

# 浅水湖泊中碱性磷酸酶活性及其动力学参数的分层现象<sup>\*</sup>

周易勇 李建秋 付永清 陈旭东 张玉敏<sup>\*\*</sup>

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

**提 要** 1995年5月东湖与严西湖各采样点间隙水、上覆水和表层水中碱性磷酸酶的动力学参数( $V_{max}$ 和 $K_m$ 值)明显不同( $P < 0.05$ ). 与表层水相比, 东湖I站上覆水中酶的 $V_{max}$ 明显较高, 严西湖各站上覆水中酶的 $V_{max}$ 明显较低, 而在东湖II站, 上覆水中酶的 $V_{max}$ 和 $K_m$ 值明显较低, 故仍有较高的催化效率. 这一现象似与酶活性的组成有关. 总之, 富营养的东湖各站诸层次磷的酶促转换效率自上而下呈明显的递增趋势, 严西湖则无此特征. 因此, 富营养湖泊沉积物中磷的“内负荷”应有可酶解有机磷的含义, 浅水湖泊中磷酸酶的活性组成和动力学参数的分层现象当为湖沼学研究中值得深入探讨的新理论问题.

**关键词** 分层 碱性磷酸酶 动力学 浅水湖泊  
**分类号** P342

正磷酸盐是浮游生物所能直接利用的磷形态. 在缺磷状态下, 磷酸酶能催化有机磷分解释放正磷酸盐. 因此, 作为磷营养动态变化(而非静态浓度)的重要表征参数, 水体磷酸酶(包括浮游植物或细菌的胞外酶以及溶解态酶)的研究日趋活跃<sup>[1]</sup>. 以色列 Kinneret 湖<sup>[2]</sup>等深水湖泊的不同层次之间, 磷酸酶的活性炯然相异. 由此引出的理论问题是: 在并无温跃层的浅水湖泊, 磷酸酶是否在纵向上呈均匀分布? 此外, 国外深水湖泊不同水层的酶学研究亦未涉及其动力学方面. 本文讨论了两个相邻且营养状态各异的浅水湖泊(武汉东湖和严西湖)中碱性磷酸酶活性、组成以及动力学参数的垂直分布.

## 1 材料与方 法

相互毗邻的东湖与严西湖位于武汉东郊(114°23'E, 30°33'N), 东湖的总面积为 27.9 km<sup>2</sup>, 平均水深为 2.21 m, 严西湖的总面积为 13.0 km<sup>2</sup>, 平均水深为 2.0 m. 工业废水和生活污水的大量排放以及不合理的水产养殖致使东湖的富营养化程度日趋严重<sup>[3]</sup>.

1995年5月在东湖和严西湖采集表层水(0.5 m)和上覆水(距沉积物表面 0.1 m, 先用透明度盘测量水深以期准确定位). 用彼得森采泥器采集沉积物, 且循离心法<sup>[4]</sup>(3000 转·分<sup>-1</sup>)制备间隙水. 根据彼得森采泥器的性质, 所得沉积物多位于表层, 且有少许上覆水与之混合, 为

• 国家自然科学基金(39670149, 39170165)、淡水生态与生物技术国家重点实验室基金、中国科学院东湖湖泊生态系统试验站、中国科学院长春地理研究所现代湿地过程与环境开放实验室基金以及中国科学院“青年科学家小组”基金联合资助项目.

收稿日期: 1998-09-28; 收到修改稿日期: 1999-10-08. 周易勇, 男, 1956年生, 副研究员.

\*\* 现在黑龙江省桦南县环境保护局工作.

了尽可能保持间隙水的原始性,在用牛角勺将沉积物移入离心管之前,先用粗滤纸轻轻吸干表面的水分.

