

## 国外論文譯术

### 应用 $C^{14}$ 測定浮游生物初級生产力的方法\*<sup>1)</sup>

M. S. Doty M. Oguri

当美国原子能委员会将放射性  $C^{14}$  制成了适用于常规实验室的剂量后,海洋初級生产力的实际测定才成为可能。应用这一同位素作为定量的示踪剂,使我们能够通过浮游植物羣落的光合作用测出无机碳轉化成为食物的速度。

測定結果是按照单位時間和单位水体积內所固定的碳的淨量来計算的,人們由此能够以有机物的方式計算出能量累积的速度,这也就是我們常說的淨初級生产力。

总之,此方法包括將載带  $C^{14}$  的碳酸鈉加到水样中,再將水样放在同一的光照条件下培养一段時間。在这段時間內,水样中所进行的光合作用將利用溶解在水中的无机碳化合物,包括比例不同的碳同位素。通过光合作用固定到細胞中的碳,在随后进行的过滤中被截留在滤膜上,而在溶液中的无机碳則通过去了。如果在实验之初水样中的  $C^{14}$  (每分鐘的核蜕变数)和总碳量(毫克数)之比为已知,那么在已知水样体积和一定的培养時間內,我們根据細胞的放射性的增长就可以計算出单位体积和单位時間內所固定的碳量。这就是我們認为的生产力的測定。

在过去几年內,夏威夷大学植物系开展了这一方法,在那儿它已成为海洋調查的常规內容。关于对这一方法的发展曾在好些會議上多方面地介紹过,并散发了复印的报告(Doty, 1954a, 1955, 1956)。現在感到有必要將它正式发表出来,以便于将来参考。同时,还加进了关于我們对此方法在操作方面的一些研究結果。并且尽可能完整地將有关这一方法及其应用結果的論文和副本都收集到本文的文獻目录中来。

Stemann-Nielsen 第一个提出了这一方法(1951),并且在“Galathea”号的深海調查中应用了这一方法(1952a,b; 1954)。在那以后,Stemann-

Nielsen (1955a), Riley (1953), Ryther (1956a,b), Ryther 和 Vaccaro (1954), Vaccaro 和 Ryther (1954)曾发表了許多評論以及对这一方法的改进。

这一方法已經証明是有效的,除了上述的以外,它已被 Brouardel 和 Rinck (1956), Doty 等 (1955, 1956a,b, 1957), Guillard 等(1955), King 等 (1957), Miyake (1954), Steemann-Nielsen (1955a, b) 等人应用于有关浮游植物生产力的各种問題上。

本文将就下列几部分,分別叙述如后:

- I. 浮游植物样品的采集与处理;
- II. 放射化学的操作步驟;
- III. 計数与計算。

\* 本方法是根据夏威夷大学研究委员会与美国原子能委员会簽訂的 AT-(04-3)-15 号合同进行的。

- 1) 編者按: Doty, M. S. 和 M. Oguri 著 “The Carbon-Fourteen Technique for Determining Primary Plankton Productivity” 一文原載于 Publ. Staz. Zool. Napoli, Vol. XXXI, suppl. pp. 70-94, 1959。第一作者是美国夏威夷大学植物学教授。文中“primary productivity”一詞譯法甚多,除了本文所采用的“初級生产力”以外,还有“基本生产力”、“原始生产力”、“原初生产力”等。希望海洋及湖沼科学工作者进行必要的討論,取得一致的意見,确定一个共同譯法。水域初級生产力是现代海洋学与湖沼学的基本問題之一。国际間对这方面的研究工作,从本世紀的50年代初期应用  $C^{14}$  同位素方法后,有很大的发展,特别是近几年来,每年都有大量的文献发表。由于  $C^{14}$  方法具有灵敏度高、操作簡便和节省人力等优点,所以,最近一、二年,这个方法也引起了我国海洋、湖沼工作者的重視,国内已有不少单位正在准备或者已經开始了这方面的研究工作。本文比較全面而詳尽地介紹了这一方法,特刊載于此,供讀者参考。

本方法在进行初期,曾得到不少的单位和个人在多方面予以帮助,其中主要的如 T. S. Austin 先生和美国野生生物服务部太平洋渔业调查机构,作者借此表示谢意。R. Guillard 博士, E. C. Jones 先生, G. King 博士, J. V. Landham, R. Nishioka, R. Pyle 和 C. Suzuki 等研究助理人员在工作发展的各阶段中,每个人都作出了一定的贡献。

## I. 浮游植物样品的采集与处理

### 1. 采样

对各种采样方法进行的比较(表1)表明,用塑料桶汲取水样可以得出最高的生产力测定结果。金属器皿不应和水样接触,因为水样和金属或其他物质接触后,会大大地降低对碳的固定。表2说明了和各种物质接触后产生的后果。

表1 采样方法与来源的比较  
(以标准方法的数值为100)

塑料桶和漏斗(标准方法)	100	南生采水瓶	31.4
用铁质离心泵打水,经过塑料管		另外一个南生采水瓶	34
在 Salpa 2号站	8.9	塑料瓶(灌满),见光	82
在 Salpa 3号站	8.3	塑料瓶(灌满),黑暗*	29.0
在 Salpa 4号站	5.4	Guillard 采样器,见光	103
打水方法同上,见光	6.5	Guillard 采样器,见光	96
打水方法同上,见光	8.5	Guillard 采样器,黑暗	70.3
打水方法同上,黑暗*	75.9	Snatch 型采样瓶	107
		Van Dorn 型采样瓶	100

\* 相当于黑瓶的百分比值。

以往曾经考虑到样品必须不受较强的摇动,因为这也降低固定作用。最近对此特殊问题的研究表明,情况却完全相反。搅动水样使固定作用提高了30—50%。因为这种增加是相对的并不决定于搅动的程度,可以认为搅动作用仅仅破坏存在于浮游生物细胞附近的有限扩散梯度而已。

表2 样品瓶内放置小塊物質与水样接触的影响  
(以标准方法的结果为100)

塑料桶与漏斗(标准方法)	100	Tygon*	49.6
塑料水管	49.5	Lucite**	108
胶合板	38.7	Lucite	97.6
合成橡胶	25.7	有机玻璃	97.6
		石蜡	95.2

\* 一种塑料(译者注)。

\*\* 一种荧光性树脂(译者注)。

采样应尽可能多采一些,并尽可能远离船体上有任何排出物的地方(即远离船舱污水)。

每次都是将水样注满三个同样大小的具塞 Pyrex 玻璃瓶。其中一个瓶子包有不透光的材料,另外两个瓶子是透明的。所用的瓶子全都是250毫升的所谓储酸瓶,我们只挑选了总体积非常接近276毫升的瓶子。

