

研究简报

东湖间隙水自由碱性磷酸酶活性的季节性与组成的非均一性

周易勇 李建秋 宋春雷 曹秀云

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

SEASONALITY IN ACTIVITY AND HETEROGENEITY IN COMPOSITION OF FREE ALKALINE PHOSPHATASE IN INTERSTITIAL WATER OF LAKE DONGHU

ZHOU Yr yong, LI Jiar qiu, SONG Chur lei and CAO Xiur yun

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

关键词: 自由碱性磷酸酶; 间隙水; 季节性; 分离方法

Key words: Free alkaline phosphatase; Interstitial water; Seasonality; Separating methods

中图分类号: X17 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2003)01-0100-03

磷常为湖泊初级生产力的第一限制性营养元素。就磷营养而言, 沉积物间隙水因富含内在负荷与动态补给等诸方面的重要意义而备受关注^[1]。磷酸酶在湖泊磷循环过程中具有关键作用。在威尼斯泻湖间隙水中, 溶解反应性磷浓度与碱性磷酸酶活性(APA)之间表现出双曲线型的负相关关系^[2], 在东湖间隙水中, APA表现出明显的动力学特征^[3, 4], 而在以色列 Kinneret 湖, 大部分沉积物 APA 与较大的颗粒相联系而未表现在间隙水中^[5]。持续两年的分析结果表明, 软泥潮滩中蛋白水解酶活性亦多发生在较大颗粒而鲜见于间隙水相^[6]。因此, 对与固相颗粒基本分离的间隙水中的自由 APA 的研究不仅具有磷循环研究的重要生态学意义, 亦可为间隙水分离方法的选用及其结果分析提供参考依据。本文讨论了不同分离方法对武汉东湖间隙水自由 APA 的影响及其季节变化趋势。

1 材料与方法

1.1 样品采集与制备 1992 年 1 月至 12 月在东湖 II、III 站(图 1)采集上覆水(距沉积物约 0.2m)并用彼得森采泥器取表层沉积物, 借离心法与挤压法得间隙水。用微孔滤膜(0.45 或 0.22 μ m)过滤水样。用重蒸水配制纯碱性磷酸酶(Sigma)试剂, 酶的浓度为 0.03mg/L。

1.2 APA 测定 以对一硝基苯磷酸二钠盐(pNPP)为底物(最终浓度为 0.3mmol), 分光光度法测定过滤水样中的

APA^[7]。另于 1996 年 9 月在 I 站(图 1)沿岸带采样, 探讨不同分离方法对间隙水自由 APA 动力学参数的影响, 在 0.01 至 1.8mmol 的范围内取 8 种不同浓度的 pNPP, 按上述方法测定过滤间隙水中的 APA, 据 Michaelis-Menten 方程的 Lineweaver-Burk 转换式测算间隙水中酶的最大反应速度(V_{max})和米氏常数(K_m)^[8], 每一样品测定重复三次。

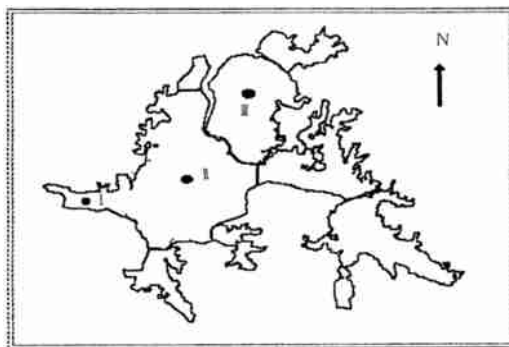


图 1 东湖采样点分布图

Fig. 1 The map of the Lake Donghu, showing the location of sampling stations

2 结果与讨论

2.1 自由 APA 的季节变化

东湖间隙水中的自由碱性磷酸酶在数值上与上覆水大体有相当的活性, 且于 6 月在 III 站愈显突出(图 2), 故间隙水仍不失为表现胞外酶(尤其是自由胞外酶)活性的重要生态

收稿日期: 2002-05-28; 修订日期: 2002-06-25

基金项目: 国家自然科学基金(20177033, 39670149, 39170165); 中国科学院东湖湖泊生态系统实验站基金项目

作者简介: 周易勇, (1956—), 男, 湖南长沙人; 研究员(理学博士); 研究方向: 水环境酶学

单元。威尼斯泻湖间隙水 APA 比水体中的相应值高出一个数量级,这可能是由富营养水体沉积物表层高密度微生物的产生和分泌所致^[2]。上覆水中的自由碱性磷酸酶于 5 月在 II 站出现峰值(图 2)。这种来自底层(包括间隙水与上覆水)的高自由 APA 可能有助于东湖表层浮游植物的春季繁盛^[9]。

