

DOI: 10.5846/stxb201803160521

刘庆霞,周林滨,毋赟,杨玉敏,张黎.褶皱臂尾轮虫 *Brachionus plicatilis* 摄食小球藻 *Chlorella* sp.的碳同化与碳排放.生态学报,2018,38(18): - .
Liu Q X, Zhou L B, Wu Y, Yang Y M, Zhang L. Assimilation and release of the ingested phytoplankton *Chlorella* sp. by the marine zooplanktonic rotifer *Brachionus plicatilis*. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(18): - .

褶皱臂尾轮虫 *Brachionus plicatilis* 摄食小球藻 *Chlorella* sp.的碳同化与碳排放

刘庆霞^{1,2},周林滨^{1,2},毋赟^{1,3},杨玉敏⁴,张黎^{1,*}

1 中国科学院南海海洋研究所 中国科学院热带海洋生物资源与生态重点实验室,广州 510301

2 中国科学院大学,北京 100049

3 南京信息工程大学环境科学与工程学院,南京 210044

4 广东省海洋与渔业环境监测预报中心,广州 511400

摘要:浮游动物在食物链能量流动与物质传递中发挥着重要作用,能将摄入的浮游植物转化为不同形态的碳,在海洋碳循环中发挥重要作用。应用¹⁴C 标记示踪方法,定量分析海洋浮游动物褶皱臂尾轮虫 *Brachionus plicatilis* 摄入碳的碳同化与碳排放。喂食不同密度小球藻 *Chlorella* sp. (1×10^5 个/mL、 5×10^5 个/mL、 1×10^6 个/mL) 后,褶皱臂尾轮虫对小球藻碳的同化率(AE)为 34%—51%,呈现随饵料密度增加而减小的趋势;未被轮虫同化的碳,主要以溶解有机碳(DOC)的形态排放到水体中,DOC 占碳排放的比例为 37%—51%,随着饵料密度增加而增加;二氧化碳(CO₂)的比例为 15%—40%,随着饵料密度增加而减小;颗粒有机碳(POC)占碳排放的比例较少,为 23%—34%,随着饵料密度的增加而增加。此外,分析褶皱臂尾轮虫排放 DOC 的粒径组成,发现低分子量有机碳(LMW, < 3 kDa)的量大于胶体有机碳(COC, 3 kDa—0.22 μm)的量,COC 占 DOC 比例为 33%—43%;LMW 占 DOC 比例为 57%—67%。本研究结果表明,浮游动物可把相当部分食物中的碳转化为 DOC,排放到水体中为细菌所利用,在海洋碳循环中发挥重要作用。

关键词:褶皱臂尾轮虫;碳同化率;碳排放;胶体有机碳;¹⁴C

Assimilation and release of the ingested phytoplankton *Chlorella* sp. by the marine zooplanktonic rotifer *Brachionus plicatilis*

LIU Qingxia^{1,2}, ZHOU Linbin^{1,2}, WU Yun^{1,3}, YANG Yumin⁴, ZHANG Li^{1,*}

1 Key Laboratory of Tropical Marine Bio-resources and Ecology, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3 School of Environment Science and Engineering, Nanjing University of Information Science & Technology, Nanjing 210044, China

4 Environmental Monitoring and Forecast Center of Guangdong Marine Fisheries Department, Guangzhou 511400, China

Abstract: Zooplankton plays important roles in the energy and nutrient flows in the aquatic food webs. They also influence the ocean carbon cycle by producing sinking fecal pellets and dissolved organic carbon (DOC) and regulate the structure of phytoplankton assemblages. Phytoplankton carbon ingested by zooplankton will be assimilated as biological carbon or released into the environment as carbon dioxide (CO₂), DOC, and fecal pellets. So far, it is not clear how the unassimilated carbon is allocated to the three forms. We here employed rotifer *Brachionus plicatilis*, a common marine species that is widespread in estuarine and coastal areas and widely used as a model species for ecotoxicological and

基金项目:国家重点研发计划(2016YFC0502805);国家重点基础研究发展计划项目(2015CB452904);广东省自然科学基金(2015A030310169)

收稿日期:2018-03-16; **修订日期:**2018-07-02

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhangli@scsio.ac.cn

ecological studies, to examine the carbon assimilation and release in marine zooplankton. This study quantified the carbon budgets and assimilation efficiencies (AEs) of the rotifer using ^{14}C tracing techniques. The rotifers were fed *Chlorella* sp. at three different food densities (1×10^5 , 5×10^5 , and 1×10^6 cells/mL). The rotifer was first fed ^{14}C -labeled *Chlorella* for a short duration and then fed non-labeled algae at the same food density several times during a 12-h depuration period. ^{14}C CO_2 , DO^{14}C , and ^{14}C -labeled fecal pellets were collected before each feeding interval during the depuration period. The ^{14}C retained in the rotifer after the 12-h depuration period was calculated as the assimilated carbon. The results showed that AE was 34%—51% and decreased as the amount of food ingested by the rotifer increased. The released carbon was predominant as DOC, accounting for 37%—51%, followed by CO_2 (15%—40%) and POC (23%—34%). The results also showed that DOC and POC proportions increased whereas CO_2 proportionally decreased as food density increase. DOC excreted by the rotifers was further size-fractionated into colloidal organic carbon (COC, with size range of 3 kDa to 0.2 μm) and low molecular weight organic carbon (LMW, < 3 kDa in size). The results showed that COC and LMW accounted for 33%—43% and 57%—67% of the total DOC, respectively. The COC proportion increased as food density increased. This study shows that the rotifer can transform a substantial fraction (18%—34%) of their ingested food carbon into DOC, which provides carbon sources for bacterial growth and fuels the microbial loop. The high proportions of organic carbon released by rotifer also support the idea that zooplankton diel vertical migration could be an important source of organic carbon for the mesopelagic ocean.

