



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20170350

数字出版日期: 2019-03-28; 数字出版网址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1355.N.20190328.1532.008.html>

## 氮限制和海洋酸化对颗石藻 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 生理指标的交互影响

廖 晏, 冯媛媛, 刘 瑶, 李文学, 李敬鸿, 倪红东, 石文婷  
(天津市海洋资源与化学重点实验室, 天津科技大学海洋与环境学院, 天津 300457)

**摘要:** 在实验室内对颗石藻 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 进行了受控连续模拟培养实验, 共设置 4 个 CO<sub>2</sub> 分压及氮浓度处理组:  $p(\text{CO}_2)$  400  $\mu\text{atm}$ , 氮充足;  $p(\text{CO}_2)$  800  $\mu\text{atm}$ , 氮充足;  $p(\text{CO}_2)$  400  $\mu\text{atm}$ , 氮限制;  $p(\text{CO}_2)$  800  $\mu\text{atm}$ , 氮限制. 实验结果显示: 氮限制大大减小了颗石球的体积, 降低了细胞颗粒有机氮、细胞颗粒有机磷、胞外颗粒无机碳含量, CO<sub>2</sub> 浓度升高进一步降低了细胞各元素含量, 尤其是颗粒无机碳含量; 高二氧化碳分压或氮限制条件下颗石藻颗粒无机碳相对于有机碳的比值均有所降低, 而在高二氧化碳分压和氮限制同时作用下, 该比值进一步降低, 并伴随着该藻沉降速率的显著降低, 表明酸化和氮限制对颗石藻生理及生物地球化学指标尤其是钙化作用存在着潜在协同效应.

**关键词:** 颗石藻; 酸化; 氮限制; 钙化作用; 元素组成

中图分类号: P76; P735 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510(2019)04-0056-07

### Interactive Effects of Nitrogen limitation and Ocean Acidification on the Physiology of Coccolithophore *Emiliana huxleyi* NIWA1108

LIAO Yan, FENG Yuanyuan, LIU Yao, LI Wenxue, LI Jinghong, NI Hongdong, SHI Wenting  
(Tianjin Key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, College of Marine and Environmental Sciences,  
Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** A laboratory continuous incubation experiment on the coccolithophore *Emiliana huxleyi* NIWA 1108 was conducted using a chemostat system. Four experimental treatments were studied:  $p(\text{CO}_2)$  400  $\mu\text{atm}$ , nitrogen-replete;  $p(\text{CO}_2)$  800  $\mu\text{atm}$ , nitrogen-replete;  $p(\text{CO}_2)$  400  $\mu\text{atm}$ , nitrogen-limited; and  $p(\text{CO}_2)$  800  $\mu\text{atm}$ , nitrogen-limited. The results show that nitrogen limitation greatly reduced the size of the coccosphere and decreased the content of the cellular elements. Rising  $p(\text{CO}_2)$  further decreased the cellular elemental contents, especially the cellular inorganic carbon content. The ratio of inorganic particular carbon to organic particular carbon was decreased under higher  $p(\text{CO}_2)$  or nitrogen limitation. In the 800  $\mu\text{atm}$   $p(\text{CO}_2)$  and nitrogen-limited treatment, the ratio of inorganic particular carbon to organic particular carbon was further reduced to the lowest among the four treatments, with the lowest sinking rate. The results suggest that future ocean acidification and nitrogen limitation may have potential synergistic effects on the coccolithophore physiology and biogeochemistry.

**Key words:** coccolithophore; acidification; nitrogen limitation; calcification; elemental composition

工业革命以来, 人类活动的加剧导致大气中二氧化碳(CO<sub>2</sub>)排放量急剧上升, 到 21 世纪末, CO<sub>2</sub> 浓度将超过 800  $\mu\text{atm}$ <sup>[1]</sup>. 海洋吸收了人为排放 CO<sub>2</sub> 的 1/3<sup>[2]</sup>, 大量 CO<sub>2</sub> 被海洋持续吸收, 导致海水 pH 降低, 被称为海洋酸化(ocean acidification)<sup>[3]</sup>. 研究<sup>[4-5]</sup>

