

前沟藻(*Amp hidinium hoefleri*)和角刺藻(*Chaetoceros gracilis*) 二甲基硫生产的实验研究^{*}

胡 敏 任久长 蒋 林 方 晨 唐孝炎

(北京大学环境科学中心环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100871 E-mail: minhu @ ces.pku.edu.cn)

摘要 用实验室模拟的方法着重研究硅藻的角刺藻(*Chaetoceros gracilis*)和浮游甲藻的前沟藻(*Amp hidinium hoefleri*)生长过程中 DMS 的生产及不同氮营养条件下对前沟藻 DMS 生产的影响. 结果表明: (1) 前沟藻和角刺藻都可以生产二甲基硫(DMS), 但 2 者 DMS 生产能力有很大差别, 前沟藻 DMS 平均生产率大约是角刺藻的 100 倍. (2) 不同生理阶段的 DMS 产量不同. 对数增长期的前沟藻细胞释放 DMS 的能力最强, 其 DMS 速率是指数增长期的 3 倍. 静止期和衰老期的前沟藻细胞 DMS 的生产能力下降. (3) 低氮条件对前沟藻细胞 DMS 有促进作用. 其中低浓度组(0.5mg/L NaNO₃) DMS 产率是高浓度组(50mg/L)的 4 倍.

关键词 角刺藻, 前沟藻, 二甲基硫, 叶绿素 a, 海洋环境.

A Study on DMS Producing by Marine Algae, *Chaetoceros gracilis* and *Amp hidinium hoefleri*

Hu Min Ren Jiuchang Jiang Lin Fang Chen Tang Xiaoyan

(State Joint Key Lab. of Environ. Simulation and Pollution Control, Center of Environ. Sciences,

Peking University, Beijing 100871 E-mail: minhu @ ces.pku.edu.cn)

Abstract The production of Dimethylsulfide(DMS) during *Chaetoceros gracilis* and *Amp hidinium hoefleri* growing period is discussed by the laboratory simulation in this paper. The conclusions are: (1) Both *Amp hidinium hoefleri* and *Chaetoceros gracilis* can produce DMS, but their production abilities are different. The average DMS production rate of *Amp hidinium hoefleri* is about 100 times than that of *Chaetoceros gracilis*. (2) In different physiological stages of phytoplankton the DMS production rates are different. The *Amp hidinium hoefleri* cell in the log stage produces the largest amount of DMS, which is about three times than that of exponential stage. The cell in the senescent stage produces less DMS. (3) Low nitrate level could stimulate DMS production of *Amp hidinium hoefleri* cell. DMS production rate of cell in the lower NaNO₃ concentration (0.5mg/L) is four times than that of the higher NaNO₃ concentration (50mg/L).

Keywords *Chaetoceros gracilis*, *Amp hidinium hoefleri*, dimethylsulfide, chlorophyll a., marine environments.

海洋浮游植物产生的二甲基硫(Dimethyl-sulfide, DMS)是沿海地区和海区内雨水天然酸性的主要贡献者^[1-3]. Charlson 等提出有关“DMS-云的凝结核(CCN)-云反照率-气候”负反馈循环的假设^[4]. Hass 首先发现海洋多管藻 *Polysiphonia lanosa* 代谢产生 DMS^[5], Chalenger 和 Simpson 在另 1 种多管藻 *Polysiphonia fastigiata* 的提取物中发现了 DMS 的前体物二甲基磺基丙酯(dimethyl-sulfoniopropionate, DMSP)^[6]. Keller 等检测 12 个纲 123 种

海洋浮游藻类, 在硅藻、甲藻、金藻中发现了 DMSP 的存在^[7], 其中甲藻和金藻 DMSP 浓度较高. Vetter 和 Sharp 研究了光照对 *Skeletonema costatum* DMS 产量的影响^[8], 发现弱光照下其群体 DMS 总产量比全光照条件下产量的 1 半还要低, 但 2 种条件下单个细胞 DMS 产量

