光饱和光合作用速度在流通式开放系统中比在封闭式的系统中快60%。以检容仪测定法测定时, 尽管培养瓶在不停的振荡, 然而"瓶效应"(Bottle effect)在强光条件下还是抑制了光合作用。可以看出, 以海水流通式的开放系统测定的光合作用速度比检容仪或Winkler等封闭式方法测定的光合作用速度较为准确。

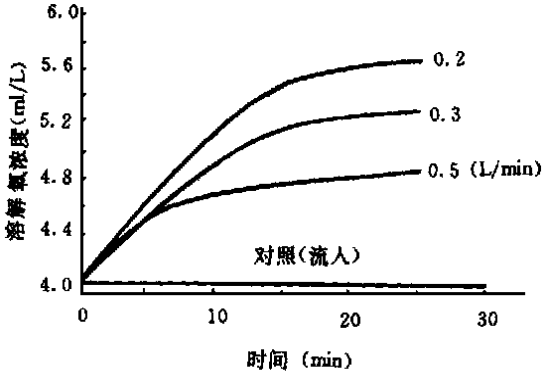

图4 不同流量情况下测定鼠尾藻光合作用时, 流出海水溶解氧浓度的经时变化

同化管内径为10 cm、长为70 cm; 光量子通量密度为960 μE m^{-2}s^{-1}

Fig. 4 Time courses of change of dissolved oxygen concentrations in outflowing seawater during the measurement of *S. thunbergii* plants in an assimilation pipe of 10 cm inner diameter and 70cm long

Photon flux density was 960 μE m^{-2}s^{-1}

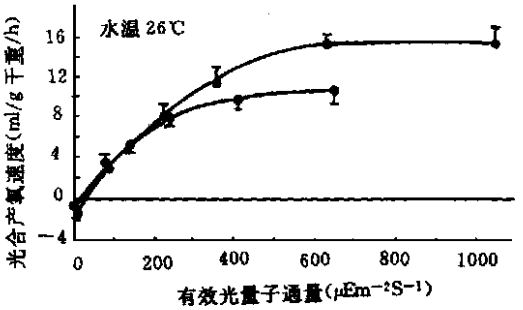

图5 海水流通式开放系统(○)与产氧仪(封闭系统, ●) 测定铜藻的光合作用-光曲线的比较

数据表示为平均值± 标准偏差; 流通式开放系统, n = 30; 产氧仪测定, n = 10)

Fig. 5 Comparison of photosynthesis-light curves of *Sargassum horneri* determined with the flow-through system (○) and the productmeter (●)

Data are the means ± SD; flow-through system, n = 30; productmeter, n = 10.

利用海水流通式的方法测定光合作用时, 需要注意几个方面的问题。测定时, 海水处于动态, 出水口海水的取样一定要在溶解氧浓度达到恒定值后才能进行; 同时, 进水与出水口海水中溶解氧浓度的差不能过小, 否则会带来不必要的实验误差。另外, 在同化管内海藻生物量一定的情况下, 增大海水流量就意味着降低出水口海水中溶解氧的浓度, 使得出水口与入水口海水中溶解氧浓度差变小; 在流量一定的情况下, 增加同化管内的生物量就意味着提高出水口溶解氧的浓度。实验时, 不能忽视海藻的量与流量两种因素。同时, 应该注意, 海水流速对海藻光合作用的影响[1,2]。在低光照强度下测定光合作用速度时, 如果出口与入口的溶解氧浓度相差不大的话, 可以适当增加同化管内海藻的量。

参考文献

[1] 高坤山, 1991。藻类 39: 291~ 293。

[2] 高坤山、有贺右胜等, 1992。藻类 40: 397~ 400。

[3] Gao, K. and Aruga, Y. *et al.*, 1991. *J. Appl. Phycol.* 3: 355-362.

[4] Gao, K. and Aruga, Y. *et al.*, 1992. *Japanese Journal of Phycology* 40: 373-377.

[5] Gao, K. and Aruga, Y. *et al.*, 1993. *J. Appl. Phycol.* 5: 563-571.

[6] Goldman, J. C. and Dennett, M. R., 1983. *Mar. Biol.* 76: 7-15.

[7] Smith, V. H., 1983. *J. Phycol.* 19: 306-313.

A NEW METHOD FOR PHOTOSYNTHESIS MEASUREMENT OF SEAWEEDS—— MEASUREMENT IN A FLOW-THROUGH SYSTEM

Gao Kunshan and Hua Wenqing
(*Institute of Energy and Environmental Science, Shantou University* 515063)
Received: Jun. 24, 1996
Key Words: Close system, Dissolved oxygen, Open system, Photosynthesis, Respiration, Seaweeds

Abstract

A new method was developed to measure the photosynthesis of seaweeds in an open system. This new method maintains the seaweed in constant flowing seawater and makes the surrounding environment for the alga close to that in the sea, therefore, avoiding the "bottle effect" involved in traditional methods with close systems. Photosynthetic rates are determined from the difference of dissolved oxygen concentration between inflowing and outflowing seawater, flow rate and algal biomass. This new technique is reliable, does not need expensive instruments, can measure photosynthesis of big seaweeds without cutting.