

(1)支持向量机的损伤识别算法可以运用到建筑钢结构磁记忆检测中来。

(2)有焊接缺陷试件的早期损伤状态可以通过支持向量机算法有效地识别,但是使用不同核函数进行识别会导致不同的识别准确率。

(3)与多项式核相比,高斯径向基核与线性核具有更高的损伤识别准确度。因此,在选用支持向量机方法进行缺陷识别时,应优先考虑选用高斯径向基核作为,其次是线性核。

## 参考文献 References

- [1] 王威,曾发荣,苏三庆,等. 基于磁记忆的受弯钢梁力磁效应试验[J]. 材料科学与工程学报, 2016,34(1): 109-114.  
WANG Wei, ZENG Farong, SU Sanqing, et al. Experimental research on magnetic mechanical effectiveness of bending steel beam based on metal magnetic memory[J]. Journal of Materials Science & Engineering, 2016, 34(1):109-114.
- [2] 王威,任广超,苏三庆,等. 钢梁弯曲应变与磁记忆效应的关系研究[J]. 西安建筑科技大学学报(自然科学版), 2017, 49(1):29-35.  
WANG Wei, REN Guangchao, SU Sanqing, et al. Research on the relationship between flexural strain and metal magnetic memory for steel beam[J]. J. Xi'an Univ. of Arch. & Tech, 2017, 49(1):29-35.
- [3] DUBOV A A. Development of a metal magnetic memory method[J]. Chemical and Petroleum Engineering, 2012, (47):837-839.
- [4] DUBOV A A. Diagnostics of equipment and constructions strength with usage of Magnetic Memory Inspection[J]. Diagnostics, 2011, 35(6):19-29.
- [5] DUBOV A A, DEMIN E A, MILYAEV A I. The experience of gas pipeline stress-strain state control with usage of the metal magnetic memory and stress control means[J]. Welding in the World, 2002, 46(9):29-33.
- [6] 宗周红,钟儒勉,郑沛娟,等. 基于健康监测的桥梁结构损伤预后和安全预后研究进展及挑战[J]. 中国公路学报, 2014, 27(12):46-57.  
ZONG Zhouhong, ZHONG Rumian, ZHENG Pei-juan, et al. Damage and safety prognosis of bridge structures based on structural health monitoring progress and challenges[J]. China Journal of Highway and Transport, 2014, 27(12):46-57.
- [7] 易方,李著信,吕宏庆,等. 基于模糊核支持向量机的管道磁记忆检测缺陷识别[J]. 石油学报, 2010, 31(5):863-866.  
YI Fang, LI Zhuxin, LÜ Hongqing, et al. Defect recognition by metal magnetic memory detection of pipelines based on the fuzzy kernel function SVM[J]. ACTA PETROLEI SINICA, 2010, 31(5):863-866.
- [8] BURGESS C J C. A tutorial on support vector machines for pattern recognition[J]. Data Mining and Knowledge Discovery, 1998, 2(2):121-167.
- [9] 王建国,张文兴. 支持向量机建模及其智能优化[M]. 北京:清华大学出版社, 2015.  
WANG Jianguo, ZHANG Wenxing. Support vector machines modeling and intelligent optimization[M]. Beijing:Tsinghua University Press, 2015.
- [10] 邸新杰,李午申,严春妍,等. 基于金属磁记忆的宏观焊接裂纹识别方法[J]. 中国机械工程, 2007(12): 1475-1478.  
DI Xinjie, LI Wushen, YAN Chunyan, et al. Inspection Method of Welding Cracks Based on Metal Magnetic Memory[J]. China Mechanical Engineering, 2007(12): 1475-1478.
- [11] HSU C W, CHANG C C, LIN C J. A practical guide to support vector classification[R]. Taipei: Department of Computer Science National Taiwan University, 2003.

(编辑 桂智刚)

# 低磷浓度下普通小球藻的生长及其 叶绿素荧光特性研究

王晓昌, 许可, 黄悦, 罗丽

(西安建筑科技大学 环境与市政工程学院, 陕西 西安 710055)

**摘要:** 磷(P)常被认为是水体富营养化的限制因子之一, 对藻类生长及光合作用有很大的影响. 以普通小球藻(*Chlorella vulgaris*)为实验对象, 测定低磷浓度下小球藻的生物量、营养盐的吸收利用和光合效率的变化情况. 结果表明: 试验氮磷浓度范围( $\text{NO}_3\text{-N}$ : 1~8 mg/L;  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ : 0.2~1.0 mg/L), 小球藻生物量受初始磷浓度的影响较大,  $P=0.4$  mg/L 时小球藻生长最好. 在实验磷浓度范围内, 初始供磷水平影响小球藻对外源氮的吸收利用, 氮(N)的吸收量会随着初始供磷水平的提高而增大. 在固定磷浓度条件下, 提高氮浓度, 小球藻叶绿体中 PS II 反应中心的最大光合作用效率( $F_v/F_m$ )均值也会随之增加, 发生磷胁迫的  $F_v/F_m$  阈值为 0.18~0.24.  $F_v/F_m$  值可综合表征小球藻的生长指标、氮和磷的吸收利用率并且研究营养盐胁迫下藻类的生长.

