

赤潮异弯藻有色可溶性有机物的变化以及对其他微藻的影响

蒋莹, 骆其君, 严小军, 周成旭, 刘宝宁, 王霖红

(宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 赤潮消长显著影响海洋中有色可溶性有机物(CDOM)的变化。赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)是一种常发的鱼毒性赤潮种类, 是产生 CDOM 较显著的种类。本文以赤潮异弯藻 CDOM 为研究对象, 分析了 CDOM 在种群消长中的变化特征, 研究了光对赤潮异弯藻 CDOM 组成物质变化的影响, 并就此变化对其他微藻种群生长造成的影响进行了定量研究。结果表明: (1)以紫外吸收的定量变化为指标, 赤潮异弯藻 CDOM 的量与种群消长呈互逆相关: 种群密度增加, CDOM 降低; 种群密度降低, CDOM 增加; 长期培养种群中, CDOM 含量增加。(2)光对该藻产生的 CDOM 物质组成和定量有显著影响, 紫外照射能显著漂白 CDOM, 类腐殖质和腐殖酸降解明显。(3)该藻 CDOM 变化影响其他微藻种群生长: CDOM 显著促进微小卡罗藻(*Karlodinium micrum*)、小硅藻(*Nitzschia closterium f. minutissima*)的种群生长, 受光降解后对小硅藻的促进作用降低, 但对微小卡罗藻的促进作用不变; CDOM 抑制海洋原甲藻(*Prorocentrum micans*)种群生长, 光降解后, 其抑制作用降低。赤潮异弯藻赤潮产生的大量且稳定的 CDOM 可以影响海洋微生物群落结构。

关键词: 赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*); 有色可溶性有机物(CDOM); 光学性质; 微型藻类; 种群动态

中图分类号: Q89

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2013)02-0030-06

浮游植物代谢和种群衰败是海水中有色可溶性有机物(CDOM, Colored Dissolved Organic Matter)的重要来源。CDOM 富含腐植酸、腐殖质、氨基酸、糖等, 是水域环境中有机碳库的重要组成部分, 与水文特征、碳循环、生物氧化和光散射等有密切关联^[1-6]。CDOM 能有效吸收紫外线^[7], 受光反应生成多种活性产物, 参与生物地化循环过程^[8-9], 可提高生物可利用性, 影响海洋生物特别是浮游植物光合作用与种群生长, 进而影响浮游生物群落结构和功能^[10-12]。

富营养环境中, 频繁发生的赤潮加剧了海水理化性质改变以及海洋生物群落结构变化^[13-14]。赤潮异弯藻是一种常发的鱼毒性赤潮种类, 赤潮持续时间长, 范围大, 不仅直观地造成鱼类受害, 对水质、浮游生物种群生长、群落结构均产生影响^[13, 15-16]。Suksomjit 等^[17]的野外研究发现, 低生物量的赤潮异弯藻赤潮后产生的 CDOM 值, 与高生物量的角刺藻赤潮后产生的 CDOM 值几乎是一样, 说明前者能产生更多的 CDOM。赤潮长时间维持时, 细胞代谢及紫外辐射条件差异会造成 CDOM 物质组成及定量变化^[18-19]。有关赤潮异弯藻赤潮对鱼类等生物致害研究较多, 针对赤潮异弯藻来源的 CDOM 在赤潮期间以及赤潮消退以后的变化特征, 以及这种变化对浮

游植物造成的影响尚未见报道。

本文以实验生理生态学研究方法, 分析了赤潮异弯藻高密度长期维持中, 胞外 CDOM 的相对变化, 研究了光对 CDOM 组成变化的影响, 并分析了这种变化对其他浮游植物种群消长的影响, 以期为该赤潮的环境影响及灾害机理研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 藻种来源

均为宁波大学微藻种质库存藻种, 主要分离自浙江沿海。

1.2 赤潮异弯藻长期培养种群胞外 CDOM 特征实验方法

取预培养至指数期的赤潮异弯藻(分离自象山

收稿日期: 2012-03-28; 修回日期: 2012-09-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(31172448); 浙江省重点基金(Z3100565); 浙江省自然科学基金(LY12D06001); 浙江省自然科学基金(Y505278); 海洋可再生能源专项资金项目(GHME2001SW02); 国家公益性行业(海洋)科研专项经费项目(201105009)

