

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*

李 炜 焦念志

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 以3种常见的海洋浮游藻类——扁藻、杜氏藻和牟氏角刺藻作为实验材料,采用正交方法设计实验条件,研究盐度、温度和光强的变化对藻类细胞内二甲基硫丙酸(DMSP)含量的影响。结果表明,3种藻类细胞DMSP含量相差很大。扁藻DMSP含量最高,其次为杜氏藻,牟氏角刺藻含量最低。种间差别的影响明显高于环境条件的变化对藻细胞DMSP含量的影响。3种环境因子对藻细胞DMSP含量的影响效果不同,盐度变化引起藻细胞DMSP含量的变化最为显著,其次为温度和光强。随着盐度的增加,扁藻、杜氏藻和牟氏角刺藻细胞内DMSP含量均呈上升趋势。

关键词 藻细胞 二甲基硫丙酸 温度 盐度 光强

学科分类号 Q178.53

二甲基硫(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(Andreae, 1986)。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的二甲基硫丙酸(DMSP),是DMS的前体物质。藻细胞中的DMSP含量与其DMS产率直接相关。目前国内外已有很多研究报道了全球多个海区DMSP的浓度情况,但有关环境因子对特定藻类DMSP含量的影响方面的工作尚不多见(Vairavamurthy *et al*, 1985)。本文报告以正交实验设计的方法研究盐度、温度、光强这三种重要的环境因子的变化对扁藻、杜氏藻和牟氏角刺藻细胞内DMSP含量的影响,以探讨不同环境因子的重要性的和藻细胞内DMSP的含量变化特点。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验选用的3种常见的微型单胞藻由青岛海洋大学微藻保种中心提供。其藻种名及所属门类如下:

扁藻(*Platymonas* spp.): 绿藻门, 绿藻纲, 团藻目, 衣藻科, 扁藻属;

杜氏藻(*Dunaliella* spp.): 绿藻门, 绿藻纲, 团藻目, 盐藻科;

* 国家自然科学基金资助项目, 39625008号, 39630060号。李炜, 女, 出生于1973年10月, 硕士, E-mail: jiao@ms.qdio.ac.cn

收稿日期: 1998-12-25, 收修改稿日期: 1999-03-26

牟氏角刺藻 (*Chaetoceros muelleri*): 硅藻门, 盒形藻目, 角刺藻科, 角毛藻属。

1.2 培养条件

培养液采用 *f/4* 培养液配方。各种营养元素均配制成为无菌母液, 将天然海水用高压蒸汽法灭菌后, 加入一定量的无菌母液配制成为培养液。培养所用的全部器皿均经过高压蒸汽法或干热灭菌法灭菌。藻类培养使用 LRH-250-G 型光照培养箱, 培养光源为日光灯, 光暗周期为 12h:12h。培养容器为 2L 玻璃锥形瓶, 培养过程中每天摇动 3 次。

不同盐度培养液的配制方法参照 Vairavamurthy 等 (1985), 即向已知盐度的天然海水中加入一定量的 NaCl (培养液盐度 > 天然海水盐度) 或蒸馏水 (培养液盐度 < 天然海水盐度) 来配制。藻类培养采用一次培养的方法, 实验开始时, 在 1L 已配制好的培养液中接种处于指数生长期的藻种 50ml。

1.3 环境因子设计

为研究温度、盐度和光强这 3 种环境因子的变化对藻细胞内 DMSP 含量的影响, 采用 3 因素 3 水平的正交实验设计方法, 3 种藻各因素各水平的搭配见表 1。

