

通过藻类色素分析估测海洋浮游植物生物量和群落组成的研究进展*

RESEARCH PROGRESS ON MARINE PHYTOPLANKTON BIOMASS AND COMMUNITY COMPOSITION DETERMINED FROM ALGAL PIGMENT ANALYSES

高洪峰 焦念志

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

* 对浮游植物生物量和初级生产力的研究是水生态学的重要研究内容之一。如何富集、鉴定和计量这些微小细胞成为日益关注的焦点,电子扫描显微镜和落射荧光显微镜可以提供很多有用的信息,但其准备技术繁复,在一些情况下细胞易被破坏或忽略,因此在群落中的数量估测过低^[8,17],而且很多小细胞由于分类学上缺乏形态特征而难以鉴定。

近年来,藻类色素经常被用于区分天然水中浮游植物不同种类的特征标志。这主要得益于分析技术特别是高效液相色谱(HPLC)技术的发展。国外学者运用HPLC技术对多种浮游植物所含的色素进行了测定,并利用这些特征色素研究了不同海区浮游植物的生物量和群落组成。鉴于此类研究在我国起步较晚,本文综述了浮游植物色素研究领域的进展和分析技术的发展概况。

1 色素分析技术的发展历史和现状

对浮游植物色素的分析可用于浮游植物的分类和生物量的测定。传统上测定藻类色素最常用的方法是分光光度法和荧光分光法,但是这些方法经常不很准确,因为存在以下缺点:

(1)叶绿素b和c甚至细菌叶绿素的吸收带和发射带与叶绿素a的吸收带和发射带重叠。

(2)叶绿素的降解产物(有时甚至是绿色色素总量的主要组分)或者没有被检测,或者同其母体叶绿素一起被检测。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第2860号。
收稿日期:1996年1月18日

(3) 由于不同文献经常采用不同的分光光度方程式, 因而对叶绿素浓度的计算经常产生不同的结果。

(4) 分光光度法不够灵敏, 需要过滤较大体积的水样。

(5) 一些类胡萝卜素(胡萝卜素和叶黄素)不能被检测, 而它们有时是藻体生物量和某些藻类更好的标示物^[16]。

要克服这些缺陷, 必须在测定前先对色素进行分离。柱色谱用于分离植物色素由于灵敏度低, 不适合估测海洋浮游植物生物量。二维的纸色谱已用于培养的浮游植物的色素分离和测定, 然而对天然浮游植物种群的测定不灵敏, 只能作半定量测定。薄层色谱在藻生长旺盛期对色素可进行有效分离, 定量测定准确度也更高。即使如此, 其精确度最好的也只有 $\pm 5\%$, 对叶绿素降解产物和一些叶黄素的分离也不是很有效^[3]。

自从1975年高效液相色谱(HPLC)用于分析色素的首例报道^[6]以来, HPLC作为色素分析的有效手段已得普遍接受。Shoaf^[20]对预先分离掉类胡萝卜素的色素提取液用HPLC分离了叶绿素a和b。Abaychi等^[3]采用正相HPLC对培养的藻体中的叶绿素和类胡萝卜素进行了成功的分离, 然而该方法不适用于水样, 因而不能直接用于从天然水和沉积物中提取的90%丙酮提取液的测定。Brown等^[5]用反向HPLC对淤泥的丙酮提取液中叶绿素a进行了快速测定(约12 min), 但由于分辨率的限制, 包括大多数叶绿素降解产物、叶绿素c和类胡萝卜素等所有极性化合物没能得到很好的分离。Mantoura等^[16]改进了从培养的藻体和天然水样的丙酮提取液中分离叶绿素和类胡萝卜素的方法, 在Hypersil ODS柱上采用离子对技术, 用四丁基铵-甲醇-水(V/V, 10: 10: 80)和丙酮-甲醇(V/V, 20: 80)线性梯度洗脱, 分析了14种叶绿素及其降解产物和17种类胡萝卜素。Wright等^[22]在Radial-Pak C18柱上用90%乙腈的乙酸乙酯作为流动相, 对8种藻的提取物在21 min内对叶绿素及其降解产物和类胡萝卜素进行了分离, 并解析了其44个色谱峰。Kohata等^[14, 15]用Partisil ODS-3柱和离子对方法; 用1.25%四丁基铵-水-丙酮-乙腈(V/V, 5: 25: 20: 50)和丙酮-乙酸乙酯(V/V, 50: 50)线性梯度洗脱分离和鉴定了至少15种色素。

