

塔玛亚历山大藻生成二甲基硫和二甲基硫丙酸的实验研究^{*}

林益明¹, 李和阳¹, 王大志², 陈 猛², 袁东星², 洪华生²

(1. 厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361005; 2. 厦门大学环境科学研究中心, 福建 厦门 361005)

摘要:主要研究在封闭培养条件下塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense*) 生长周期内藻体细胞的二甲基硫丙酸 (DMSP) 含量以及释放至水体的二甲基硫 (DMS) 含量. 结果表明: (1) 塔玛亚历山大藻藻体细胞 DMSP 含量变化与该藻细胞数量动态变化趋势相一致, 在生长周期的第 7 天达到最高值; (2) 藻体细胞的 DMSP 含量以及释放至水体的 DMS 含量均与藻体细胞数量有显著相关; (3) 单位细胞 DMSP 生成量的变化与 DMS 释放量变化呈现相反的趋势, 在 DMS 释放量最高时, 单位细胞 DMSP 生成量最低.

关键词:塔玛亚历山大藻; 二甲基硫; 二甲基硫丙酸; 生长周期

中图分类号: Q948 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8160(2001)03-0335-05

二甲基硫 (Dimethyl sulfide, DMS) 是海洋中一种重要的挥发性生源硫化物, 由海洋释放入大气中的 DMS 不仅在全球气候变化调节方面有重要作用, 而且它的氧化产物 (如二氧化硫、甲基磺酸、硫酸等) 还是酸雨和酸雾产生的原因之一^[1]. 海洋中的浮游植物是海洋 DMS 的主要来源. Challenger 等 (1948) 发现海藻细胞中广泛存在着二甲基硫丙酸 (Dimethylsulfoniopropionate, DMSP), 而 DMSP 是 DMS 的前体物质, 藻类细胞中的 DMSP 含量与其 DMS 产率直接相关^[2]. 本文着重研究在封闭培养条件下, 塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense*) 生长周期内藻体细胞 DMSP 含量以及释放至水体的 DMS 含量变化, 以及与藻体细胞数量的关系, 以探讨藻体 DMSP、DMS 生成量的变化特点.

1 材料与方 法

1.1 实验藻种

主要研究的藻种塔玛亚历山大藻引自暨南大学水生生物研究所; 其他藻种 [骨条藻 (*Skeletonema costatum*)、角毛藻 (*Chaetoceraeae muereri*)、湛江叉边金藻 (*Dicrateria zhanjiangensis*) 以及小球藻 (*Chlorella vulgaris*)] 为厦门大学环境科学研究中心微藻实验室所保之藻种.

1.2 培养方法

培养采用 5 dm³ 大体积培养瓶一次性密闭培养的方法. 培养液采用 f/2 培养液配方. 各种营养成分均配成无菌母液, 天然海水经煮沸灭菌 2 次后, 加入一定量的无菌母液配制成培养

* 收稿日期: 2000-06-21

基金项目: 厦门大学国家教育部海洋生态环境开放研究实验室资助项目 (MEE9804)

作者简介: 林益明 (1967~), 男, 博士, 副研究员.

液. 培养容器经 10% (V/V) 盐酸浸泡 24h 消毒灭菌. 培养光源为日光灯, 平均光强为 5 000 lx, 光暗周期为 12h 12h, 平均室温 24℃. 实验开始时, 以 1:20 的比例接入处于指数生长期的藻种 200cm³.

