

海洋碎屑小生境形成演化过程中营养盐 特殊迁移过程及脱氢酶活性的变化*

王 琰 曹文达

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

提要 研究了海洋碎屑小生境形成、演化过程中营养盐特殊迁移过程和脱氢酶活性的变化。结果表明,在充氧水体中同时存在硝化和反硝化过程,并有高浓度 NO_3^- 富集。脱氢酶活性在实验第4天达到最高值,在第96天和192天出现波动。碎屑聚集体表面不但有微生物群落的演替,而且存在物理化学微环境的连续变化;当碎屑表面 O_2 被消耗而出现氧化还原电位梯度时,电子最终受体出现更替,非平衡过程发生改变,为适应这种改变,微生物群落重新调节新陈代谢,在分叉点附近,脱氢酶活性增大。

关键词 海洋碎屑 小生境 营养盐 脱氢酶活性

海洋中广泛存在着易碎的、无定形的、大小为几微米到几厘米的碎屑聚集体(也称“海中雪花”),为微生物群落 (Silver et al., 1981) 提供了生长表面和有机物来源。有机物代谢氧化使碎屑表面的氧被消耗,导致在表面和附着的微生物群落中产生氧化还原电位梯度 (Paerl, 1982, 1984),从而使碎屑表面物理、化学性质明显不同于周围水体,在液固界面或颗粒上形成厚度为几微米到几百微米的特殊微环境——还原性小生境(reduced microzone)。Allredge 等(1987)用微电极证明在海洋大型絮状颗粒周围存在恒定的氧、pH 梯度。Paerl 等(1982)用四唑镨盐指示剂证明海洋碎屑小生境中氧化还原电位梯度的普遍存在。

直接或间接来源于生物的碎屑贮存了大量的自由能和生物元素。研究海洋碎屑微环境的变化和热力学过程对了解碎屑对水生态系统物理、化学和生物影响以及物质、能量的转移过程具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*) 实验室培养条件, N(10 mg/L), P(1mg/L), Fe(0.1mg/L), Si(0.5mg/L); 光强 5 000—6 000lx, 光暗周期 18:6, 温度 $15 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

1.2 溶液的配制 所有试剂均为分析纯。

将 100 mg 碘硝基氯化四唑 (INT) 溶于 50ml 无菌蒸馏水中, 加入几滴 1.5 mol/L Na_2CO_3 溶液使 pH 值为 7.5。在 4°C 下保存, 有效期为一周。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 2193 号。

国家自然科学基金资助, 49070274 号。

收稿日期: 1990 年 11 月 8 日; 接受日期: 1991 年 8 月 14 日。

配制 0.4mol/L 琥珀酸钠贮藏液,在 4℃ 下保存,有效期为一个月,使用前用蒸馏水稀释 3 倍。

用 KH_2PO_4 和 NaOH 配制 pH 值为 7.7 的磷酸盐缓冲液 (H_2PO_4^- 浓度为 0.2mol/L)。

1.3 脱氢酶活性 (DHA) 的测定 (Goetze et al., 1977; Herbert, 1961) 取 3 份水样慢慢通过 0.2 μm 滤膜,滤膜剪成小片放入有盖的 15ml 试管中,加入含有 2ml 磷酸盐缓冲液,2ml 琥珀酸钠使用液,2ml 0.2% INT 溶液的混合液,在 35℃ 水浴中培养,用空白膜作对照。30min 后加入 1ml 1mol/L HCl 使反应停止,然后用 12ml 1:1.5 四氯乙烯和丙酮的混合物搅拌萃取红色甲臍 (formazane);用玻璃纤维膜过滤,水相用分液漏斗从有机相中分离;含有早臍的有机物用萃取液调至标准体积,用 721 型分光光度计和 1cm 比色皿在 492nm 波长处测定消光值。

$$\text{DHA} = \frac{\text{标准体积(L)} \cdot \text{消光值}}{\text{培养时间(h)} \cdot \text{水样体积(L)}}$$

