

藻类聚磷的特殊作用^①

刘志礼 刘雪娴 叶军

(南京大学生物系)

提要 本文介绍实验室中进行的螺旋藻聚磷作用试验,用微机数据采集系统作精确记录,其结果表明藻类在对数生长期通过两种途径进行聚磷作用,其一是改变环境的pH值、离子平衡系统和氧化还原电位促进磷酸盐形成并沉淀;其二是藻细胞的吸附和吸收富集磷,这些为生物成矿学说提供了有价值的证据。

关键词 螺旋藻 磷酸盐 磷块岩 生物成矿

第一作者简介 刘志礼 男 56岁 教授 现代和古代藻类研究

前 言

近20年来世界各国地质学家都非常重视磷块岩成矿机理的研究,特别是近十年来愈来愈注意生物在聚磷中的作用,例如Sheldon(1984)、叶连俊等(1984)和蒋志文(1984)都提出具壳动物在磷灰岩形成中有聚磷的作用;朱世兴等(1984)提出藻类在磷块岩形成中有重要作用,他报道了贵州开阳及其邻近地区晚震旦系陡山沱期(6.5-7亿年)的磷块岩沉积物中不仅含有各种磷质叠层石而且还保存着很丰富的蓝藻化石,某些岩类显出隐藻磷块岩,包括磷质叠层古、碎屑磷质隐结构等,占该地区整个保存的磷酸盐的90%,他认为该地区的磷灰岩主要是由于藻类的生长和代谢活动产生的磷酸盐陷入建造并参与所形成的一种特殊的有机沉积矿。

本实验是在相信藻类在磷块岩形成中有特殊作用的前提下设计的。

一、材料和方法

实验材料为耐高盐度的钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)。培养液以Zarrouk配方为主,再加入 K_2HPO_4 配制成含不同的 PO_4^{3-} 浓度的培养液。

取5个500ml锥形瓶分别编为0,1,2,3,4号,分别加 K_2HPO_4 0g,5g,12g,18g,25g后再加500ml Zarrouk培养液,接入藻种,置于光照培养箱中,连续光照培养,温度30-35℃,每天对5瓶藻液进行下列测定:

1.藻生长状况

用721型分光光度计在560nm波长处测藻液吸光值(1cm比色皿),吸光值大小反映单位体积藻细胞的生物量。

^①本文为自然科学基金资助项目

2.pH值的测定

用 231 型 pH 玻璃电极和饱和甘汞电极, 通过 86-4 型 A/D 转换器, 计算机接口连 PC1500A--CE150、86-4 型 A/D 转换器计算机数据采集系统测定. 测定时, 先调用事先输入的测 pH 值的应用程序, 再输入标准 pH 溶液数值, $pH_1=4.003$, $pH_2=6.86$. 接上 231 玻璃电极和 802 甘汞电极, 然后测各样品的 pH 值.

3.氧化还原电位 (Eh) 的测定

用铂电极和作为参比的甘汞电极, 将电极插入被测溶液, 5 分钟后, 记录 A/D 转换器显示窗上的电位数值.

4. PO_4^{3-} 浓度的测定

用磷钼蓝法显色, 以上述计算机数据采集系统和 721 型分光光度计联用, 在 720nm 波长处, 用流动比色法测定培养液中的含磷量.

测定时先调出事先输入的应用程序, 再输入磷的标准溶液: 以 KH_2PO_4 配制成为 $10\mu g$ 的磷标准液, 分别取 0, 1, 2, 3, 4ml 置于 5 个比色管中, 用蒸馏水稀释至 25ml. 顺序加入 $H_2SO_4-(NH_4)_2MoO_4$ 混合液 5ml, 3% 抗坏血酸 2.5ml, 在沸水中加热发色 5min, 取出凉水冷却, 用水稀释至刻度, 用流动比色法测定其消光值, 计算机打印出标准曲线.

在测各样品时, 先取少量藻液, 经过滤, 将滤液稀释至 100 倍后再比色测定.

5.藻细胞吸收磷的测定

在藻培养经一个对数生长期后, 将锥形瓶藻液静置一段时间, 待藻体上浮后, 将上层藻液离心烘干得到干藻粉.

测定前先将干藻粉按常规处理, 准确称取少量藻粉置小烧杯中, 加 5ml H_2SO_4 (浓), 滴入数滴 $HClO_4$, 盖上表面玻璃, 在电炉上加热分解, 至溶液转白色, 冷却至室温, 取 1ml 于 50ml 比色管中, 加蒸馏水稀释, 滴一滴酚酞指示剂, 用 10%NaOH 中和至溶液变微红色, 再滴入 5M 的 H_2SO_4 至红色褪去, 过量 1 滴即止.

对数生长期后, 将瓶底产生的白色沉淀, 用 X 射线衍射仪进行分析.