1.3 测定方法

每隔 3~4d 取样, 采用固相微萃取技术, 顶空气相色谱法^[3]测定藻体中的 DMSP 含量以及水体的 DMS 含量. (1) 水体 DMS 含量的测定: 在顶空瓶中加入 40 cm³ NaCl 饱和溶液, 现场取 40 cm³ 培养瓶中的液体, 立即旋紧瓶盖, 混合, 然后 200WT 微波 (ORIENT MDS-9000 微波系统) 照射 60s, 取出后插入 SPME (石英纤维萃取头, 100μm PDMS 涂层, Suplco, USA), 萃取 10min, 在带有 PFPD 检测器的气相色谱仪 (Varian CP-3800) 测定; (2) 藻体 DMSP 含量的测定: 在顶空瓶中加入 5 cm³ 培养液, 再加入 45 cm³ 5.0 mol/dm³ NaOH 溶液, 以后步骤同 (1).

在测定 DMS 和 DMSP 含量的同时, 取 2 cm³ 培养液, 固定后用血球计数板在显微镜下直接进行细胞计数, 用于统计藻体种群大小.

2 结果与讨论

2.1 塔玛亚历山大藻种群数量动态变化

塔玛亚历山大藻种群大小随时间的动态变化见图 1 和图 2. 从图 1 可以看出, 在正常培养条件下, 塔玛亚历山大藻种群数量动态变化 0~8d 为缓慢增长期, 8~16d 为指数增长期, 16~22d 为平稳期, 22~28d 为衰老期. 图 2 系在封闭培养条件下, 藻类的生长呈现首先快速增长然后随之下落的趋势. 这是因为在封闭培养的条件下, 接种是处于旺盛生长的藻细胞, 所以在接种初期藻体细胞呈现快速增长的趋势, 同时由于封闭培养, 碳源供应不足, 导致藻体数量快速增长后又快速下降.

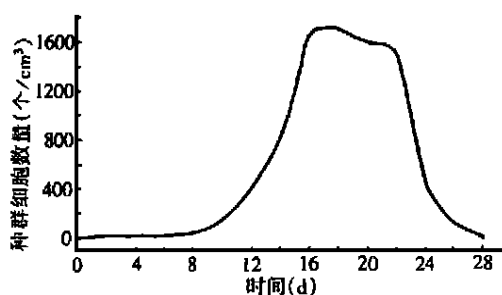


图 1 正常培养条件下种群数量的变化

Fig. 1 Growth of population under normal culture condition

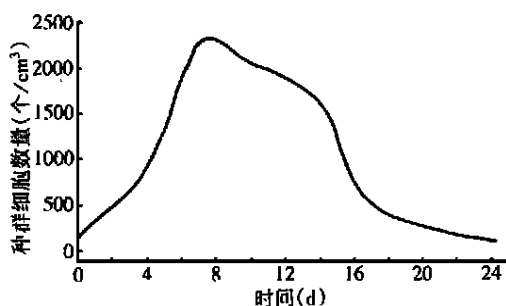


图 2 5dm³ 封闭培养条件下种群数量的变化

Fig. 2 Growth of population under 5 dm³ bottle confined culture condition

2.2 几种海藻细胞的 DMSP 含量

DMSP 是 DMS 的前体, 存在于浮游植物中, 为藻类的一种硫代谢产物. DMSP 在藻细胞中的浓度与藻的种类有关, 不同藻中 DMSP 浓度有很大差别 (表 1). 表 1 是几种常见海藻细胞生长达到指数生长期时, 藻细胞内 DMSP 的含量. 之所以选取指数生长期的细胞进行比较, 是因为指数生长期是细胞生长最旺盛、细胞最健康的时期, 此时细胞内的 DMSP 含量最具有代表性. 几种常见海藻指数生长期细胞中 DMSP 含量 (0.1pg/个) 高低顺序为塔玛亚历山大藻 > 湛