### 通用的三种采样法

(1) 对表层的水样,首先用一个塑料桶吊起一桶海水,将桶冲刷一遍倒掉,然后采样;所采水样是通过先用海水冲刷过的塑料漏斗注入三个样品瓶内的。

(2) 从水表面以下一直到20米深度以内可采用“Snatch”型采样瓶。这种采样瓶包含一只1升的塑料瓶和一个橡皮塞子,二者各用细绳吊住。瓶底坠一重物,并且按上橡皮塞后可将采样瓶沉到所欲放置的深处。然后,借与塞子相连的细绳拔出瓶塞使采样瓶灌满,即将充满了水样的瓶子拉起来。将水样直接由塑料瓶灌入样品瓶。看来,这种采样法得出的结果可与塑料桶采样法所获结果相比拟(表1和表3)。

表3 两种表层水样采集方法的比较

采水器	培养1小时的计数/分
第一组	
塑料桶	27
	21
	31
“Snatch”型采样瓶	29
	25
“Snatch”型采样瓶	28
	30
第二组	
塑料桶	175
“Snatch”型采样瓶	120
	133

(3) “Van-Dorn”采样器(Scripps 海洋研究所,1955)是用来获取深度20米以下的样品,并且安置几个采样器时,就可以采集几个水层的样品。它包括一个4吋直径的塑料圆筒,两端可以通过一个闭锁装置被二个橡皮碗所封闭(即疏通下水道用的那种橡皮碗)。采样器准备使用时,将其两端拉开并固定于闭锁装置上,如果要在一次应用几个采样器取样时,可在闭锁装置上再挂上击锤。然后把这一装置固定于水文校车的钢丝绳上,钢丝绳放出直到把采样瓶放到所希望的深度,放下击锤击下闭锁装置使采样瓶关闭。当采样瓶被拉

上后直接由一根与下端的泄水孔相啣接的塑料管注滿样品瓶。这种采样器較所有其他类型的都要优越,比如它在任何深度都可以操作,所获結果可与塑料桶样品的結果相比拟(表 1),并且在构造上又可以在同一根鋼絲繩上安置几个采样器以采获不同深度的样品。

### 2. 放射性碳酸鈉溶液的加入

为了避免沾染,只有洁淨的玻璃器可以和放射性碳酸鈉母液接触,否則可能由于轉变成沉淀或  $CO_2$  而造成  $C^{14}$  的減少,也可能影响到样品中有机体固定碳的能力。把放射性溶液分装到安甌中并經過密封和杀菌,既可以避免一系列的困难又可以提高准确度。

在进行实验或調查时加入到每个样品瓶中的

放射性剂量和其他相应的資料都要記錄在如表 4 和表 5 所示的資料卡片上。

表 4

調查或实验.....
起迄日期.....
野外观察者.....记录本.....頁数.....
放射性强度.....
(母液编号* )
本底計数率.....
計数操作者: 日期:
計算者: 日期:
計算者: 日期:
計算差异更正者:
校对并記錄結果者:

表 5  $C^{14}$  母液: 4 号 調查操作者: H. M. Smith 37

条件日期地点或站位	瓶号	放入時間	取出時間	膜片号	原始数据	标准計数	校准后的原始計数	每分鐘計数	減除了本底的每分鐘計数	每分鐘平均計数	培养時間	白瓶計数減黑瓶計数	毫克碳/小时/米 <sup>3</sup>
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
4 号站						123,480/5							
0800	L*137	0806	1,406	910	1,275/5		1,291	258	233	233	0.6	189	0.1416
11/21/56	L126			911	1,075/3		1,070	357	332	332		288	0.2158
174°12'W						125,626/5							
18°07.5'N	D*51			912	417/6		415	69	44	44			
5 号站	L152	0810	1,410	913	1,128/6		1,129	188	163	159	0.6	121	0.0907
0803						124,850/5							
11/22/56	L143			914	1,080/6		1,081	180	155				
178°03.4'W	D37			915	434/7		439	63	38	38			
17°31.9'N						123,509/5							

\* L 为白瓶, D 为黑瓶(譯者注)。

### 沒有安甌时同位素碳溶液的加入

母液在正式使用的前一天,先用直径为 15/16 吋的 Millipore AA 等級滤膜在一个 Tracerlab E-8B 型的沉淀装置上进行过滤。用一支洁淨并带刻度 1 毫升的自动吸液管将部分滤过的母液吸出。把  $C^{14}$  溶液注加到滿盛水样的样品瓶底部。从样品瓶內抽出吸液管时,不得吸入一点样品。吸液管外壁应立即用 Kleenex<sup>2</sup> 擦拭,通常留在管尖上的液滴也用它擦掉。随后将样品瓶塞上。

### 用安甌內的母液加入同位素碳溶液

安甌的尖部被折去后。管內的溶液是用一支与 1—2 毫升的自动吸液管相联接的洁淨的玻璃

移液管来吸取的。将溶液释于样品瓶的底部,从样品瓶上半部吸出一些水样冲洗空安甌。然后将用以冲洗的水样注回样品瓶的中部,再用瓶口部分的水样冲洗移液管,随后即将瓶塞上。

用封装在安甌內的  $C^{14}$  液比用大量母液要好得多。应用大量母液所得結果較用蒸汽灭菌处理过的安甌母液所得的稳定性差。在实验室內吸取安甌內的母液时可以做到各安甌間的变异系数不超过 1.5。

