

用 ^{14}C 法测定海洋初级生产力

李永祺

(山东海洋学院生物系)

测定海洋初级生产力有好几种方法,如测氧法、叶绿素法、磷酸盐法、颗粒计算法、测氡法和放射性碳-14法等。但就方法的灵敏度、准确性而言,用 ^{14}C 法测定水域初级生产力被认为是最好的方法,尤其是用来进行大洋初级生产力的调查更显出其优越性。因此,用 ^{14}C 测定水域(包括淡水)的初级生产力,已被列为常规的调查方法。迄今已有的海洋初级生产力的调查资料,大多是用 ^{14}C 法测定的。

用放射性 ^{14}C 法进行海洋初级生产力调查,是五十年代初(1951—1952年)丹麦海洋生物学家斯蒂曼-尼尔森(Steemann-Nielsen),在丹麦海洋调查船“鎧甲虾号”(Gallathea)进行丹麦海域和太平洋初级生产力调查时首先应用的。这个方法一问世,立即引起各国海洋学家的极大兴趣和重视,在很短的时间里就被广泛地采用了。三十年来,丹麦、美、苏、加拿大、日本和澳大利亚等国的学者,不仅用这个方法测定了世界各大洋、许多海域和淡水水域的初级生产力,取得了一大批可喜的成果,而且在实践中,这个方法也得到了进一步改进、充实和完善。尤其是六〇年以来,液体闪烁计数装置的应用,提高了对 ^{14}C 的放射性探测效率,给 ^{14}C 法增添了新的生命力。

我国沿海海域辽阔,水产资源丰富,开展我国近海、港湾和河口的初级生产力调查,在理论上和实践上都是很重要的。本文拟就有关用 ^{14}C 法测定海洋初级生产力的主要方法和步骤加以介绍,以期对开展我国海洋初级生产力的调查能有所助益。

一、原 理

在海洋(包括河口)中,能行光合作用的

生物大体可归为五大类,即:大型定生藻类、海洋被子植物、浮游植物、底栖硅藻和光合作用细菌等。尽管在有些沿岸海域,大型定生海藻的初级生产力也相当可观,但就整个海洋的初级生产力来说,浮游植物是主要初级生产者,它所制造的有机物约占海洋初级生产力的95%。因此,通常所指海洋初级生产力调查,主要是指对海洋浮游植物的光合作用速度进行测定。

用 ^{14}C 法测定海洋初级生产力的原理是:浮游植物在进行光合作用时(其化学反应式为: $6\text{CO}_2 + 12\text{H}_2\text{O} \xrightarrow[\text{色素接受器}]{\text{光}} \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$)将 CO_2 吸收进细胞内,并合成有机物。如果在含有浮游植物的测定瓶内,加入已知放射性强度的示踪量 H^{14}CO_3 ,经过一定时间的光照培育,然后将浮游植物收集在滤膜上,测定其放射性强度。那么,由于水样中 CO_2 的量已知,则根据碳被浮游植物所同化的总量和 ^{14}C 被同化的量之间成正比的关系,即可计算出浮游植物的初级生产力。

二、仪器和试剂

所需的仪器如下:

1. 黑白瓶。用容积为130ml具有毛玻璃塞和喇叭口的优质透明玻璃瓶为测定瓶。在使用前应先用酸洗过,并用蒸馏水彻底洗过。硅盐渗透率高的玻璃瓶,以及含磷的洗涤剂不能使用。

透明瓶为白瓶。将透明瓶涂上黑漆,包上黑布或再包一层铝箔即成黑瓶。

2. 浮标、绳、支架和挂黑、白瓶用的扩张器,或水族箱。

3. 25mm直径、孔径为4.5 μ 的滤膜, 以及过滤装置。

4. 测定放射性强度的计数设备: 具有端窗(钟罩式)管的定标器, 气流式检测器, 或者液体闪烁计数器。

5. 具有10—15cm长针头的, 1ml或2ml容积的皮下注射器。

6. 烟气室, 即盛有浓盐酸的干燥器。

7. 非金属采水器。

8. 不透光、带格的箱子。

9. 质量好的、薄的橡胶管子。

10. 测定光强、温度、盐度、pH值和碱度的仪器。

本方法所需试剂如下:

1) 无载体的放射性碳酸盐($\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$)溶液。

国外有专供进行初级生产力测定的 ^{14}C 溶液出售(装在安培瓶中, 每瓶放射强度约5 $\mu\text{Ci/ml}$), 但价格较贵。我们可用国产的 ^{14}C 。由于目前国产的 ^{14}C 每瓶放射强度为1mCi或大于1mCi, 所以在购进同位素后要根据工作需要加以稀释、分装成每瓶含3—5 $\mu\text{Ci/ml}$, 以备使用。即将放射性母液配制成放射性工作液。工作液放射强度该是多大, 这要依浮游植物的光合作用速度, 以及期望得到的光合作用产额而定。这大致可按下列式计算:

$$A = \frac{R_s}{(E \times U \times N)}$$

式中:

A为需要加入的 ^{14}C 放射强度(μCi);

R_s 为样品的每分钟计数(CPM), 为了得到满意结果, CPM应大于1,000;

U为预计每小时每立方米水中碳被吸收的量($\text{mgC/m}^3/\text{hr}$);

E为计数效率;

N为培育(即光照)的时数。

通常, 对于大洋水域, A大约用25 μCi 为宜, 近海中等生产水域用5 μCi , 而对于沿岸和

富营养水域用1 μCi 即可。

稀释放射性母液的溶液, 其配法简单, 即在用分析纯的盐和蒸馏水配制而成的1升5%盐溶液(pH $\sim$ 11.3)中, 加入0.3g无水 Na_2CO_3 和0.2g NaOH 即成。

2) 中性福尔马林。

3) 过滤海水。取与被测水样同一水层的海水, 经过滤即成。用于洗涤滤膜上浮游植物吸附的 ^{14}C 。

4) 测定海水 CO_2 浓度的试剂。

5) 压缩 N_2 或空气。

6) 闪烁液, 其配制方法是。100g萘, 7g 2,5-二苯基噁唑(PPO), 0.3g 1,4-双-2-(5-苯基噁唑基)苯(POPOP)溶于1升二噁烷(保证试剂)中即成。

三、测定步骤

1. 用非金属采水器取水样。为了测定整个透光层的初级生产力, 至少要取5个不同水深的水样。水样应过滤, 去除浮游动物。采取水样的数量, 除了进行 ^{14}C 测定用外, 还应包括 CO_2 的含量、温度的测定、洗涤滤膜、以及浮游植物的定性和定量用。

2. 每个水层要用3个130ml玻璃瓶(2个白瓶、1个黑瓶)。在避光的条件下, 每个瓶分别加入100ml的水样, 并立即将水样放进不透光的暗箱中, 一直到各水层的水样都取齐为止。注意做好记号, 避免弄错。

3. 将水样灌满另一个带螺帽的聚乙烯瓶到水满出为止, 以测定碱度和pH值。要避免阳光晒, 把水样贮于冰箱内, 要尽可能快地测定水样的碱度和pH值。

4. 在每个深度的水样取完毕后, 打开暗箱, 取出黑白瓶, 在每个瓶中分别注入1ml已知放射性强度的 $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ 溶液。注入的方法是: 先打开含 ^{14}C 的安培瓶, 吸满注射器以去除注射器中的气泡, 将注射针插入黑(白)瓶底部, 缓慢地将 ^{14}C 溶液注入, 立即盖好盖。要小心操作, 以防放射性同位素污染。工作人

员应戴手套、口罩，穿工作服，防止 ^{14}C 吸入人体。已加入 ^{14}C 的瓶要做记号，防止重复加入或漏加。各瓶的培育时间，以 ^{14}C 注入中间水深的瓶开始计算（此时为0时刻）。

5. 将每个瓶的瓶口封牢（可用橡皮筋或白色尼龙细绳绑扎牢），轻轻地混合，来回颠倒水样数次。

6. 水样的曝光，有两种办法。一是现场曝光。即将已加入 ^{14}C 的黑、白瓶再放入取水样的水层接受自然光照。办法是：在黑暗处迅速地将瓶绑在各水层的扩张器（或支架）上，黑瓶在中央，白瓶在两端。然后将扩张器绑扎在垂直于海中的主绳上，主绳的顶端悬挂漂浮的装置（塑料球或浮筒）。注意不要使水面漂浮装置遮住表层黑白瓶的阳光。二是船上曝光。即将已加入 ^{14}C 的黑、白瓶悬挂在水族箱中，水族箱盛流动海水，用人造光源，光照强度参照不同水层的光线强度而加以调节。也可将黑、白瓶置放于白色的搪瓷盘里，根据不同水层的光线强度，用纱布遮盖瓶，在甲板上接受日光照射。

另外，也可在实验室内进行模拟试验。

7. 曝光的时间通常为4—6小时，从日出到中午，或从中午到日落。一般来说，选择从上午9点到下午3点为宜。

8. 曝光完毕，将瓶取下。为了不让瓶里的浮游植物继续进行光合作用，应尽可能快地将瓶放入避光的箱里，或者在瓶里加入1ml中性福尔马林液。将瓶放进暗箱里，浮游植物还会进行一些光合作用；加入福尔马林液，会引起某些浮游植物细胞的破裂，影响计数。因此，最好是立即过滤水样。曝光结束的时间，以解下中等水层瓶计算。