江叉边金藻 > 骨条藻 > 角毛藻 > 小球藻,其中,塔玛亚历山大藻细胞的 DMSP 含量是角毛藻的 172 倍,是骨条藻的 12 倍. Keller 等(1989)对不同种海洋浮游藻类细胞内 DMSP 含量进行比较后发现,藻细胞 DMSP 含量与其分类位置有很大关系,双鞭甲藻和金藻等通常含有高浓度的 DMSP,而绿藻类等 DMSP 含量低^[4]. 本研究塔玛亚历山大藻属于甲藻门,湛江叉边金藻属于金藻门,它们藻体细胞的 DMSP 含量都较高,特别是塔玛亚历山大藻;骨条藻和角毛藻属于硅藻门,小球藻属于绿藻门,该藻藻体细胞的 DMSP 含量很低,研究表明了海洋浮游藻类细胞内的 DMSP 含量具有很大的种间差异性. 这与李炜等(1999)对扁藻(*Platymonas* spp.)、杜氏藻(*Nunaliella* spp.)和牟氏角刺藻(*Chaetoceros muelleri*)指数生长期细胞的 DMSP 含量具有很大的种间差异性的研究结果一致^[5].

表 1 几种常见海藻指数生长期细胞中的 DMSP 含量

Tab. 1 DMSP contents (0.1pg/ind) of some algae at their exponential growth stages

藻 种	DMSP 含量 (pg/cm ³)	细胞个数 (千个/cm ³)	DMSP 含量 (0.1pg/个)
骨条藻 (<i>Skeletonema costatum</i>)	5 280.9	13.4	3.94
角毛藻 (<i>Chaetoceraeae mueleri</i>)	1 754.7	61.0	0.29
湛江叉边金藻 (<i>Dicrateria zhanjiangensis</i>)	66 760	83.9	7.96
塔玛亚历山大藻 (<i>Alexandrium tamarense</i>)	129 020	25.8	50.00
小球藻 (<i>Chlorella vulgaris</i>)	未检出	57.3	很低

2.3 塔玛亚历山大藻藻体细胞内的 DMSP 含量及释放至水体的 DMS 含量动态

在封闭培养条件下,塔玛亚历山大藻藻体细胞内的 DMSP 含量及释放至水体的 DMS 含量动态见图 3. 从图 3 可以看出,在生长周期的 0~7d,塔玛亚历山大藻藻体细胞数量快速增加,藻体细胞内的 DMSP 含量也快速增加;在 7~24d,藻体细胞数量下降,而藻体细胞的 DMSP 含量 7~14d 快速下降,14~17d 略微升高,17~24d 又下降. 总的来看,藻体细胞内的 DMSP 含量与生长周期内藻体细胞数量动态变化趋势相一致,当藻体细胞数量处于高峰期(第 7 天),其细胞内的 DMSP 含量也最高. 张曼平等(1999)研究了 *Nitzschia closterium* 种群数量动态与藻体细胞 DMSP 含量也有相类似的结果^[6]. DMSP 在藻体中起渗透调节作用,因此在藻类生长过程中能够积累较多的 DMSP. 随着藻体细胞的衰败,其藻体细胞内的 DMSP 含量也下降. 通过对塔玛亚历山大藻藻体细胞的 DMSP 含量与藻体细胞数量作一相关分析,得到如下方程:

$$Y = 0.045X + 2.567, r = 0.846 (r = 0.846 > r_{0.05(5)} = 0.754), n = 7$$

式中, X 为藻体细胞数量, Y 为藻体细胞内的 DMSP 含量. 说明了塔玛亚历山大藻藻体细胞的 DMSP 含量与藻体细胞数量呈正相关关系.

从图 3 可以看出,在生长周期内 0~10d,塔玛亚历山大藻藻体释放至水体的 DMS 含量低于藻体细胞内的 DMSP 含量;在 14~17d,水体的 DMS 含量却高于藻体细胞内的 DMSP 含量,与藻体细胞的 DMSP 含量相比,水体的 DMS 含量有滞后现象,在 14d 时达最高. Cantoni 和 Anderson 曾在一种多管藻 (*Polysiphonia lanosa*) 的提取物中发现了 DMSP 裂解酶^[7]; Stefels 和 Dijkhuizen 认为藻类中的 DMSP 酶是位于膜外的膜复合物^[8],在藻体细胞增长期 DMSP 起调节渗透压的作用,细胞不易破裂,DMSP 释放到细胞外较少,因此水体的 DMS 生成量也较少;当细胞衰老,细胞大量破裂,释放出大量的 DMSP,在位于膜外的 DMSP 裂解酶作用下,DMSP 降解成 DMS,导致水体的 DMS 含量增加. 通过对塔玛亚历山大藻释放至水体的 DMS