Key Words: *Brachionus plicatilis*; assimilation efficiency; carbon release; colloidal organic carbon; ^{14}C

浮游动物不仅是初级生产者和高营养级鱼类的纽带,其自身排放的有机碳也可为细菌利用,参与微食物环能量流动和物质循环,在海洋碳循环中发挥重要作用。浮游动物摄食的碳主要分配到两个部分:碳同化和碳排放。浮游动物排放的碳以 3 种形式进入水体:分泌和排泄产生的溶解有机碳(DOC, Dissolved organic carbon)、呼吸作用释放的二氧化碳(CO_2)及排泄作用产生的颗粒有机碳(POC, Particulate organic carbon)^[1-2]。浮游动物排放的 DOC 不仅向水体供应氮、磷等营养元素,还参与微食物环的能量流动和物质循环,是海洋 DOC 的重要来源之一^[3]。浮游动物摄食浮游植物产生的粪便(POC)是海洋生物泵向深海输送碳的重要组成部分^[4-6]。不仅如此,部分浮游动物排泄产生的 POC 会迅速分解成 DOC,为微生物提供所需的能量^[7-8]。此外,浮游动物垂直迁移活动使其排放的 DOC 与 POC 成为中层海洋有机碳的重要来源^[9-11]。浮游动物通过呼吸作用把有机碳转化为 CO_2 ,是浮游动物碳排放的重要组成部分,也是海洋无机碳的重要来源^[2,6,12]。

然而,目前对 3 种形态碳占浮游动物碳排放比例的认识,存在争议。一些学者认为浮游动物碳排放主要以 CO_2 和 POC 为主,对 DOC 的排放关注较少^[13],但也有学者提出了不同看法。通过直接测定浮游动物排放的 DOC, Xu 和 Wang^[2] 的研究发现刺尾纺锤水蚤 *Acartia spinicauda* 的碳排放以 CO_2 和 DOC 形式为主, POC 最少; Strom 等^[14] 的研究也表明太平洋哲水蚤 *Calanus pacificus* 排放的 DOC 量占其摄入食物碳的 16%—29%,表明浮游动物来源 DOC 是海洋 DOC 的重要组成部分。因此,我们有必要定量分析各形态碳占浮游动物碳排放的比例,尤其关注 DOC 的排放比例。

一直以来,人们认为海洋中的 DOC 主要由浮游植物贡献,忽略了浮游动物排放的 DOC。然而,最近的研究显示,浮游植物产生的 DOC 不能满足细菌生理活动所需,需要浮游动物等其他生物产生的 DOC 对海洋有机碳和微食物环的贡献^[15-17]。Williams^[15] 认为约 60% 浮游植物初级生产产生的 DOC 最终被细菌吸收利用; Peterson^[16] 根据碳流模型估计,浮游植物的有机物释放贡献了细菌所需营养物质的 73%; Sharp^[17] 则认为碳流模型估算比真实值高了大约 25%。而越来越多的研究也表明,浮游动物可以产生大量的 DOC^[1-2,14,18]。因此我们认为细菌所需的 DOC 不仅仅由浮游植物提供,浮游动物的碳贡献也可能占有很大的比例^[2,18-19]。

轮虫广泛分布于淡水与海洋中,是后生动物中拥有最高繁殖速率的类群,能够极其迅速地抢占生态系统中空的生态位,摄食浮游植物将能量转化为可被次级消费者(甲壳动物和鱼类幼苗)利用的有机物。轮虫转

换效率极高,由它所转换的生物量可占总浮游生物现存量的 30% 左右。虽然轮虫个体小,生物量也不是很高,但由于发育时间短,周转快,故其生产量仍较高。国际上对轮虫的研究多集中于摄食和生态毒理研究^[20-23],目前还未有轮虫碳同化及碳排放的相关报道。

褶皱臂尾轮虫 *Brachionus plicatilis* 是一种海洋轮虫,它们分布在河口及沿岸浅海区,具有分布广、繁殖快、生命周期短、易于实验室培养等优点,因而被美国材料与试验协会选定为海洋模式生物^[24]。椭圆小球藻 *Chlorella ellipsoidea* 是培养褶皱臂尾轮虫的最佳饵料之一^[20]。因此本文以小球藻 *Chlorella* sp. 为饵料,分析在不同饵料密度下褶皱臂尾轮虫摄食碳的分配情况。我们运用放射性同位素¹⁴C 示踪技术,量化分析褶皱臂尾轮虫摄食碳的分配,计算轮虫的碳同化率,得出 DOC、CO₂、POC 占碳排放的比例。此外,我们根据粒径大小将 DOC 分为低分子量有机碳(LMW, Low molecular weight organic carbon, < 3 kDa)和胶体有机碳(COC, Colloidal organic carbon, 3 kDa—0.22 μm),研究两种形态 DOC 所占的比例。

1 材料与方法

1.1 概念模型

浮游动物摄食后,摄食的碳主要流向两个部分:碳同化和碳排放。食物经过消化后一部分通过粪便(POC)排出,另一部分通过肠壁后被吸收。被吸收的部分最终有两个去向:一部分碳转化为浮游动物自身组织(碳同化);剩余的部分通过呼吸和分泌排泄作用分别以 CO₂ 和 DOC 的形式排出^[25-26]。因此,我们把碳同化

率定义为: $AE = \frac{A_1}{A_0} \times 100\%$, 式中, A_0 为浮游动物摄入的食物碳量, A_1 为浮游动物同化的食物碳量;碳排放定义为: $C_{\text{loss}} = A_0 - A_1 = \text{DOC} + \text{POC} + \text{CO}_2$, DOC 为分泌或排泄产生的溶解有机碳, POC 为排泄产生的颗粒有机碳, CO₂ 为呼吸释放的二氧化碳。

从图 1 的概念模型可以看出,浮游动物摄食的碳经过消化后,未被吸收的碳以 POC 形式排出,被吸收的碳流向两个碳库:代谢碳库和结构碳库。代谢碳库碳周转率较快,一部分碳以 DOC 和 CO₂ 形式排出,另一部分碳最终被同化储存在结构碳库中。

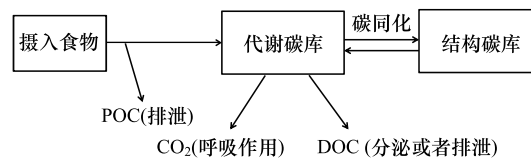


图 1 褶皱臂尾轮虫碳收支概念模型

Fig.1 Conceptual model of carbon budget in *Brachionus plicatilis*

DOC: 溶解有机碳, Dissolved organic carbon; POC: 颗粒有机碳, Particulate organic carbon

1.2 小球藻和褶皱臂尾轮虫

实验材料为小球藻和褶皱臂尾轮虫,小球藻平均细胞直径为 3—8 μm,褶皱臂尾轮虫大小为 0.04—2 mm,均由广东省实验动物监测所提供。

实验中所用海水采用人工配置海水^[27],盐度为 30‰,pH 值控制在 8.0,并用 0.22 μm 聚醚砜膜(Millipore, USA)过滤。小球藻培养基根据 f/2 配方配置^[28],灭菌处理后用 0.22 μm 聚醚砜膜过滤。小球藻培养温度控制在(23.5±1)℃,光强为 120 μmol m⁻² s⁻¹,光暗比为 14 h:10 h。当小球藻生长 6 d 后,其密度达到 1×10⁶个/mL 左右,取 1 L 小球藻溶液,用孔径为 1.2 μm 的聚碳酸酯膜(Millipore, USA)进行过滤收集,然后将收集的小球藻转移到 1 L 新的培养基中,加入 1 mL 浓度为 40 μCi/L NaH¹⁴CO₃ 标记液进行标记。经过 2d 的生长,小球藻细胞均已被¹⁴C 标记,最终标记浓度为 3.2×10⁻⁹ μCi/个。在褶皱臂尾轮虫喂食实验前,用 1.2 μm 的聚碳酸酯膜分别收集未标记和¹⁴C 标记的小球藻,用于喂食实验。