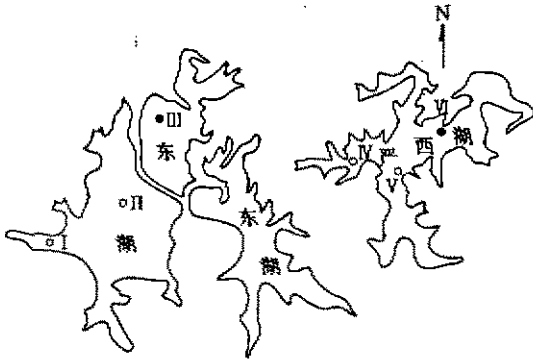


图1 东湖和严西湖采样点分布

Fig.1 Map of Donghu Lake and Yanxihu Lake, showing the location of sampling sites

用孔径为  $0.45\mu$  的滤膜过滤水样,取滤液据 Murphy 和 Riley 建立的方法<sup>[5]</sup>测定溶解正磷酸盐的浓度.

用孔径为  $0.45\mu$  和  $3.0\mu$  的滤膜(Millipore)过滤水样,以对-硝基苯磷酸二钠盐(pNPP, Sigma, AG)为底物(最终浓度为  $0.3\text{ mmol L}^{-1}$ )分光光度法测定碱性磷酸酶的活性(APA)<sup>[3]</sup>,用过滤前后水样中 APA 的差值表征相应滤膜所截留的酶的活性.用通过  $0.45\mu$  滤膜的水样中的活性代表溶解态磷酸酶的活性.

未过滤水样中 APA 的动力学参数按下述方法测定,在  $0.01$  至  $1.80\text{ mmol L}^{-1}$  的范围内取 8 种不同浓度的底物测定表层

水、上覆水和间隙水中的 APA,根据 Michaelis-Menten 方程的 Lineweaver-Burk 转换式测算 APA 的最大反应速度( $V_{\max}$ )和米氏常数( $K_m$ ):

$$V = V_{\max} \cdot S / (S + K_m)$$

式中,  $V_{\max}$  和  $K_m$  分别为最大反应速度和米氏常数,系酶的两个特征参数;  $S$  为底物浓度.上式两边取倒数可得一线性方程(Lineweaver-Burk 转换式),纵轴上的截距为  $V_{\max}^{-1}$ ,横轴上的截距为  $K_m^{-1}$ ,据此可求得  $V_{\max}$  和  $K_m$  值.

## 2 结果与讨论

### 2.1 各站自身间隙水与湖水(上覆水和表层水)的比较

(1) 东湖:东湖 I、II、III 站间隙水中酶的  $K_m$  值均明显较低. I、III 站间隙水中酶的  $V_{\max}$  值明显较高( $P < 0.05$ ).

(2) 严西湖:严西湖 IV、V、VI 站间隙水中酶的  $K_m$  和  $V_{\max}$  值明显较低( $P < 0.05$ ).

### 2.2 各站自身表层水与上覆水的比较

(1) 东湖:东湖 I、III 站上覆水中酶的  $V_{\max}$  值明显较高,  $K_m$  值之间均无显著差异.而在东湖 II 站,上覆水中酶的  $V_{\max}$  和  $K_m$  值均明显较低( $P < 0.05$ ).

(2) 严西湖:严西湖各站上覆水中酶的  $V_{\max}$  值明显较低,  $K_m$  值之间均无显著差异( $P < 0.05$ ).

### 2.3 东湖与严西湖之间的横向比较

从总体上看,无论表层水、上覆水,还是间隙水,严西湖各站样品中酶的  $V_{\max}$  值明显高于东湖样品的相应值.

上述结果表明,浅水湖泊中碱性磷酸酶的动力学参数(包括  $V_{\max}$  和  $K_m$  值)可能在垂直方向上表现出明显的异质性.从动力学上讲,  $V_{\max}$  值是酶催化速率的直接表征.由此可见,东湖