含量与藻体细胞数量作一相关分析,得到如下方程:

$$Y = 0.02 X + 5.571, r = 0.831 (r = 0.831 > r_{0.05(5)} = 0.754), n = 7$$

式中, X 为藻体细胞数量, Y 为水体的 DMS 含量. 说明了水体的 DMS 含量与藻体细胞数量呈正相关关系. 胡敏等(1998)报道了前沟藻 (*Amphidinium hoefleri*) 在不同氮浓度下 DMS 含量与藻体细胞数量的相关关系, 表明了水体 DMS 含量与细胞数量有显著的相关关系^[9]. 本文的结果与他们的研究结果一致.

2.4 塔玛亚历山大藻 DMS/DMSP 释放率与单位细胞 DMSP 含量的关系

从塔玛亚历山大藻藻体单位细胞 DMSP 含量的动态变化来看(图 4), 在生长周期的 0 ~ 14d, 单位细胞 DMSP 含量逐渐下降, 14d 后又开始上升. 这与藻体细胞 DMS/DMSP 释放率动态变化趋势(图 5)相反. Laroche(1999)对海藻 DMS 的研究^[10]也获得相似的结果. 塔玛亚历山大藻单位细胞 DMSP 含量的变化, 在刚接种时, 藻体细胞处于指数生长期, 单位细胞的 DMSP 含量高, 而在藻体细胞的衰老过程, 由于膜的渗透压增大, DMSP 等细胞内含物被释放到藻体外, 因此含量降低.

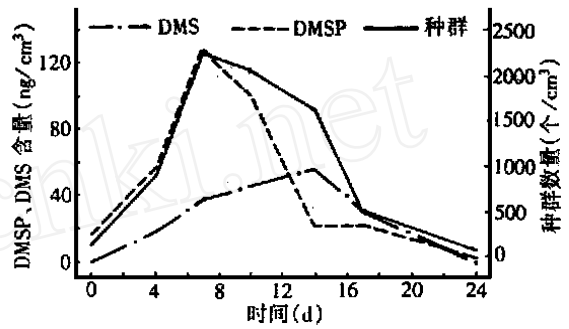


图 3 塔玛亚历山大藻种群数量、藻体细胞内 DMSP 含量以及水体的 DMS 含量的变化
Fig. 3 Growth, DMSP and DMS contents by *Alexandrium tamarense*