**关键词:** 普通小球藻; 氮(N); 磷(P); 磷胁迫; 最大光能转化效率( $F_v/F_m$ )

中图分类号: TU992.7; Q945.78

文献标志码: A

文章编号: 1006-7930(2019)01-0007-07

## Growth and chlorophyll fluorescence characteristics of *Chlorella vulgaris* at low phosphorus concentration

WANG Xiaochang, XU Ke, HUANG Yue, LUO Li

(School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an Univ. of Arch. & Tech., Xi'an 710055, China)

**Abstract:** Phosphorus (P) is usually considered as one of the limiting factors of water eutrophication, and it has has a great influence on growth and photosynthesis of microalgae. During the experiment, *Chlorella vulgaris* was selected as the research object, the biomass growth, absorption and utilization of nitrogen and phosphorus and photosynthetic efficiency were measured at low phosphorus content. The results revealed that within the scope of  $\text{NO}_3\text{-N}$ : 1~8 mg/L and  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ : 0.2~1.0 mg/L phosphorus was the main limiting factor to influence the growth of *C. vulgaris*. The optimal supply of phosphorus content for *C. vulgaris* growth was  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Within the range of experimental phosphorus content, absorption of exogenous nitrogen (N) increased with the increment of initial phosphorus content. When the phosphorus content was determined, the average value of  $F_v/F_m$  increased with increment of the nitrogen content, the threshold of  $F_v/F_m$  for phosphorus stress of *C. vulgaris* was 0.18~0.24.  $F_v/F_m$  had a significant correlation with biomass, the absorption and utilization of nitrogen and phosphorus, using  $F_v/F_m$  can synthetically characterize algae growth status and study on the growth of microalgae under nutrient stress.

**Key words:** *Chlorella vulgaris*; nitrogen (N); phosphorus (P); phosphorus stress; maximum light energy conversion efficiency of PS II reaction center ( $F_v/F_m$ )

微藻常见于湖泊水体环境中, 氮和磷是其生长和繁殖的必需营养物质. 在多种自然水体中, 80.6%的氮元素是以硝态氮的形式存在的<sup>[1]</sup>, 磷酸盐磷也被认为是自然水体中植物生长最主要的限制性元素<sup>[2]</sup>. 藻类的光合作用是吸收光能通过光化学反应发生电荷分离, 将光能转化为电能; 同时分离后的电子与质子以电子传递的方式, 使电能转化为化学能, 生成 ATP 与 NADPH, 从而进行

生命活动. 磷元素一般以磷酸根的形式存在于植物体内, 在生成和消耗 ATP 的过程中起着能量传递的作用<sup>[3]</sup>, 能影响微藻对光能的转换和利用<sup>[4]</sup>, 进而影响生长速率和光合作用<sup>[5]</sup>.

过低的磷浓度会阻碍微藻的生长, 削弱其光合效率, 被吸收的过量光能会转换为热和荧光发射. 所以利用叶绿素荧光技术能通过测定反映光合活性的荧光参数, 在一定程度上反映微藻受胁

迫的程度<sup>[6,7]</sup>。国内外已有一些有关叶绿素荧光法研究营养盐胁迫对微藻光合作用影响的报道。Li等<sup>[8]</sup>发现光系统 PSII 是感应磷胁迫最灵敏的复合体,而 PSII 的最大光能转化效率( $F_v/F_m$ )常用于研究植物的胁迫反应,对环境变化的感应较为灵敏,使用频率最高<sup>[9]</sup>。微藻的  $F_v/F_m$  值一般稳定在 0.65 左右,不同藻类间有一定差异,但在胁迫条件下此参数通常呈下降趋势<sup>[10,11]</sup>。Beardall 等<sup>[5]</sup>研究发现磷缺乏导致二形栅藻在培养后期生长受到限制,光合电子传递能力降低,藻细胞光合作用受抑制。目前来说,国内采用调制叶绿荧光成像系统对于赤潮蓝藻与高等植物的相关研究较为丰富,但对淡水藻种的这一指标研究还比较少<sup>[6]</sup>。

地表水环境水体中蓝藻、绿藻为优势种类,且小球藻最为常见<sup>[12]</sup>。本研究以普通小球藻(*Chlorella vulgaris*)作为研究对象,具有生长快、繁殖迅速的特点,是富营养化常见藻种之一。本研究通过测定小球藻的常规生物量指标、对硝氮、正磷酸盐的利用情况以及叶绿素荧光参数的变化,分析了低磷浓度下小球藻生长及光合作用效率变化的相

关性,根据普通小球藻的光合活性快速判断小球藻的是否处于营养缺乏状态以及受胁迫情况。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验藻种的选择

研究对象选择普通小球藻(*Chlorella vulgaris*),编号:FACHB-24,购自中科院武汉生物研究所。

### 1.2 培养基配制

实验采用的氮和磷分别以  $\text{NaNO}_3$  和  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  为原料,参考《地表水环境质量标准》(GB3838-2002)V 类水质,同时参考易文利等<sup>[13]</sup>的对太湖中优势绿藻的模拟实验,得到藻类的最佳生长磷浓度为  $P=0.445\text{ mg/L}$ ,设置了表 1 所示的氮磷浓度。除氮和磷之外,其余营养元素均参考 BG-11 培养液的配方以及生长环境进行设定<sup>[14]</sup>。分别在 1000 mL 锥形瓶中加入配制的 500 mL 不同氮磷浓度梯度的培养基,将其于  $121\text{ }^\circ\text{C}$  灭菌 30 min,灭菌完成后置于无菌操作台中冷却至室温,保存待用。