1.4 无机氮的测定 亚硝酸盐用磺胺-盐酸萘乙二胺比色法,硝酸盐用镉-铜还原法,氨氮用次溴酸钠氧化法测定。

将处于指数生长期的三角褐指藻离心分离,放入盛海水的大型培养槽中,置于暗处,测定无机氮、脱氢酶活性随时间的变化。每次取样时间为上午 9:00—9:30,取样时将水样慢慢搅拌均匀,水体温度为 10—15℃。

2 结果与讨论

2.1 碎屑小生境营养盐特殊迁移过程 实验第 4 天起,水体中出现尺寸为几厘米的絮状碎屑聚集体,与此相平行, NH_4^+ 浓度降为 1.4 $\mu\text{mol/L}$ (图 1),脱氢酶活性达到最高值 (图 2)。大尺寸的絮状聚集体在水体中存在 3—4d 后分解成直径几百微米到几毫米的聚集体。

水体中 NH_4^+ 出现两次富集,持续时间为 1 个多月,其浓度极大值分别为 11.2 $\mu\text{mol/L}$ 和 13.8 $\mu\text{mol/L}$,每次高浓度后又降至较低值。在 NH_4^+ 第一次富集后, NO_2^- 浓度开始增加,并在第 96 天达到极大值 28.0 $\mu\text{mol/L}$ (因取样时间间隔较长,实际上 NO_2^- 高浓度可能持续一段时间)后又以较快的速度降低。 NO_3^- 浓度在初始几天出现小范围内波动,后逐渐降低,在 96d 变为 0 (相对于 NO_2^- 浓度出现极大值),接着 NO_3^- 迅速在水体中富集。

结果表明,浮游植物分解后的碎屑经随机聚合成几厘米的松散絮状聚集体,其中微生物分泌的粘液可能起重要作用。几天后大尺寸的碎屑聚集体分解成几百微米至几毫米的聚集体,这与 Biddanda (1988) 观察结果一致。微生物群落在海洋碎屑表面快速生长,原生动物捕食细菌及细菌分解颗粒上的一些物质,这引起絮状聚集体的分解。

碎屑表面高的新陈代谢活性 (见图 2, DHA 在第 4 天达到最高值)使有机物迅速被氧化,作为呼吸链的最终电子受体的 O_2 的消耗,使碎屑表面形成氧化还原梯度,出现缺氧的还原性微环境。

在碎屑表面缺氧微区, NO_3^- 可代替 O_2 成为代谢过程的最终电子受体。在海洋沉积物的空间分布上, O_2 , NO_3^- 作为最终电子受体出现的氧化还原电位分别为 +400mV, -100mV (Fenchel et al., 1977)。实验过程中,在第 96 天以前 NO_3^- 浓度降低可能是