今天, 具有光二极管阵列检测器的数据处理系统在HPLC技术中的应用已能够处理、贮存包括三维色谱图的各种色谱数据和光谱数据。可对未知组分进行

鉴定, 而不需要复杂的操作。然而各种色谱条件(如色谱柱载体材料、流动相溶剂的极性和粘度、柱温以及洗脱速度等)的不同, 适用的对象也不同, 都存在一些局限性, 仍需不断改进和发展。

2 藻类色素用于浮游植物分类及其生物量和群落组成的测定

藻类色素经常作为鉴定不同藻类和估测浮游植物群落组成的特征标示物。叶绿素a存在于所有的光养种群中, 其浓度通常用于估测浮游植物的生物量和生产力, 而其降解产物则用于研究浮游植物种群的生理状况、碎屑含量和摄食过程。如叶绿素酸酯是濒死植物体的特征, 而浮游动物摄食严重时, 会出现脱镁叶绿酸^[3]。其他主要辅助叶绿素(chl. b, chl. C1, C2和C3)、一些类胡萝卜素(如岩藻黄质及其19-衍生物、多甲藻黄素、玉米黄质、葱绿黄质Prasinoloxanthin、别黄质)的存在与否是浮游植物分类的重要特征^[11]。表1列举了海洋浮游植物所含的特征色素^[11], 但也有个别例外, 如甲藻*Gyrodinium aureolum* Hulburt, *Peridinium foliaceum* (Stein) Biecheler和*Ptychodiscus (Gymnodinium) brevis* (Davis) Steidinger都不含多甲藻黄素作为其主要捕光类胡萝卜素^[13, 21, 4]。尽管如此, 对于海水中这些辅助色素的测定仍可以获得有关浮游植物群落组成的很多有价值的信息。例如, 海水中绿藻Chlorophyceae和Prasinophyceae等的存在是由于检测到叶绿素b而得到确认的^[12, 9]。虽然现在认为原绿藻*Prochlorophytes*也是叶绿素b的来源; 隐芽植物*Cryptophytes*是由于检测到别黄质(Alloxanthin)而确认的^[8]。

通过分析特征色素的比例可以估测藻体对生物量的贡献。Gieskes等^[10]采用HPLC技术分析了多种类胡萝卜素和叶绿素的比例, 估测了印尼Banda海的藻类丰度。Everitt等^[7]测定了西赤道太平洋的叶绿素和类胡萝卜素含量, 根据不同藻的叶绿素a与特征色素的比值的不同估测了浮游植物群落组成。

国内通过色素分析估测浮游植物生物量的研究主要集中在用分光光度法和荧光光度法测定叶绿素a的含量。另外, 有几篇利用藻层层析技术分离, 鉴定浮游植物色素的报道^[1, 2], 但整体来说, 国内在该领域的研究仍处于起步阶段, 有待于进一步发展。

表 1 海洋浮游植物中的光合色素

浮游植物	色素
原核生物(蓝细菌)	
聚球藻 <i>Synechococcus</i> (海洋型)	无辅助色素 ¹⁾ 、玉米黄质 ¹⁾ 、藻红蛋白
无辅助叶绿素的真核生物	
<i>Eustigmatophyceae</i>	无辅助色素 ¹⁾ 、角黄质 ¹⁾ 、紫黄质、无隔藻黄质
含叶绿素 C 的真核生物	
硅藻纲	岩藻黄质、硅甲藻黄质、硅藻黄质
<i>prymnesiophyceae</i>	岩藻黄质、硅甲藻黄质、硅藻黄质、19'-乙酰氧岩藻黄质 ¹⁾ (对某些种)
金藻纲	岩藻黄质、硅甲藻黄质、硅藻黄质、玉米黄质、花药黄质、紫黄质 19'-丁酰氧岩藻黄质 ¹⁾ (对某些种)
<i>Raphidophyceae</i>	岩藻黄质、 <i>fucoxanthin</i> 、紫黄质(对某些海洋型)
隐藻纲	别黄质 ¹⁾ 、藻蓝蛋白和藻红蛋白
甲藻纲	多甲藻黄素 ¹⁾ 、硅甲藻黄质、硅藻黄质、双鞭藻黄质、 <i>pyrrhoxanthin</i>
含叶绿素 b 的真核生物	
绿藻纲	叶黄素 ¹⁾ 、玉米黄质、花药黄质、紫黄质、新叶黄质(管藻还含有管藻黄质和管藻素)、不存在 Mg2, 4-D ¹⁾ 类似于高等植物
裸藻纲	<i>Eutreptiellanone</i> (可能存在)、管藻素、不存在 Mg 2, 4-D
<i>Prasinophyceae</i>	<i>Prasinoxanthin</i> 和 Mg 2, 4-D ¹⁾ (存在于某些种)
Ricketts(1970)把 <i>Prasinophyceae</i> 按色素类型分为 4 种 <i>Prasinophytes</i> (如下), 但没进行分类学分类	
(Ricketts 表 2)	叶黄素 ¹⁾ 、紫黄质、玉米黄质、新叶黄质、不存在 Mg 2, 4-D ¹⁾ , 类似于绿藻纲
(Ricketts 表 5)	叶黄素 ¹⁾ 、紫黄质、玉米黄质、新叶黄质、管藻黄质、不存在 Mg 2, 4-D ¹⁾ , 类似于绿藻纲的一些种
(Ricketts 表 3)	管藻素和 Mg 2, 4-D ¹⁾ 、紫黄质、新叶黄质、玉米黄质、叶黄素 K ₂ S
(Ricketts 表 4)	<i>Prasinoxanthin</i> 和 Mg 2, 4-D ¹⁾ 、虾黄质、玉米黄质、新叶黄质、紫黄质