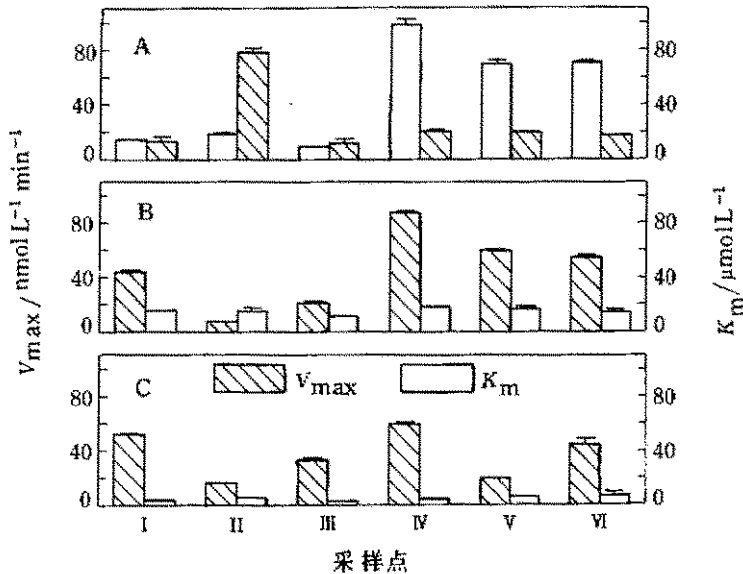


图2 东湖和严西湖各采样点表层水(A)、上覆水(B)和间隙水(C)中碱性磷酸酶动力学参数的分布

Fig. 2 Distribution of kinetic parameters of alkaline phosphatase in Donghu L. and Yanxihu L.

A: Surface water; B: Overlying water; C: Interstitial water

各站诸层次磷的酶促转换效率自上而下呈明显的递增趋势,具体表现为  $V_{max}$  值渐次升高.另一方面,  $K_m$  值是酶对其底物亲和力的一种量度,其值愈小则亲和力愈强.东湖 II 站上覆水中酶的  $V_{max}$  值虽小,但其  $K_m$  值亦低,故总体催化效率仍高.而严西湖各站则无此特征,因与表层水相比,该湖上覆水中酶的  $V_{max}$  值明显较低,  $K_m$  值却无显著差异.图 3 描述了东湖各站不同层次上不同大小的颗粒各自表现的酶活性. II 站上覆水和表层水中酶的动力学参数的特殊分布状况似与酶的活性组成有关,上覆水样通过微孔 ( $0.45\mu$ ) 滤膜后,酶的活性骤然上升,这一现象在 I、III 二站均未观察到.实验证明,与不同大小的颗粒相联系的磷酸酶具有不同的动力学特征<sup>[6]</sup>.此外,严西湖间隙水中高比例的溶解态酶的活性值得注意(图 4).因此,浅水湖泊中磷酸酶活性的组成和动力学参数的分层现象以及与之相关的有机磷转化速率的垂直变化当为湖沼学研究中的新的理论问题.

如前所述,与严西湖相比,东湖的富营养化程度至为严重,而这一特征亦可得到酶学方面的印证,其主要表现形式有二:

首先,严西湖各站诸层次水样中酶的  $V_{max}$  值明显较高(图 2),实验结果在相同季节与相同条件下获得,因而具有绝对意义上的可比性.高酶活性多与低磷水平相联系,其原因在于,细胞内的磷库将有效地调节磷酸酶的合成<sup>[7-9]</sup>.1965 年, Kuenzler 等指出,多种处于缺磷状态的海藻能产生碱性磷酸酶.而在磷营养充足时,酶的合成则受到抑制<sup>[10]</sup>. Fitzgerald 等以淡水藻类为材料给出了类似的结果,缺磷时碱性磷酸酶活性将提高 25 倍<sup>[7]</sup>.这两篇论文为利用碱性磷酸酶活性作为缺磷指标奠定了基础.实验证明,碱性磷酸酶活性与磷营养水平之间呈明显的负相关关系,这种关系常被一般性地称作“抑制-诱导机制”.这种“抑制-诱导机制”在湖泊中亦