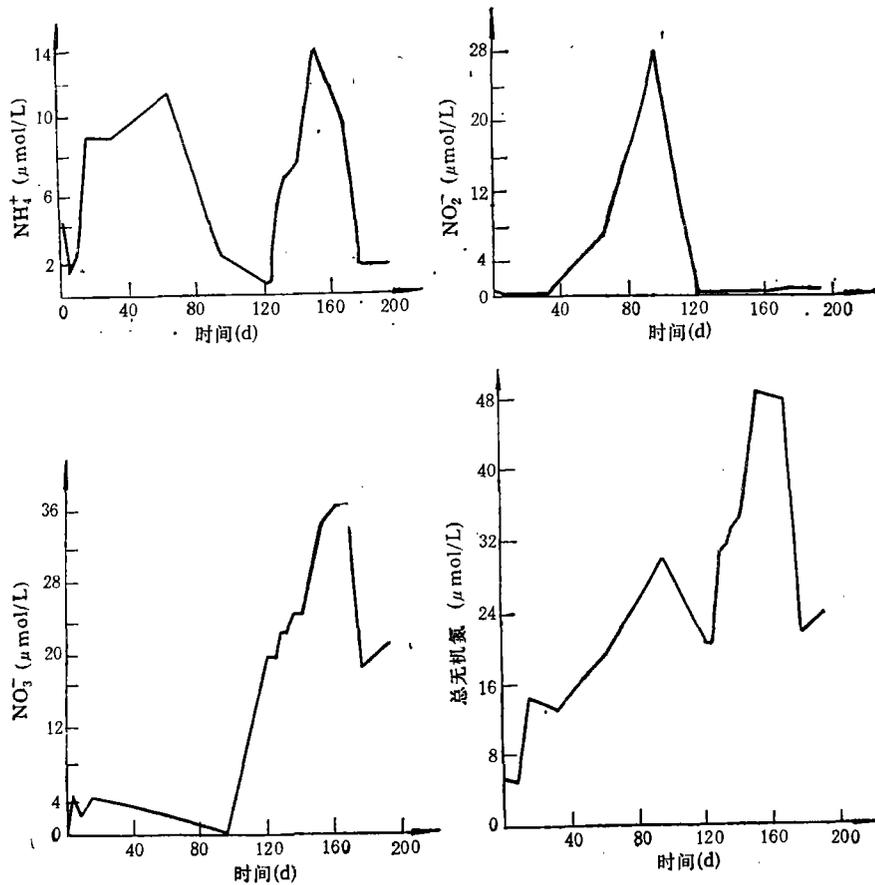
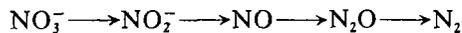


图 1 碎屑小生境形成演化过程中周围水体无机氮浓度的变化

Fig. 1 Change in concentration of inorganic nitrogen in ambient water during the formation and evolution of detrital microzone

反硝化过程引起的。 NO_3^- 作为最终电子受体时,其还原产物取决于细菌的种和属,缺氧条件下许多兼性厌氧菌只把硝酸盐还原到亚硝酸盐,少数细菌通过一系列还原步骤把硝酸盐还原到氮 (Hattori, 1983)。 NO_3^- 作为最终电子受体的反硝化途径为:



NO_2^- 和 N_2O 一般是反硝化的稳定中间产物。Schropp 等(1983)也发现水体中附着在颗粒表面的细菌具有反硝化活性。

实验水体 NH_4^+ 第一次富集后 NO_2^- 浓度升高,这可能是硝化菌活动的结果。硝化菌是化学自养生物 (Chemolithotrophs),从氨氧化到亚硝酸盐,继而氧化到硝酸盐是需氧过程。Knoldebrain 等(1977)研究表明,海洋贫营养水体中,颗粒表面 20—300 μm 厚的微区对硝化过程有生物促进作用。

硝化过程和反硝化过程需要不同的氧化还原条件,因此不能在同一氧化还原区发生。Jenkins 等(1984)发现,在海洋沉积物上层氧化性间隙水包围的有机碎屑上存在缺氧微

区,能使硝化过程和反硝化过程紧靠在一起发生。本实验也观察到水体中同时存在硝化和反硝化过程,说明在充氧水体中的碎屑聚集体表面存在氧化还原梯度,这种厚度从几微米到几百微米的特殊微环境使一些好氧过程和厌氧过程紧靠在一起发生,硝化过程在碎屑表面高氧化还原电位区进行;反硝化过程在低氧化还原电位区进行。

关于大洋大部分水域光合作用区下面水层 NO_2^- 浓度出现极大值,从 30 年代起就引起海洋学家的重视并进行研究 (Hattori, 1983; McCarthy et al., 1984),但以前的研究对于海洋中 NO_2^- 极大值的出现及消退的机理没有一个满意的结论。从图 1 看到,当碎屑表面缺氧微区的反硝化过程使水体中 NO_3^- 含量降为 0 时, NO_2^- 达到最高值 $28.0 \mu\text{mol/L}$,接着又很快降至较低值,同时 NO_3^- 含量迅速升高。这些结果表明,在碎屑表面缺氧微区, NO_3^- 作为最终电子受体出现时,碎屑小生境的氧化还原电位梯度允许硝化和反硝化过程紧靠在一起发生,这种非平衡过程的耦合可能使硝化过程只停留在第一步, NO_2^- 开始在水体中富集。当作为最终电子受体的 NO_3^- 消耗完后, SO_4^{2-} 或 CO_3^{2-} 成为缺氧微区的最终电子受体,小生境非平衡态过程发生改变,硝化过程的第二步反应开始进行, NO_2^- 很快氧化到 NO_3^- 。这些过程都可能受酶的调节。Packard (1971) 指出,不同的电子最终受体有不同的电子传递系统末端酶。Prezelin 等(1983)发现,在光合作用受抑制的碎屑上有很高的暗固定速率和二氧化碳固定酶活性。