注: 1) 为特征色素或特征色素组合, Mg 2, 4-D 为镁 2, 4-二丁烯 Phaeoporphyrin a₅ 单甲基酯类色素(Ricketts, 1966); 叶绿素 a 存在于所有藻种。

3 结语

综上所述, HPLC 与灵敏的分光光度计结合可对叶绿素和类胡萝卜素进行快速分析, 从而对浮游植物生物量和群落组成作出估测。几种适合海水样品的 HPLC 分析方法也已建立^[10, 16, 22]。然而, 作为藻类特征色素的应用取决于特征色素对某种藻的专一性, 而这方面的研究仍在不断发展中, 新的色素不断被发现。很明显, 很多色素的分布远比以前预计的广泛, 而在一个藻纲中也不是所有藻种都含有某种特征色素, 这必然导致测定结果产生一些偏差, 好在这种情况下不很普遍。随着对藻体特征色素研究的不断深入, 利用 HPLC 技术测定浮游植物生物量和群落组成必然更加快捷和准确。

参考文献

- [1] 李宝华等, 1992. 南极研究 4(4): 24~28.
- [2] 李宝华, 朱明远, 1992. 黄渤海海洋 10(3): 32~37.
- [3] Abaychi, J. K. and J. P. Riley, 1979. *Analytica Chimica Acta* 107: 1-11.
- [4] Bjornland, T. et al., 1984. *Abs. 7th Int. IUPAC Symposium on Carotenoids*, Munich 26.
- [5] Brown, L. M. et al., 1981. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 205.
- [6] Evans, N. et al., 1975. *J. Chromatogr.* 115: 325.
- [7] Everitt, D. A. et al., 1990. *Deep-Sea Res.* 37(6): 975-997.
- [8] Gieskes, W. W. C. and G. W. Kraay, 1983. *Marine Biology* 75: 179-185.
- [9] Gieskes, W. W. C. et al., 1978. *Netherlands Journal of Sea Research* 12: 195-204.
- [10] Gieskes, W. W. C. et al., 1988. *Netherlands Journal of Sea Research* 22: 123-137.
- [11] Hooks, C. E. et al., 1988. *J. Phycol.* 24: 571-580.
- [12] Jeffrey, S. W., 1976. *marine Biology* 37: 33-37.
- [13] Jeffrey, S. W. et al., 1975. *J. Phycol.* 11: 374-384.

- [14] Kohata, K. and M. Watanabe, 1988. *J. Phycol.* 24: 58.
- [15] Kohata, K. and M. Watanabe, 1989. *J. Phycol.* 25: 377.
- [16] Mantoura, R. F. C. and C. A. Llewellyn, 1983. *Analytica Chimica Acta* 151: 297-314.
- [17] Murphy, L. S. and E. M. Haugen, 1985. *Limnol. Oceanogr.* 30: 47-59.
- [18] Ricketts, T. R. , 1970. *Phytochemistry* 9: 1 835-1 842.
- [19] Ricketts, T. R. , 1966. *Phytochemistry* 5: 223-229.
- [20] Shoaf, W. T. , 1978. *J. Chromatogr.* 152: 247.
- [21] Tangen, K. and T. Bjornland, 1981. *J. Plankton Res.* 3: 389-401.
- [22] Wright, S. W. and J. D. Shearer, 1984. *J. Chromatogr.* 294: 281.