表 1 不同实验组的初始氮磷浓度设定

Tab. 1 N and P concentration of different treatment groups in the experiment

P 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	N 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$				
	N1=1	N2=2	N3=3	N4=6	N5=8
$P1=0.2$	$N1:P1=5.0$	$N2:P1=10$	$N3:P1=15$	$N4:P1=30$	$N5:P1=40$
$P2=0.4$	$N1:P2=2.5$	$N2:P2=5.0$	$N3:P2=7.5$	$N4:P2=15$	$N5:P2=20$
$P3=0.5$	$N1:P3=2.0$	$N2:P3=4.0$	$N3:P3=6.0$	$N4:P3=12$	$N5:P3=16$
$P4=1$	$N1:P4=1.0$	$N2:P4=2.0$	$N3:P4=3.0$	$N4:P4=6.0$	$N5:P4=8.0$

### 1.3 藻种的培养

首先用 BG-11 培养基在恒温生化培养箱(MGC-250P,上海一恒,中国)中将小球藻培养至对数期,使藻密度达到  $2 \sim 3 \times 10^6\text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。然后对小球藻进行饥饿预处理:取适量藻液以  $4\ 500\text{ r/min}$  的转速于常温条件下,离心 20 min,去除上清液,用磷酸缓冲盐溶液将沉淀物洗出,重复 3 次。在无菌操作台上接入去除氮、磷的 BG-11 培养液,进行饥饿处理,共 4 天。最后将饥饿处理后的藻种接入不同氮磷梯度培养基中,初始接种密度是  $2 \times 10^5\text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,并放入  $25\text{ }^\circ\text{C}$  光照培养箱中,供给  $5\ 000\text{ lux}$  的光照强度进行培养,光照和黑暗时间分别设为  $12\text{ h}:12\text{ h}$ ,每天随机改变位置均匀照光,定时摇瓶三遍。

### 1.4 实验分析方法

#### 1.4.1 藻细胞密度(AD)的测定

采用细胞计数分析仪(Cellometer® auto T4,

Nexcelom, USA)、细胞计数板(Nexcelom Bioscience, Cellometer Auto T4 slide)进行藻细胞计数。用 SPSS 20.0.0 软件做数据的显著性分析。

#### 1.4.2 叶绿素 a 含量的测定

采用热乙醇提取小球藻的叶绿素 a,并用紫外可见吸收光谱法测量其含量<sup>[15]</sup>。

#### 1.4.3 氮磷的测定

培养基中硝酸盐的测定采用双波长检测法<sup>[16]</sup>,并采用孔雀绿-磷钼杂多酸分光光度法测定磷含量(GB11894-89)<sup>[17]</sup>。

#### 1.4.4 叶绿素荧光参数的测定

本次实验采用调制叶绿素荧光仪(MAXI Imaging PAM,德国,WALZ)测量小球藻的叶绿素荧光参数<sup>[18]</sup>,检测其光合作用变化。取 2 mL 微藻样品,在暗适应 15 分钟后测量光诱导荧光曲线。测定程序为:先以弱光照射测量初始荧光( $F_0$ ),然

后进行饱和脉冲光( $2\,800\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )处理,以一个脉冲光为单位激发,随后关闭,产生最大荧光值( $F_m$ ),之后打开可以引起藻光合作用的作用光( $75\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ),待荧光稳定后再进行饱和脉冲光照射,一次脉冲结束后产生光化光获得的最大荧光( $F_m'$ ).其他参数数值均是在选定模式下系统自动计算生成. $F_v/F_m$ 可以通过式(1)、(2)分别计算<sup>[7]</sup>:

$$\Phi_{\text{PSII}} = \text{Yield} = (F_m' - F)/F_m' = \Delta F/F_m' \quad (1)$$

$$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m \quad (2)$$

式中: $F_v$ 为可变荧光, $\Phi_{\text{PSII}}$ 和Yield均为作用光存在时PSII实际的光化学量子产量.

## 2 结果与讨论

### 2.1 低磷浓度对普通小球藻藻密度(AD)的影响

固定磷浓度 $P=0.2、0.4\,\text{mg/L}$ ,不同氮浓度条件下,实验组的AD值差异较小( $P>0.05$ ),而 $P=0.5、1\,\text{mg/L}$ 条件下,AD值差异显著( $P<0.05$ ).由此可知实验磷浓度条件下, $P\leq 0.4\,\text{mg/L}$ 为小球藻增长的限制因素.