实验中另一个值得注意的现象是, NH_4^+ 因硝化降至较低浓度后又迅速在水体中富集,这可能是固氮菌的作用。海洋充氧环境中,碎屑表面还原性微环境能诱发固氮酶的活性 (Paerl 1987)。本实验中,浮游植物分解形成絮状碎屑聚集体,其表面高的新陈代谢活性使 O_2 被消耗,从而出现缺氧微环境,满足了固氮菌固氮的条件。

2.2 碎屑小生境脱氢酶活性的变化及其非平衡态现象的讨论 从图 2 看出,脱氢酶活性在第 4 天达到最高值 0.096,随后逐渐下降趋于相对平缓,其中在第 96d 及 192d 附近 DHA 出现波动(值增大)。这是由于碎屑表面有机物被氧化,形成缺氧微环境,使小生境内部最终电子受体出现更替而引起的。

在实验初始状态,水体中微生物的分布密度、氧化还原电位、pH 值、溶解氧、营养盐等参量在各点是均匀的。碎屑小生境的形成和演化打破了这种均匀性,在空间-时间上呈现结构和功能的有序性。这种对称性破缺的初始阶段就是在系统中形成梯度。

许多研究表明,来源于浮游生物的碎屑聚集体的表面上,微生物群落经历一个相似的演替顺序,首先是细菌快速生长,然后是原生动物群落的生长 (Azam et al., 1984; Goldman, 1984),这种复杂的演替变化可在几小时到几天内进行。趋化性可能是微生物群落聚集在碎屑表面上的原因。

海洋碎屑是一个组织松散的半封闭结构。氧化还原电位、溶解氧、pH 值、营养盐等,组成一个不断波动的环境。当碎屑小生境氧化还原电位梯度改变时, O_2 , NO_3^- , SO_4^{2-} ,

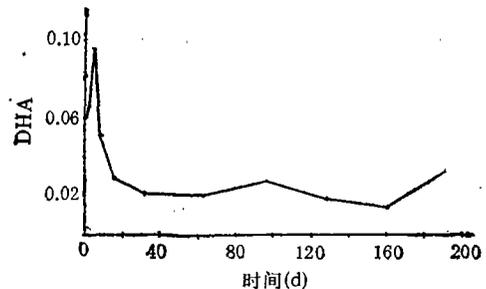


图 2 碎屑小生境形成演化过程中脱氢酶活性变化

Fig. 2 Change in dehydrogenase activity during the formation and evolution of detrital microzone

CO_3^{2-} 依次成为代谢过程的最终电子受体,小生境代谢途径发生改变,微生物群落作为对涨落的适应性,重新调节新陈代谢,在分叉点附近,脱氢酶活性增大。

生态系统通过不断的能量耗散使之远离平衡态,系统不可逆过程是广义流 J 和热力学力 x 的结果:

$$\text{熵产生 } T \frac{ds}{dt} = \sum J_k x_k$$

系统的能量以熵的形式释放到环境中。群落演化在一段时间内具有不稳定阈值,经历熵产生增大的过渡状态 (Lasserre, 1984)。

碎屑小生境结构的稳定性(即化学梯度的存在)机理十分复杂。根据上述讨论,海洋碎屑表面微生物厌氧过程和需氧过程紧靠在一起进行,从而维持了氧化还原梯度。Allredge, (1987) 也证明,在暗处氧不断地在碎屑周围消耗,碎屑小生境能在平流中维持其稳定结构。从图 1 看出,当取样时间间隔缩短时,水体中 NH_4^+ , NO_3^- 和总无机氮含量的变化相对平稳,这可能是系统内部对外界扰动(搅拌水体)后浓度很快达到平衡所致。当有湍流及生物的剧烈扰动时,可能使海洋碎屑分解,化学梯度被破坏。现在由于对碎屑小生境的动力学机制知之甚少,还不能定量地描述系统的时间发展。