作者简介: 蒋莹(1984-), 女, 浙江宁波人, 硕士, 助理实验员, 主要从事海洋微型藻类生理生态学研究, E-mail: jiangying1@nbu.edu.cn; 周成旭, 通信作者, 副研究员, 主要从事微型藻类研究; E-mail: zhouchengxu@nbu.edu.cn

港), 以 $f/2$ 培养液接种于 500 mL 三角烧瓶, 培养水体 400 mL。培养条件: 4 000 lx(D:L=12:12), 20°C, 盐度 28, 3 平行。隔天或隔数天以血球计数板检测密度, 长期跟踪种群消长(共 55 d); 同期, 冷冻离心收集去藻上清液, 经 0.22 μm 聚碳酸酯滤膜(Whatman)过滤, 取滤液于全波长多功能酶标仪(美国 Thermo 公司)上扫描紫外吸收特征(200~400 nm)。

1.3 光对赤潮异弯藻 CDOM 的类腐殖质、腐殖酸含量影响实验方法

用于实验的玻璃器具经酸泡、去离子水润洗、灭菌处理备用。全部取样过程以无菌操作进行。

CDOM 溶液: 收集平台后期或衰败期赤潮异弯藻液, 除菌过滤收集至棕色储液瓶中, 分数份冷冻保存, 实验时根据需要定量取滤液解冻用于实验。

滤液分装至 9 个具盖广口称量瓶中, 分 3 种处理, 各处理分别设 3 平行。

黑暗处理(Dark): 滤液始终于称量瓶中并用铝箔纸包裹, 仅取样时于暗处打开。

日光灯光照(FL): 每天给予 12 h 光照强度为 1 000~2 000 lx 的日光灯光照, 仅取样时打开盖子。

紫外灯光照(UV): 每天紫外照射 3 h, 照射时打开称量瓶盖, 置于超净工作台上距功率为 40 W 的紫外灯直下方 45 cm 处。其他时间与另两组同处。

样品均置于 20 °C、光照强度 1 000~2 000 lx (D:L=12:12) 的微藻培养室。

参考文献资料^[18], 取 2 组激发波长和发射波长的荧光值为定量指标, 检测滤液中 CDOM 类腐殖质和腐殖酸的变化。其中激发波长(λ_{Ex})和发射波长(λ_{Em})分别为: 类腐殖质荧光($\lambda_{\text{Ex}}/\lambda_{\text{Em}}=350/450$ nm), 腐殖酸荧光($\lambda_{\text{Ex}}/\lambda_{\text{Em}}=345/425$ nm), 取发射波长荧光强度值, 用 QSU 单位表示。以超纯水做对照, 实验进行 9 d。

1.4 CDOM 不同光处理水样对其他微藻种群生长影响实验方法

受试微藻: 海洋原甲藻(*Prorocentrum micans*)、微小卡罗藻(*Karlodinium veneficum*)、小新月菱形藻(*Nitzschia closterium f. minutissima*)。

赤潮异弯藻 CDOM 溶液获取同 1.3。

定量取 CDOM 进行紫外照射 27 h(与 1.3 中紫外照射时长总量相同。UV-CDOM)。取等量不经紫外照射的 CDOM、等量人工海水(SW)^[20], 添加 $f/2$ 营养盐, 形成 3 种海水基质的培养液。

取先期人工海水中预培养至指数期的各微藻, 以 1:1 的比例分别接种至上述 3 种基质的培养液中。实验于 250 mL 三角瓶中, 实验体积 200 mL, 各设 3 个平行, 实验盐度为 25。置于 20 °C、3 000 lx (D:L=12:12) 的光照培养箱中培养。隔天取样, 分别用颗粒计数仪(Casy-TT)检测微藻细胞数量。

2 结果与分析

2.1 赤潮异弯藻种群消长与胞外 CDOM 的变化特征

室内培养时, 赤潮异弯藻可长期维持较高密度。本研究跟踪赤潮异弯藻一次培养过程中的密度变化, 在 55 d 的培养中, 种群可维持相对高密度态, 其间有密度波动。如图 1 所示。