2.2 不同分离方法对间隙水自由磷酸酶动力学参数的影响

研究结果表明, 得自不同分离方法的间隙水自由 APA 的动力学参数明显不同($P < 0.01$)。值得注意的是, 通过更小微孔滤膜($< 0.22\mu\text{m}$) 过滤之后, 两者虽仍具显著差异($P < 0.05$), 但在数值上已十分接近(表 1), 由此可见, 挤压样品中的微细颗粒($0.22\text{--}0.45\mu\text{m}$) 是造成上述差异的主要因素。

这种因素似乎不能通过离心得以消除, 因为得自挤压法的过滤($< 0.45\mu\text{m}$) 间隙水即使再经离心处理, 其中的自由 APA 并未在动力学上发生显著变化(表 2)。河口沉积物的糖酶多发生于大颗粒, 而氧化酶则与最小颗粒相联系^[10]。Alber 将河口悬浮颗粒分为“真悬浮的”(沉积速率小于 0.006cm/s) 与“可沉降的”(沉积速率大于 0.006cm/s) 两部分, β -1, 4 葡萄糖苷酶与 β 木糖苷酶均依附于前者^[11]。本文结果暗示, 更加微细的颗粒亦可能承载胞外酶并对其性质产生影响。此外, 经过离心的纯 APA 试剂并未表现出动力学特征的显著变化(表 2), 因此, 离心法对间隙水自由 APA 的影响可能源于原初阶段, 即某些微细颗粒在离心时屏蔽于沉积物而未进入水相。

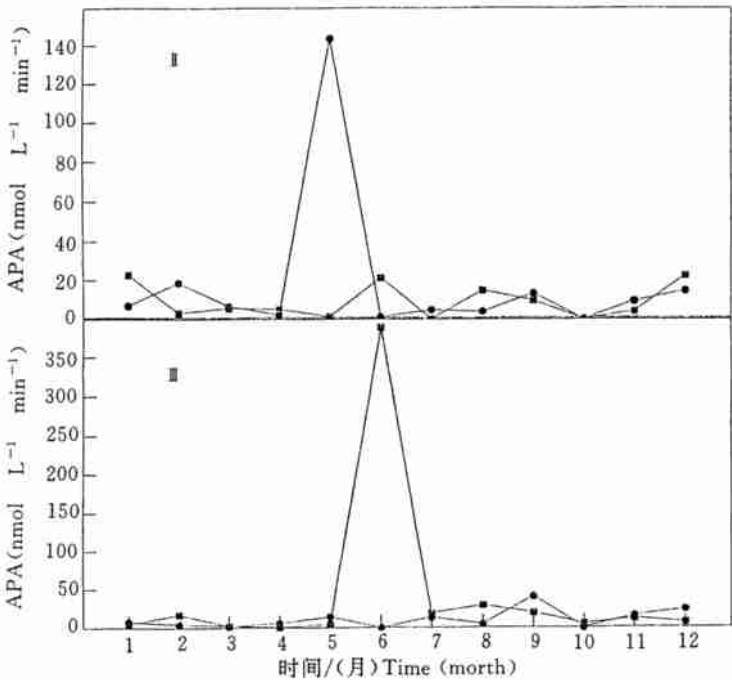


图 2 东湖工作站 II, III 间隙水与上覆水中自由 APA 的季节变化
Fig.2 Seasonal variations in free APA in intestial and overlying water at different sampling stations (II, III) in The Lake Donghu
●上覆水; ■间隙水

表 1 不同分离方法对东湖间隙水自由 APA 动力学参数的影响

Tab. 1 Effects of separating methods on kinetic parameters of free APA in interstitial water of the Lake Donghu

样品	$V_{\max}(\text{nmol L}^{-1}\text{min}^{-1})$		$K_m(\mu\text{mol L}^{-1})$	
	离心	挤压	离心	挤压
间隙水 APA($< 0.45\mu\text{m}$)	43.35 ± 0.110	72.77 ± 6.692	3.54 ± 0.692	159.13 ± 27.03
间隙水 APA($< 0.22\mu\text{m}$)	52.58 ± 1.68	58.27 ± 1.88	6.81 ± 1.13	13.49 ± 1.69

表 2 离心处理对自由 APA 动力学参数的影响

Tab. 2 Effects of centrifugation on kinetic parameters of free APA

样品	$V_{\max}(\text{nmol L}^{-1}\text{min}^{-1})$		$K_m(\mu\text{mol L}^{-1})$	
	离心	对照	离心	对照
APA 试剂(Sigma)	19.29 ± 2.04	19.16 ± 1.98	$25.81\pm0.66^*$	30.44 ± 4.32
得自挤压法的过滤间隙水 APA	42.13 ± 0.27	46.01 ± 3.90	21.75 ± 2.49	20.49 ± 1.08