### 3. 在照光装置內培养

为了获得測定結果的主要差异是由于样品的种种变异所引起,故样品的培养是在海面的温度

2) 系一种軟紙(譯者注)。

和光线条件相一致的情况下进行的。我们所用的几种培养器(图 1, 2)都供有流动海水, 当船在航行时不断通过船上的供水系统打水, 因而使培养

器中的温度和供水系统的温度差异保持在 1 度以下。照明采用荧光灯管, 强度保持在 1,500—1,800 呎烛光。两种不同类型的培养器所用的荧光灯管

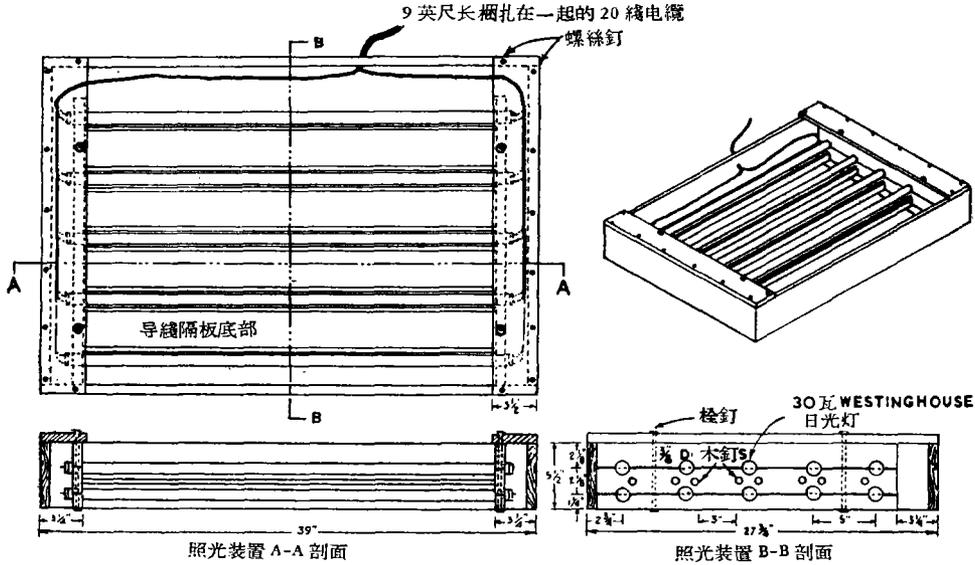


图 1

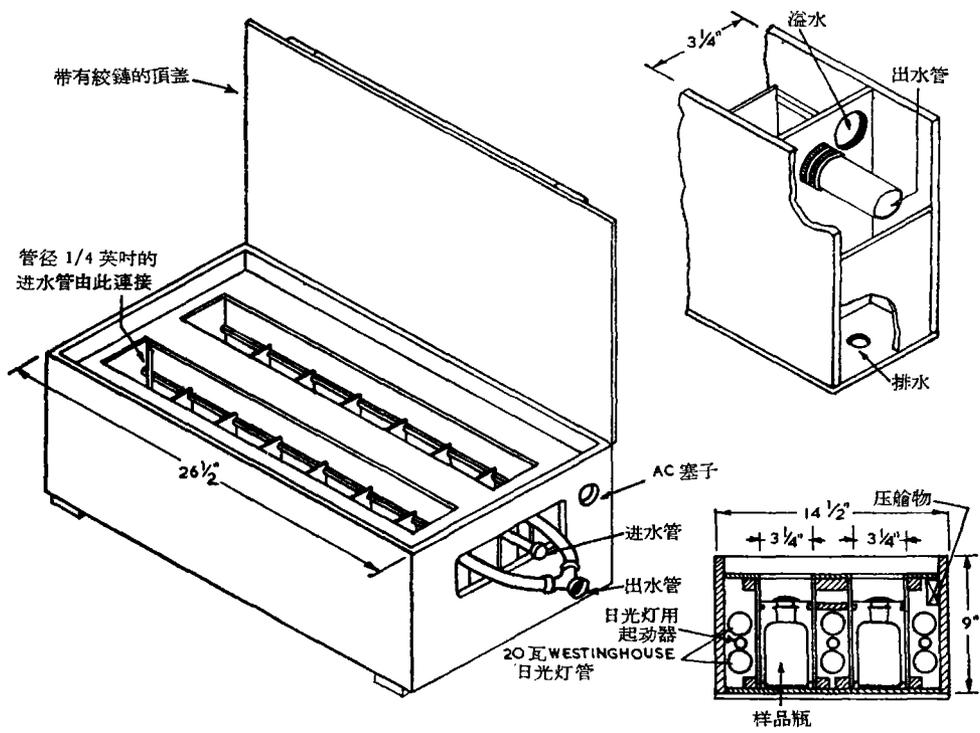


图 2<sup>3)</sup>

3) 图中“压舱物”系“镇流器”之误(译者注)。

都是直型的。

这两种培养器都不象圆型的那样在电线和环形灯管的联接处具有一些黑暗的地方 (King, Austin and Doty 1957, Fig. 5)。直型灯管最易得到。因为荧光灯的发射光谱随涂料不同而改变,所以在挑选灯管时必须十分小心地查驗各灯管是否具有同样的荧光涂料。现在我們应用的培养器都采用 Westinghouse “冷白” 荧光灯管 (circline, standard or thinline)。

在进行培养前应使“黑瓶”的頂端部分完全不漏光。方法是用一块方形的铝箔,連瓶頸一起,將瓶塞包紧。如再次使用铝箔时,必須逐个檢驗箔上是否有洞孔。

不透光的黑瓶是用和照光用的白瓶完全一样的瓶子接連地包上几层不透光的带子再涂以黑漆制成。这种涂黑操作要作得十分彻底,以便使瓶內感光灵敏的胶片在太阳光下晒上几小时也不致曝光。

注加过  $C^{14}$  的瓶子应立即放入培养器內。在资料卡的 C 項上填写“放入時間”时,要与 B 項的瓶号栏相对(表 4 和表 5)。

一般地说,荧光灯管除了两端几吋外,各部分的发光强度大致是均匀的,因此,黑瓶都放在靠近灯管的两端。对于使用环型灯管的培养器来说,黑瓶都是放置在正对着灯管和电线相连接不照光的那一面。如果样品瓶的数量太多以致培养器內容納不下时,那么可以将黑瓶放置于一个水桶或者水槽中。每只 276 毫升的样品瓶內注入  $C^{14}$  量为每分鐘  $5 \times 10^6$  計数时,培养的时间应为 2—8 个小时。如果培养是在早上,开始的时间又足够早的话,那么在这样一段培养時間內,碳在样品瓶中的固定作用几乎是直綫上升的。因而需要較长的時間使更多量的  $C^{14}$  能結合到細胞中去成为固定态的碳,这才有可能用較短的計数時間达到統計学上所要求的准确度。由于一般的水文观测站多是每 6 小时就設有一个,我們原来就是考虑到这一点后,再选择培养時間的。

在采样或培养期間,有时也常常提出攪动或攪拌所引起的影响等問題。Streemann-Nielsen 在培养过程中使样品瓶內的水不断地混合。其他一些人(包括我們在內)則沒有这样作。在我們的早期工作中得到的一些实验結果(即表 1 中的一部分数字)表明应该慎重地对待水样的攪动問題。以后我們并用塑料桶和 Snatch 型瓶采样得出了

同样的結果(Doty and Oguri, 1957, 图 2)。因此我們曾預先假設,攪动水样非但不会增高生产力的測定值甚至还有可能降低,还設計了一些实验时这种假設进行檢驗。在这些对照实验中(表 6),不論样品是在培养之前或者是培养期間內进行攪动常常发现固定作用有显著的增高。因此我們不必对各种实验处理进行深入分析就可以說,不論攪动的程度和方法怎样,在各个实验处理中都可以使生产力的測定值大約提高 30—50%。看来我們最初的假設是完全站不住脚的。我們不知道較高的(有攪动)或較低的(无攪动)数据之中,到底那一个更接近于自然界中所发生的情况。