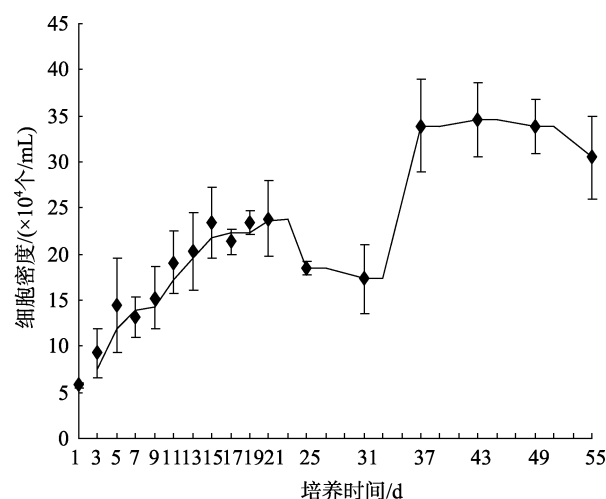


图 1 赤潮异弯藻长期培养过程中(55d)的细胞密度变化
Fig. 1 Variation of *Heterosigma akashiwo* cell number during a batch culture in 55 days

CDOM 有典型的紫外吸收, 因此, 可利用其紫外吸收大小来进行相对定量。分析赤潮异弯藻种群消长发现, 种群密度变化可为几个阶段: 1~19 d, 密度增加; 19~31 d, 密度下降; 31~37 d, 密度增加; 37~55 d, 密度下降。从相应的各时间点 CDOM 紫外吸收特征可以看出, 种群密度增加的 1~19 d 至 31~37 d, CDOM 紫外吸收降低; 种群密度降低的 19~31 d 至 37~55 d, CDOM 紫外吸收增加。种群密度增减与 CDOM 定量多少表现为互逆相关(图 2)。

