第2卷 第1期 水 产 学 报 Vol.2, No.1
1965年 3 月 SHUI-CHAN XUE-BAO March, 1965

研 究 簡 报

温度及光照对浮游硅藻 *Nitzschia Closterium* (Ehrenberg) W.Smith 吸收P^{32}的影响

朱树屏 刘恬敬 陈立人 周其芳 李复馨

（水产部海洋水产研究所）

据本所黄河口海区浮游植物的調查，海水中营养元素含量的变化，对控制浮游植物的数量有肯定作用，水温及光照对这种控制作用，又有重要的影响；并且这种影响因浮游植物的种类而有显著的差异（朱树屏、康元德，1962）。气候因子对各种浮游植物吸收营养元素的影响，尚缺确切资料，本文只簡报温度及光照对P^{32}被吸收的影响。

試驗所用浮游硅藻 *Nitzschia closterium* 新月尼氏藻是黄河口海区重要餌料浮游植物之一，在正式試驗前，先在自然海水中补充 NO_3—N，10 p.p.m.，PO_4—P，1 p.p.m及Fe，0.1 p.p.m.，放在室內窗前自然光照及室温（9—11°C）中培养一周(1963年12月28日至1964年1月6日)，作为試驗用的藻种。在藻种培养旺盛后，用脱脂棉柱滤去原培养液，再用灭菌海水（含 PO_4—P 28μg/L)冲洗到烧杯中，再傾入离心管，用每分鈡2,000轉的速度离心沉淀4分鈡。然后将沉淀硅藻接种到貧瘠海水中(800—1,000万个細胞/ml)，培养于适温及黑暗中10小时(培养时間过长或密度过大，常会出現飢餓死亡的藻体)，即可供試驗用。

一、温度对硅藻吸收P^{32}的影响

实驗分为0，5，10，15，20，25及30°C七个組。用500ml烧瓶各装入培养液200ml，瓶底系有适当重量的鉛錘，使各組烧瓶各漂浮固定在1个水族箱內（盛有自来水）的一定位置。瓶底距箱底1 cm，瓶內水面低于箱內水面4cm。另放一同样的烧瓶，內装海水，插入温度計（經过校正）一支，作观察瓶內水温变化用。經常調节水族箱內的水温来保持瓶內水温的恒定。

水族箱共7个。容积都是45（长）×35（宽）×30cm（高）。在箱外壁三面貼光滑白紙，使箱內光綫因反射而加强。低温組，在箱外壁与冰盐之間，再隔一层白塑料布，避免冰盐水浸湿白紙。高温組，用电热棒及电子恒温控制器保持所需水温。箱口以白色薄木板覆盖，避免室温对箱內水温的影响；用这样装置的封閉恒温水浴，来保持上述七組水温。每30分鈡記录水温一次，水温变化一般不到1°C。

光源是1,000W鎢絲灯泡，挂在七个水族箱圍成环状的中央，与箱底中心处成45°的角度。光通过未貼白紙的一壁透入箱內培养瓶上。实驗过程中，在箱內壁及培养瓶之間，先后測定光强10次，光强变化在10,000—12,000 Lux之間。

接种时要先把藻种瓶搖动，使分布均匀，但在接种过程中，仍因藻种本身的沉淀而使接种量有些差异。故接种后应再計数一次，以确定各实驗培养瓶中的实际密度，便于核算实驗过程中細胞的实际增加数及增加

的百分数。

将实验用藻液（每組2瓶）及1个測温瓶，分放各温度組水箱中(同时，另外取 4 ml 藻液，用两滴碘液固定，計算实驗开始时每毫升的細胞数目)。一俟瓶内水温达到需要的温度（一般經过 15—20 分鈡），即分别在每 200 ml 的培养液中加入 NO_3—N，4 p.p.m.；P^{32}20μc。培养試驗时間为 12 小时。