^{*} 国家自然科学基金资助项目(Project Supported by National Natural Science Foundation of China): 49392702, 49405062

胡敏: 女, 32 岁, 博士, 副教授

收稿日期: 1998-04-14

没有明显差别. Baumann 等发现, 海链藻 *Thalassiosira tumida*, 菱形藻 *Nitzschia urta*, 角刺藻 *Chaetoceros socialis*, 褐脆藻 *Phaeocystis antarctica* 在低温下 DMS 产量均增加. Vairavamurthy 等研究发现^[9], 随着培养液中盐度的增加, *Hymenomonas carterae* 细胞内 DMSP 浓度与 DMS 排放速率都增加. Dacey 和 Wakeham 发现^[10], 当 *Labidocera aestiva* 捕食 *Gymnodinium nelsoni* 时, *Gymnodinium nelsoni* DMS 产量增加了 23 倍.

本实验选择前沟藻和角刺藻, 研究 2 种海藻生长过程中 DMS 生产及不同氮营养条件下对藻类 DMS 生产的影响.

1 材料和方法

1.1 藻种选择

硅藻类角刺藻(*Chaetoceros gracilis*) 和甲藻类前沟藻(*Ampidinium hoefleri*), 均引自青岛海洋大学微藻研究所.

1.2 培养方法

培养基采用朱树屏人工海水配方加适量维生素配制而成^[11]. 实验采用 1000ml 的三角瓶作 1 次性单种培养. 三角瓶预先在 10% 稀盐酸中浸泡 24h 以上, 用去离子水洗净后, 放入烘箱内烘干. 实验前, 各瓶根据需要分别用培养液进行预平衡, 以消除实验过程中瓶体的吸附. 以日光灯作光源, 光照强度为 5000lx(平均值), 连续光周期, 平均室温 22℃ 下培养. 接种时将藻种离心, 并用培养液洗涤 2 次, 以除去藻种本身携带的有机物质. 为防止出现明显的缓慢增长期, 接种的前沟藻初始密度应在 10⁴ 个/ml 以上. 培养瓶每天振荡几次, 以补充 CO₂ 防止藻类沉淀.

1.3 检测指标

采用 NIKON OPTIPHOT-2 显微镜计数框内直接记数法计数, 并与 722 型分光光度计在 678nm 处测定培养物光密度相互校正. 分光光度法测定叶绿素 a(Chla) 浓度^[12]. 生长率采用下式计算: $\mu = \frac{\ln(N_2/N_1)}{t_2 - t_1}$, 其中 N_1 为规定

时间初始时的细胞个数, N_2 为规定时间结束时的细胞个数(或 Chla 浓度), t_1 为测定 N_1 时的日期(d), t_2 为测定 N_2 时的日期(d). DMS 浓度测定用带有火焰光度检测器(FPD)的气相色谱分析仪(岛津 GC-8A)^[13]. 实验证实测定 DMS 浓度和 Chla 浓度的方法具有较好的重现性. 限于 2 种藻类在 4 种氮浓度培养液内细胞数、DMS 浓度和 Chla 浓度随着藻类的生长而不断的变化, 8 个系列(2 种藻类 × 4 种氮浓度培养液)的 1 次测定大约需要 10h, 因而各图中细胞数、DMS 浓度和 Chla 浓度是各系列每隔 48h 以后的测定值.