以固定波长(355 nm)处的吸光值来表征 CDOM 含量相对变化时, CDOM 随种群消长过程中的变化如图 3 所示, 显示与种群消长互逆相关的特征。

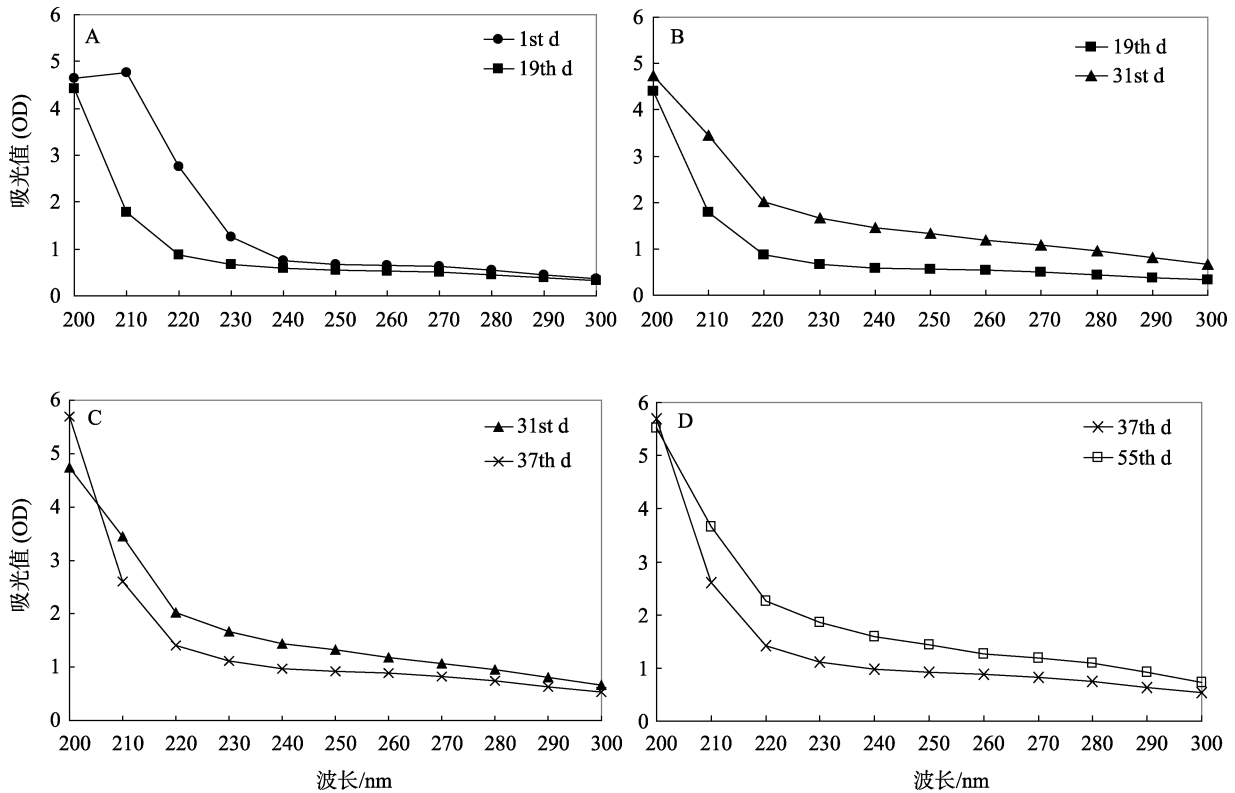


图 2 赤潮异弯藻胞外 CDOM 的紫外吸收(200 ~ 300 nm)在种群消长中的变化

Fig. 2 The UV absorption (200-300 nm) of extracellular CDOM during a long time batch culture of *Heterosigma akashiwo*
 A: 1 ~ 19 d 种群密度增; B: 19 ~ 31 d 种群密度减; C: 31 ~ 37 d 种群密度增; D: 37 ~ 55 d 种群密度减
 A: 1-19th day, cell number increase; B: 19-31st day, cell number decrease; C: 31-37th day, cell number increase; D: 37-55th day, cell number decrease

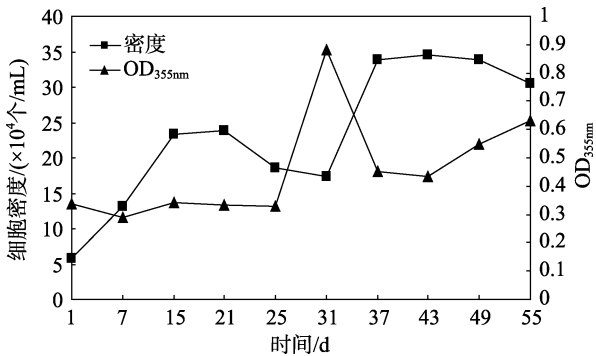


图 3 赤潮异弯藻种群消长与胞外 CDOM 紫外吸光值 (OD_{355nm}) 的互逆变化

Fig. 3 The reciprocal relationship between cell density and the UV absorption (OD_{355nm}) of extracellular CDOM during a long time batch culture of *Heterosigma akashiwo*.

从图中还可看出, 接种初期的种群生长中, CDOM 维持相对稳定; 随着培养时间的延长, CDOM 紫外吸收 OD 值总体增加, 说明种群维持后期, 胞外 CDOM 增加。赤潮异弯藻无细胞壁, 细胞易破碎变

形, 其细胞稳定性与生长状况相关^[21-23], CDOM 随种群的相应变化与细胞代谢和细胞破损相关。CDOM 的最大吸光值出现在长期培养中期(31 d), 此时种群密度处于第一次增殖后的下降期, 此后, 种群密度又上升, 且最大密度高于第一次增殖。由于是一次培养, 过程中未再添加营养盐, 环境相对稳定, 种群在出现 CDOM 最大量之后又进一步增殖, 可能与 CDOM 对赤潮异弯藻种群生长的促进作用相关。赵卫红等^[10]研究表明, 赤潮水中的 CDOM 可促进赤潮异弯藻的种群生长。室内培养时其种群长期维持及其密度消长, 可能同样源于其自身 CDOM 的影响。

2.2 光对赤潮异弯藻 CDOM 中类腐殖质、腐殖酸含量的影响

紫外照射会显著影响腐植酸和类腐殖质的含量, 经过 9 d 间断的紫外照射后, CDOM 中表征这两种物质的荧光值显著下降, 而日光灯照射与无光照的状态一致, 没有降低(图 4)。本研究中, 紫外照射时间总计 27 h 后, 类腐殖质荧光减少了约 30%, 腐殖酸

荧光减少了约 40%，与郭东卫等^[18]对自然水体受天然日光照射时两者的消减结果一致。可见，紫外辐射会显著影响 CDOM 物质组成定量变化，对腐植酸和类腐殖质物质有降解作用。溶液颜色显示，紫外照射处理后的滤液由原来的黄褐色显著变浅，为光漂白过程。而一般的日光灯照射下的昼夜变化不会引起 CDOM 的变化。