在人工海水中进行褶皱臂尾轮虫培养,温度控制在 $(25\pm 1)^\circ\text{C}$,在均匀光照下培养,光暗比为 14 h:10 h,饵料为小球藻。

1.3 褶皱臂尾轮虫喂食实验

参考褶皱臂尾轮虫摄食实验(褶皱臂尾轮虫存活和繁殖的最低饵料密度 1×10^5 个/mL,最佳饵料密度为 1×10^6 个/mL)^[20]的结果,褶皱臂尾轮虫喂食实验设置三个小球藻密度: 1×10^5 、 5×10^5 、 1×10^6 个/mL。实验前,将轮虫禁食 12 h,然后将饥饿状态的轮虫,分别装入 25 只盛有 25 mL 海水的烧杯中,每只烧杯 500 只轮虫。实验开始后,在暗处用 ^{14}C 标记的小球藻喂食轮虫,喂食密度为 1×10^5 个/mL。根据轮虫摄食到排泄时间间隔(10—15 min),喂食时间定为 5 min。喂食完毕后,用筛绢(325 目)收集轮虫,用过滤的海水清洗后,将其中 5 组轮虫样品分别装入闪烁瓶中,用于测定摄入的总 ^{14}C ,其余 20 组轮虫样品分别转移到装有 25 mL 过滤海水的烧杯中,用相同密度未标记的小球藻喂食,然后将其置于暗处防止轮虫产生的 $^{14}\text{CO}_2$ 被小球藻吸收利用。分别于 0、2、5、8、12 h 取样,每次取样 5 组,其余各组更换水后加入相同密度未标记的小球藻,继续在暗处净化。在 2、5、8、12 h 取样时,收集完轮虫样品后,用 0.22 μm 聚醚砜膜(Millipore, USA)过滤所有水样,收集滤膜至闪烁瓶中用于测定 PO^{14}C ,分别取 3 mL 滤液至闪烁瓶中用于测定 DO^{14}C 和 $\text{LMW DO}^{14}\text{C}$,另取 15 mL 滤液用于收集 $^{14}\text{CO}_2$ 。当小球藻密度为 5×10^5 和 1×10^6 个/mL时,喂食实验操作和取样步骤同上。

轮虫样品与 PO^{14}C 样品需要分别加入 1 mL 浓度为 2 mol/L 的 NaOH,然后在 80°C 下消解 24 h。参照 Lee 和 Fisher^[29]、Wang 和 Guo^[30]收集 $^{14}\text{CO}_2$:在收集的 15 mL 滤液样品中,加入 100 μL 浓度为 6 N 的稀盐酸,充入氮气,将 $^{14}\text{CO}_2$ 驱赶至装有 5 mL NaOH 溶液(1 mol/L)的闪烁瓶中,充气时间为 15 min, $^{14}\text{CO}_2$ 的收集效率为 80%。

CO^{14}C 和 $\text{LMW DO}^{14}\text{C}$ 测量方法依据 Zhang 和 Wang^[31]。将 3 mL 滤液样品置于超滤管(Amicon, Ultra-4, 3 kDa; Millipore, USA)中,然后在 4°C 下,以 10000 r/min 离心 15 min,将 CO^{14}C 与 $\text{LMW DO}^{14}\text{C}$ 分离。取过滤液用于测定 $\text{LMW DO}^{14}\text{C}$,然后 CO^{14}C 占 DO^{14}C 的比例可根据以下公式进行计算:

$$\% \text{COC} = \frac{R_{\text{dissolved}} - R_{\text{LMW}}}{R_{\text{dissolved}}} \times 100\%$$

式中, $\% \text{COC}$ 代表 CO^{14}C 占 DO^{14}C 的比例, $R_{\text{dissolved}}$ 代表 DO^{14}C 样品的值, R_{LMW} 代表 $\text{LMW DO}^{14}\text{C}$ 样品的值。

所有的 ^{14}C 样品均加入 4 mL 闪烁液,摇匀后在暗环境中静置 12 h,然后用液体闪烁计数器(LSC, LS6500, Beckman Counter, Pasadena, CA)测定放射性强度,分析精密度 $^{14}\text{C} < 0.1\%$ 。轮虫碳排放表示为 $C_{\text{loss}} = A_0 - A_1$, C_{loss} 表示轮虫 12 h 净化过程中损失的 ^{14}C 量, A_0 为轮虫摄入的小球藻 ^{14}C 量, A_1 为 12 h 后轮虫体内剩余的 ^{14}C 量。轮虫的碳排放也是 12 h 净化过程中产生的 DO^{14}C 、 $^{14}\text{CO}_2$ 、 PO^{14}C 的总和,可表示为 $C'_{\text{loss}} = \text{DO}^{14}\text{C} + ^{14}\text{CO}_2 + \text{PO}^{14}\text{C}$ 。本研究中, $C'_{\text{loss}}/C_{\text{loss}}$ 的值为 95%—108%,显示实测碳排放回收率为 95%—108%。

1.4 数据分析与统计

用 Excel、SigmaPlot 软件进行数据分析并做图,用 SPSS 软件包中的单因素方差分析比较净化过程中及净化结束后各形态碳之间的差异。

2 结果与分析

2.1 轮虫碳同化率(AE)

褶皱臂尾轮虫摄食 ^{14}C 标记的小球藻后,轮虫体内的 ^{14}C 在最初的 2 h 内迅速下降(降至 50%—61%),之后慢慢下降趋于平稳。在 8—12 h 净化期间,轮虫体内的 ^{14}C 含量基本保持不变,表示 12 h 后,留存在轮虫体内的 ^{14}C 同化为轮虫自身组织的一部分,进入结构碳库。不同饵料密度对应的轮虫 AE 为 34%—51%,不同 AE 之间差异不显著($P > 0.05$),呈现随着饵料密度的增加而降低的特点。在整个净化期间,轮虫的碳排放占摄入碳的比例为 49%—66%(图 2)。