实驗結束后，立即将各組培养瓶搖动，使硅藻分布均匀，每瓶取 2 ml 藻液，加碘液固定进行細胞計数。同时取 25 ml 以每分鈡 2,500 轉的速度离心沉淀 5 分鈡，傾除含有 P^{32} 的培养液，加入蒸餾水冲洗沉淀的硅藻，除去細胞外壁所吸附的 P^{32}，再离心沉淀。如此反复冲洗 5 次，即以最后除去的洗液測定的放射性强度，与本底基本一致。最后把沉淀的硅藻冲洗入鋪有适度孔径滤紙的特制銅漏斗中，抽气过滤，制成藻体分布均匀的样本，測量放射性强度（在除去細胞外壁吸附的P^{32}的冲洗过程中，所丢失細胞的P^{32}的脉冲数未計算在內）。

放射性强度測定所用仪器，是上海玻璃厂B 型云母窗盖革計数管和重庆仪器厂制的 C4 进位定标器。每份样本每次測两分鈡，求两份样本的平均数。云母窗距样本的距离是 5.7 厘米，工作电压1,000V。

試驗結果(图 1） 硅藻吸收的 P^{32}量与温度之間的关系很显著。由放射性測定和硅藻細胞計数結果表明培养在 15°C的放射性最强，即吸收 P^{32} 最多（图 1,A），硅藻繁殖最快，个体增加的百分数亦最高(图 1,B)，而且每个硅藻吸收 P^{32} 也最多（图 1,C)。其次为 20°C；再次为 10—25°C与 30°C；5°C 及 0°C最低。这个試驗重复进行了两次，結果完全一致。

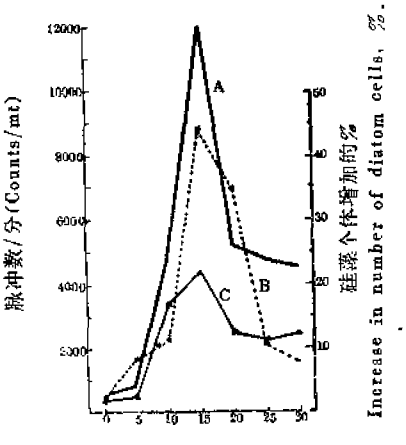

图 1 不同温度对硅藻吸收 P^{32} 的影响

A，25ml培养液所含硅藻中P^{32}的放射性强度；B，硅藻个体增加的%；C，每万个細胞的放射性强度。

Fig.1 Effects of different temperatures on the absorption of P^{32} by *Nitzschia closterium*; A, being absorption curve of diatoms in different cultures, diatoms in 25 ml of each of the cultures being measured; B, increase in number of diatom cells, percentage; C, absorption curve of 10,000 diatom cells from different curtures.

二、不同光照时間对硅藻吸收P^{32}的影响

光照实驗所用水箱同上，水温 15°C，以流水控制，实驗用海水所加入的营养成分同上。光源灯泡挂在水箱上面，与箱底垂直，光强先后变动范围为 15,000—17,000Lux，培养試驗时間为 26 小时，实驗开始后

2小时取第一次样品，此后每隔3小时取样一次，测定放射性强度及細胞計数。光照方式分为下列4种：

1．完全光照26小时；

2．光照14小时，在維持原有条件下，断絕光源，在黑暗中（用两层黑布将培养瓶罩覆）繼續培养12小时；

3．实驗一开始就用黑布罩覆培养瓶，在黑暗中培养14小时后，再去掉黑布罩，給予光照12小时；

4．26小时全在黑暗中。

以上四种光照方式在一个水箱內同时进行实驗，共做了三次，接种硅藻的浓度各为600、800及900万个細胞/ml。

实驗后的样品处理同上述溫度实驗。

实驗結果

1．26小时全光照：經过5分鈡，P^{32}吸收量每分鈡脉冲数100次左右，經过8至9小时增至2,000脉冲/分以上，以后則增加較快。大量吸收出現于8小时之后。最高峰的放射性强度及出現时間，因硅藻密度而各不相同：接种量600万个細胞/ml的培养中，放射性强度高峰为12,800脉冲/分，出現于实驗开始后17小时（图2 a，A）；接种量800及900万个細胞/ml的培养液中，放射性强度高峰分別为12,000及8,600脉冲/分，分別出現于20小时（图2b，A）及21.5小时（图2b，A；2c，A）。