二、实验结果

1. 在对数生长期所测 0-4 号样品中藻液吸光值如表 1 所示:

表 1 0-4 号样品藻液的吸光值 (560nm)

Table 1 The light absorbent values of No.1-4 algal samples

日期 样号 吸光值	5.28	5.29	5.30	5.31	6.1	6.2
0	0.090	0.160	0.250	0.375	0.512	0.700
1	0.100	0.171	0.295	0.375	0.470	0.630
2	0.105	0.195	0.250	0.291	0.300	0.415
3	0.102	0.195	0.246	0.284	0.300	0.360
4	0.115	0.157	0.240	0.287	0.330	0.390

由表 1 所列数据绘出各号培养液中螺旋藻的生长曲线, 如图 1 所示, 螺旋藻的生长为直线上升.

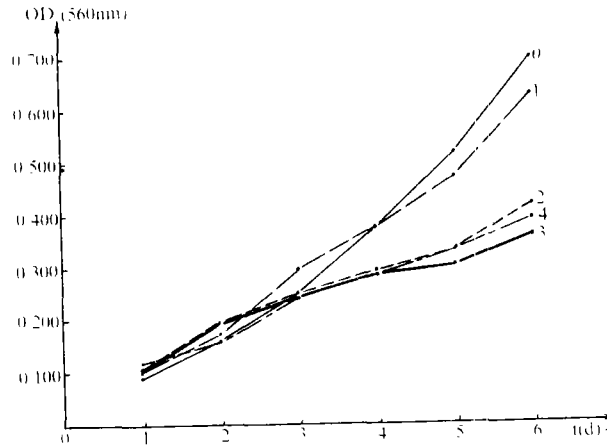


图 1 对数生长期 0-4 号培养液中螺旋藻生长曲线

Fig. 1 Diagram of growth curves of *Spirulina platensis* during the logarithmic growth stage

2. 在对数生长期所测各号培养液每天的 pH 值如表 2 所示. pH 值的上升范围为 0.338-0.468.

表 2 对数生长期 0-4 号样品培养液的 pH 值

Table 2 Change of pH value in algal cultural liquids

样号	日期	5.28	5.29	5.30	5.31	6.1	6.2
	温度 (°C)	22	22	24	23	24	25
	P H	9.037	9.112	9.228	9.341	9.509	9.505
0		9.037	9.112	9.228	9.341	9.509	9.505
1		9.023	9.090	9.214	9.324	9.48	9.498
2		9.030	9.075	9.197	9.279	9.414	9.399
3		9.027	9.057	9.162	9.291	9.406	9.365
4		9.020	9.057	9.182	9.300	9.442	9.423

E_0 为测得的 Eh (V), E_1 为一定温度下甘汞电极的 Eh (V). 其数值如表 3B 所示. 从表 3A 得知上述各瓶藻液中的 Eh, 随藻生长而明显下降. 下降幅度为 0.0285-0.0532V.

4. 在对数生长期所测 0-4 号藻液中磷的含量如表 4 所示.

各号样藻液中磷的含量随藻生长均明显下降.

5. 经对数生长期后在培养螺旋藻的锥形瓶底部产生白色沉淀物. 这些沉淀物经 P/MAX 转靶 X 衍射仪测定为钙镁磷酸盐 $[Ca_3Mg_3 (PO_4)_4]$, 和碳酸钠钙 $[Na_2Ca (CO_3)_2]$. 其 X 衍射仪测定显示的图谱如图 2.

表 3A 对数生长期 0-4 号藻液中氧化还原电位 (Eh)

Table 3A Change of Eh value in NO.0-4 samples

样号	日期 温度 (°C)	5.28	5.29	5.30	5.31	6.1	6.2
		Eh	22	22	24	23	24
0	E ₀	0.1869	0.1717	0.1604	0.1436	0.1389	0.1357
	F	0.4327	0.4175	0.4049	0.3887	0.3834	0.3795
1	E ₀	0.1846	0.1739	0.1633	0.1587	0.1544	0.1492
	F	0.4304	0.4197	0.4078	0.4034	0.3989	0.3930
2	E ₀	0.1890	0.1774	0.1670	0.1590	0.1569	0.1526
	F	0.4348	0.4232	0.4115	0.4041	0.4014	0.3964
3	E ₀	0.1858	0.1745	0.1674	0.1580	0.1588	0.1576
	F	0.4316	0.4203	0.4119	0.4031	0.3963	0.4014
4	E ₀	0.1819	0.1744	0.1681	0.1599	0.1549	0.1554
	F	0.4277	0.4202	0.4126	0.4050	0.3994	0.3992