不同营养条件对小球藻的AD值影响如图1所示.由图可知,磷浓度从0.2增至0.4 mg/L时,AD值均随之增大,最终AD值约从 $4.30\times 10^6\sim 5.20\times 10^6\,\text{cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ 增至 $4.20\times 10^6\sim 7.10\times 10^6\,\text{cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ .当 $P>0.4\,\text{mg/L}$ 时,各组最终AD值约为 $3.0\times 10^6\sim 7.4\times 10^6\,\text{cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,由此可知 $P<0.4\,\text{mg/L}$ 时,提高磷浓度能促进小球藻的生长; $P>0.4\,\text{mg/L}$ 时,提高磷浓度对小球藻增殖的促进效果不显著.所以在试验氮磷营养浓度下, $P=0.4\,\text{mg/L}$ 时最适宜小球藻生长.杨坤等<sup>[19]</sup>研究得出在0.47 mg/L磷浓度条件下,小球藻藻密度达到最大.这与本研究结论一致.同时研究结果表明: $P<0.4\,\text{mg/L}$ 时,氮浓度与AD值的相关性不显著,且较高浓度的氮供给对小球藻繁殖有抑制作用,可能是因为 $P<0.4\,\text{mg/L}$ 时,磷元素为主要限制因子,会阻碍小球藻增长;而当 $P>0.4\,\text{mg/L}$ 条件下,AD会随着氮浓度的增高而增大,导致不同氮浓度供应条件下的AD差异显著.

### 2.2 低磷浓度对培养基中营养盐吸收的影响

在不同初始氮磷浓度下,普通小球藻对N和P的吸收率见图2.根据图2(a)可知:在培养基中 $P<0.4\,\text{mg/L}$ 的条件下,外源磷浓度从0.2 mg/L增加到0.4 mg/L时,在 $N=1、2、3、6、8\,\text{mg/L}$ 情况下,小球藻对硝氮吸收率分别增加了21.5%、

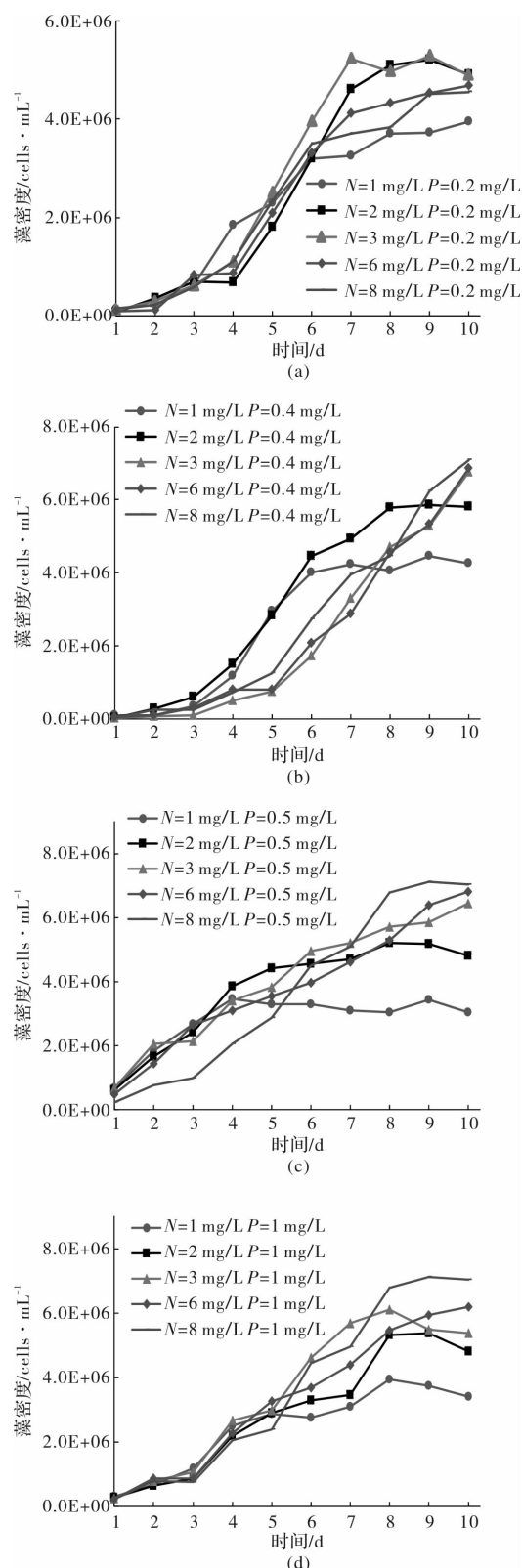


图1 不同营养条件下普通小球藻的生长状况

Fig. 1 The growth status of *C. vulgaris* with different nutrient concentration

14.2%、9.4%、5.2%和4.6%,表明低磷条件下,磷浓度的增高有利于硝氮被吸收,提高磷浓度有助于小球藻吸收硝氮,表明此时氮吸收率只与初始磷浓度有关;而当培养基中 $P>0.4\,\text{mg/L}$

时, 小球藻对硝态氮的吸收率同时受到  $N$ 、 $P$  供给浓度的综合影响, 且在  $N=2 \text{ mg/L}$  时, 氮的吸收率达到最大, 为  $95.4\%$ 。此时若继续提高供给氮浓度, 氮的吸收率会不升反降。同时, 当氮浓度较低时 ( $N \leq 3 \text{ mg/L}$ ), 固定氮供给浓度, 提高磷供给水平会促进氮的吸收率, 接近  $100\%$ 。磷被消耗完后, 氮的吸收速率会随之降低。