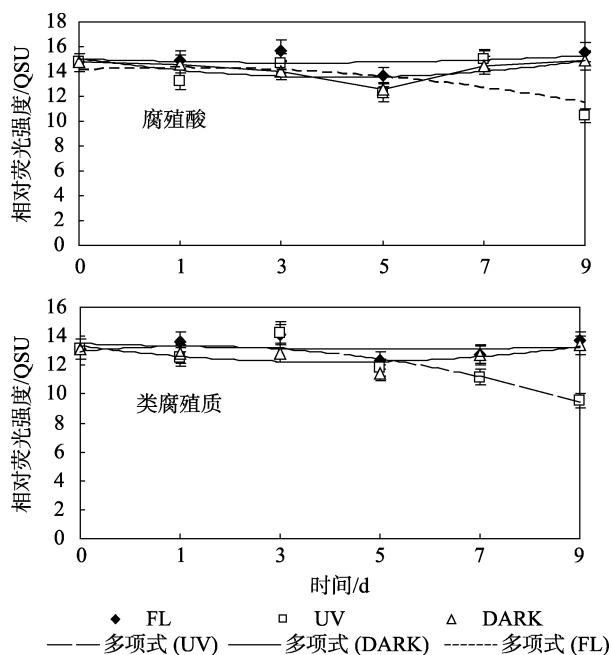


图 4 赤潮异弯藻 CDOM 中腐植酸和类腐殖质在光影响下的相对变化

Fig. 4 The fluorescence variation of humic acid, humus in CDOM of *Heterosigma akashiwo* after treated by different irradiance

FL: 日光灯照射; UV: 紫外照射; DARK: 黑暗
FL: daylight. UV: ultraviolet. DARK: dark)

色氨酸的光降解会产生活性氧自由基^[24]。本研究还进行了针对色氨酸的检测，但未检测到表征色氨酸的荧光特征及其变化，说明赤潮异弯藻 CDOM 中无色氨酸或不可检出。因此，赤潮异弯藻赤潮的活性氧致害过程可能不是由色氨酸的光降解产生的。

2.3 CDOM 不同光处理水样对其他微藻种群生长的影响

图 5 结果显示，添加 CDOM 的培养液可以显著促进微小卡罗藻种群生长，使初期生长相对滞缓的该小型甲藻快速增殖。并且，紫外照射后的 CDOM 作用与 CDOM 原液的作用没有差异；CDOM 对小新月菱形藻种群生长和最大生物量有明显的促进作用，CDOM 原液显著增加其细胞数，经紫外照射处理后，

CDOM 的促进作用降低，但最大生物量仍然高于人工海水培养组；添加 CDOM 原液时，海洋原甲藻的种群生长受到抑制，添加经紫外照射后的 CDOM 时，其抑制作用消失(图 5)。结果显示，CDOM 对不同微藻产生作用时的作用物质可能并不一致。

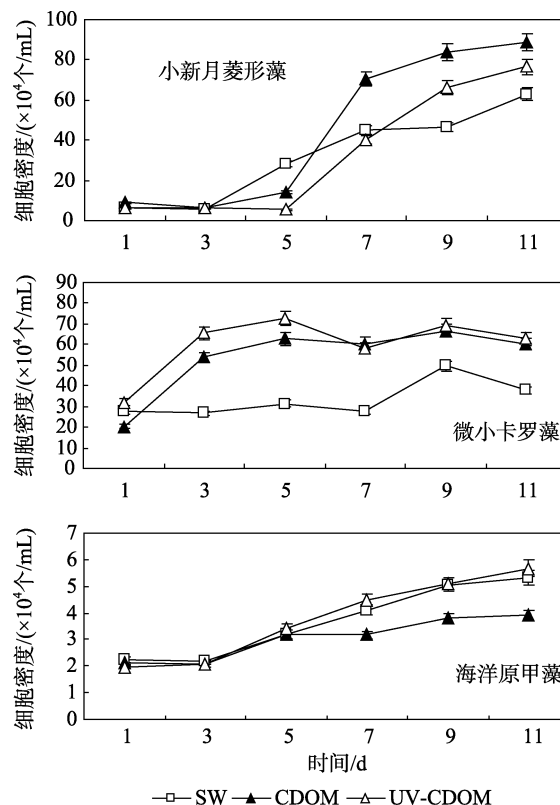


图 5 赤潮异弯藻 CDOM 对 3 种海洋微藻种群生长的影响
Fig. 5 Growth of 3 marine microalgae in CDOM of *Heterosigma akashiwo*