表 6 不同攪动方法与不攪动的比較  
(L 为白瓶, D 为黑瓶)

試 驗	水样的实验系列或其它条件	相当于对照的%	实验平均值
实验 A. 在注入水样前, 先放在大瓶內至半 滿,振搖 50 次。对 照处理者在振搖以 前注入水样。	1 L	135	L 158
	D	105	
	2 L	158	D 104
	D	116	
3 L	171	D 104	
D	96		
4 L	168	D 104	
D	100		
实验 B. 用每分鐘 1,000 轉的攪拌棒,順序 攪拌各个样品。对 照处理在攪拌开始 以前注入水样。	1 L	96*	L 138
	2 L	90*	
	3 L	140	
	4 L	127	
	5 L	123	
	6 L	144	
	7 L	146	
	8 L	148	
实验 C. 通过一个角度为 60°的弧,使样品每 分鐘搖摆 30 次。对 照处理在同时培 养。	搖摆 L	118	L 118

\* 在計算实验平均值时沒有計入。

#### 4. 过滤

培养结束后,取出样品瓶,用直径为 15/16 吋 (24 毫米)的 Millipore AA 等級滤膜过滤,滤膜放在一个可同时过滤三个瓶子的管状装置上,一般可供二个白瓶和一个黑瓶之用。另有不少其他类型的过滤架,如十分合用的 Tracerlab E-8B 型,但要求操作者更加小心。在真空抽滤的条件下过

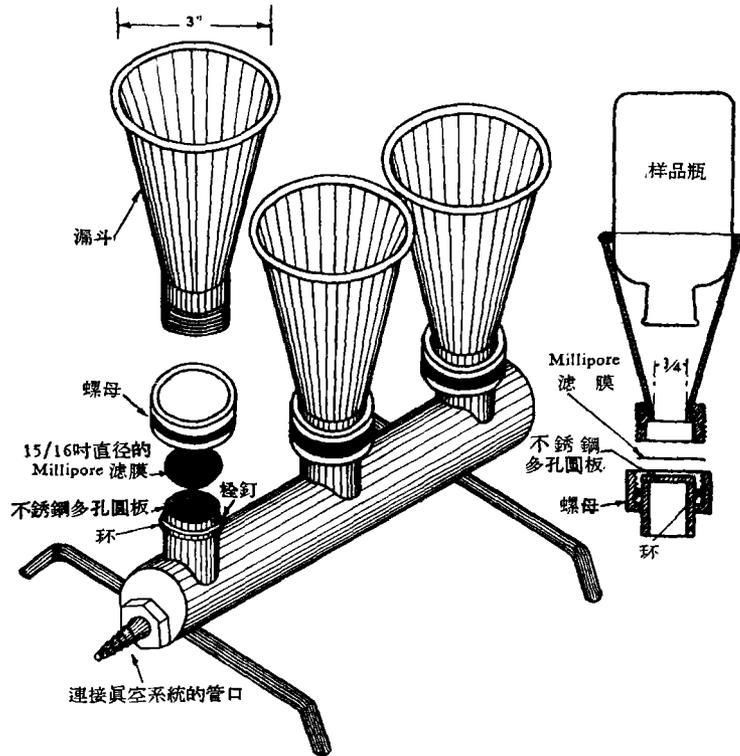


图 3

滤整瓶的水样时通常只需要 3—5 分钟。

由培养器内取出瓶子和控制过滤的时间可填写在资料卡(表 5)的 D 项“取出时间”栏内。培养的总时间用百分制的小时数来表示,记录在资料卡的 L 项内。

过滤完毕后,用 0.001 N 的 HCl 溶液(用 35% 的 NaCl 配制) 20 毫升洗涤滤膜,再用 30 毫升过滤海水洗一遍。酸液不应用海水配制,以免加入的酸被其缓冲掉。

当所有的溶液都已滤完时可卸开滤器把滤膜放到一块带孔并编了孔号的滤纸上。然后,再将滤纸放到干燥器内使之干燥和储存。

把孔的号码记录在资料卡的 E 项“膜片号”栏内。当使用硅胶作为干燥剂时,膜片上的  $C^{14}$  随时间而损失的量甚微。氯化钙会造成  $C^{14}$  的大量损失,所以一定要避免使用。当干燥剂内混有钠石灰时可以将干燥器内的  $CO_2$  吸收掉从而减少了与样品中  $C^{14} O_3$  的交换作用。

### 5. 用具的洗涤

每次使用样品瓶后,先用浓盐酸涮一涮然后用流动海水或自来水冲刷二次。第一次的冲刷必

须将瓶子完全装满,以便将瓶内酸烟赶出来。随后用大约 75 毫升蒸馏水洗刷二次。虽然在再次使用时并不要求瓶子是干的,但仍应将瓶子倒置过来保存,使之淌干。

过滤器一般每天洗涤一次,可将它沉浸在 1% 左右的稀盐酸溶液中。随后迅速用淡水冲净。

玻璃移液管一般也是每天洗一次,先用浓盐酸洗,再用蒸馏水冲几遍。

### 6. 放射性污染物的处理

$C^{14}$  放射的  $\beta$  射线很弱 (0.155 百万电子伏特),对人的直接危害是小的。从使用的浓度看,几乎完全不可能有机会偶然地吞入一个足以导致危害的剂量。但是,由于它在物理学和生物学上的半衰期都长,所以在处理污染物时一定要小心操作,避免沾染和累积到足以危害人的剂量。

如果在海上,液体的污染物,可以倒入海中。要是在陆上,可以用大量的水将其冲入下水道内或用其他方法稀释并排除之。根据美国国家标准局制订的安全规则,污染物中的放射性浓度完全是在允许的范围以内的。

可燃固体污染物应烧掉,但必须小心地避免

吸入烟雾。如果不能燃烧或作其他处理时可用浓盐酸洗涤,这样所有的碳酸盐都将转变成  $CO_2$  气体而释出,同样仍应小心地避免吸入该种气体。

倘若某些地方被沾染了,下面的二个步骤可以单独地使用或者同时使用:用浓盐酸擦洗(小心勿吸入酸气体);用大量的水冲洗。如果清除污染还不够充分时,可重复这两个步骤数次。

### 7. 膜片的保存

根据 Ryther (私人通讯)用硅藻和衣藻进行纯种培养的实验表明,当使用 0.01N 的 HCl 冲洗藻体样品时,可以使计数降低很多。虽然我们还没能发现 0.01N 的 HCl 对于自然界种羣将发生什么样的影响,我们还是用 0.001N 盐酸来冲洗所有的滤膜。Ryther 报导的应用 0.001N 的 HCl 冲洗和 Steemann-Nielsen 报导的盐酸蒸气方法(1956b)都是合适的。