由图 2(b)可知: 初始供给磷浓度的不同致使各处理组达到  $100\%$  磷去除率的时间不同。当  $P=1 \text{ mg/L}$  时小球藻对磷的吸收利用集中在第 5~7 天, 比磷吸收利用集中在前 5 天的其余低浓度处理

组要晚一些。有研究表明, 聚球藻 (*Synechococcus sp.*) 在磷饥饿处理后的磷吸收速率比磷富足时快 100 倍<sup>[20]</sup>, 同本实验结果相近。  $P=0.2 \text{ mg/L}$  的处理组中, 氮浓度的增加会削弱小球藻吸收正磷酸盐的能力;  $P=0.4 \text{ mg/L}$  处理组中在  $N=2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时小球藻对磷的吸收效果最好, 继续提高氮浓度反而会降低磷的吸收率; 而  $P>0.4 \text{ mg/L}$  时, 氮浓度的增加促进小球藻吸收正磷酸盐。这一结果也进一步证明了在  $P<0.4 \text{ mg/L}$  时, 磷是主要限制小球藻的增长的营元素。

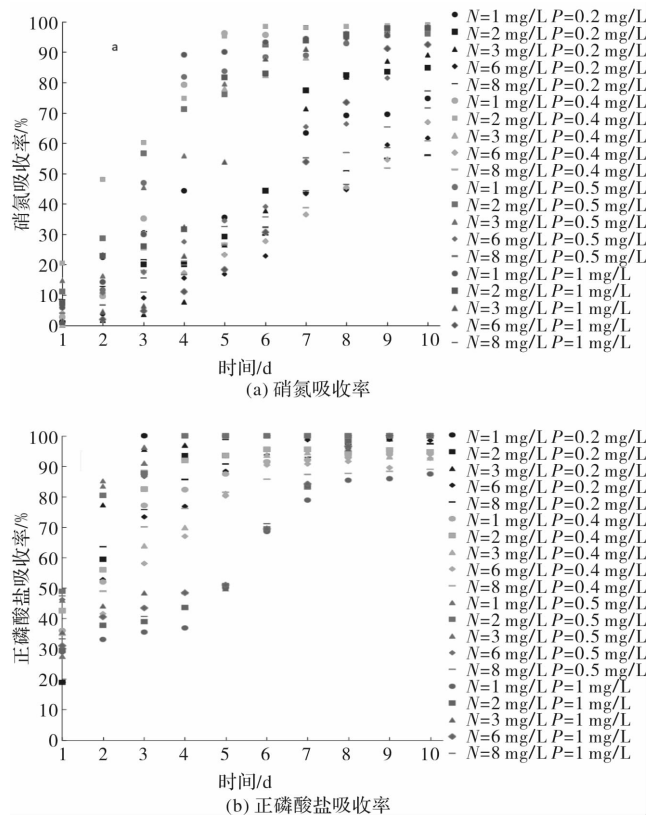


图 2 不同营养条件下普通小球藻每日吸收率

Fig. 2 Daily absorption rate of *C. Vulgaris* with different nutrient concentration

### 2.3 低磷浓度对叶绿素 a 含量的影响

不同氮、磷浓度对小球藻的叶绿素 a 含量影响如图 3 所示, 各实验组叶绿素浓度随时间基本呈现先增后降的趋势。四组不同磷浓度条件下小球藻的叶绿素浓度, 在对数生长末期分别降低了  $55.05\% \sim 72.17\%$ 、 $0 \sim 41.25\%$ 、 $28.13\% \sim 49.55\%$ 、 $38.66\% \sim 64.95\%$ 。其中  $P=0.2 \text{ mg/L}$  处理组在生长末期的叶绿素浓度最低, 降幅最大。从图 2(b)可以看出,  $P=0.2 \text{ mg/L}$  处理组在实验初期培养基中的磷就被完全吸收, 而由于没有外源营养供给, 需要小球藻利用内部存储的氮、磷供细胞生长<sup>[21]</sup>, 且氮是组成叶绿素的主要元素之

一, 因此会引起叶绿素 a 的变化。而当  $P=0.4$ 、 $0.5$  和  $1 \text{ mg/L}$  时, 氮供给充足时 ( $N \geq 6 \text{ mg/L}$ ), 磷会在对数末期被完全吸收, 该条件下叶绿素 a 增长较稳定; 而  $N < 6 \text{ mg/L}$  条件下, 叶绿素的合成会因营养供给不足而受阻, 同样地, 此时藻细胞会利用自身储存的叶绿素作为氮源进行生长, 从而致使叶绿素 a 浓度降低, 说明低磷条件下, 叶绿素 a 会随着氮浓度的增加而增加; 但  $P < 0.2 \text{ mg/L}$  时, 小球藻色素的合成会收到抑制。