2．光照14小时后再黑暗12小时的結果是：光照时間內，吸收曲綫逐漸上升，与上述全光照情况一致。断絕光源后，在接种量較小的600万个細胞/ml的培养液中，即不再吸收而逐漸下降（图2 a，B）；在800及900万个細胞/ml的培养液中，吸收現象仍十分明显，前者3小时后开始下降（图2b，B），后者經过6小时后下降（图2c，B）。

3．实驗开始的14小时內完全黑暗，以后再光照12小时的結果（图2a，C；2b，C）是：黑暗时，吸收量一直很低，基本是100—200脉冲/分。給予光照后，吸收量开始增多，至20小时后，吸收曲綫急剧上升，表明大量吸收的时間是在給予光照6小时之后。

4．全暗26小时的結果：吸收量始終保持在100—200脉冲/分（图2a，D；2b，D）。

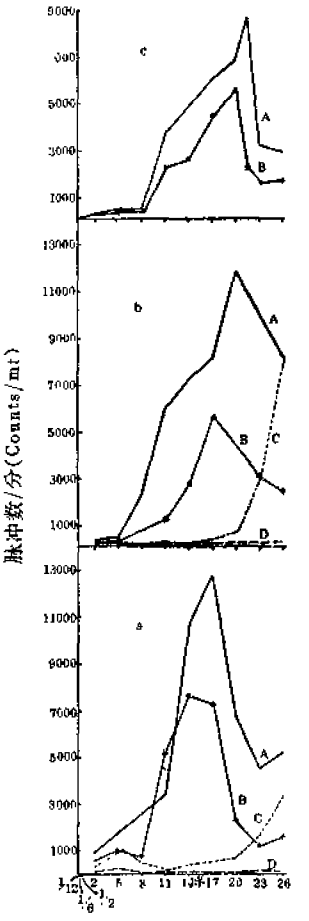

图 2　不同时間的光照对硅藻吸收 P^{32} 的影响

a，接种600万个細胞/ml；b，接种800万个細胞/ml；c，接种900万个細胞/ml。A，26小时全光照；B，光照14小时后再暗12小时；C，暗14小时后再光照12小时；D，全暗26小时。* 改变光照的时間。

Fig. 2 Effects of different illuminating periods on the absorption of P^{32} by *Nitzschia closterium*; * indicating change of illumination; a, inoculum with 6×10^6 diatom cells per ml; b, 8×10^6 cells per ml; c, 9×10^6 cells per ml; A, 26 hours illumination; B, 14 hours illumination followed by 12 hours darkness; C, 12 hours illumination after 14 hours darkness; D, black-out for 26 hours.

根据以上試驗可看出光照对硅藻吸收 P^{32} 的影响很明显。特别值得注意的是：（1）光照开始后 8—12（或 14）小时内，都出現吸收 P^{32} 的最大速度。（2）在全光照的三个不同藻体接种量的培养液中，密度較小的一組，首先出現吸收最高峰。随着密度的增加，最高峰出現时間亦逐渐推迟，这可能是由于硅藻个体表面所受的光强有所不同。密度較小的培养液中，硅藻互相遮光的影响較小；因而普遍受光較强，光合作用亦較强。密度較大的培养液中，遮光的影响較大，光透射較弱，光合作用亦較弱，故吸收高峰的出現較迟。（3）在吸收量达到最高峰之后，曲綫急剧下降，表明已被吸入藻体內的 P^{32}，又排入培养液中。可能由于硅藻的外分泌而使 P^{32} 排出硅藻体外。因为被排到培养液中的，还可能被細胞再吸收，这种現象对海水中营养矿质的循环，显然是有重要意义的。

參 考 文 献

〔1〕朱树屏、康元德，1962年黄河口附近海区浮游植物的季节变异。1962年太平洋西部渔委会第八次会議上宣讀的論文。

NOTE ON THE INFLUENCES OF TEMPERATURE AND LIGHT ON THE ABSORPTION OF P^{32} BY A PLANKTONIC DIATOM *NITZSCHIA CLOSTERIUM* (EHRENBERG) W.SMITH