表明, 海洋酸化可影响海洋浮游植物的生长, 尤其是对于具有钙化作用的藻类<sup>[6-8]</sup>. 此外, CO<sub>2</sub> 是温室气体的重要组成部分, 对全球气候起到重要的调节作用. 随着 CO<sub>2</sub> 浓度不断升高, 温室效应增强使得温度不断升高, 导致冰川融化和降雨模式发生改变, 从而

收稿日期: 2017-12-27; 修回日期: 2018-04-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(41306118, 41676160)

作者简介: 廖 晏(1993—), 女, 贵州人, 硕士研究生; 通信作者: 冯媛媛, 副教授, [yfeng@tust.edu.cn](mailto:yfeng@tust.edu.cn)

增强海水分层、减低海洋混合层深度<sup>[9]</sup>、削弱从深海向表层海水的营养盐补充、加剧大洋表层水体的营养盐限制<sup>[10]</sup>。

海洋颗石藻是一类生产碳酸钙(CaCO<sub>3</sub>)颗粒作为外壳的单细胞浮游植物<sup>[11]</sup>,它们能够通过光合作用和钙化作用进行有机碳和无机碳(CaCO<sub>3</sub>)的生产<sup>[12]</sup>,贡献了全球海洋CaCO<sub>3</sub>生产量的50%,在海洋碳循环中起重要作用<sup>[10,13-15]</sup>。除极地及热带海域外,颗石藻(*Emiliana huxleyi*)在全球海洋中都有广泛分布,并在很多海域中出现大规模可通过卫星遥感图像观测到的季节性水华<sup>[16-18]</sup>,成为海洋碳循环研究中的模式生物<sup>[18]</sup>。近年研究<sup>[19]</sup>表明,*Emiliana huxleyi*的钙化作用对海水碳酸盐化学体系的变化响应尤为敏感,并存在明显的株间特性。除海洋酸化外,其生长、钙化作用及光合作用等生理学过程还受到其他环境因子的影响,如光照、温度、营养盐浓度变化等<sup>[19-23]</sup>。因此,研究海洋酸化和其他环境因子的交互作用对颗石藻生理学指标的影响,对进一步预测未来多因子共同变化的海洋环境中*Emiliana huxleyi*的生理学响应尤为重要。氮是维持浮游植物生长的一种重要的生源要素,也是在全球大洋水体中限制浮游植物初级生产的重要营养盐,然而针对海洋酸化和氮限制的交互作用对*Emiliana huxleyi*的生理学指标影响的相关研究,尤其是在稳态生长下该藻的生理学响应却鲜有报道<sup>[20,24]</sup>。本研究拟采用恒化培养装置对颗石藻*Emiliana huxleyi* NIWA1108进行实验室内受控连续培养实验,研究海洋酸化和氮限制对该藻生理学指标在其稳态生长条件下的交互影响效应。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设置

本实验所用颗石藻是颗石藻钙化株 *Emiliana huxleyi* NIWA1108,于2009年分离自新西兰以东Chatham Rise海域(41°35.8'S, 175°41.5'E),在实验室中用f/20海水培养基(10倍稀释后的f/2配方)进行保种培养<sup>[25]</sup>,培养条件为15℃、光照强度80~

110 μmol/(m<sup>2</sup>·s)、光/暗周期为12 h/12 h。配制培养基所使用的海水取自于南海寡营养海域SEATS站表层,并在使用前通过0.2 μm孔径的囊式滤器进行过滤处理,以达到无菌效果。

氮限制培养实验采用自制恒化培养器进行,共设置4个处理组:(1)对照:*p*(CO<sub>2</sub>)400 μatm,氮充足(*n*(N)/*n*(P)=24);(2)酸化:*p*(CO<sub>2</sub>)800 μatm,氮充足;(3)氮限制(*n*(N)/*n*(P)=2.4):*p*(CO<sub>2</sub>)400 μatm,低氮;(4)酸化+氮限制:*p*(CO<sub>2</sub>)800 μatm,低氮。培养基采用过滤后SEATS站表层海水配制,磷酸盐、微量元素及维生素添加至f/20配方水平。氮充足条件下的培养基硝酸盐浓度添加至f/20水平(88 μmol/L);低氮条件下硝酸盐浓度添加至8.8 μmol/L(*n*(N)/*n*(P)=2.4)。初始接种丰度为1.0 × 10<sup>4</sup> mL<sup>-1</sup>,采用恒化培养器在培养箱内进行连续培养,至接种后第3天打开蠕动泵,开始连续培养实验。培养基采用蠕动泵连续泵入培养瓶(培养瓶体积为3.6 L,为聚碳酸酯材质)中,每个培养瓶瓶颈处与流出口相连,以保证培养体系体积恒定。蠕动泵的稀释速率对于氮充足和氮限制处理组分别设置为0.5 d<sup>-1</sup>和0.2 d<sup>-1</sup>。实验过程中使用具有特氟龙涂层的搅拌器连续低速搅拌,使得藻液分布均匀。培养实验在恒温光照培养箱中进行,温度及光照条件与保种条件保持一致。