### 2.4 低磷浓度对叶绿素荧光的影响

不同初始氮磷浓度对普通小球藻光合作用效率的影响如图 4, 各实验组叶绿素荧光值  $F_v/F_m$  均

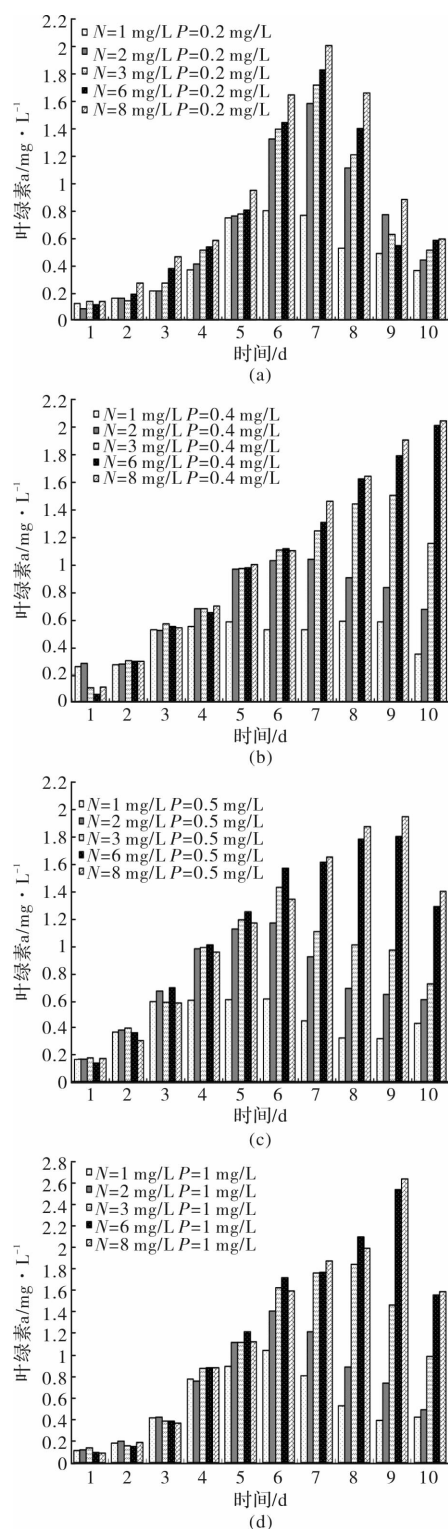
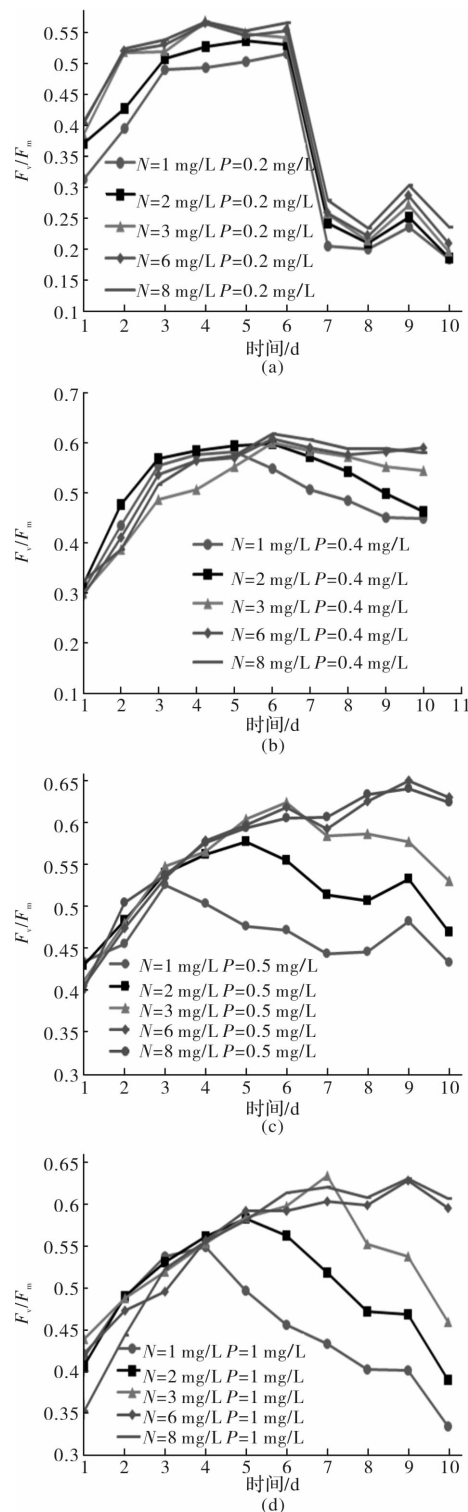


图 3 不同营养条件下普通小球藻叶绿素 a 的变化情况

Fig. 3 Chlorophyll-a trend of *C. vulgaris* with different nutrient concentration

随培养时间先增加后降低。其中,  $P=0.2 \text{ mg/L}$  处理组的  $F_v/F_m$  降幅最大, 并在培养第 6 天达到  $0.52 \sim 0.57$ , 随后开始在第 7 天迅速大幅度降低至  $0.21 \sim 0.28$ , 至实验结束后该值稳定在  $0.18 \sim 0.24$ , 较峰值降低了  $58\% \sim 63\%$ , 充分证明该实验组进入磷胁迫状态, 藻细胞的光合作用能力受