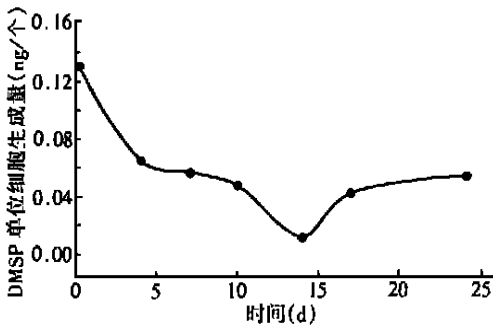


图 4 DMSP 单位细胞生成量的变化
Fig. 4 Change of cellular DMSP production

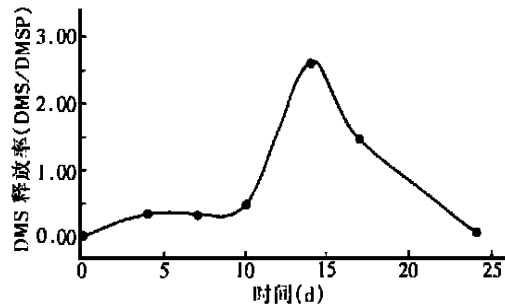


图 5 DMS 释放率的变化
Fig. 5 Change of DMS release rate

3 小结

不同海藻种类细胞 DMSP 含量差异显著; 塔玛亚历山大藻藻体细胞 DMSP 含量变化与该藻细胞数量动态变化趋势相一致, 在生长周期第 7 天达到最高值; 藻体细胞的 DMSP 含量以及释放至水体的 DMS 含量均与藻体细胞数量有显著相关; 单位细胞 DMSP 生成量变化与 DMS 释放量变化呈现相反趋势, 在 DMS 释放量最高时, 单位细胞 DMSP 生成量最低.

参考文献:

[1] Andreae M O. The Ocean As a Source of Atmospheric Sulphur Compounds. Buat-Menard P. The Role of

- Air-Sea Exchange in Geochemical Cycling, Reidel, Dordrecht [M]. 1986. 331 ~ 362.
- [2] Challenger F and Simpson M I. Studies on biological methylation. Part XII. A precursor of the dimethyl sulphide evolved by *Polysiphonia fastigiata*, Dimethyl-2-carboxyethyl-sulphonium hydroxide and its salts [J]. J Chem Soc, 1948, 3:1 591 ~ 1 597.
- [3] 王永华, 焦念志. 顶空气相色谱法测定海水二甲基硫和浮游植物细胞二甲基硫丙酸的研究[J]. 海洋与湖沼, 1996, 27(1): 46 ~ 50.
- [4] Keller M D. Dimethyl sulfide production and marine phytoplankton: the importance of species composition and cell size [J]. Biol Oceanogr, 1989, 6: 375 ~ 382.
- [5] 李炜, 焦念志. 环境因子对三种常见微藻细胞中二甲基硫丙酸含量影响的初步研究[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(6): 635 ~ 639.
- [6] Zhang M P, Cui Z and Cui W, et al. Study on the Dimethylsulfide and Dimethylsulfoniopropionate in Algae by Laboratory Batch Cultures [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 1999, 17(4): 366 ~ 371.
- [7] Cantoni G L and Anderson D G. Enzymatic cleavage of dimethylptiothetin by *Polysiphonia lanosa* [J]. J Biol Chem, 1956, 222: 171 ~ 177.
- [8] Stefels J and Dijkhuizen L. Characteristics of DMSP-lyase in *Phaeocystis* sp. (Prymnesiophyceae) [J]. Mar Ecol Prog Ser, 1996, 131: 307 ~ 313.
- [9] 胡敏, 任久长, 蒋林, 等. 前沟藻 (*Amphidinium hofleri*) 和角刺藻 (*Chaetoceros gracilis*) 二甲基硫生产的实验研究[J]. 环境科学, 1998, 19(6): 6 ~ 9.
- [10] Laroche D. DMSP synthesis and exudation in phytoplankton: a modeling approach [J]. Mar Ecol Prog Ser, 1999, 180: 37 ~ 49.

Study on DMS and DMSP producing by *Alexandrium tamarense*

LIN Yi-ming¹, LI He-yang¹, WANG Da-zi², CHEN Meng²,
YUAN Dong-xing², HONG Hua-sheng²

(1. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2. Environmental Science Research Centre, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The production of DMS and DMSP during *Alexandrium tamarense* growing period by the laboratory culture was discussed in this paper. The results were shown as follows: (1) DMSP production of cells had the same changing trends with cell numbers during *Alexandrium tamarense* growing period, the largest was in the seventh day. (2) The productions of DMSP and DMS of cells were obviously correlated with cell numbers. (3) The cellular DMSP production was opposite to the DMS release rate, the lowest cellular DMSP production appeared when the largest DMS release rate was the largest.

Key words: *Alexandrium tamarense*; DMS; DMSP; growing period