2.2 各形态碳占轮虫碳排放的比例

图 3A—3C 表示不同饵料密度下轮虫净化过程中各形态碳占碳排放的比例,图 3D 表示净化结束后,各形态碳总量分别占总碳排放量的比例。在 8—12 h 净化期间,轮虫排放的各形态碳所占比例基本保持不变(图 3A—3C)。轮虫碳排放以 DOC 为主,其贡献量占碳排放的 37%—51%,当摄食低密度(1×10^5 个/mL)与中密度(5×10^5 个/mL)小球藻时,DOC 占总碳排放比例差异不显著($P > 0.05$),当摄食高密度(1×10^6 个/mL)小球藻时,DOC 所占比例显著高于前两组($P < 0.05$); CO_2 也是碳排放的主要形式之一,其贡献量占碳排放的 15%—40%,当摄食低密度与中密度小球藻时, CO_2 占总碳排放比例差异不显著($P > 0.05$),当摄食高密度小球藻时, CO_2 所占比例显著低于前两组($P < 0.05$);POC 在整个碳排放过程中所占比例较小,为 23%—34%,当摄食中密度与高密度小球藻时,POC 占总碳排放比例差异不显著($P > 0.05$),当摄食低密度小球藻时,POC 所占比例显著低于前两组($P < 0.05$)。此外,还对比分析了摄食相同密度小球藻时不同形态碳所占比例之间的差异。当摄食低密度小球藻时,DOC 与 CO_2 所占比例差异不显著($P > 0.05$),而 POC 所占比例显著低于前两者($P < 0.05$);摄食中密度小球藻时,三者所占比例差异不

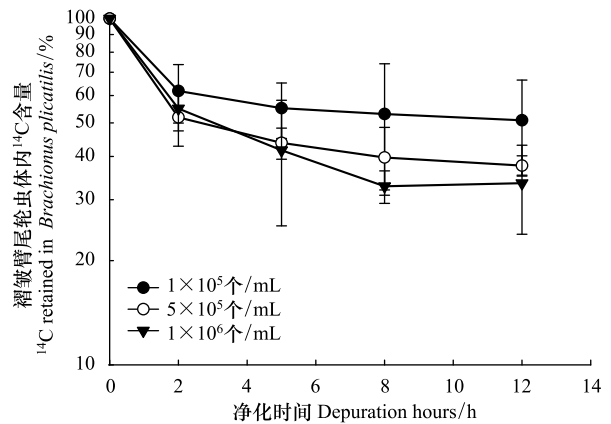


图 2 褶皱臂尾轮虫摄食不同密度小球藻后体内¹⁴C 含量随净化时间变化(平均值±标准偏差(n=5))

Fig.2 Retention of ingested ¹⁴C in *Brachionus plicatilis* fed with different densities of *Chlorella* sp. during the 12 h depuration period (Means ± SD (n=5))

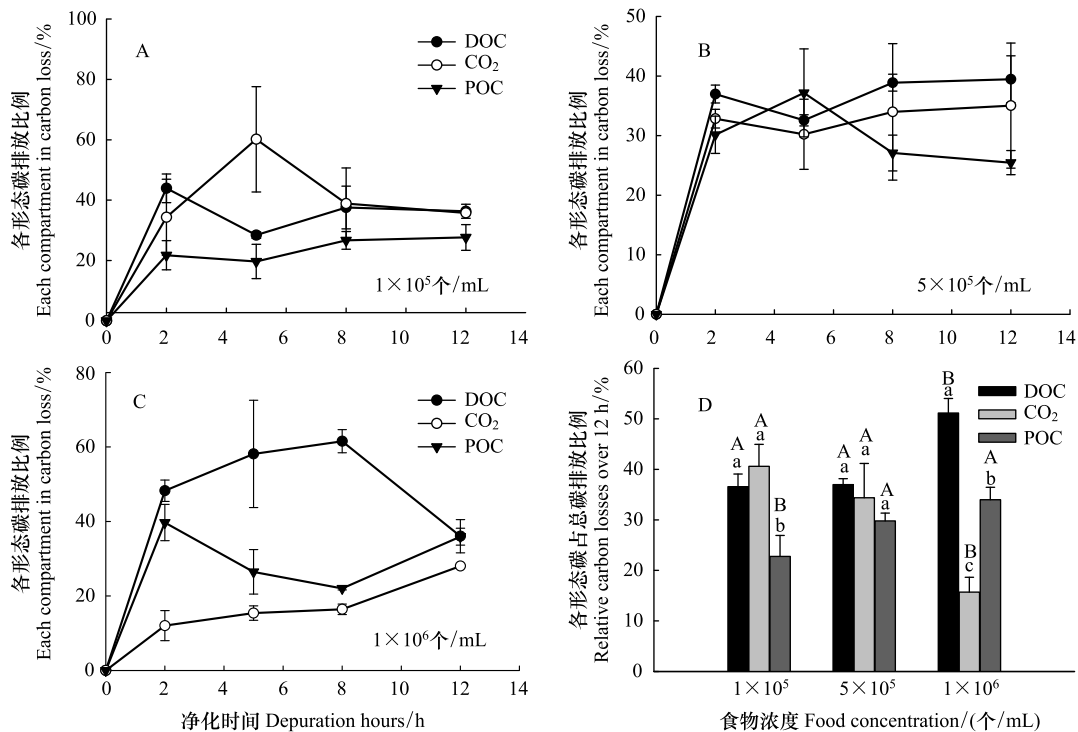


图 3 褶皱臂尾轮虫摄食不同密度小球藻后在净化期间各形态碳占碳排放的比例(平均值±标准偏差(n=5))

Fig.3 Relative contribution of different routes of carbon loss from *Brachionus plicatilis* fed with different densities of *Chlorella* sp. during the 12 h depuration period(Means ± SD (n=5))

图 3D 中不同小写字母(a、b、c)代表同一饵料密度下不同形态碳之间差异显著($P < 0.05$);图 3D 中不同大写字母(A、B、C)代表不同饵料密度下同一形态碳之间差异显著($P < 0.05$)

显著($P>0.05$);摄食高密度小球藻时,三者所占比例差异性显著($P<0.05$),尤其是 DOC,显著高于 CO_2 与 POC ($P<0.01$)。DOC 与 POC 占碳排放的比例随着饵料密度的增加而增加, CO_2 占碳排放比例随着饵料密度的增加而减小(图 3D)。

图 4 表示不同饵料密度下轮虫净化过程中 COC、LMW 占 DOC 的比例。在不同饵料密度下,轮虫排放的 DOC 中,COC 所占比例为 33%—43%,LMW 所占比例为 57%—67%,LMW 所占比例高于 COC。当摄食低密度与中密度小球藻时,COC 占 DOC 比例较大,分别为 41%与 43%,两者差异性不显著($P>0.05$);当摄食高密度小球藻时,COC 所占比例(33%)显著低于前两组($P<0.05$)。COC 占 DOC 比例随着饵料密度的增加而减小,LMW 所占比例则随着饵料密度的增加而增加(图 4)。