到影响<sup>[6]</sup>。另外, 如图 1(a)和图 3(a)所示,  $P=0.2 \text{ mg/L}$  实验组 AD 值和叶绿素 a 浓度从第 8 天分别开始停止增长和明显降低, 表明这一时期藻类的细胞分裂及色素合成均受到了抑制。根据上述结果,  $F_v/F_m$  对磷浓度变化的敏感度要高于 AD

图 4 不同营养条件下普通小球藻叶绿素荧光参数  $F_v/F_m$  的变化情况Fig. 4 Trend of chlorophyll fluorescence parameter  $F_v/F_m$  of *C. vulgaris* with different nutrient concentration

值以及叶绿素 *a*. 剩余实验组 ( $P = 0.4$ 、 $0.5$  和  $1 \text{ mg/L}$ ) 的  $F_v/F_m$  值随培养周期的变化均显示平缓下降, 说明该实验组培养基中外源磷被完全利用后导致了磷缺乏, 小球藻的生长因此受到了磷限制, 这与  $P = 0.2 \text{ mg/L}$  实验组发生的磷胁迫并不相同. 且这三个实验组中, 当  $N < 3 \text{ mg/L}$  时,  $F_v/F_m$  值均出现明显降低, 降幅为  $33\% \sim 54\%$ . 同时, 实验结果表明, 氮浓度越小,  $F_v/F_m$  出现下降的时间越早, 降幅越明显. 这是由于氮的缺乏影响了叶绿体中色素的合成, 进一步削弱了小球藻的光合作用能力, 主要表现为光合作用效率值  $F_v/F_m$  的下降, 以及电子传递速率的减缓<sup>[22]</sup>.  $F_v/F_m$  对藻类在胁迫条件下的变化更为敏感, 所以  $F_v/F_m$  适合作判断低(或缺)磷的光合作用指标.

### 3 结论

本实验培养营养条件下 ( $\text{NO}_3\text{-N}$ :  $1 \sim 8 \text{ mg/L}$ ;  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ :  $0.2 \sim 1.0 \text{ mg/L}$ ), 小球藻的生长以及藻密度变化主要受到磷浓度变化的影响, 并在  $P = 0.4 \text{ mg/L}$  时其生长状态最佳; 其最终生物量维持在  $3 \times 10^6 \sim 7 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ .  $P < 0.4 \text{ mg/L}$  的条件下, 磷浓度的增高有利于硝态氮被吸收, 氮浓度变化对于小球藻生长影响不显著. 而当  $P > 0.4 \text{ mg/L}$  时, 小球藻生长同时受到氮和磷浓度的影响, 外源氮和磷供给水平越高越利于小球藻对磷和氮的吸收. 此外, 在低磷环境中, 氮浓度增高可促进小球藻叶绿素 *a* 的积累, 但过低的磷浓度 ( $P = 0.2 \text{ mg/L}$ ) 会抑制叶绿素 *a* 的合成. 实验结果表明, 普通小球藻发生磷胁迫时的  $F_v/F_m$  阈值为  $0.18 \sim 0.24$ , 其余实验条件均为磷限制. 低磷浓度下,  $F_v/F_m$  与小球藻的 AD 值、营养盐变化及叶绿素 *a* 含量的相关性高, 且对营养条件的变化更为敏感, 因此  $F_v/F_m$  值用来研究营养盐对微藻的胁迫作用, 具有较高的可靠性.

### 参考文献 References

[1] 杨淼, 施宇震, 施永生, 等. 微藻去除水中低浓度硝态氮的研究[J]. 价值工程, 2017, 36(15): 196-200.  
YANG Miao, SHI Yuzhen, SHI Yongsheng, et al. Research on removing the low concentration nitrate in water by microalgae[J]. Value Engineering, 2017, 36(15): 196-200.

[2] 段宇, 田永强, 莫钰, 等. 厦门周边水库浮游植物碱性磷酸酶活性研究[J]. 环境科学与技术, 2011, 34(S2): 20-24.  
DUAN Yu, TIAN Yongqiang, MO Yu, et al. A pre-

liminary study of alkaline phosphatase activity of phytoplankton in freshwater lakes around Xiamen [J]. Environmental Science & Technology, 2011, 34(S2): 20-24.

[3] 潘晓华, 石庆华, 郭进耀, 等. 无机磷对植物叶片光合作用的影响及其机理的研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 1997, 3(3): 201-208.  
PAN Xiaohua, SHI Qinghua, GUO Jinyao, et al. Advance in the study of effects of inorganic phosphate on plant leaf photosynthesis and its mechanism[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 1997, 3(3): 201-208.

[4] PLESNICAR M, KASTORI R, PETROVIĆ N, et al. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence in sunflower (*Helianthus annuus* L.) leaves as affected by phosphorus nutrition[J]. Journal of Experimental Botany, 1994, 45(7): 919-924.

[5] BEARDALL J, BERMAN T, HERAUD P, et al. A comparison of methods for detection of phosphate limitation in microalgae[J]. Aquatic Science, 2001, 63(1): 107-121.