### 1.2 海水碳酸盐体系调节

采用曝气法调节海水培养基的碳酸盐体系。其中空气对照组(*p*(CO<sub>2</sub>)400 μatm)向其中一桶海水中曝空气(空气中平均*p*(CO<sub>2</sub>)400 μatm,从实验开始曝气直到实验结束),另一桶海水中通入空气和CO<sub>2</sub>混合气体(*p*(CO<sub>2</sub>)800 μatm,从实验开始通气直到实验结束),气体在通入水体前均经0.22 μm的滤膜过滤。培养开始前,海水培养基曝气时间大于24 h,且在培养期间,储存海水培养基的储水桶和培养瓶一直保持持续曝气。各培养瓶中在细胞生长达到稳态后的碳酸盐体系各参数见表1,采用CO2SYS 1.05版软件进行计算<sup>[26]</sup>。

表1 采样时恒化器中碳酸盐化学体系参数

Tab. 1 Carbonate chemistry parameters in the chemostat vessels at the time of sampling

处理组	质量摩尔浓度/(μmol·kg <sup>-1</sup> )					<i>p</i> (CO <sub>2</sub> )/μatm	碳酸钙饱和度
	总碱度	总溶解无机碳	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	CO <sub>2</sub>		
对照	2 450.9	2 196.9	2 001.5	181.1	14.3	381.0	4.33
酸化	2 676.0	2 520.6	2 365.7	126.3	28.6	763.0	3.02
氮限制	2 182.2	1 980.0	1 824.3	140.5	15.3	408.0	3.36
氮限制+酸化	2 370.8	2 254.3	2 127.7	96.3	30.3	810.0	2.30

### 1.3 藻种培养

将处于指数生长期的 *Emiliania huxleyi* NIWA1108 接种于 3.5 L 的培养液中, 初始细胞丰度为  $1.0 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ , 置于光照培养箱中连续培养 15 d. 每隔 24 h 取 5 mL 藻液, 分成 3 份: 一份用 Trilogy 荧光仪测定活体荧光值; 一份用 pH 计测定 pH; 最后一份固定后用于细胞计数. 培养至其生长进入稳态超过 5 d (每个处理组中藻细胞丰度保持相对稳定, 变化小于 10%) 后, 进行最终采样, 采样参数为活体荧光、pH、细胞计数、叶绿素 *a* (Chl-*a*)、沉降速率及细胞元素组成. 细胞元素组成包括颗粒有机磷 (POP)、颗粒有机碳 (POC)、颗粒无机碳 (PIC) 及颗粒有机氮 (PON) 含量.

### 1.4 样品分析

#### 1.4.1 藻细胞计数及 Chl-*a* 质量浓度的测定

取 1 mL 藻液并加入 6  $\mu\text{L}$  碱性鲁格氏溶液 (Lugol's)<sup>[27]</sup>, 并在 4  $^{\circ}\text{C}$  于暗处保存, 最后用微藻计数框在显微镜下观测计数. 取样至最后观测时间间隔不超过一周.

量取 30 mL 藻液, 用隔膜真空泵过滤到 Whatman GF/F 玻璃纤维膜上 (直径 25 mm), 并保存于  $-20^{\circ}\text{C}$  的冰箱中. 测定时, 在暗处将膜置于 20 mL 棕色玻璃瓶中, 添加 5 mL 体积分数为 90% 的丙酮, 于  $-20^{\circ}\text{C}$  暗处理 24 h 后, 用 Turner 型荧光仪测定其荧光值, 根据式 (1)<sup>[28]</sup> 计算 Chl-*a* 质量浓度 ( $\mu\text{g/L}$ ).