表1 环境因子设置正交实验方案表

Tab.1 The experimental design of the three environmental factors

| 组别 | 扁藻 | | | 杜氏藻 | | | 牟氏角刺藻 | | |
|----|--------|-----------------------------|----|--------|-----------------------------|----|--------|-----------------------------|----|
| | 温度(°C) | 光强 (mW/cm ²) | 盐度 | 温度(°C) | 光强 (mW/cm ²) | 盐度 | 温度(°C) | 光强 (mW/cm ²) | 盐度 |
| 1 | 23.0 | 1.020 | 20 | 23.0 | 1.020 | 30 | 23.0 | 1.020 | 10 |
| 2 | 23.0 | 2.032 | 40 | 23.0 | 2.032 | 55 | 23.0 | 2.032 | 20 |
| 3 | 23.0 | 3.104 | 60 | 23.0 | 3.104 | 80 | 23.0 | 3.104 | 30 |
| 4 | 18.0 | 3.104 | 40 | 18.0 | 3.104 | 55 | 18.0 | 3.104 | 20 |
| 5 | 18.0 | 1.020 | 60 | 18.0 | 1.020 | 80 | 18.0 | 1.020 | 30 |
| 6 | 18.0 | 2.032 | 20 | 18.0 | 2.032 | 30 | 18.0 | 2.032 | 10 |
| 7 | 28.0 | 3.104 | 20 | 28.0 | 3.104 | 30 | 28.0 | 3.104 | 10 |
| 8 | 28.0 | 1.020 | 40 | 28.0 | 1.020 | 55 | 28.0 | 1.020 | 20 |
| 9 | 28.0 | 2.032 | 60 | 28.0 | 2.032 | 80 | 28.0 | 2.032 | 30 |

1.4 观测方法

1.4.1 藻细胞计数 测定藻细胞个数的方法采用血球计数板显微镜目视计数法, 每 1—2d 测定 1 次。

1.4.2 DMSP 的测定 采用的顶空气相色谱法 (王永华等, 1996) 测定微藻细胞 DMSP。用低压真空抽滤法过滤一定体积的藻培养液, 抽滤负压小于 20kPa。所用滤膜为 Whatman GF/F 玻璃纤维滤膜。将滤膜放入 71ml 顶空瓶中, 加入 5.0ml 10mol/L 的 NaOH 溶液, 置 60°C 恒温箱中放置 16h, 藻细胞受碱作用分解释放出 DMS。取 2.0ml 顶空气体, 用气相色谱-火焰光度检测法测定 DMS, 由顶空瓶中 DMS 的浓度推算出藻细胞内 DMSP 的含量。

2 结果与讨论

2.1 不同实验条件下藻细胞 DMSP 含量

在扁藻、杜氏藻和牟氏角刺藻的各 9 个实验中,当藻细胞生长达到指数生长期时,藻细胞内 DMSP 的含量见表 2。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。由实验结果可知,不同种类藻细胞之间 DMSP 含量的差别很大。扁藻细胞 DMSP 含量要高出杜氏藻近 100 倍,而杜氏藻的 DMSP 含量又比牟氏角刺藻高出 10 倍左右。Keller(1988/1989)对不同种海洋浮游藻类细胞内 DMSP 含量进行比较研究后发现,藻细胞 DMSP 含量与其分类位置有很大关系,横烈甲藻纲(Dinophyceae)和 Prymnesiophyceae 纲中的大部分成员都是 DMSP 的高产种。但 Keller(1988 / 1989)同时又发现,同属横烈甲藻纲的 *Gyrodinium aureolum* 和 *Protogonyaulax tamarensis* 细胞 DMSP 含量可相差 300 倍以上。扁藻和杜氏藻都属于绿藻门绿藻纲团藻目,但其细胞 DMSP 含量却相差如此之大,表明海洋浮游藻类细胞内的 DMSP 含量具有很大的种间差异性。

扁藻在 9 个实验中细胞 DMSP 含量最大值与最小值的比值为 3.0,杜氏藻的为 4.2,牟氏角刺藻的为 5.3。由此可见,种间 DMSP 含量的差别要高于某一种藻在不同的环境条件下其细胞内 DMSP 含量的差别。此结果表明,在研究实际海区水体中 DMSP 浓度的影响因素时,不但要了解此海区的浮游植物总量,还应该了解海区中浮游植物的种类组成和各类群所占比例。

表2 三种单胞藻指数生长期细胞中DMSP含量(ngDMSP/10 000 cells)

Tab.2 The cellular DMSP contents (ngDMSP/10 000 cells) of three algae at their exponential growth stages

| 实验号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|-------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 扁藻 | 4.25 | 6.71 | 8.13 | 6.02 | 7.57 | 3.68 | 5.84 | 7.14 | 11.21 |
| 杜氏藻 | 0.072 | 0.105 | 0.133 | 0.092 | 0.129 | 0.039 | 0.085 | 0.110 | 0.162 |
| 牟氏角刺藻 | 0.008 2 | 0.010 0 | 0.032 6 | 0.019 8 | 0.031 3 | 0.014 5 | 0.010 1 | 0.021 1 | 0.043 2 |