我们的资料并不肯定如下的可能性,即膜片用 0.01N 酸液洗涤后的衰减会比用 0.001N 酸液洗涤后的衰减快,特别是洗后保存在  $CaCl_2$  中而不保存在硅胶中的话。我们假定保存在一个没有  $CO_2$  的硅胶干燥器内是最好的办法,所以我们曾试图改进这个办法即将膜片保存在硅胶加钠石灰的干燥器内。

金属材料制成的干燥器具有质轻和坚固的优点,这些优点在动荡不定的空运或海上调查时,就显得重要起来。有几次,我们会将包装在铝箔中的干膜片(防止了摩擦)由檀香山空邮到纽约后再寄回来而计数没有明显的减少。

## II. 放射化学的操作步骤

为了将携带  $C^{14}$  的碳酸钡(出自 Oak 国立实验室, Oak Ridge, Tennessee)转变成碳酸钠,我们曾经使用了各种方法。这里介绍的方法较其他方法的复杂性小,但已经获得的结果是令人满意的,转变系数一般远超过 80% 以上。

图 4 表明了这一装置,其操作步骤是根据 Steemann-Nielsen (1952b)发展而来的,要点如下:

1. 按照指示,放好各种试剂。
2. 抽真空,校验有否漏气。
3. 关上螺丝夹和旋塞。
4. 慢慢加入酸液。如果酸液加入太快,强烈的反应可能把指形瓶从分液漏斗的尖端冲掉。
5. 当全部酸液均已加入指形瓶后,关上分液漏斗的旋塞。

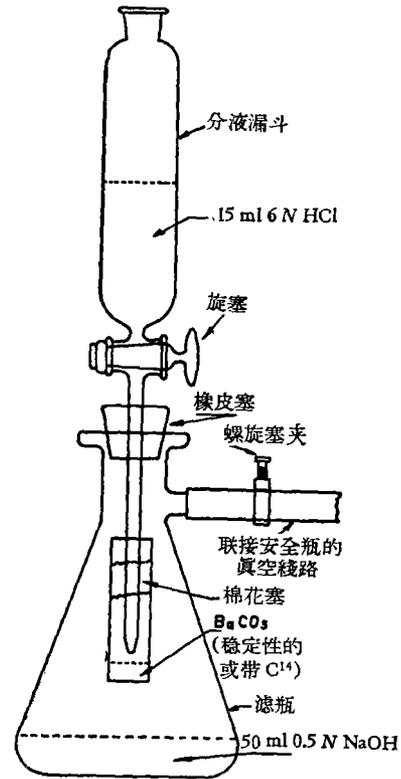


图 4<sup>4)</sup>

6. 大约等候一个半小时。
7. 加入蒸馏水充满指形瓶,使棉花球沉浸到酸液中,但不要让酸溶液从指形瓶内溢出。
8. 大约等候一个半小时。
9. 移去分液漏斗和指形瓶,应该十分小心,务使管内的液体一点也不要泼撒出来。
10. 如果在 NaOH 中产生了沉淀,应将其滤出,将带有沉淀的滤纸放到指形瓶内并从头开始。
11. 加入 HCl 将溶液最后的 pH 值调节到 10.1。

应该先用稳定性的  $BaCO_3$  多次地校验操作技术和装置。在完成了操作步骤并收回了碳酸钠之后可以用  $BaCl_2$  使之再沉淀并称重,碳酸盐的损失必须是极微的。要注意  $Ba(OH)_2$  可能共同沉淀出来,加入  $NH_4Cl$  后,这种现象就可以避免了(Calvin 等, 1949)。为了在实验中得到一定的产量,有必要把碳酸钡加以干燥处理。同样必要的是或者用无碳酸根的 NaOH 或者作一个空白试验

4) 图中 15ml 6N HCl 可能系 15ml 0.6N HCl 之误(译者注)。

(Pierce and Haensch, 1940), 加一些  $BaCl_2$  到碱液中以测定碱液中碳酸盐的总含量。

用来吸收释出  $CO_2$  的氢氧化钠溶液是强碱性的, 所以必须加入  $HCl$  以调节 pH 值。Steemann-Nielsen (1952b) 把 pH 值调节到 9.5, 而我们则调节到约 10.1。

当碳酸盐溶液最后被稀释时, 作成的溶液必须和海水中的碳酸盐浓度大致相同, 即每升大约含 90 毫克的  $CO_2$ 。如果以  $CO_2$  的重量来表示, 则每毫克分子量的碳酸盐为 44 毫克。因此, 当溶液稀释到 1 升时, 指形瓶内应加的  $BaCO_3$  的总量必须是:

$$90/44(197.4)\text{毫克的 } BaCO_3$$

在培养期间进行了光合作用之后, 滤出藻体, 测定其放射性程度。其分式为:

$$\frac{\text{藻体中所观察的每分钟的计数}}{C^{14}\text{溶液部分中可能观察的每分钟计数}}$$

与藻体在光合作用期间由海水中吸收的无机碳的量成正比。上式中的分母必须是已知的。这个量即叫作表观放射性比度。因此, 溶液的放射性比度可定义为每分钟每单位体积(或重量)溶液的蜕变数; 于是表观放射性比度也就是: 在测定藻体放射性用的计数装置上所测得的单位体积(重量)溶液的每分钟计数。

这种表观比度是先将一定量的放射性溶液沉淀为具有明显的自吸收作用的  $BaCO_3$ , 然后再来测定的。另一方面, 根据自然界的浓度情况, 膜片上的藻体一般没有显著的自吸收作用。所以测定  $C^{14}$  溶液在样品厚度为零时的放射性强度是必要的(Calvin 等, 1949)。

### 关于操作步骤的讨论

知道了 Oak Ridge 的检定资料后, 就可以据此制备任何表观比度值的  $C^{14}$  溶液。

例如: Oak Ridge 56773

7 毫居里  $BaCO_3$

0.1058 克, 0.0662 毫居里/毫克

同位素比值 18.7%

上述同位素样品(根据其中的标记物)每分钟可以产生  $7 \times 3.7 \times 60 \times 10^7$  次蜕变。一个 Tracerlab SC-16 型的充气式计数管大约可测出其一半的发射物。因此, 要制备一个用上述仪器可测出的每毫升每分钟有 200 万计数的溶液时, 可将上述脉冲数的半值再除以 200 万。即:

$$\frac{7 \times 3.7 \times 60 \times 10^7}{2 \times 2 \times 10^6} = 3890$$

因此, 将 7 毫居里的放射源制成 3890 毫升, 那么按我们的仪器测量, 就可制备出一个在样品厚度为零时, 每毫升给出每分钟 200 万个计数的溶液。

这个预期的比度必须从实验上加以校验, 普通的方法如下: 将含有放射性的安瓿溶液稀释, 并加入  $Na_2CO_3$  载体。然后加入  $BaCl_2$ , 将产生的沉淀转移到一个秤过重量的 Millipore 滤膜上, 用热蒸馏水洗滌之, 用硅胶加钠石灰进行干燥, 并称重, 然后尽可能快地进行计数以减少由于交换作用造成的损失。