表 3B 在不同温度下甘汞电极的 Eh

Table 3B Eh value of calomel electrode under different temperature

温度 (°C)	22	23	24	25
Eh	0.2458	0.2451	0.2445	0.2438

表 4 对数生长期 0-4 号藻液中磷的含量

Table 4 The change of PO₄³⁻ in cultural liquids during logarithmic stage

样号	日期 P	5.28	5.29	5.30	5.31	6.1	6.2	(PO ₄ ³⁻) 浓度
		P ₁ (ppm)	0.02921	0.02832	0.02101	0.01531	0.00727	
0	P ₂ (g/L)	0.447	0.434	0.322	0.235	0.111	0.035	(g/L)
	P ₁	0.2762	0.2713	0.2544	0.2444	0.2393	0.2326	0.668
1	P ₂	4.232	4.157	3.898	3.745	3.667	3.564	
	2	P ₁	0.5934	0.6027	0.5794	0.5682	0.576	0.5623
P ₂		9.092	9.235	8.878	8.706	8.826	8.614	
3	P ₁	0.8597	0.8588	0.8423	0.812	0.8329	0.8204	0.60
	P ₂	13.17	13.16	12.91	12.75	12.76	12.57	
4	P ₁	1.398	1.406	1.392	1.378	1.369	1.369	0.44
	P ₂	21.42	21.54	21.33	21.11	20.98	20.98	

注: P₁ 为测得磷含量; P₂ 为实际 (PO₄³⁻) 浓度。

6. 0-4 号样藻粉含磷量如表 5 所示, 藻粉中含磷量百分比, 随培养液中所加 K₂HPO₄ 量的增加而上升。

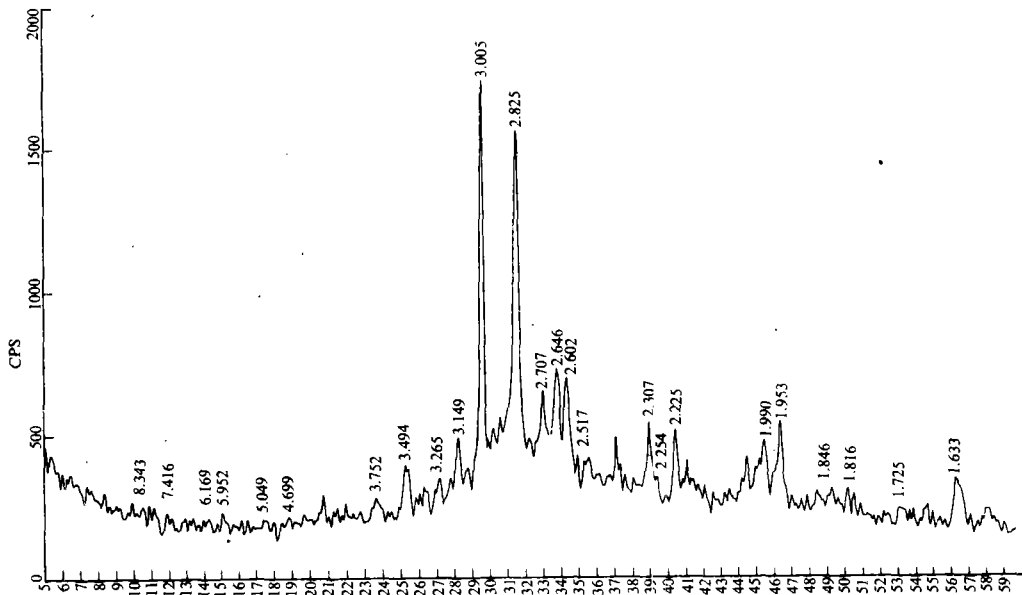


图 2 白色沉淀 X 衍射图

Fig. 2 The diagram of P / MAX rotating anode X-ray diffractometer of white deposits

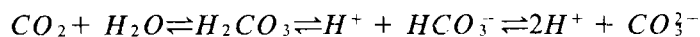
表 5 0-4 号样藻粉中含磷量及含磷百分比

Table 5 The content of phosphorus in No.1-4 algal powder

样号	藻粉重量 (g)	含磷量 (mg)	含磷量 (%)
0	0.029	0.2264	0.78
1	0.030	1.6435	5.5
2	0.035	2.4625	7.0
3	0.039	3.2005	8.2
4	0.042	3.8255	9.1

三、讨 论

1. 实验结果表明, 藻类生长能提高培养液的 pH 值, 并使氧化还原电位 (Eh) 下降. 由于本实验培养液的 pH 值起点较高, 故所上升的幅度较小 (0.338—0.468), Eh 下降范围在 285—532mV 之间, 以致培养液变成弱还原状态. 这对磷酸盐沉积物的形成是有利的, 从而促进了磷酸盐等盐类的沉积作用. 其主要原理是:



当培养液中 CO_2 被藻类光合作用消耗时, 该平衡式向左移动, 结果使 H^+ 浓度下降而 pH 值上升. Eh 是培养液中各种离子波动的总反映, 以两种方式和 pH 密切相关.