2 结果与分析

2.1 角刺藻和前沟藻种群增长形式

2 种藻类种群呈现 S 型增长, 但增长速率和总生物量差异较大. 角刺藻和前沟藻在相同条件下培养 19d(图 1 和图 2). Chla 浓度作为

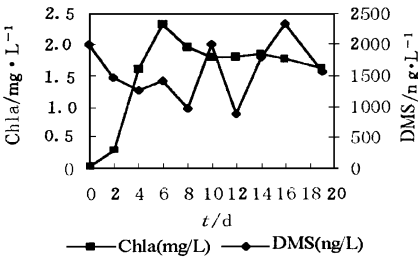


图 1 角刺藻培养液中 Chla 和 DMS 的变化

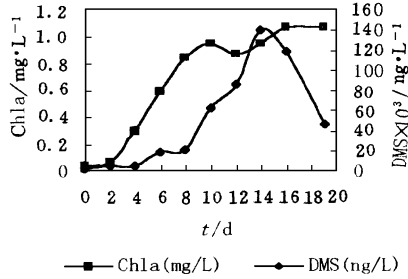


图 2 前沟藻培养液中 Chla 和 DMS 的变化

藻类生物量的指标, 可以代表藻类种群的大小. 通常在实验条件下, 藻类种群变化呈现 S 型曲线, 有缓慢增长期, 指数增长期, 对数增长期和衰老期. 该研究中由于接种的初始密度较大, 2

种藻接种后都没有表现明显的缓慢增长期,立即进入指数增长期. 2 种藻类进程基本呈 S 型趋势,在指数增长期之后,出现对数增长期和衰老期. 由图 1 可以看出,角刺藻生长极其迅速,最高生长率达 1.0d^{-1} ,接种第 6d 即达到其最大生物量. 而后由于营养的耗竭和藻类自身的遮光作用,个体死亡率增加,生物量逐渐下渐,但仍维持在较高水平. 由图 2 可以看出前沟藻最高生长率为 0.74d^{-1} ,生长较角刺藻缓慢,指数增长阶段比较长,接种 2 周后生物量才达到最高水平,然而,最高生物量水平较低,与角刺藻相差 1 倍左右.

2 种藻类的 DMS 生产呈现不同模式. 由图 1 可知,接种当天角刺藻培养基中 DMS 浓度较高,下降几天后回升,并上下波动. 总体来讲, DMS 的变化趋势不明显,变化范围基本在 $1\text{--}2\mu\text{g/L}$ 之间. 前沟藻培养基中 DMS 浓度变化有明显规律,有与藻类生长曲线形状相似的上升期和下降期(图 2). 但时间滞后. DMS 浓度最大增长率 0.654d^{-1} ,培养第 6d 浓度超过 $10\mu\text{g/L}$,第 14d 达到最高值 $140\mu\text{g/L}$,14d 后 DMS 浓度迅速下降.

2.2 2 种藻类单位生物量 DMS 生产动态变化

由于前沟藻释放 DMS 的能力远强于角刺藻,前沟藻排放 DMS 的平均速率大约是角刺藻的 100 倍. 将 DMS 用叶绿素标准化,可以得到单位生物量的 DMS 随时间的动态变化(图 3). 从图 3 可见,2 种藻类种群不同生长期产生 DMS 的动态变化明显不同. 从曲线看,前沟藻培养的第 1 周内,即指数生长期 DMS 生成量较低;第 8d 到第 14d 即对数增长期, DMS 增长最快,计算可知对数增长期的前沟藻单位生物量排放 DMS 速率是指数增长期的 3 倍,说明对数增长期的藻类细胞释放 DMS 的能力强;14d 后藻类进入衰老期 DMS 浓度急剧下降,表明衰老期的藻类细胞释放 DMS 的能力下降. 角刺藻接种当天单位生物量的 DMS 产量较高,2d 后单位生物量的 DMS 产量下降,到培养第 4d 趋于平衡(约为接种当天的 $1/50$).