2.2 正交实验结果分析

2.2.1 环境因子影响显著性分析 用方差分析法对正交实验所得结果进行分析,温度、盐度和光强 3 种环境因子的变化对实验藻细胞 DMSP 含量影响的显著性结果见表 3。结果表明,盐度变化对扁藻、杜氏藻细胞内 DMSP 含量的影响都是显著的。对牟氏角刺藻来说,盐度变化对其 DMSP 含量有影响。温度变化对扁藻和杜氏藻细胞内 DMSP

表3 环境因子对三种单胞藻的细胞DMSP含量影响的显著性分析

Tab.3 Statistical analysis of the significance of the effects of the three environmental factors on the cellular DMSP contents of three algae

| 方差来源 | 扁藻 | | | 杜氏藻 | | | 牟氏角刺藻 | | |
|------|-------|-------|------|----------------------|-------|------|----------------------|-------|-----|
| | 平方和 | F | 显著性 | 平方和 | F | 显著性 | 平方和 | F | 显著性 |
| 温度 | 8.56 | 7.98 | 略有影响 | 1.6×10^{-3} | 4.21 | 略有影响 | 9.5×10^{-5} | 1.25 | 不显著 |
| 光强 | 1.18 | 1.10 | 不显著 | 4.7×10^{-6} | 0.01 | 不显著 | 9.0×10^{-6} | 0.12 | 不显著 |
| 盐度 | 28.82 | 26.84 | 显著 | 8.7×10^{-3} | 23.25 | 显著 | 1.0×10^{-3} | 13.18 | 有影响 |
| 误差 | 1.07 | | | 3.7×10^{-4} | | | 7.6×10^{-5} | | |
| 总计 | 39.64 | | | 0.011 | | | 1.2×10^{-3} | | |

注:因 $F_{0.01}(2,2)=99$,若 $F>99$,则显著性为高度显著;因 $F_{0.05}(2,2)=19$,若 $F>19$,则显著性为显著;因 $F_{0.10}(2,2)=9$,若 $F>9$,则显著性为有影响;因 $F_{0.20}(2,2)=4$,若 $F>4$,则显著性为略有影响

含量略有影响,而光强变化对3种实验藻类细胞 DMSP 含量都没有明显的影响。可见对扁藻和杜氏藻细胞内 DMSP 含量来说,这3种环境因子影响重要性的主次顺序是盐度 > 温度 > 光强。此外,虽然盐度在扁藻、杜氏藻和牟氏角刺藻的实验中都是最重要的影响因素,但对不同藻类来说,盐度的变化对其细胞内 DMSP 含量影响的显著性是有差异的,盐度的 F 值在扁藻实验中为 26.84,在杜氏藻实验中为 23.25,而在牟氏角刺藻实验中为 13.18。这可能是因为这3种藻类对盐度有不同的适应范围,且对盐度变化的敏感性不同所致。

2.2.2 环境因子水平变化趋势分析 在正交实验中,各因素各水平的平均效果的变化趋势反映了各因素变化对实验结果影响的规律性。本实验中,某一因素、某一水平的平均效果即为此环境因子取此一水平时所得的3个藻细胞 DMSP 含量结果的平均值。3种单胞藻各因素的水平变化趋势见表4。由表4可知,随着盐度的增加,3种实验藻细胞 DMSP 含量均呈上升趋势。这与 Vairavamurthy 等(1985)的结果一致。可见扁藻、杜氏藻和牟氏角刺藻细胞内的 DMSP 也具有调节其细胞渗透压的作用。单从盐度的角度来说,藻类在不同的生活环境中,其细胞内 DMSP 的含量是不同的,由此可能会导致其 DMS 产量的变化,影响到其对水体中 DMS 浓度的贡献大小。例如,在盐湖和盐沼中生活的杜氏藻,其细胞中 DMSP 的含量可能要高于在正常盐度的海水中生活的同种藻类。牟氏角刺藻为沿岸性半咸水种类,可在盐度很低的水中生长,在较高盐度的海水中也能生长繁殖。可以推断,在河口低盐环境中生活的牟氏角刺藻的 DMSP 含量可能低于远离河口的海水中的牟氏角刺藻。从结果中还可以看出,随着环境温度的上升,扁藻和杜氏藻细胞内 DMSP 含量也有所增加,但对牟氏角刺藻来说,却没有这种变化趋势,这可能是种间差异造成的。总之,单胞藻细胞的 DMSP 产量受各种因素制约,其调控机制还有待进一步研究。