3 结论

本文研究了碎屑小生境形成演化过程中营养盐特殊迁移过程和脱氢酶活性的变化。实验发现,充氧水体中同时存在硝化和反硝化现象,并有高浓度 NO_2^- 的富集,脱氢酶活性在第 4 天达到最高值,并且在 96d 和 192d 出现振荡。结果表明碎屑聚合物表面不仅有微生物群落的演替,而且存在非平衡过程的连续变化。当碎屑表面有机物氧化, O_2 被消耗而出现氧化还原电位梯度时,在时间分布上 NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} 可分别成为缺氧微区代谢过程的最终电子受体。而碎屑小生境氧化还原电位梯度的存在使一些要求不同氧化还原势的过程紧靠在一起进行,即在碎屑表面空间分布上存在不同的电子最终受体。具有特殊性质的碎屑小生境允许一些在周围水体中不能进行或受抑制的营养盐迁移过程(如固氮、硝化、反硝化、氨化等)在碎屑表面进行。对于碎屑小生境非平衡态过程的改变,作为一种适应性,微生物群落重新调节新陈代谢,在分叉点附近,脱氢酶活性增大。因此碎屑小生境是一个时空有序的半封闭结构。碎屑聚合物表面厌氧过程和需氧过程紧靠在一起发生,维持了还原性小生境的稳定性,在受到外界非剧烈扰动时仍然保持化学梯度的存在。

参 考 文 献

- Allredge, A. L. and Cohen, Y., 1987, Can microscale chemical patches persist in the sea? Microelectrode study of marine snow, fecal pellets, *Science*, 235(4789): 689—691.
- Azam, F. and Ammerman, J. W., 1984, Cycling of organic matter by bacterioplankton in pelagic marine ecosystems: microenvironmental consideration, In *Flows of Energy and Materials in Marine Ecosystem*, ed. by Fasham, M. J. R. Plenum Press (New York), pp. 345—360.
- Biddanda, B. A., 1988a, Microbial aggregation and degradation of phytoplankton-derived detritus in seawater I. Microbial succession, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 42: 79—88.
- Biddanda, B. A., 1988b, Microbial aggregation and degradation of phytoplankton-derived detritus in seawater II. Microbial metabolism, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 42: 89—95.
- Fenchel, T. and Barker, B., 1977, Detritus food chains of aquatic ecosystem: The role of bacteria, In *Advances in Microbial Ecology*, ed. by Alexander, M., Plenum Press (New York), pp. 1—58.
- Gocke, K. and Hoppe, H. G., 1977, Determination of organic substances and respiration potential, In *Microbial*