9. 从每个瓶取出定量水样过滤。需过滤水样的数量由浮游植物密度所决定。在贫营养水域，要过滤100ml，中等营养水域过滤50ml，而在富营养水域过滤10ml即可。如用定标器端窗计数管进行放射性测定，更应注意过滤水样的数量，以免由于浮游植物过多地堆积在滤膜上，而需进行复杂的自吸收校正。

过滤水样通常从表层水样开始，要尽可能快地将水样转移到过滤装置。要调节好过滤装置的真空气压，防止由于气压过大而引起浮游植物细胞的破裂。过滤要在暗的条件下进行。

10. 水样过滤完毕后，立即用10ml过滤海水洗涤。然后用镊子小心地取下滤膜，放在小碟上。在室温条件下让其干燥数小时，再放在浓盐酸气中10分钟，以去除滤膜上残余的无机 ^{14}C ，接着便可进行放射性测定。如用定标器钟罩管测定，样品需干燥；如用液闪测定，样品不必干燥。

11. 滤液经酸化后，将细橡皮管通入滤液的底部，通入 N_2 或空气，以去除滤液中残余的无机 ^{14}C 。测定滤液中由于浮游植物细胞破裂和分泌出的有机物 ^{14}C 强度。

12. 放射性测定。如用定标器钟罩计数管测定，要注意样品的几何位置，自吸收校正，以及测量时间等问题。如用液体闪烁装置进行测定，其方法是将带有浮游植物的滤膜放入计数瓶内，然后加入10ml或15ml的闪烁液即可进行放射性测定。要注意在闪烁液中的溶解情况，色素效应和猝灭等问题。

13. 计算。按以下公式计算即得浮游植物净光合作用速度，以每小时每立方米水体中产生的毫克碳数表示（ $\text{mg C}/\text{m}^3/\text{hr}$ ）。

$$P = [(R_a - R_b) \times W \times 1.05] / (R_s \times H)$$

式中：

P为浮游植物净光合作用速度，以 $\text{mg C}/\text{m}^3/\text{hr}$ 表示。

R_a 为样品的净放射性强度，即经过自吸收或猝灭校正和扣除本底数；包括滤膜和滤液所测得的放射性强度。以dpm表示。

R_b 为黑瓶的放射性强度。以dpm表示。

W为水样中 CO_2 的总重量。以mg表示。

1.05为同位素效应校正系数。

R_s 为加入的 ^{14}C 放射性强度。以dpm表示。

H为曝光的时间。以小时表示。

14. 根据不同水层初级生产力的测定结

果,经积分,换算出每平方米水柱浮游植物的初级生产力。由于浮游植物的光合作用强度,因时、光和季节等因素而变化,所以如果要换算出天、月和年所测站位的初级生产力,必须在一天内连续进行上述测定试验,如从上午6点到10点,10点到下午2点……,求得每段时间的初级生产力,然后经计算得出一天的初级生产力。而每月和每年的初级生产力,则要选择不同日期、月份进行初级生产力测定,然后经计算而得。

四、校正因素

用放射性 ^{14}C 测定海洋初级生产力,虽然是个好的方法,但若对影响测定结果的因素注意不够,那么也将造成较大的误差。

斯蒂曼-尼尔森在发明此方法时,有几个假设的条件,即: 1. ^{14}C 被浮游植物吸收和同化的速度与 ^{12}C 一样; 2. ^{14}C 进入浮游植物细胞内仅仅通过光合作用的途径; 3. 已同化的 ^{14}C 没有被排泄出细胞外; 4. 在浮游植物行呼吸作用的过程中没有丢失已同化的 ^{14}C 。

事实上,上述四个假设条件是不符合实际情况的。

首先,关于同位素效应问题。理论上计算, $^{14}\text{CO}_2$ 的分子量要比 $^{12}\text{CO}_2$ 重4.5%。因此,浮游植物同化 $^{14}\text{CO}_2$ 的速度将比 $^{12}\text{CO}_2$ 慢。一些试验结果表明,浮游植物对 $^{14}\text{CO}_2$ 的同化速度要比 $^{12}\text{CO}_2$ 约慢5%—15%,这依浮游植物的种类和环境条件而异。目前,同位素效应的校正系数,有的学者采用1.05(即5%),有的学者采用1.06(即6%)。

其次,许多试验表明,浮游植物还可通过非光合作用途径吸收 ^{14}C 。斯蒂曼-尼尔森报告,非光合作用同化的 ^{14}C ,大约占光饱和时浮游植物吸收 ^{14}C 总量的1%。还曾有报道,当严重缺氮时,在暗的条件下同化的 ^{14}C 可占光培养的37%。较多的资料表明,表层水自然浮游植物的种群,在暗条件下所固定的 ^{14}C 约