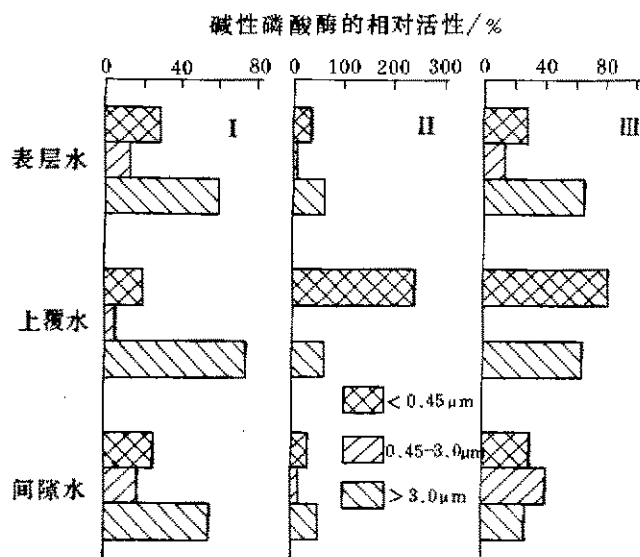


图 3 武汉东湖表层水、上覆水和间隙水中磷酸酶活性的组成

Fig. 3 Size-fractionated alkaline phosphatase activity in surface water, overlying water and interstitial water in Donghu Lake, Wuhan

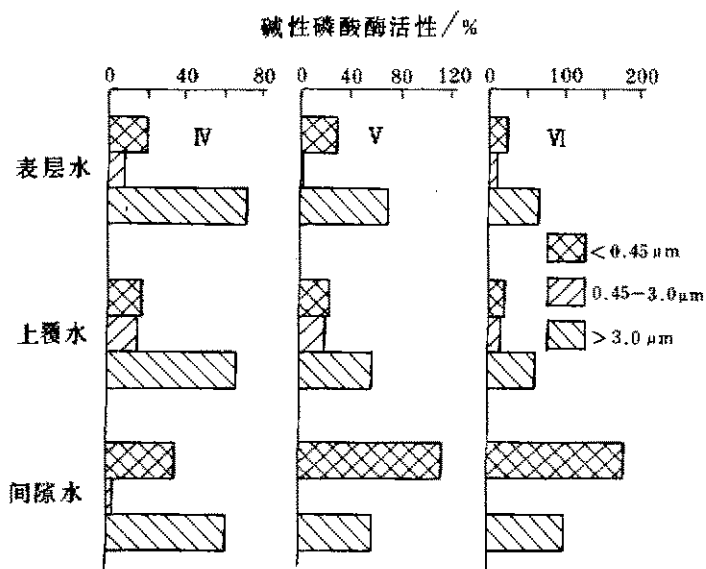


图 4 严西潮表层水、上覆水和间隙水中磷酸酶活性的组成

Fig. 3 Size-fractionated alkaline phosphatase activity in surface water, overlying water and interstitial water in Yanxihu Lake

有表现<sup>[8,11]</sup>。

其次,在东湖沉积物间隙水中酶的催化效率较高,可酶解磷将迅速得以分解或矿化,成为磷营养的另一重要补给库。Tae-Seok 等分析了韩国 Soyang 湖中以叶绿素为基准的特异性碱性磷酸酶活性的季节波动,他们注意到,当夏季温跃层出现时,酶的活性较高,根据“抑制-诱导机制”可以推断,此时水中缺磷。至秋季温跃层消失后,酶的活性急剧下降,其幅度可逾百倍,相应的较为充足的磷营养多半来自底层或沉积物,因为此时垂直方向上的交换已无明显障碍<sup>[12]</sup>。这是利用酶与磷的关系作出某些生态学推测的一个例证。而在尚无温跃层存在的东湖,酶促分解作用贯穿整个水柱,并直抵沉积物,且以后者为高,具体地说,东湖沉积物不仅直接释放无机态的正磷酸盐<sup>[13]</sup>,而且能有效地转化有机磷,故而在富营养型的浅水湖泊,所谓“内负荷”应当包括潜在有效的可酶解磷的含义。