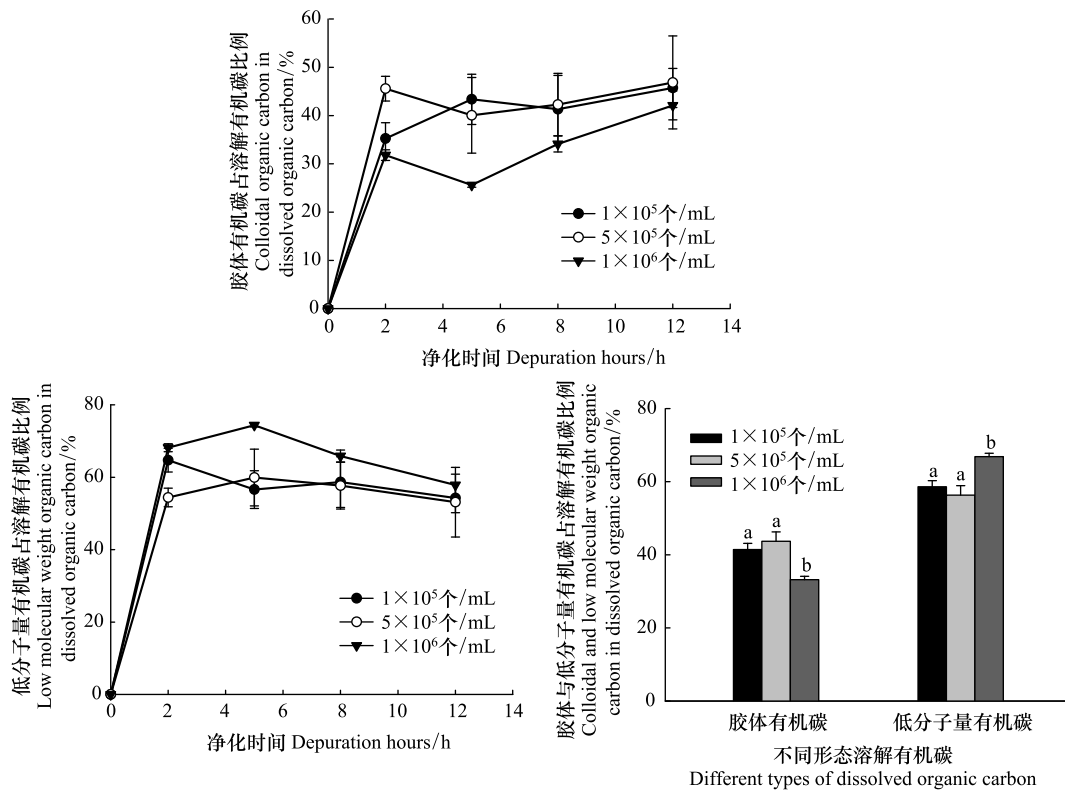


图 4 褶皱臂尾轮虫摄食不同密度小球藻后胶体态和低分子量有机碳分别占 DOC 的比例(平均值 \pm 标准偏差($n=5$))

Fig.4 Percentages of dissolved organic carbon in the colloidal phase and the low molecular weight organic carbon produced by *Brachionus plicatilis* during the 12 h depuration period at different concentration densities of *Chlorella* sp. (Means \pm SD ($n=5$))

COC:胶体有机碳, Colloidal organic carbon; LMW:低分子量有机碳, Low molecular weight organic carbon; 不同小写字母(a, b)代表不同饵料密度下同一形态碳之间差异显著($P<0.05$)

2.3 褶皱臂尾轮虫摄入碳的分配

本研究假定轮虫摄入的小球藻碳量为 100,图 5 表示净化结束后轮虫摄入小球藻碳的分配情况。结果表明,在不同的饵料密度下,轮虫摄入的碳主要流向两个方向:碳同化和 DOC 排放。在不同饵料密度下,DOC 占碳摄入的 18%—34%,随着饵料密度的增加而增加; CO_2 占碳摄入的 10%—20%,当摄食低密度与中密度小球藻时, CO_2 占碳摄入的值基本一致,当摄食高密度小球藻时, CO_2 占碳摄入的值则降低至 10%;POC 占碳摄入的 11%—22%,随着饵料密度的增加而增加(图 5)。综合分析图 3 和图 5 可以得出,褶皱臂尾轮虫摄食的碳主要用于碳同化和 DOC 排放,其次是 CO_2 , POC 所占比例较低。

3 讨论

本文应用 ^{14}C 标记示踪方法,首次定量分析了褶皱臂尾轮虫摄食小球藻的碳同化及碳排放。浮游动物可

把相当量的食物碳(18%—34%)转化为 DOC,促进细菌生长,参与微食物环的物质循环与能量流动,在海洋碳循环中发挥重要作用。

3.1 浮游动物的碳同化效率

目前浮游动物的碳同化率及碳排放研究主要集中在桡足类,由于尚未有轮虫 AE 及相关碳排放研究的报道,本文主要与桡足类及枝角类浮游动物进行比较分析(表 1)。He 和 Wang^[1]对大型溞 *Daphnia magna* 的研究显示,饵料种类与大型溞的大小对 AE 没有太大的影响,但是饵料密度却影响 AE 大小。他们发现当衣藻 *Chlamydomonas reinhardtii* 密度为 0.027—0.27 mg C L⁻¹ 时,大型溞成虫及幼虫 AE 变化不大;但当衣藻密度增加到 2.7 mg C L⁻¹ 时,大型溞成虫及幼虫 AE 显著下降,分别下降至 38.5%与 48%。而 Xu 和 Wang^[2]对海洋桡足类刺尾纺锤水蚤 *Acartia spinicauda* 的研究却发现,饵料密度对 AE 值基本无影响,饵料种类对 AE 有影响。其中,当圆海链藻 *Thalassiosira rotula*、假微型海链藻 *Thalassiosira pseudonana* 及威氏海链藻 *Thalassiosira weissflogii* 密度变化时,桡足类 AE 变化范围分别为 51%—59%、91%—95%及 67%—73%,饵料密度对桡足类 AE 影响不大。而在本研究中,褶皱臂尾轮虫的 AE 值随着饵料密度的增加而降低,AE 大小与饵料密度有关,饵料种类对褶皱臂尾轮虫 AE 的影响需要作者进一步的深入研究。褶皱臂尾轮虫 AE 结果虽与大型溞及刺尾纺锤水蚤的 AE 结果相近^[1-2],但是其变化规律却不相同。