占光合作用固定 ^{14}C 的百分率,在深水可高达30%。

同样,浮游植物也通过呼吸作用排出少量的 ^{14}C 。

除了上述因素外,为了获得满意的测定结果,以下几个问题也必须加以考虑。

1. 曝光时间长短问题。在一天的时间里,日光在海洋中的强度有较大的变化,因而浮游植物的光合作用强度在一天中也随之变化。在热带海域可相差6—15倍,在温带和高纬度海域也有2—3倍之差。因此,如要测得一天的初级生产力,按理说,曝光时间以24小时或自然光照时间为宜。但由于测定瓶是密闭的,曝光时间过长易引起某些海洋细菌的迅速繁殖,结果反而造成更大的误差。关于曝光时间长短,迄今看法不一,2、4、6、8和12小时的曝光时间均有人采用。但目前较多学者是采用曝光4小时。

2. 光强与光色。由于海水对不同波长的光的吸收程度是不相同的,因此,在较深层的浮游植物,它们所接受的光与表层浮游植物相比较,不仅仅是光强的不同,而且也存在着光的波长(光色)的差异。对此问题,在船上或在室内进行试验应当加以考虑。

3. 用 ^{14}C 法测定海洋初级生产力,标准放射性源(溶液)是否标准,样品放射性强度的准确测定,以及水样中 CO_2 的浓度准确测定等问题是很重要的,否则将造成很大的误差。

4. 为了消除系统误差,应当进行实验室之间或者国际间的测定方法校准,以利调查资料的比较。

5. 不能单纯用浮游植物初级生产力的测定结果,简单推算出整个调查海域总的初级生产力。这是因为在海洋中能行光合作用的生物不仅仅是浮游植物。

鉴于国内有若干单位拟开展 ^{14}C 法测定海洋初级生产力的工作,建议首先能在国内建立统一的方法和步骤,以利所得结果互相比较,进而达到测定方法的国际校准。

主要参考文献

- [1] 张曾谟等译, 1977年。水和废水标准检验法。中国建筑工业出版社, 521—524页。
- [2] Bolin, B. et al., 1979. The Global Carbon Cycle. pp. 259—292.
- [3] Doty, M. S. et al., 1965. *Limnology and Oceanography* 10(2): 282—286.
- [4] Finenko, Z. Z., 1978. *Marine Ecology* 4: 29—87.
- [5] Lean, D. R. S., et al., 1979. *Limnology and Oceanography* 24(5): 917—928.
- [6] Lieth and Robert H. Whittaker ed. 1975. Springer-Verlag. pp. 169—183.
- [7] U. S. Atomic Energy Commission, 1961. Proceeding of the Conference on Primary Productivity Measurement, Marine and Freshwater. TID-7633.
- [8] Steemann Nielsen, E., 1951. *Nature* 167: 684—685.



海洋沉积作用与浅层地层学学术讨论会在青岛召开

中国海洋湖沼学会于1982年7月3日—8日在青岛召开了海洋沉积作用与浅层地层学学术讨论会。来自中国科学院、高等院校、地质矿产部和国家海洋局等50个单位的130名代表出席了会议。这是我国海洋沉积与地层科技人员的一次学术盛会。中国科学院地质部常务副主任叶连俊教授、学部委员叶治铮教授和美国联邦地质调查所吴景祯教授出席了会议,并在大会上作了学术报告。

会议收到论文157篇。有57名代表在大会和分组

会上,就沉积作用与沉积相、沉积矿物、沉积地球化学、近岸与河口沉积及海滩层理、浅地层的划分、年代地层、生物地层、地震地层、海面升降及海陆变迁等问题作了学术报告。这些论文所研究的问题有一定的广度和深度,调查和分析的手段有较大的提高,标志着我国海洋沉积与地层的调查研究进入一个新的阶段。代表们还就今后的工作广泛交换了意见。

(杨治家)



砂壳纤毛虫: 属原生动物门, 纤毛虫纲, 旋毛虫目。本类动物目前已知约有十三科七十三属(其中少数是淡水种)。它的体长由数十微米到一毫米, 身体呈瓶状、杯状、壶状并具有各种形状的壳壳。纤毛虫身体位于壳内, 以其可伸缩的原生质膜附着于壳的基底; 其身体纤毛退化, 但背侧有一列较长的纤毛膜, 在口缘周围有长长的弹性纤毛。砂壳纤毛虫栖息在海水的光照层内, 以细菌、藻类和鞭毛虫类(尤为颗石虫)为食, 但它也是较大的浮游动物和幼鱼的主要食料; 它在我国沿海均有分布。

(谭智源)

名词解释