SW: 人工海水; CDOM: 为不经紫外处理的 CDOM 原液; UV-CDOM: 经紫外照射处理的 CDOM 溶液
SW: in artificial seawater as control. CDOM: in colored dissolved organic matter. UV-CDOM: in CDOM after treated by UV radiation

Honjo 等^[15]研究发现赤潮异弯藻能强烈抑制骨条藻的增殖，对三角原甲藻(*Prorocentrum triestinum*)和赤潮异弯藻种群生长则有促进作用。认为赤潮异弯藻细胞表面的一种多糖-蛋白质复合物可能在其中发挥主要作用。野外调查发现，赤潮异弯藻 CDOM 比角刺藻 CDOM 难于降解，维持更长时间，说明两种赤潮 CDOM 的物质组成和生物利用不同^[17]。在室内小体积研究中，CDOM 的光散色性质对其他微藻的影响应该不是主要的，不同的物质组成及其作用差异才是主因。

赤潮异弯藻是一种混合营养藻类，能利用水体有机物质异养生长，可以长时间维持种群密度，

CDOM 对其种群生长有利^[11]。在对赤潮异弯藻长期室内培养中发现, 一次单种培养的赤潮异弯藻种群密度能长期稳定, 胞外介质中大量黄色物质长期存在。有多种毒性的赤潮甲藻微小卡罗藻也属混合营养型, 往往在其他种类赤潮爆发后或伴生出现^[25], CDOM 或光降解后的 CDOM 均可以促进其种群增殖。可见, 赤潮异弯藻赤潮产生的大量且稳定的 CDOM 对海域生态有不可忽视的作用。

参考文献:

- [1] Singh S, D'Sa E, Swenson E. Seasonal variability in CDOM absorption and fluorescence properties in the Barataria Basin, Louisiana, USA[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2010, 22(10): 1481-1490.
- [2] Sathyendranath S. Remote sensing of ocean colour in coastal, and optically-complex, waters[J]. *Reports of the International Ocean-Color Coordinating Group*, 2000, 3: 9-21.
- [3] Gallegos C L. Optical water quality of a blackwater river estuary: The lower St. Johns River, Florida, USA[J]. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 2005, 63: 57-72.
- [4] Branco A B, Kremer J N. The relative importance of chlorophyll and colored dissolved organic matter (CDOM) to the prediction of the diffuse attenuation coefficient in shallow estuaries[J]. *Estuaries*, 2005, 28(5): 643-652.
- [5] Caplanne S, Laurion I. Effect of chromophoric dissolved organic matter on epilimnetic stratification in lakes[J]. *Aquatic Sciences*, 2008, 70(2): 123-133.
- [6] Kieber D J, McDaniel J, Mopper K. Photochemical source of biological substrates in sea water: Implication for carbon cycling[J]. *Nature*, 1989, 341: 637-639.
- [7] Kirk J T O. *Light and photosynthesis in aquatic ecosystem*[J]. Cambridge Britain: Cambridge University Press, 1994: 57-72.
- [8] Moran M A, Zepp R G. Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter [J]. *Limnology and Oceanography*, 1997, 42: 1307-1316.
- [9] Pettersson C, Rahm L, Allard B, et al. Photodegradation of aquatic humic substances: An important factor for the Baltic carbon cycle [J]. *Boreal Environment Research*, 1997, 2: 209-215.
- [10] Kulovaara M, Corin N, Bachlund P, et al. Impact of UV₂₅₄-radiation on aquatic humic substances[J]. *Chemosphere*, 1996, 33: 783-790.
- [11] 赵卫红, 崔鑫, 王江涛, 等. 赤潮水体中胶体物质对赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)和中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)生长的影响[J]. *生态学报*, 2009, 29(2): 573-580.
- [12] Andley U P, Sutherland P, Liang J N, et al. Changes in the tertiary structure of calf-lens alpha- crystalline by near-UV irradiation role of hydrogen peroxide[J]. *Photochemistry and Photobiology*, 1984, 40: 343-349.
- [13] Livingstone R J. Phytoplankton bloom effects on golf estuary: water quality changes and biological response[J]. *Ecological application*, 2007, 17(5):110-128.
- [14] 王林, 赵冬至, 杨建洪, 等. 赤潮对近岸水体生物光学特性的影响 [J]. *环境科学*, 2011, 32(10): 2855-2860.
- [15] Honjo T. Overview on bloom dynamics and physiological ecology of *Heterosigma akashiwo*[M]// Smayda T J, Shimizu Y. *Toxic phytoplankton bloom in the sea*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1993:33-41.
- [16] Kamiyama T, Itakura S, Nagasaki K. Changes in microbial loop components: effects of a harmful algal bloom formation and its decay[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2000, 21: 21-30.
- [17] Suksomjit M, Nagao S, Ichimi K, et al. Variation of dissolved organic matter and fluorescence characteristics before, during and after phytoplankton bloom[J]. *Journal of Oceanography*, 2009, 65: 835- 846.
- [18] 郭东卫, 程远月. 天然日光辐照下河口区 CDOM 的光化学降解[J]. *环境科学*, 2008, 29(6): 1464-1468.
- [19] Sasaki H, Miyamura T, Saitoh S, et al. Seasonal variation of absorption of particles and colored dissolved organic matter (CDOM) in Funka Bay, southwestern Hokkaido, Japan[J]. *Estuarine Coastal Shelf Science*, 2005, 64: 447-458.
- [20] Harrison P J, Waters R E, Taylor F J R. A broad spectrum artificial seawater medium for coastal and open ocean phytoplankton[J]. *Journal of Phycology*, 1980, 16(1): 28-35.
- [21] 周成旭, 严小军, 陈安敏. 亚铁离子对赤潮异弯藻种群消长和部分生化特性的影响[J]. *海洋科学*, 2008, 32(1): 10-13.
- [22] Haque S M, Onoue Y. Effects of salinity on growth and