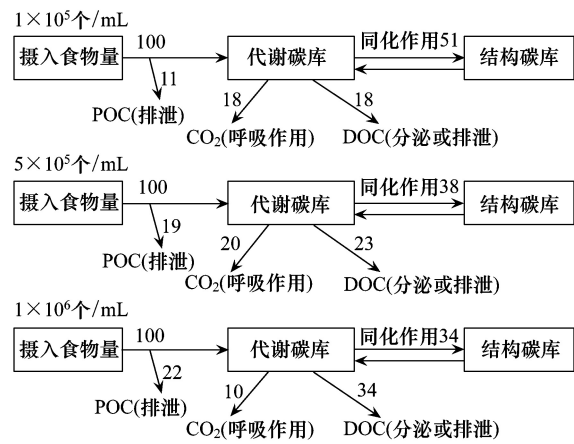


图 5 褶皱臂尾轮虫摄食不同密度小球藻碳的分配
Fig.5 The allocation of food carbon into different physiological compartment in *Brachionus plicatilis* fed with different densities of *Chlorella sp.*

表 1 不同浮游动物的碳同化率(AE)及各形态碳占碳排放的比例

Table 1 The assimilation efficiencies of different kinds of zooplankton and the percentage contribution of different routes to carbon loss

浮游动物种类 Zooplankton species	同化效率 Assimilation efficiency/%	溶解有机碳比例 The percentage of DOC/%	溶解有机碳中胶体有机碳比例 The percentage of COC in DOC/%	二氧化碳比例 The percentage of CO ₂ /%	颗粒有机碳比例 The percentage of POC/%	文献来源 References
褶皱臂尾轮虫 <i>Brachionus plicatilis</i>	36—50	49—64	33—43	13—32	19—21	本文
汤氏纺锤水蚤 <i>Acartia tonsa</i>	30—61					[32]
汤氏纺锤水蚤 <i>Acartia tonsa</i>	<10—>95					[33]
刺尾纺锤水蚤 <i>Acartia spinicauda</i>	51—95	35—75		21—56	<11	[2]
大型溞(淡水) <i>Daphnia magna</i>	33—70	39—72	21—38	9—47	0.1—32	[1]

放射性同位素¹⁴C 示踪技术具有灵敏、准确的优点,因此越来越多研究应用¹⁴C 示踪技术来分析浮游动物对饵料的同化效率。然而有些研究结果与本文同化效率结果差异较大^[33]。同化效率计算模型为 $AE = \frac{A_1}{A_0} \times 100\% = \frac{A_0 - (DOC + CO_2 + POC)}{A_0} \times 100\%$,轮虫的排泄、分泌、呼吸作用均会影响 AE 的大小。Besiktepe 和 Dam^[33]研究了海洋桡足类汤氏纺锤水蚤 *Acartia tonsa* 对威氏海链藻 *Thalassiosira weissflogii* 等多种复合饵料碳的同化效率,其应用的计算模型为 $AE = \frac{I - E}{I} \times 100\%$,式中, E 为排泄率, I 为摄食率,并未考虑 CO₂ 与 DOC 的影响,

从而高估了桡足类的 AE 值,造成与本文结果差异明显。Bochdansky 等^[13]认为海洋桡足类哲水蚤 *Calanus* spp.对诺氏海链藻 *Thalassiosira nordenskioldii* 碳的同化效率 $AE = \frac{A_0 - (CO_2 + POC)}{A_0}$,即只考虑哲水蚤的粪便排泄与呼吸消耗,忽略其分泌产生的 DOC,从而严重高估了碳同化效率。因此,我们认为本文对褶皱臂尾轮虫碳同化作用的结果更加准确,有助于我们对碳同化过程中的碳排放机制更深入的认识。

3.2 DOC 为碳排放的主要形式

浮游动物摄食后的碳排放分为 3 种碳形态: DOC、CO₂和 POC。由于测量方法的不同,浮游动物碳排放及各形态碳分配比例一直存在较大的争议。常规研究通常通过测定 O₂的消耗来估算浮游动物呼吸释放的 CO₂量^[12,34],这种方法很难排除细菌等微生物的影响^[35],可能高估了浮游动物呼吸作用产生的 CO₂量。用放射性同位素¹⁴C 标记浮游动物饵料,直接收集测定浮游动物排放的¹⁴CO₂、DO¹⁴C、PO¹⁴C,不仅可以更精确的估算¹⁴CO₂量,还对浮游动物碳排放的分配产生了新的认识^[2,30]。本文中的褶皱臂尾轮虫摄食后的碳排放形态主要以 DOC 为主,CO₂其次,POC 较少。He 和 Wang^[1]对枝角类大型蚤 *Daphnia magna* 的研究也发现,大型蚤摄食后碳排放以 DOC 为主,CO₂与 POC 较少,本文研究结果与其发现一致。浮游动物代谢产生的 DOC 不仅是微食物环的重要能量来源,对金属的迁移转化也有一定的影响作用。

有研究显示,海洋浮游植物在大多数时间通过光合作用固定的有机碳不足以支持微生物细菌的呼吸消耗,尤其是在寡营养海域,而大多数的微生物细菌只能摄食其他来源 DOC 来提供能量^[36-38]。有研究发现浮游植物每天释放的 DOC 量,只能满足细菌所需的一半左右^[15-17]。现在有越来越多的研究表明,浮游动物代谢可以产生大量的 DOC^[1-2,14,18],因此微食物环所需的能量可能不仅仅由浮游植物提供,浮游动物产生的 DOC 也是细菌的重要能量来源。我们的研究结果也表明,浮游动物可以把相当量的饵料碳转化为 DOC。