2.3 氮浓度对前沟藻种群数量和 DMS 生产

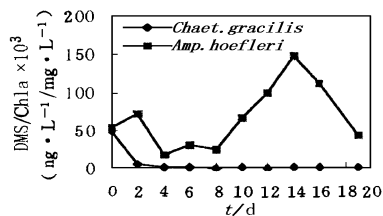


图 3 2 种藻类 DMS/Chla-时间变化

的影响

(1) 氮浓度对前沟藻种群大小的影响 图 4 是在 $0.5, 5, 10$ 和 50mg/L 等不同氮浓度(以 NaNO_3 计)条件下,前沟藻种群数量变化情况. 从图 4 可知,藻类种群达到最大生物量所需的时间明显不同. 氮浓度越高,藻类种群数量越大,达到最大生物量所需的时间越长,如高浓度组(50mg/L)与低浓度组(0.5mg/L)最高生物量相差 10 倍,高浓度组达最高生物量需 10d,而低浓度组只需 4d.

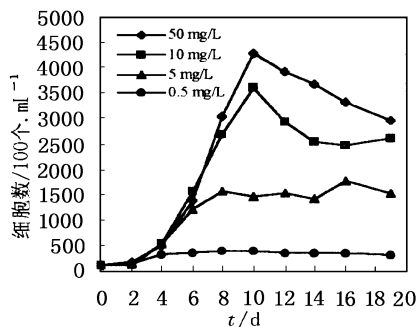


图 4 不同氮浓度条件下前沟藻种群变化

(2) 氮浓度对 DMS 生产的影响 图 5 是不同氮浓度下 DMS 的变化曲线. 可以看出:不同氮浓度培养条件下, DMS 均有上升,但高氮浓度组的 DMS 浓度升高最明显. 2 周时出现最大值,然后下降. 将 DMS 数据用藻类细胞数量标准化,得到单个细胞的 DMS 产量(图 6). 50mg/L 和 10mg/L 2 组藻类细胞 DMS 产量相差不多, 5mg/L 组比较高, 0.5mg/L 组最高. 表明随着介质中氮浓度的降低,单个细胞的 DMS 释放量有升高的趋势.

2.4 DMS 与生物量的回归分析

如果将 DMS 浓度分别与藻类细胞数和

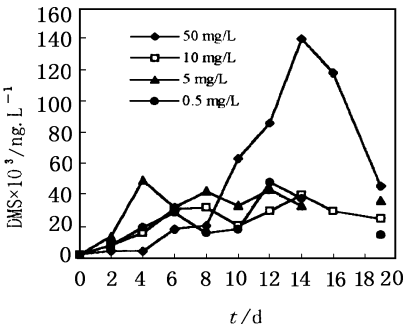


图5 不同氮浓度培养条件下 DMS 浓度变化

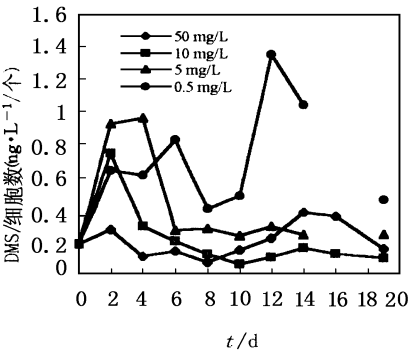


图6 不同氮浓度培养条件下单个细胞产生 DMS 的动态变化

Chla 含量进行回归分析, 在 99% 概率水准下, 二者均呈非常显著或极显著相关. 不同氮浓度下的回归方程、样本数值、相关系数值及显著性均列入表 1. 各回归方程的通式为:

$$Y = aX$$

式中, Y 为 DMS 浓度(mg/L), X 为藻类生物量(其中 X_1 为 Chla 浓度, mg/L ; X_2 为藻类细胞密度, 个/ L).

分析 DMS 与 Chla 和前沟藻细胞数之间关系, 结果列入表 1.