最初曾考虑过可以应用 Calvin 等(1949)的自吸收资料来求得样品厚度为零的计数率, 但是实验表明 Tracerlab SC-16 型的充气式计数管不仅在特性上和 Nucleometer 薄窗计数管有很大的不同(Calvin 等所获资料都是用这种计数管得出的)而且得出的自吸收曲线也有很大的不同。

滤膜在过滤架上的过滤面积是 3 平方厘米, 由此可以计算出以毫克/平方厘米为单位的样品的“质量厚度”, 同一母液的同位素溶液中加入不同重量的载体并将其沉淀到滤膜上面, 就能搜集到许多资料, 这样就可以把自吸收与总计数之间的关系建立起来。把测得的计数作为单位面积上沉淀重量的一个函数并用图表示出来, 就可以做到这一点。然后用这条校准曲线就可以把测得计数换算成为厚度为零时的计数(见后)。如果放射性母液的量和稀释程度为已知, 那么每毫升原始样品在厚度为零时的每分钟计数就可以计算出来。

这一步骤就是量出一部分携带  $C^{14}$  的溶液, 将碳沉淀成碳酸盐并把全部沉淀都转移到滤膜上。由于定量的转移只有在沉淀量多的时候才有可能, 因而又采用了另外的方法(Yankwich 等, 1947)。我们认为这一方法更为可靠一些, 兹介绍如下:

预计好在一定的体积中将生成多少  $BaCO_3$ , 然后就在一定量待测的放射性溶液中加入已知重量的  $Na_2CO_3$ 。再加入  $CaCl_2$ <sup>5)</sup> 使之沉淀。(例如, 在一次分析中, 0.1 毫升的母液可以用浓度为 59 毫克/100 毫升的  $Na_2CO_3$  稀释到 100 毫升, 并且再加入过量的 10%  $BaCl_2$  溶液, 就可以以碳酸盐

5) 可能系  $BaCl_2$  之誤(譯者注)。

沉淀),将乳浊液充分搅匀,用移液管吸出一定体积的该种液体并转移到秤过重量的滤膜上。转移的重量要和转移的体积成正比,这可由秤量滤膜加以校验。滤膜上沉淀的计数乘以全部沉淀重量之后与滤膜上的沉淀重量之比就是全部待测溶液的计数率。仍必须使用如前所述的校正曲线以便求得厚度为零的计数。

例如,在上述例子中校正到厚度为零的计数为每分钟 1424 计数,全部沉淀物的重量是 108 毫克,滤膜上的沉淀物的重量是 26.6 毫克,二者之比值为 4.06,于是

$$1424 \times 108 / 26.6 = 5781 \text{ 计数/分} \\ = \text{全部放射溶液的计数率}$$

对于测定一个未知溶液而言,最好作出两个不同厚度的沉淀物样品作为校验(用吸取不同体积的方法)。但为了得到一个自吸收曲线,就需要制备许多大约由 0.5—30 毫克/厘米<sup>2</sup>不同厚度的膜片(也是用吸取不同体积的方法)。但要注意,在进行这些操作过程时应该同时使用容量和重量两种方法互相校验。

某些操作上的注意点:

必须了解,大部分  $BaCO_3$  都将由  $Na_2CO_3$  形成。为了制备真正无水的  $Na_2CO_3$  (Kolthoff and Sandell, 1936) 必须将它放在瓷坩埚中于 270—300°C 下加热 1 个小时(但不得超过 300°C),然后放到一个密闭瓶中,置于干燥器内冷却。 $Na_2CO_3$  很易吸水。不论是否做到了这一点,在正式使用前都应在干燥器内先保存一些时间。秤出一定重量使转变成  $BaCO_3$  后,再进行称重。由一定量的  $Na_2CO_3$  母液形成的  $BaCO_3$  的量应该是恒定的。

值得注意的是  $Ba(OH)_2$  可能共同沉淀出来。加入少量  $NH_4Cl$  后,这种现象就可以避免了(Calvin 等,1949)。在应用时,这种微量的  $NH_4Cl$  是按照每 100 毫升的  $Na_2CO_3$  溶液加入 0.1—0.2 克的  $NH_4Cl$  而取得的。这时,除了碳酸盐以外没有发现其他形式的无机碳。

干燥时,Millipore 滤膜上的沉淀物过厚即会发生弯曲。避免的方法是用狭铅条将其压下或用一铝质的膜片座倒放过来压在滤膜上不带有沉淀物的边缘部分。

有时候,当备有一种或多种已知其放射强度的母液时,可以用一个费力较少和较不严格的方法测定其放射性。这种方法包括把已知的母液注加到一组盛有同一浮游植物海水样品的黑白瓶

中,再将数个未知放射强度的母液注加到另外几组黑白瓶内。“每分钟计数/培养小时数”将与加入的放射性成正比。每个组内黑白瓶的并用可以对测定的精确度(偶而也对操作者的技术状况)提供相应的迹象。这种操作步骤也可用来对化学方法进行校验。

### III. 计数与计算

#### 1. 计数

将待测的滤膜由干燥器内取出装置在一个环状的 Tracerlab E-19 型膜片座上。按惯例,滤膜(膜片)是放到一个稍微涂了油的膜片座上以便将其压下。在我们的实验室内手工计数是用 Tracerlab SC-16 型充气式无窗计数管联上一个 Tracerlab 1,000 进位定标器,或是用有云母窗或没有云母窗的充气式计数管加上一个 Nuclear-Chicago 自动样品更换器,再在上述的定标器上联接一个印刷记录器。自动记录的优点是可以节省大量的劳动力,手工计数则要求操作者集中全部的注意力。然而,在手工操作计数时,操作者用一架电动计算机也可以完成表 5 中的全部运算工作。

在温度为 -5° 至 -15°C 之间通过乙醚所气化的 U. S. P. XII 氮混气体可以代替制备好的(现成的)Q 气。为了获得适当的氮和乙醚的混合物,这种低温是需要的。把乙醚容器放到一个冰和盐的混合物中,就可以成功地作到这一点。

在手工计数的情况下,为了获得一个最低的总计数为 1080 和有效误差为 5%,光照样品一般要计数 3—5 分钟。黑瓶的计数时间也要 3—5 分钟,即使最低总计数为 400,对于得到一个 5% 的标准误差来说也认为是可以接受的。虽然希望得到的最低计数值并没有达到,但由于时间上的压力,只有少数样品的计数超过了 10 分钟。计数的结果称为“每分钟原始计数”。可以把它记在资料卡中的 E 项与膜片号相对的 F 项内。