浮游动物摄食浮游植物后通过垂直迁移向深海提供有机碳^[10,39]。已有大量研究发现,浮游动物垂直迁移不仅增加了海洋中层的有机碳通量,其分泌和排泄产生的 DOC 是 DOC 碳库的重要组成部分,在某些海域甚至占到 DOC 碳库的一半以上^[9-10,40-41]。Steinberg 等^[10]研究发现,中层浮游生物所需要的有机碳缺口,是由浮游动物垂直迁移将有机碳从上层海洋迁移到中层满足的。Clifford 等^[40]通过对阿拉斯加湾和大西洋北部调查发现,甲壳类浮游动物(特别是桡足类)通过分泌和排泄等生理活动向海洋贡献了大量的 DOC—牛磺酸,大部分牛磺酸为异养细菌提供能量来源。Urban-Rich^[9]通过对格陵兰海域桡足类的研究发现,桡足类可以通过排泄(粪球)作用产生大量的 DOC,粪球溶解(排泄及 POC 降解)产生的 DOC 对 DOC 碳库贡献高达 86%。在格陵兰海中部海域,哲水蚤 *Calanus* spp.在 3.52 个月长的摄食季节中,粪球释放 DOC 的平均值(6 g DOC/m²)与新生产力来源的 DOC 年产量相当。Steinberg 等^[41]对马尾藻海浮游动物昼夜垂直移动的研究发现,浮游动物分泌产生的 DOC 占其代谢碳(DOC 和 CO₂)总量的 5%—42%,平均贡献为 24%,是水体碳通量的重要组成部分,为深层微生物提供能量来源。Isla 等^[11]对寡营养盐海域(地中海西北部)浮游动物的研究也发现,在浮游动物垂直迁移过程中,DOC 的排放量(3.1 mmol C m⁻² d⁻¹)已经超过 CO₂(2.2 mmol C m⁻² d⁻¹),DOC 已经成为浮游动物主要的代谢碳产物。综上所述,本文褶皱臂尾轮虫的研究结果进一步证实,浮游动物产生的 DOC(分泌和排泄的 DOC 以及 POC 降解生成的 DOC)已经成为海洋溶解有机碳的重要组成部分,对海洋碳循环和海洋生物泵过程有重要作用。

此外,我们首次对褶皱臂尾轮虫的 DOC 进行分级测定,发现 COC(3 kDa—0.22 μm)占 DOC 比例约为 33%—43%;LMW(<3kDa)占 DOC 比例约为 57%—67%,LMW 量大于 COC 量。He 和 Wang^[1]曾对枝角类的 DOC 进行分析研究,发现在不同饵料密度下,COC(5kDa—0.22 μm)占 DOC 的比例为 21%—38%,LMW 量大于 COC 量;黄文丹^[42]对长江口 COC(1 kDa—0.45 μm)的研究发现,河口水体中 COC 占 DOC 值为 32%,LMW 所占比例较高。由以上研究可以得出,本文所得结果与室内实验及自然水体中测得结果基本一致。COC 与 LMW 在水体中广泛存在,可以和金属结合影响金属的生物可利用性,但这两种有机碳络合金属的能力及影响金属吸收速率的能力有很大差别。在长江口区域,重金属元素的不同分子量胶体态浓度占胶体态比例存在很

大差别,大分子量胶体态(500 kDa—0.45 μm) Fe 和 Mn 占胶体态比例均超过 65%,小分子量胶体态(1—5 kDa) Pb 和 As 占胶体态比例均超过 50%^[42]; Wang 和 Guo^[43]通过对比研究发现,浮游植物对胶体(1 kDa—0.22 μm) 金属 Cd 和 Cr 的吸收速率略高于或者类似于低分子量组分(<1 kDa) 中的金属吸收; Pan 和 Wang^[44]比较了胶体(1 kDa—0.22 μm) 结合的 Cr 和 Fe 以及低分子量组分(<1 kDa) 中的 Cr 和 Fe 被蛤 *Tapes philippinarum* 和翡翠贻贝 *Perna viridis* 的吸收,发现这两种双壳类对胶体态金属的吸收明显高于小分子量结合的金属。因此,大量研究显示,量化胶体态金属与低分子量结合的金属对不同海洋生物的生物可利用性,对海洋生态毒理学的研究有重要意义。而浮游动物来源的 COC、LMW 与其他来源的 COC、LMW 对金属的生物可利用有何不同,目前还未有研究报道,需要进一步进行对比分析研究。

4 结论

(1) 褶皱臂尾轮虫摄食小球藻后 34%—51% 的碳被同化;碳排放以 DOC 为主,其次是 CO₂, POC 所占比例较少。DOC 与 POC 占碳排放的比例随着饵料密度的增加而增加,CO₂ 占碳排放的比例随着饵料密度的增加而减小;

(2) 褶皱臂尾轮虫碳同化率与其他已知的浮游动物相仿,并随着饵料密度的增加而减小;

(3) 褶皱臂尾轮虫的 DOC 以 LMW 为主(57%—67%),COC 较少(33%—43%)。COC 占 DOC 比例随着饵料密度的增加而减小,LMW 所占比例则随着饵料密度的增加而增加;

(4) 浮游动物在其生理活动中也产生大量的 DOC,为微生物提供能量,是海洋碳循环的重要组成部分。

致谢:感谢中国科学院南海海洋研究所谭烨辉研究员、宋星宇研究员和徐杰研究员在样品测定过程中给予的帮助。

参考文献 (References):

- [1] He X J, Wang W X. Releases of ingested phytoplankton carbon by *Daphnia magna*. *Freshwater Biology*, 2006, 51(4): 649-665.
- [2] Xu Y, Wang W X. Fates of diatom carbon and trace elements by the grazing of a marine copepod. *Marine Ecology Progress Series*, 2003, 254: 225-238.
- [3] Wang W X, Fisher N S. Excretion of trace elements by marine copepods and their bioavailability to diatoms. *Journal of Marine Research*, 1998, 56(3): 713-729.
- [4] Fowler S W, Knauer G A. Role of large particles in the transport of elements and organic compounds through the oceanic water column. *Progress in Oceanography*, 1986, 16(3): 147-194.
- [5] Altabet M A, Small L F. Nitrogen isotopic ratios in fecal pellets produced by marine zooplankton. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1990, 54(1): 155-163.
- [6] Steinberg D K, Landry M R, Annual R. Zooplankton and the ocean carbon cycle. *Annual Review of Marine Science*, 2017, 9: 413-444.
- [7] Jumars P A, Penry D L, Baross J A, Perry M J, Frost B W. Closing the microbial loop: dissolved carbon pathway to heterotrophic bacteria from incomplete ingestion, digestion and absorption in animals. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 1989, 36(4): 483-495.
- [8] Lampitt R S, Noji T, von Bodungen B. What happens to zooplankton faecal pellets? implications for material flux. *Marine Biology*, 1990, 104(1): 15-23.
- [9] Urban-Rich J. Release of dissolved organic carbon from copepod fecal pellets in the Greenland Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1999, 232(1): 107-124.
- [10] Steinberg D K, Cope J S, Wilson S E, Kobari T. A comparison of mesopelagic mesozooplankton community structure in the subtropical and subarctic North Pacific Ocean. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2008, 55(14/15): 1615-1635.
- [11] Isla A, Scharek R, Latasa M. Zooplankton diel vertical migration and contribution to deep active carbon flux in the NW Mediterranean. *Journal of Marine Systems*, 2015, 143: 86-97.
- [12] Lampert W, Bohrer R. Effect of food availability on the respiratory quotient of *Daphnia magna*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1984, 78(2): 221-223.
- [13] Bohdansky A B, Deibel D, Rivkin R B. Absorption efficiencies and biochemical fractionation of assimilated compounds in the cold water appendicularian *Oikopleura vanhoeffeni*. *Limnology and Oceanography*, 1999, 44(2): 415-424.
- [14] Strom S L, Benner R, Ziegler S, Dagg M J. Planktonic grazers are a potentially important source of marine dissolved organic carbon. *Limnology and*