(1) H^+ 直接参与氧化还原反应.

(2) 氢离子通过影响氧化剂、还原剂的离解状态使原先的离子平衡系统发生变化, 最终影响 Eh.

2 从表 4、表 5 可以看出 1-4 号样磷酸盐的富集量是不同的, 4 号样高达占藻干重的 9.1%, 这说明藻体对磷酸盐的富集量和环境中的 PO_4^{3-} 浓度成正相关.

3. 关于磷酸盐在藻细胞中的存在形式, 可能如 Thilo (1959) 所指出, 主要为三磷酸盐、四磷酸盐和多磷酸盐, 其中又以多磷酸盐为最主要, 每个多磷酸盐的分子中, 磷原子数可以多达 10 个以上. Meyerhof 等 (1953)、Yoshid (1955) 都曾证实多磷酸盐的 P-O-P 键和 ATP 一样为贮能场所.

综上所述, 笔者认为藻类在磷矿形成中或许是最重要的生物因素, 这是由于它能够通过生理过程改变微环境, 改变水环境中氧化还原电位, 使可溶状态的磷元素形成种种盐类沉积物. 藻类还可以通过直接吸收利用和吸附作用形成细胞内磷酸盐. 这些是其它生物所不能比拟的. 特别磷幕被认为发生在 5 亿 4 千万年前; 6 亿 5 千万年前; 7-8 亿年前; 12-16 亿年前. 以至 18-22 亿年 (Cool etc., 1979; Cook and Shergold, 1980) 这些磷幕的形成显然是不能都用具壳动物的作用来解释的, 因为具壳动物的起源被认为还不到 7 亿年. 因此, 在太古代的磷块岩生物成矿中只能是在 30 亿年前就发生的藻类在起作用. 藻类是海洋动物的饵料, 依据现代对具壳动物实验研究的结果表明动物介壳内的磷是次生的, 来源于藻类 (金正宽, 1988-1989 研究, 待发表).

收稿日期: 1990 年 4 月 30 日

参 考 文 献

1. Cool P.J. and Meehinny M.W. 1979, Econ. Geol. V.74, p.315-330.
2. Cook P.J. and Shergold J.H., 1980, Proterozoic and Cambrian phosphorites of Asia and Australia. East-West conference, Honolulu, Hawaii
3. Jiang Zhiwen, 1984, Symposium of 5th international field workshop and seminar of phosphorite V.1, p.203-204
4. Meyerhof O. et al, 1953, Biochim. et Biophys. Acta V. 12, p.121-127.
5. Sheldon R.P., 1984, Symposium of 5th International Field Workshop and Seminar on Phosphorite V.1, p.244-252
6. Thilo I., 1959, Naturwissenschaften N. 46, p.367-373.
7. Ye Lianjun, Sun Shu, Chen Qiying, 1984, Symposium of 5th International Field Workshop and Seminar on Phosphorite V.2, p.1-4.
8. Yoshid A. 1955, J. Biochem. (Tokyo) N. 42, p.165-168.
9. Zhu Shixing et al 1984, Symposium of 5th International Field Workshop and Seminar of Phosphorite, V.1, p.153-158.

Algal Special Action in Accumulation of Phosphorus

Liu Zhili Liu Xuexian Ye Jun

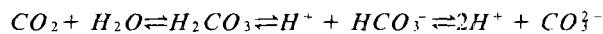
(Department of Biology, Nanjing University)

Abstract

This paper introduced a simulated test of phosphoric accumulation by algal culture in the laboratory. The results show that there are two ways to accumulate phosphate. The first, algae promote the formation and disposition of phosphate by change of the pH; the balance system of ions; and the oxidation-reduction potential (Eh) in environment during the logarithmic growth phase. The second, cells get phosphorus by cellular absorption and adsorption.

These provided a valuable evidence for the theory of biological mineralization.

The main principle of environmental change are as follows:



When the CO_2 in cultural liquid consumed by algal photosynthesis, the balancing equation moves towards the left, that H^+ concentration drops and pH rises.

Eh is general reflection of varied ions-fluctuation, it is closely related with pH value in two ways:

1) H^+ directly participats in oxidation-reduction reaction.

2) H^+ changes the balancing system of original ions by dissociation of reducing agent and oxidizing agent, influence the value of Eh finally.

The difference of algal phosphoric accumulation can be seen from Table 4 and Table 5. The accumulation phosphates of algal cells in No.4 are up to 9.1% of its dry weight. These data show that phosphoric weight of algal bodies are related to PO_4^{3-} concentration in its habitat and grown days during logarithmic growth stage.