每第 3 个计数膜片就有一个含有  $C^{14}$  的塑料圆片。它的标准计数大致为每分钟 25,000 计数。每次需要计数 5 分钟。这一计数值可按上述方式记在 G 项内。按照每个样品和它前面或后面的标准计数(H 项)的比值立即进行校正。例如,应用这一比值来校正 F 项的第一个测定值时为 1,275 (125,000)/123,480。这种比值是用来对计数仪器的变动进行校正的。

如果黑白瓶之间的培养时间的差距超过 20 分

钟以上时,二者均应校正到标准培养时间(一般为6个小时)的计数率。要不然,应使白瓶的培养时间作为黑白瓶二者都适合的时间。

将总计数除以测定的分钟数可以得出每分钟的计数(I项)。把减去了本底的每分钟计数(表4的資料卡)的结果记入J项(表5)。本底的每分钟计数每天测定一次,方法是用一片洁净的滤膜放入计数管内计数0.5—1小时,然后除以测定的分钟数。测定每个计数室和膜片座的本底计数可以校正遗漏;如果不测定可能导致许多误差。

假若同一样品的黑瓶或白瓶有好几个,而且各个重复的样品又是培养了同样长的时间,并且所获最高计数和最低计数的差值又不超过25%时,则将每个瓶的计数值(每分钟计数减去本底)进行平均(K项)。但对白瓶来说,这种差值更大时,则对二者须分别处理(在K项内)。注意表5中的K、M和N项,看一看第4站和第5站的数据是怎样以不同的方式处理的。

几乎任何技术上的意外都将导致白瓶的计数率降低,所以,如果二个重复样品的结果不同时,可能具有较高计数的样品一般是更加接近于正确的。对黑瓶来说,情况正好完全相反,它的高计数率常常是因为漏光所引起。因为黑瓶有编号,所以当发现有不正常的高计数出现时,就可以及时加以检验。

## 2. 毫克碳/小时/立方米的计算

在白瓶内,碳的固定作用是由于光合作用、交换或其他反应(如Wood-Werkman反应等)所产生的。在黑瓶内,由于光线被隔绝,所以不发生光合作用。A. H. Brown (1953)和Ryther (1954)指出在黑瓶和白瓶中进行的呼吸作用必须是同样的。Ryther (1956c)曾表明对 $C^{14}$ 的吸收基本上等于净光合作用。因此可以假定,将白瓶的平均每分钟计数减去黑瓶的平均每分钟计数(表5的M项)就可以得出由于光合作用所产生的每分钟的净计数即:

(1) 白瓶每分钟计数—黑瓶每分钟计数=每分钟净计数

由已知量(总的每分钟计数)的示踪 $C^{14}$ 和它的回收值(每分钟净计数)就可以得到分式(2)

(2)  $\frac{\text{每分钟净计数}}{\text{总的每分钟计数}}$  = 固定示踪碳的分数

它代表最初加入到样品瓶中的示踪碳总量和固定的示踪碳量之比。

固定的示踪碳是在一定的时间内即在培养时间之内固定的。将上述因数除以培养的小时数,我们可以得出在单位小时内固定示踪碳的量。分式(3)就是假定与瓶内总的碳固定作用成正比的。

(3)  $\frac{\text{固定示踪碳的分数}}{\text{培养的小时数}}$  = 每小时固定示踪碳的分数

根据Sverdrup等(1942)可以导出一个数值,即每升海水中含有90毫克 $CO_2$ 。我们认为 $CO_2$ 在我们的工作海区中是相对稳定的。由于携带示踪碳的溶液已使 $CO_2$ 浓度达到了这个标准,所以这一假定的浓度不会因为加入海水样品而改变。然而,示踪物和我們计算的最后结果都是碳的重量而不是 $CO_2$ 的重量,在表示时要用碳的分子量12除以 $CO_2$ 的分子量44。因为加入的示踪碳不会改变碳的总浓度,故可以假定每小时固定示踪碳的分数和每小时固定的总碳量成正比。所以要算出1升样品中固定碳的总量应将水样中 $CO_2$ 的总浓度( $CO_2$ /升)乘以12/44。

(4) 每小时固定示踪碳的分数  $\times \frac{90 \text{ 毫克 } CO_2}{\text{升}}$   
 $\times \frac{12}{44}$  = 毫克固定碳/小时/升。

每立方米为1,000升。到此为止的计算只得出了1升的结果。为便于单位平方米生产力的测定,将上述结果乘以1,000就得出1立方米中固定的碳。综合前述各式可得出:

(5)  $\frac{\text{每分钟的净计数}}{\text{加入的每分钟计数}} \times \frac{1}{\text{培养的小时数}} \times 90$   
 $\times \frac{12}{44} \times 1,000$  = 毫克碳/小时/米<sup>3</sup>

再将上式简化可得出(6)式。式中各项数字都可能从資料卡(表4和表5)中得到。

(6)  $\frac{L-D}{\text{培养的小时数}} \times K$  = 毫克碳/小时/米<sup>3</sup>

这一计数只能给我们一个关于净生产力的初步数据(表5N项)。它既没有进行同位素效应和生长的校正,也没有作任何尝试去更精确地计算各个海水样品中真实的 $CO_2$ 浓度。因为所提出的校正值是在操作和采样的一般误差范围以内,所以从增加本方法的精确度来考虑,在目前是没有意义的精细制作。

对任何一个可靠方法的分析,都可揭示出各种固有的误差。这一方法的两个主要误差看来即

在于各步骤的操作和取样。即使是一个熟练的操作者,用同一个桶接连地采样时,测定结果之间的变化系数也将会超过10%。百分之几的误差来源很多,象表3那样把资料分成二个部分时就可以有2%的误差。同样地,同一个熟练的操作者在缓慢航行中从船体边缘采集18个样品,所测结果其变化系数都不到25%。但有一个接受了大约3个小时指导的操作者,在一次为期55天的出海调查中采集了146对样品,各对样品间的相关系数达到0.992,这表明预期中的技术误差是很小的。

在培养器的同一照光条件下,海洋浮游植物进行光合作用的能力随着一天中的不同时间而有所变化(Doty and Oguri, 1957)。为了补救这一点,最好是把样品(如果是在下午采来的话)放在平常的光线和温度条件下直到第二天早上9点钟。水样可放在一个半满的大玻璃瓶内或就放到样品瓶内。直到上述时间再加入 $C^{14}$ 溶液和进行培养。和采样后立即培养所得的结果比较起来,这样做可以获得更为有效和可靠的结果。