- Oceanography, 1997, 42(6): 1364-1374.
- [15] Williams P J L B. Incorporation of microheterotrophic processes into the classical paradigm of the planktonic food web. *Kieler Meeresforsch*, 1981, 54: 1-28.
- [16] Peterson B J. Synthesis of carbon stocks and flows in the open ocean mixed layer // Hobbie J E, LeB Williams P J, eds. *Heterotrophic Activity in the Sea*. Boston, MA: Springer, 1984: 547-554.
- [17] Sharp J H. Inputs into microbial food chains // Hobbie J E, LeB Williams P J, eds. *Heterotrophic Activity in the Sea*. Boston, MA: Springer, 1984: 101-120.
- [18] Møller E F, Nielsen T G. Production of bacterial substrate by marine copepods: effect of phytoplankton biomass and cell size. *Journal of Plankton Research*, 2001, 23(5): 527-536.
- [19] Riemann B, Jørgensen N O G, Lampert W, Fuhrman J A. Zooplankton induced changes in dissolved free amino acids and in production rates of freshwater bacteria. *Microbial Ecology*, 1986, 12(3): 247-258.
- [20] 周文礼. 几种饵料单胞藻对褶皱臂尾轮虫摄食、繁殖和实验种群动态的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2005.
- [21] Sarma S S S, Azuara-García R, Nandini S. Combined effects of zinc and algal food on the competition between planktonic rotifers, *Anuraeopsis fissa* and *Brachionus rubens* (Rotifera). *Aquatic Ecology*, 2007, 41(4): 631-638.
- [22] 冯蕾. 褶皱臂尾轮虫摄食生态的实验研究. *海洋环境科学*, 2010, 29(1): 22-26.
- [23] Klimek B, Fiałkowska E, Kocerba-Soroka W, Fyda J, Sobczyk M, Pajdak-Stós A. The toxicity of selected trace metals to *lecanie inermis* rotifers isolated from activated sludge. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2013, 91(3): 330-333.
- [24] ASTM E1440-91(2012). Standard Guide for Acute Toxicity Tests with the Rotifer *Brachionus*. Annual book of ASTM standards vol. 11. 06. ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012.
- [25] Penry D L. Applications of efficiency measurements in bioaccumulation studies: definitions, clarifications, and a critique of methods. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1998, 17(8): 1633-1639.
- [26] Wang W-X, Fisher N S. Assimilation efficiencies of chemical contaminants in aquatic invertebrates: a synthesis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1999, 18(9): 2034-2045.
- [27] Guillard R R L, Ryther J H. Studies of marine planktonic diatoms. I. *cyclotella nana* Hustedt, and *detonula confervacea* (cleve) gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 1962, 8(2): 229-239.
- [28] Price N M, Harrison G I, Hering J G, Hudson R J, Nirel P M V, Palenik B, Morel F M M. Preparation and chemistry of the artificial algal culture medium aquil. *Biological Oceanography*, 1989, 6(5/6): 443-461.
- [29] Lee B-G, Fisher N S. Degradation and elemental release rates from phytoplankton debris and their geochemical implications. *Limnology and Oceanography*, 1992, 37(7): 1345-1360.
- [30] Wang W-X, Guo L D. Production of colloidal organic carbon and trace metals by phytoplankton decomposition. *Limnology and Oceanography*, 2001, 46(2): 278-286.
- [31] Zhang W C, Wang W-X. Colloidal organic carbon and trace metal (Cd, Fe, and Zn) releases by diatom exudation and copepod grazing. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2004, 307(1): 17-34.
- [32] Thor P, Koski M, Tang K W, Jónasdóttir S H. Supplemental effects of diet mixing on absorption of ingested organic carbon in the marine copepod *Acartia tonsa*. *Marine Ecology Progress Series*, 2007, 331: 131-138.
- [33] Besiktepe S, Dam H G. Coupling of ingestion and defecation as a function of diet in the calanoid copepod *Acartia tonsa*. *Marine Ecology Progress Series*, 2002, 229: 151-164.
- [34] Møller E F, Thor P, Nielsen T G. Production of DOC by *Calanus finmarchicus*, *C. glacialis* and *C. hyperboreus* through sloppy feeding and leakage from fecal pellets. *Marine Ecology Progress Series*, 2003, 262: 185-191.
- [35] Harris R P, Wiebe P H, Lenz J, Skjoldal H R, Huntley M. *Zooplankton Methodology Manual*. San Diego: Academic Press, 2000.
- [36] del Giorgio P A, Duarte C M. Respiration in the open ocean. *Nature*, 2002, 420(6914): 379-384.
- [37] Stone R. The invisible hand behind a vast carbon reservoir. *Science*, 2010, 328(5985): 1476-1477.
- [38] Turner J T. Zooplankton fecal pellets, marine snow, phytodetritus and the ocean's biological pump. *Progress in Oceanography*, 2015, 130: 205-248.
- [39] Packard T T, Gómez M. Modeling vertical carbon flux from zooplankton respiration. *Progress in Oceanography*, 2013, 110: 59-68.
- [40] Clifford E L, Hansell D A, Varela M M, Nieto-Cid M, Herndl G J, Sintes E. Crustacean zooplankton release copious amounts of dissolved organic matter as taurine in the ocean. *Limnology and Oceanography*, 2017, 62(6): 2745-2758.
- [41] Steinberg D K, Carlson C A, Bates N R, Goldthwait S A, Madin L P, Michaels A F. Zooplankton vertical migration and the active transport of dissolved organic and inorganic carbon in the Sargasso Sea. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2000, 47(1): 137-158.
- [42] 黄文丹. 长江河口水体有机胶体含量、来源及其对重金属行为影响的研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2013.
- [43] Wang W-X, Guo L D. Bioavailability of colloid-bound Cd, Cr, and Zn to marine plankton. *Marine Ecology Progress Series*, 2000, 202: 41-49.
- [44] Pan J F, Wang W X. Comparison of the bioavailability of Cr and Fe bound with natural colloids of different origins and sizes to two marine bivalves. *Marine Biology*, 2002, 141(5): 915-924.