* 仅二次重复测试

2.3 结论

间隙水自由 APA 的活跃性与季节波动性似可说明其不容忽视的生态学意义。通常意义上的自由 APA 并非严格地处于均一溶解状态,过滤间隙水(< 0.45μm)可能存在某些表现或调节 APA 动力学特征的微细颗粒,其数量多少可能取决于间隙水的分离方法的不同。

参考文献:

[1] Reddy K R, Kadlec RH, Flaig E et al. Phosphorus retention in streams and waters: A review [J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 1999, **29**(1): 83—146

[2] Eckert W, Nishri A, Parparova R. Factors regulating the flux of phosphate at the sedimentwater interface of a subtropical calcareous lake: A simulation study with intact sediment cores [J]. *Water, Air, Soil Pollut*, 1997, **99**(1—4):401—409

[3] Zhou Yiyong, Li Jianqiu, Zhang Min. Temporal and spatial variations in kinetics of alkaline phosphatase in sediments of a shallow Chinese eutrophic lake (Lake Donghu) [J]. *Water research*, 2002, **36**(8): 2084—2090

[4] Zhou Yiyong, Li Jianqiu, Chen Xudong et. Activity, kinetics and spatial variability of dissolved alkaline phosphatase in Lake Donghu [J]. *Chin. J. Environ. Sci.*, 1997, **18**(5): 37—40. [周易勇,

李建秋,陈旭东,等. 东湖溶解态磷酸酶的活性、动力学特征及其空间分布. *环境科学*, 1997, **18**(5): 37—40]

[5] Hadas O, Pinkas R. Arylsulfatase and alkaline phosphatase (APase) activity in sediments of Lake Kinneret, Israel [J]. *Water, Air, Soil Pollut*, 1997, **99**(1—4): 671—679

[6] Mayer L M. Extracellular proteolytic enzyme activity in sediments of an intertidal mudflat [J]. *Limnol Oceanogr*, 1989, **34**(6): 973—981

[7] Berman T. Alkaline phosphatases and phosphorus availability in Lake Kinneret [J]. *Limnol Oceanogr*, 1970, **15**: 663—674

[8] Zhou Yiyong, Dodds W. K. Kinetics of size fractionated and dissolved alkaline phosphatase in a farm pond [J]. *Arch. Hydrobiol*, 1995, **134**: 93—102

[9] Zhou Yiyong, Zhou Xinyu. Seasonal variation in kinetic parameters of alkaline phosphatase activity in a shallow Chinese freshwater lake (Lake Donghu) [J]. *Water research*, 1997, **31**: 1232—1235

[10] Simsabaugh R L, Findlay S. Microbial production, enzyme activity, and carbon turnover in surface sediment of the Hudson River Estuary [J]. *Microb Ecol*, 1995, **30**: 127—141

[11] Alber M. Setttable and Non-settable Suspended Sediments in the Ogeechee River Estuary, Georgia, U. S. A. [J]. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 2000, **50**(6): 805—816

《水生生物学报》编辑委员会
ACTA HYDROBIOLOGICA SINICA EDITORIAL BOARD

主 编 Chief Editor 桂建芳 GUI Jian Fang

副主编 Associate Editors 解绍启 XIE Shou Qi

委员 Members (以姓氏拼音为序)

蔡庆华 CAI Qing-Hua	曹文宣 CAO Wen Xuan	常剑波 CHANG Jian Bo
陈家宽 CHEN Jia Kuan	陈宜瑜 CHEN Yi Yu	陈毅峰 CHEN Yi Feng
高坤山 GAO Kun Shan	何舜平 HE Shun Ping	洪云汉 HONG Yun Han
胡征宇 HU Zheng-Yu	李文鑫 LI Wen Xin	李钟杰 LI Zhong Jie
林浩然 LIN Hao Ran	刘建康 LIU Jian Kang	刘永定 LIU Yong-Ding
麦康森 MAI Kang Sen	聂 品 NIE Pin	曲久辉 QU Jiu Hui
沈韞芬 SHEN Yun Fen	宋立荣 SONG Li Rong	唐启升 TANG Qi-Sheng
王 丁 WANG Ding	吴灶和 WU Zao-He	吴振斌 WU Zhen Bin
相建海 XIANG Jian Hai	肖 伟 XIAO Wei	谢 平 XIE Ping
谢小军 XIE Xiao Jun	熊邦喜 XIONG Bang Xi	熊思岳 XIONG Si Yue
徐旭东 XU Xu Dong	杨先乐 YANG Xian-Le	于 丹 YU Dan
余其兴 YU Qi Xing	游 力 YOU Li	张奇亚 ZHANG Qi-Ya
朱作言 ZHU Zu Yan		

编辑部 Editorial office 熊木林 XIONG Mu Lin 王 芹 WANG Qin