- Ecology of a Brackish Water Environment, ed. by Rheinheimer, G., Springer-Verlag (Berlin, Heidelberg, New York), pp. 61—70.
- Goldman, J. G., 1984, Conceptual role for microaggregates in pelagic water, *Bull. Mar. Sci.*, **35**(3): 462—476.
- Hattori, A., 1983, Denitrification and dissimilatory nitrate reduction, In: Nitrogen in the Marine Environment, ed. by Carpenter, E. J. and Capone, D. G., Academic Press (New York), 191—232.
- Herbert, C. J., 1961, The measurement of dehydrogenase activity in marine organisms, *J. Mar. Res.*, **19**: 123—138.
- Jenkins, M. C. and Kemp, W. M., 1984, The coupling of nitrification and denitrification in two estuarine sediments, *Limnol. Oceanogr.*, **29**(3): 609—619.
- Knoldebrain, B. and Oertli, J. J., 1977, Effect of suspended particles and their sizes on nitrification in surface water, *J. Water Pollut. Control. Fed.*, **49**: 1688—1693.
- Lasserre, P., 1984, The measurement of the enthalpy of metabolism in marine organisms, In *Flows of Energy and Material in Marine Ecosystems*, ed. by Fasham, M. J. R., Plenum Press (New York), pp. 247—269.
- McCarthy, J. J. et al., 1984, Chesapeake Bay nutrient and plankton dynamics 2. Sources and sinks of nitrite, *Limnol. Oceanogr.*, **29**: 84—98.
- Packard, T. T., 1971, The measurement of respiratory electrontransport activity in marine phytoplankton, *J. Mar. Res.*, **29**: 235—244.
- Paerl, H. W., 1984, Alteration of microbial metabolic activities in association with detritus, *Bull. Mar. Sci.*, **35**(3): 393—408.
- Paerl, H. W. and Prufert, L. E., 1987, Oxygen-poor microzones as potential sites of microbial N_2 fixation in nitrogen-depleted aerobicmarine waters, *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**(5): 1078—1087.
- Paerl, H. W. and Bland, P. T., 1982, Localized tetrazolium reduction in relation to N_2 fixation, CO_2 fixation and H_2 uptake in aquatic filamentous cyanobacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, **43**(1): 218—226.
- Prezelin, B. B. and Alldredge, A. L., 1983, Primary production of marine snow during and after an upwelling event, *Limnol. Oceanogr.*, **28**(6): 1156—1167.
- Schropp, S. J. and Schwartz, J. R., 1983, Nitrous oxide production by denitrifying microorganisms from the Eastern Tropical North Pacific and Caribbean Sea. *Geomicrobiol. J.*, **3**: 17—31.
- Silver, M. W. and Alldredge, A. L., 1981, Bathy pelagic marine snow: Deep-sea algal and detrital community, *J. Mar. Res.*, **39**: 501—530.

SPECIFIC NUTRIENT TRANSFORMATION PROCESSES AND CHANGE IN DEHYDROGENASE ACTIVITY DURING FORMATION AND EVOLUTION OF MARINE DETRITAL MICROZONE*

Wang Yan, Cao Wenda

(*Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao 266071*)

ABSTRACT

Fragile and flocculent detrital aggregates in the sea known as marine snow are ubiquitous and abundant components of the sea environment, an important site of photosynthesis and nutrient regeneration. Detrital microzones as unique microenvironments in oceanic waters support biochemical properties distinct from the ambient (such as high metabolic activity), and play an important role in the flux of energy and matter. This investigation on the specific nutrient transformation processes and change in dehydrogenase activity during the formation and evolution of the detrital microzone revealed the simultaneous presence of the processes of nitrification, denitrification, and accumulation of high concentration of NO_2^- in aerobic waters. Dehydrogenase activity (DHA) reached maximum on the 4th day and oscillation of DHA occurred around the 92nd and 192nd day. The paper pointed out that marine detritus surfaces not only support a succession of microbial communities but also undergo successional change in non-equilibrium processes. When organic compounds are oxidized and the resulting depletion of O_2 leads to the formation of a redox gradient and a reduced microzone on the detritus surface, NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} may serve as terminal electron acceptors of respiration in the reduced region during evolution of microzone. The redox gradient of the detrital microzone allows aerobic and anaerobic processes to coexist in close proximity, indicating different terminal electron acceptors may distribute spatially in the detrital microzone. The detrital microzone permits specific nutrient transformation processes which may not prosper or even be inhibited in the ambient waters. In response to the change in the detrital microzone nonequilibrium processes microbial communities regulate metabolism. The DHA increases at the change in terminal acceptors. The mechanism maintaining the stability of the detrital microzone is also discussed.

Key words Marine detritus Microzone Nutrient Dehydrogenase activity

* Contribution No. 2193 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.