表4 环境因子对3种单胞藻细胞DMSP含量(ngDMSP/10 000cells)的影响

Tab.4 The effects of environmental factors on the cellular DMSP contents of three algae (ngDMSP/10000 cells)

| 藻种 | 盐度 | DMSP含量 | 温度(℃) | DMSP含量 | 光强(mW/cm ²) | DMSP含量 |
|-------|----|--------|-------|--------|-------------------------|--------|
| 扁藻 | 20 | 4.59 | 18.0 | 5.76 | 1.020 | 6.32 |
| | 40 | 6.62 | 23.0 | 6.36 | 2.032 | 7.20 |
| | 60 | 8.97 | 28.0 | 8.06 | 3.104 | 6.66 |
| 杜氏藻 | 30 | 0.065 | 18.0 | 0.087 | 1.020 | 0.104 |
| | 55 | 0.102 | 23.0 | 0.103 | 2.032 | 0.102 |
| | 80 | 0.141 | 28.0 | 0.119 | 3.104 | 0.103 |
| 牟氏角刺藻 | 10 | 0.011 | 18.0 | 0.022 | 1.020 | 0.020 |
| | 20 | 0.017 | 23.0 | 0.017 | 2.032 | 0.023 |
| | 30 | 0.036 | 28.0 | 0.025 | 3.104 | 0.021 |

3 结语

本文实验结果表明,不同藻类之间细胞 DMSP 含量的种间差别非常显著。扁藻细胞内的 DMSP 含量远高于杜氏藻和牟氏角刺藻,其中又以牟氏角刺藻 DMSP 含量为最低。藻细胞种间差别对其 DMSP 含量的影响明显高于环境条件变化造成的影响。不同环境因子对藻细胞内 DMSP 含量的影响有差别,盐度的变化引起藻细胞 DMSP 含量的变化最为

显著,其次是温度和光强。随着盐度的增加,扁藻、杜氏藻和牟氏角刺藻细胞内 DMSP 的含量均呈上升趋势,这为 DMSP 在海洋藻类细胞内具有调节渗透压的功能提供了证据。但同一环境因子的变化对不同藻种影响的显著性是不同的。显然,藻细胞内的 DMSP 含量受到多种因素的制约。

参 考 文 献

- 王永华,焦念志,1996. 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. 海洋与湖沼, 27(1):46—50
- Andreae M O, 1986. The Ocean As a Source of Atmospheric Sulphur Compounds. In: Buat-Menard P ed. The Role of Air-sea Exchange in Geochemical Cycling. Reidel, 331—362
- Challenger F, Simpson M I, 1948. 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 Chem Soc, 3:1 591—1 597
- Keller M D, 1988 / 1989. Dimethyl sulfide production and marine phytoplankton: the importance of species composition and cell size. Biol Oceanogr, 6:375—382
- Vairavamurthy A, Andreae M A, Iverson R L, 1985. Biosynthesis of dimethylsulfide and dimethylpropiothetin by *Hymenomonas carterae* in relation to sulfur source and salinity variations. Limnol Oceanogr, 30:59—70

EXPERIMENTAL STUDIES ON ENVIRONMENTAL FACTORS REGULATING INTRACELLULAR DIMETHYLSULPHONIO- PROPIONATE OF THREE UNICELLULAR ALGAE SPECIES

LI Wei, JIAO Nian-zhi

(Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

Abstract Three unicellular algae species, *Platymonas* spp., *Dunaliella* spp. and *Chaetoceros muelleri*, were selected for lab culture to investigate the influence of salinity (10—80), temperature (18.0—28.0°C) and light (1.020—3.104mW / cm²) on the intracellular dimethylsulphoniopropionate (DMSP) content. The results show that the cellular DMSP contents of these three algae were different, with *Platymonas* spp. being the highest and *Chaetoceros muelleri* the lowest. The differences in cellular DMSP content among different species were larger than the differences caused by environmental factors on the same species under the experimental conditions. Among the three environmental factors, the influence of salinity was the most significant, followed by temperature. Light, as a basic ecological factor, showed little effect on the production of DMSP. The intracellular DMSP contents of all these algae increased with increasing salinity of the media, but the degree of increase differed among different species.

Key words Algae cells DMSP Salinity Temperature Light

Subject classification number Q178.53