[6] 宋丽娜, 郑晓宇, 顾詠洁, 等. 磷浓度对海洋小球藻叶绿素荧光及生长的影响[J]. 环境污染与防治, 2010, 32(8): 20-24.  
SONG Lina, ZHENG Xiaoyu, GU Yongjie, et al. Effect of P concentrations on chlorophyll fluorescence and growth of *Chlorella* sp. [J]. Environmental Pollution & Control, 2010, 32(8): 20-24.

[7] 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J]. 植物学通报, 1999, 16(4): 444-448.  
ZHANG Shouren. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance [J]. Chinese Bulletin of Botany, 1999, 16(4): 444-448.

[8] LI L, YANG H, REN W, et al. Physiological and biochemical characterization of sheepgrass (*Leymus chinensis*) reveals insights into photosynthetic apparatus coping with low-phosphate stress conditions[J]. Journal of Plant Biology, 2016, 59(4): 336-346.

[9] 陈贻竹, 李晓萍, 夏丽, 等. 叶绿素荧光技术在植物环境胁迫研究中的应用[J]. 热带亚热带植物学报, 1995, 3(4): 79-86.  
CHEN Yizhu, LI Xiaoping, XIA Li, et al. The application of chlorophyll fluorescence technique in the study of responses of plants to environmental stresses [J]. Chinese Bulletin of Botany, 1995, 3(4): 79-86.

[10] CONSALVEY M, PERKINS R G, PATERSON D M, et al. Pam fluorescence: a beginners guide for benthic diatomists [J]. Diatom Research, 2005, 20(1): 1-22.

- [11] KOLBER Z, ZEHR J, FALKOWSKI P G. Effects of growth irradiance and nitrogen limitation on photosynthesis energy conversion in photosystem II[J]. *Plant Physiol*, 1988, 88(3): 72-79.
- [12] JOHNSON P T J, CHASE J M. Parasites in the food web: linking amphibian malformations and aquatic eutrophication [J]. *Ecology Letters*, 2004, 7 ( 7 ): 521-526.
- [13] 易文利, 金相灿, 储昭升, 等. 不同质量浓度的磷对铜绿微囊藻生长及细胞内磷的影响[J]. *环境科学研究*, 2004(S1): 58-61.  
YI Wenli, JIN Xiangcan, CHU Zhaosheng, et al. Effect of different P mass concentrations on growth and P-in-cell of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2004(S1): 58-61.
- [14] 赵学敏, 毕永红, 胡征宇. 不同培养基对发菜细胞生长和光合活性的影响[J]. *武汉植物学研究*, 2005(4): 332-336.  
ZHAO Xuemin, BI Yonghong, HU Zhengyu, et al. Effects of different medium on the growth and photosynthetic activity of *Nostoc flag ellif orme* [J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2005(4): 332-336.
- [15] LICHTENTHALER H K, BUSCHMANN C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by uv-vis spectroscopy[M]// *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc. 2001: 1230-1230.
- [16] 包贤艳. 紫外分光光度法测定饮用水中硝酸盐氮[J]. *中国卫生检验杂志*, 2011, 21(5): 1125-1126.  
BAO Xianyan, et al. Determination of nitrate nitrogen in drinking water by ultraviolet spectrophotometry [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2011, 21(5): 1125-1126.
- [17] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 248-250.  
The State Environmental Protection Administration. *Water and wastewater monitoring and analysis method* [M]. 4th ed. Beijing: China Environmental Science Press, 2002: 248-250.
- [18] 段晓琼, 唐秋菊, 褚胜利, 等. 利用 Imaging-PAM 研究莱茵衣藻对环境变化的响应[J]. *植物生理学报*, 2010, 46(3): 263-267.  
DUAN Xiaoqiong, TANG Qiuju, CHU Shengli, et al. Research of physiological responses of *Chlamydomonas reinhardtii* to environmental changes utilizing Imaging-PAM[J]. *Plant Physiology Communications*, 2010, 46(3): 263-267.
- [19] 杨坤, 卢文轩, 李静. 小球藻磷吸收的初步研究[J]. *安全与环境学报*, 2016, 16(5): 216-220.  
YANG Kun, LU Wenxuan, LI Jing, et al. Preliminary study on the phosphorus absorption of *Chlorella vulgaris* [J]. *Journal of Safety and Environment*, 2016, 16(5): 216-220.
- [20] RITCHIE R J, DONELLE A T, LARKUM A W D. Phosphate limited cultures of the *Cyanobacterium Synechococcus* are capable of very rapid, opportunistic uptake of phosphate[J]. *New Phytologist*, 2001, 152 (2): 189-201.
- [21] 张亚丽, 李涵, 许秋瑾, 等. 不同形态氮对微囊藻叶绿素 a 合成及产毒的影响[J]. *湖泊科学*, 2011, 23 (6): 881-887.  
ZHANG Yali, LI Han, XU Qiujin, et al. Effects of different forms of nitrogen on chlorophyll-a and microcystin production of *Microcystis sp* [J]. *Lake Sci.*, 2011, 23(6): 881-887.
- [22] 金月梅. 氮磷限制对 8 株微藻叶绿素荧光特性及生长的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008.  
JIN Yuemei. Effects of nitrogen and phosphorus limitation on the chlorophyll fluorescence and growth of eight microalgae strains[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2008.

(编辑 桂智刚)