### 摘 要

本文从单位时间和单位体积内通过光合作用转变为有机碳的重量出发,介绍了一个测定有机物初级生产力的新的海洋学方法。为了使对此感兴趣的人都能够参照他们各自的需要来应用或改进这一同位素定量方法,我们简短地对操作方法和历史作了一般的评介之后,还作了相当详细的叙述。

(费修颀译,路成铭、邓昂校)

### 参 考 文 献

- Bainbridge, R., 1957. The size, shape, and density of marine phytoplankton concentrations. *Biological Reviews* 32:91—115.
- Bogorov, V. G. & K. V. Beklemishev, 1955. On the production of phytoplankton in the north-western part of the Pacific Ocean. *Doklady Akademii Nauk SSSR* 194:141—143. (Translated by W. van Campen, V. S. Fish and Wildlife Service, Honolulu, Hawaii.)
- Brouardel, Jean, & E. Rinck, 1956. Détermination de la production de matière organique en Méditerranée à l'aide du  $C^{14}$ . *Compl. Rend. des séances de l'Acad. Sci.* 243:1797—1800.
- Brown, A. H., 1953. The effects of light on respiration using isotopically enriched oxygen. *Am. J. Bot.* 40:719—729.
- Calvin, M. C., C. Heidelberger., J. C. Reid., B. M. Tolbert. & P. F. Yankwich., 1949. *Isotopic carbon*. 376 pp. John Wiley & Sons, New York.
- Doty, M. S., 1954a\*. Current status of carbon-fourteen method of assaying productivity of the ocean. (As of April, 1954) 9 pp. 6 appendices. University of Hawaii.
- , 1954b. Productivity research in Hawaii. Abstract from the Proceedings of the Hawaiian Academy of Science, 1954—1955, p. 13.
- , 1955\*. Current status of carbon-fourteen method of assaying productivity of the ocean. (As of February, 1955). 52 pp. 4 appendices. University of Hawaii.
- , 1956\*. Current status of carbon-fourteen method of assaying productivity of the ocean. (As of April, 1956). 51 pp. 6 appendices. University of Hawaii.
- , 1957\*. Current status of carbon of the ocean. (As of June, 1957). University of Hawaii.
- Doty, M. S., R. R. Guillard. & E. C. Jones., 1955. The productivity of the inshore waters in Hawaii. Abstract from the Proceedings of the Hawaiian Academy of Science, 1954—1955, p. 15.
- Doty, M. S., & M. Oguri, 1956a. The island mass effect. *Journal du conseil pour l'Exploration de la Mer*, 22:33—73.
- Doty, M. S., M. Oguri. & R. Pyle, 1956b. Aspects of oceanic productivity in the eastern tropical Pacific. Abstract from the Proceedings of the Hawaiian Academy of Science, 1955—1956, p. 20.
- Doty, M. S. & M. Oguri, 1957. Evidence for a photosynthetic daily periodicity. *Limnology Oceanography* 2:37—40.
- Emerson, R. & L. Green, 1934. Manometric measurements of photosynthesis in the marine alga *Gigartina*. *J. Gen. Physiol.*, 17:817—842.
- Guillard, R. R. L., M. S. Doty, & M. Oguri, 1955. The productivity of waters north of Hawaii as determined by  $C^{14}$  uptake, Abstract from the Proceedings of the Hawaiian Academy of Science, 1955—1956, p. 10.
- King, J. E., T. S. Austin, & M. S. Doty, 1957. Preliminary report on Expedition (Eastropic). U. S. Fish Wildlife Service, Special Scientific

有\*符号的是夏威夷大学与美国原子能委员会根据AT-(04-3)-15号合同工作完成后向美国原子能委员会生物医学部提出的年报。这些年报都尚未发表过,而且一般都是不易得到的,但为了引用资料来源目录的完整起见,特在此处列出。

- Report-Fisheries 201. 155.
- Kolthoff, I. M., & E. B. Sandell, 1936. Textbook of quantitative inorganic analysis. 749 pp. The Macmillan Company, New York.
- Miyake, Y., Y. Sugiura. & K. Saruhashi, 1954. A study on the productivity in coastal waters by means of the radio-carbon. Papers in Meteorology Geophysics 5:89—94.
- Pierce, W. C., & E. L. Haenisch, 1940. Quantitative analysis. 2nd edition. 462 pp. John Wiley & Sons, New York.
- Riley, G. A., 1953. Letter to the editor. Journal du Conseil pour l'Exploration de la Mer, 19: 85.
- Ryther, J. H., 1954. The ratio of photosynthesis to respiration in marine plankton algae and its effect upon the measurement of productivity. Deep Sea Research 2:134—139.
- , 1956a. Photosynthesis in the ocean as a function of light intensity. Limnology Oceanography 1:61—70.
- , 1956b. Interrelation between photosynthesis and respiration in the marine flagellate, *Dunaliella euchlora*. Nature, 178:861—862.
- , 1956c. The measurement of primary production. Limnology Oceanography, 1:72—84.
- Ryther, J. H., & R. F. Vaccaro, 1954. A comparison of the oxygen and  $C^{14}$  methods of measuring marine photosynthesis. Journal du Conseil pour l'Exploration de la Mer, 20:25—37.
- Scripps Institute of Oceanography, 1955. Scripps Institute of Oceanography Reference p. 55—19: 1. Van Dorn Sampler.
- Steemann-Nielsen, E., 1951. Measurement of the production of organic matter in the sea by means of carbon-14. Nature, 167:684.
- , 1952a. Production of organic matter in the sea. Nature, 169:956.
- , 1952b. The use of radioactive carbon ( $C^{14}$ ) for measuring organic production in the sea. Journal du Conseil pour l'Exploration de la Mer. 18:117—140.
- , 1954. On organic production in the oceans. Journal du Conseil pour l'Exploration de la Mer, 19:309—328.
- , 1955a. The production of antibiotics by plankton algae and its effect upon bacterial activities in the sea. Papers in Marine Biology Oceanography. Supplement to Volume 13 of Deep Sea Research pp. 281—286.
- Steemann-Nielsen, E., 1955b. The interaction of photosynthesis and respiration and its importance for the determination of  $C^{14}$  discrimination in photosynthesis. Physiologia plantarum, 8:945—953.
- Sverdrup, H. U., M. W. Johnson. & R. H. Fleming, 1952. The oceans, 1087 pp. Prentice-Hall, New York.
- Vaccaro, R. E. & J. H. Ryther, 1954. The bactericidal effects of sunlight in relation to (light) and (dark) bottle photosynthesis experiments. Journal du Conseil pour l'Exploration de la Mer, 20:18—24.
- Yankwich, P. F., T. H. Norris. & J. L. Huston, 1947. Correcting for the absorption of weak beta particles in thick samples. Industrial Engineering Chemistry, Anal. Ed., 1950:439—441.