致谢 严西湖采样点分布图及其参数由中国科学院水生生物研究所张堂林和官子和先生提供,谨此致谢。

## 参 考 文 献

- 1 Jasson M, Olsson H, Petterson K. Phosphatase: Origin, Characteristics and Function in Lakes. *Hydrobiologia*, 1988, **170**: 157-175
- 2 Berman T. Alkaline Phosphatase and Phosphorus Availability in Lake Kinneret. *Limnol Oceanogr*, 1970, **15**:663-674
- 3 张水元,刘衡霞,黄耀桐.武汉东湖营养物质氮、磷的主要来源.海洋与湖沼,1984, **15**(3):203-213
- 4 Degobbi D, Homme-Maslaowska E, Orio A A, et al. The Role of Alkaline phosphatase and Phosphorus in the Sediments of Venice Lagoon Nutrient Regeneration. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 1986, **22**:425-437
- 5 Murphy J, Riley P. A modified Single Solution Method for the Determination of Phosphate in Natural Water. *Anal Chim Acta*, 1962, **27**:31-36
- 6 Zhou Yiyong and Dodds W. K., Kinetics of Size-fractionated and Dissolved Alkaline Phosphate in a FarmPond. *Arch Hydrobiol* 1995, **134**:93-102
- 7 Fitzgerald C P, Nelson T. Extractive and enzymatic analysis of limiting or surplus phosphorus in algae. *J Phycol* 1966, **2**:32-37
- 8 Pettersson K. The Availability of Phosphorus and the Species composition of the Spring Phytoplankton in Lake Erken. *Int Revue Ges Hydrobiol*, 1985, **70**:527-546
- 9 Elgavish A, Halmann M Berman T. A Cincuarate Study of *Oeridinium Cinctum*, *Pediastrum Duplex* and *Cosmarium* sp. from Lake Kinneret (Israel). *Phycologia*, 1982, **21**:47-54
- 10 Kuenzler E J. Glucose-6-phosphate utilization by marine algae. *J Phycol*, 1965, **1**:156-164
- 11 Chrost R J, Siuda W, Halemejk G. Longterm studies on alkaline phosphatase activity (APA) in a lake with fish-aquaculture in relation to lake eutrophication and phosphorus cycle. *Arch Hydrobiol*, 1984, **70**(Suppl):1-32
- 12 Tae-Seok A, Seung-ik C, Ki-Seong J. Phosphatase activity in Lake Soyang, Korea. *Verh Internat Verein Limnol*, 1993, **25**:183-186
- 13 王少梅.武汉东湖沉积物中氮和磷释放试验.水生生物学报,1991, **15**(4):379-380

## Stratification of Activities and Kinetics of Alkaline Phosphatase in A Shallow Chinese Freshwater Lake (Donghu Lake, Wuhan)

ZHOU Yiyong LI Jianqiu FU Yongqing CHEN Xudong ZHANG Yumin

(*Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, P. R. China*)

### Abstract

In May 1995, the kinetic parameters ( $V_{\max}$  and  $K_m$ ) of alkaline phosphatase in interstitial water, overlying water and surface water were differed significantly in Donghu Lake (Wuhan) and Yanxihu Lake ( $P < 0.05$ ). At Station I and III of Donghu Lake,  $V_{\max}$  values of overlying water were much higher than those of surface water, while in Yanxihu Lake  $V_{\max}$  values of overlying water were much lower. At Station II in Donghu Lake, both  $V_{\max}$  and  $K_m$  values were quite lower in overlying water, exhibiting a higher catalytic efficiency. This phenomenon might relate with the compositions of enzyme activities. In brief, a pronounced downward gradient of enzyme catalytic efficiency was observed in Donghu Lake, which was not recorded in Yanxihu Lake. Consequently, the enzymatic hydrolyzable P may contribute to the internal loading of the eutrophic lake, and stratification of kinetics and compositions of phosphatase in shallow lake is theoretically noticeable.

**Key Words** Stratification, alkaline phosphatase, kinetics, shallow lake