- toxin production of a Noxious Phytoflagellate, *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) [J]. *Botanica Marina*, 2002, 45(4): 4-11.
- [23] 周成旭, 汪飞雄, 严小军. 温度盐度和光照条件对赤潮异弯藻细胞稳定性的影响[J]. *海洋环境科学*, 2008, 27(1): 17-24.
- [24] Caldwell C R. Ultraviolet-induced photodegradation of Cucumber microsomal and soluble protein tryptophanyl residues *in vitro*[J]. *Plant Physiol*, 1993, 101: 947-953.
- [25] Zhou C, Fernández N, Chen H, et al. Toxicological studies of *Karlodinium micrum* (Dinophyceae) isolated from East China Sea[J]. *Toxicon*, 2011, 57: 9-18.

Changes of chromophoric dissolved organic matter in *Heterosigma akashiwo* (Hada) and its effects on other microalgae

JIANG Ying, LUO Qi-jun, YAN Xiao-jun, ZHOU Cheng-xu, LIU Bao-ning, WANG Lin-hong

(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Received: Mar., 28, 2012

Key words: *Heterosigma akashiwo* Hada; chromophoric dissolved organic matter (CDOM); spectral characteristics; phytoplankton; population dynamics

Abstract: The initiation and collapse of red tide will induce changes of chromophoric dissolved organic matter (CDOM), which may potentially affect the community structure of marine organisms. *Heterosigma akashiwo* (Hada) is one of common red tide species, with ichthyotoxicities, and production of CDOM. In this study, the chemical characteristics of CDOM from *H. akashiwo* have been analyzed along with its population growth cycle, as well as the various light source treatments. The effects of CDOM on different microalgae have been also quantified. The results showed that (1) the production of CDOM is inversely correlated with the population growth, namely, increase of microalgal density accompanied by decrease of CDOM content, vice versa. The production of CDOM is continually increased in the maintenance of high density population. (2) The light irradiation affected content and composition of CDOM significantly, resulting in large degradation of humic substances by UV. (3) CDOM affected the growth of microalgae depending on the species. Stimulating effects were observed on *Karlodinium micrum* and *Nitzschia closterium f. minutissima*, and inhibitory effects on *Prorocentrum micans*. Such effects will be decreased for the CDOM after UV treatment. In conclusion, *H. akashiwo*, especially at large population, can affect the water qualities and phytoplankton community structures through the production of extracellular chromophoric dissolved organic matter.

(本文编辑: 康亦兼)