表 1 DMS 与 Chla 和前沟藻细胞数之间的相关关系

氮浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	回归方程	R^2	n	显著性
50	$Y = 7.95 \times 10^4 X_1$	0.78	10	极显著
10	$Y = 7.36 \times 10^4 X_1$	0.85	10	极显著
5	$Y = 1.27 \times 10^5 X_1$	0.80	8	非常显著
0.5	$Y = 3.43 \times 10^5 X_1$	0.75	8	非常显著
50	$Y = 2.22 \times 10^{-4} X_2$	0.81	10	极显著
10	$Y = 1.08 \times 10^{-4} X_2$	0.87	10	极显著
5	$Y = 2.72 \times 10^{-4} X_2$	0.87	8	极显著
0.5	$Y = 7.26 \times 10^{-4} X_2$	0.82	8	非常显著

3 结论

(1) 前沟藻和角刺藻都可以产生 DMS, 但 2 者的 DMS 生产能力有很大差别, 前沟藻 DMS 平均生产率大约是角刺藻的 100 倍.

(2) 不同生理阶段的藻类 DMS 产量不同. 对数增长期的前沟藻细胞释放 DMS 的能力最强, 对数增长期的前沟藻释放 DMS 速率是指数增长期的 3 倍. 衰老期的前沟藻细胞释放 DMS 的能力下降.

(3) 低氮条件对前沟藻细胞释放 DMS 有促进作用. 其中 0.5mg/L NaNO_3 浓度组细胞 DMS 产率是高浓度组(50mg/L) 的 4 倍. 如果海洋中存在一定程度的氮缺乏, 且其浓度对藻类细胞释放 DMS 的促进作用大于对藻类生长的抑制作用, 海水中 DMS 浓度将会有一定程度的增加.

参 考 文 献

- 1 Malin G, Turner S M, Liss P S. Sulfur: the plankton climate connection. *Journal of Phycology*, 1992, **28**: 590
- 2 Ayers G P, Ivery J P, Gillet R W. Coherence between seasonal cycles of dimethyl-sulfide, methane-sulphonate and sulphate in marine air. *Nature*, 1991, **349**: 404
- 3 Bates T S, Cline J D, Gammom R H, Kelly-Hassen S R. *Journal of Geophysical Research*, 1987, **92**: 2930
- 4 Charlson R J, Lovelock J E, Andreae M O, Warren S G. Oceanic phytoplankton, atmospheric sulphur, cloud albedo and climate. *Nature*, 1987, **326**: 655
- 5 Hass P. The liberation of dimethylsulfide in seaweed. *Biochemistry Journal*, 1935, **29**: 1297
- 6 Challenger F, Simpson M I. Studies on biological methylation. Part I. A precursor of dimethylsulphide evolved by *polyisphonia fastigiata*. Dimethyl-2-carboxyethyl-sulfonium hydroxide and its salts. *Journal of Chemistry Society*, 1948, **3**: 1591
- 7 Keller M D, Bellows W K, Grillard R L. Dimethyl sulfide production in marine phytoplankton. In: Saltzman E S, Cooper W J (Editors). *Biogenic Sulfur in the Environment*. Washington DC: American Chemical Society, 1989: 167—182
- 8 Vairavamurthy A, Andreae M O, Iverson R L. Biosynthesis of dimethylsulfide and dimethylpropiothetin by *Hyomonomonas carterae* in relation to sulfur source and salinity variations. *Limnology and Oceanography*, 1985, **30**(1): 59
- 9 Dacey J W H, Wakeham S G. Oceanic dimethylsulfide: Production during zooplankton grazing. *Science*, 1986, **233**: 1314
- 10 Vetter Y A, Sharp J H. The influence of light intensity on dimethylsulfide production by a marine diatom. *Limnology and Oceanography*, 1993, **38**(2): 419
- 11 华汝成. 单细胞藻类的培养与利用. 北京: 农业出版社, 1986: 299—301
- 12 朱广廉等. 植物生理学实验. 北京: 北京大学出版社, 1988: 46—51
- 13 Hu Min, Tang Xiaoyan, Li Jinlong, Yu Zongju. Research on Determination of Dimethylsulfide in Sea Water. *Environmental Chemistry*, 1995, **14**(2): 157—163