S.P.Chu　T.C.Liu　L.J.Chen　C.F.Chow　F.H.Li

(Hwang-hai Fisheries Research Institute, Ministry of Fisheries, The People's Republic of China)

ABSTRACT

Subculture from unialgal culture of *Nitzschia closterium*, kept in our laboratory for many years, was made first in enriched sea water under suitable conditions for a week to get healthy diatoms for inoculum. These diatoms were then carefully washed by centrifuging and subcultured in sterilized natural sea water, not enriched and very deficient in phosphate, with 8×10^6 to 10×10^6 cells per ml., for ten hours before inoculating the cultures for experiments. Dead cells occurred if this starving culture lasted too long or contained too many cells. Experiments were all carried out in 500 ml. conical flasks each containing 200 ml. sterilized natural sea water enriched with NO_3-N, 4 p.p.m. and P^{32} 20 μc. Cultures of each series were illuminated by a 1,000 W. bulb. Diatoms were washed 5 times by centrifuging to get rid of the P^{32} adsorbed on the diatom frustules, before P^{32} absorbed being measured by a Geiger counter.

1. Influences of different temperatures on the absorption of P^{32}.

Cultures kept at 0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30°C, were arranged obliquely under a 1,000W. bulb at a distance of 53 cm. measured from the surface of the bulb to the center of the bottom of the culture flask situated just inside a wall of white glazed paper which was used to reflect the light. All cultures lasted 12 hours.

Diatom cells in cultures at 15°C absorb largest amount of P^{32} (Fig. 1, A), the increase of diatom numbers here is also the largest (Fig. 1, B), being up to 44.1%, and the amount of P^{32} absorbed by a single diatom cell is the largest as well. The next come in order are cultures at 20°C and 10°C, the smallest absorption occurring in cultures at 5°C and 0°C.

2. Influence of different illuminating periods on the absorption of P^{32}.

Cultures were kept at 15°C and arranged straight beneath the 1,000 W. bulb with a distance of 33.5 cm. with light reflecting arrangement; all lasted 26 hours. Three series of cultures, inoculated respectively with 6×10^6, 8×10^6 and 9×10^6 cells per ml., were made, each consisting of 4 groups, A, B, C and D;

A. 26 hours' illumination.

The absorption of P^{32} in 5 minutes gives a count of 100 per minute, increased to more than 2,000 per minute in 8-9 hours, and then the absorption rate increases rapidly up to

12,800 counts per minute in 17 hours for cultures inoculated with 6×10^6 cells per ml. (Fig. 2a, A), and up to 12,000 and 8,600 counts per minute in 20 and 21.5 hours for cultures inoculated with 8×10^6 and 9×10^6 cells per ml. respectively (Figs. 2b, A & 2c, A). The summit of the absorption curve is higher and reached earlier in cultures with a smaller inoculum.

B. 14 hours' illumination followed by 12 hours' darkness.

During the period of illumination the absorption curve (Fig. 2, B) follows more or less the course of the curve for 26 hours' illumination (Fig. 2, A). When the black-out starts, the absorption curve of cultures inoculated with 6×10^6 cells per ml. begins to drop immediately (Fig. 2a, B), while the curves of cultures inoculated with 8×10^6 and 9×10^6 cells per ml. still going upward for another three and six hours respectively before dropping (Fig. 2 b, B & 2 c, B).

C. 12 hours' illumination after 14 hours' darkness.

The absorption is very weak during the 14 hours' black-out period, giving only 100—200 counts per minute and gradually increases after illumination being started, reaching great speed after 6 hours' illumination (Fig. 2, C).

D. 26 hours' black-out.

Absorption is very weak throughout the 26 hours, being only 100—200 counts per minute.

The following phenomena are worth noticing in the above illumination experiments:

1. Greatest absorption speed of P^{32} generally occurs 8—12 (14) hours after illumination being started.

2. The summit of the absorption curve is reached earlier in the culture with smaller inoculum, possibly as a result of less sheltering effect and hence more light being received by each cell.

3. The absorption curve drops after the summit is reached, as a result of P^{32} being secreted out into the culture medium.

The results of these experiments will be discussed elsewhere in connection with other experiments.