Chl-*a* 质量浓度 =

$$\frac{0.0687 \times \text{荧光值} \times \text{丙酮溶液体积}}{\text{过滤藻液体积}} \quad (1)$$

#### 1.4.2 细胞元素组成的分析

POP 含量用钼酸盐测定法<sup>[29]</sup>进行测定. 取 30 mL 藻液过滤到经马弗炉灼烧 (450  $^{\circ}\text{C}$ , 4 h) 过的 GF/F 膜上, 用 2 mL 0.17 mol/L 的  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  溶液润洗, 转移到经马弗炉灼烧 (450  $^{\circ}\text{C}$ , 4 h) 的硼酸盐闪烁瓶中, 用 2 mL 0.017 mol/L  $\text{MgSO}_4$  溶液浸没附有藻液的 GF/F 膜, 然后将其置于 60  $^{\circ}\text{C}$  烘箱中, 直至烘干. 分析前, 将装有 GF/F 膜的闪烁瓶置于马弗炉中 450  $^{\circ}\text{C}$  灼烧 4 h, 冷却后向其中加入 5 mL 0.2 mol/L 盐酸, 旋紧瓶盖置于 90  $^{\circ}\text{C}$  烘箱中烘 30 min. 冷却后, 加入染色剂<sup>[29]</sup>, 静置 10 ~ 20 min, 用紫外-可见分光光度计测定吸光度. 过滤 3 份等体积的培养基, 作为空白样.

POC、PIC 和 PON 含量用 CHN 元素分析仪进行测定. 取 2 份 100 mL 藻液分别过滤到事先经马弗炉灼烧 (450  $^{\circ}\text{C}$ , 4 h) 过的 GF/F 膜上, 一份不进行酸化

处理, 直接在 60  $^{\circ}\text{C}$  下烘干, 用于测定总颗粒碳 (TPC) 含量; 另一份用浓盐酸熏蒸 3 h 后置于烘箱中 60  $^{\circ}\text{C}$  烘干, 用来测定 POC 和 PON 含量. TPC 和 POC 的差值即为 PIC 含量.

#### 1.4.3 沉降速率的测定

同源性采样法<sup>[30]</sup>用于测定浮游植物沉降速率. 将沉降柱竖直固定在支架上, 堵住 3 个出水口, 把藻液混匀, 倒入沉降柱中, 使藻液充满沉降柱, 盖好沉降柱使其密封 (避免气泡), 在相同温度下避光静置 2 ~ 4 h. 从上到下分层取样, 记录各层藻液体积, 并分别过滤至 GF/F 膜上, 保存于  $-20^{\circ}\text{C}$  的冰箱中, 用于测定其叶绿素生物量. 根据 Bienfang<sup>[30]</sup> 的沉降公式计算沉降速率.

#### 1.4.4 扫描电镜图像观察

取 1 ~ 5 mL 藻液过滤至 0.6  $\mu\text{m}$  聚碳酸酯滤膜上, 过滤时控制压力小于 0.02 MPa, 再将滤膜轻轻平铺于培养皿中, 自然风干. 最后, 用 JSM-IT300 型扫描电子显微镜进行形态观察并拍照.

### 1.5 数据分析

环境因子的交互效应按照 Folt 等<sup>[31]</sup>方法计算, 单一环境因子 (酸化 (A) 或氮限制 (N) 或两环境因子共同变化 (A + N) 下对某生理生化参数的表观影响 (observed effect, OE) 按照该处理组与对照组的变化百分比计算而得 (正值为正向升高效应, 负值为负向降低效应), 二者的交互效应 (multiplicative effect, ME) 按照公式<sup>[31]</sup>:  $\text{ME}_{A+N} = (1 + \text{OE}_A) \times (1 + \text{OE}_N) - 1$  计算. 当  $|\text{OE}_{A+N}| > |\text{ME}_{A+N}|$  时, 两种环境因子为协同性交互效应; 当  $|\text{OE}_{A+N}| < |\text{ME}_{A+N}|$  时, 两种环境因子为对抗性交互效应. 由于本实验采用恒化连续培养方式, 每个处理组到最终采样时已在各培养条件下保持若干代的稳定生长状态, 没有平行样带来的误差, 因此可以得到相应降低<sup>[32]</sup>.

## 2 结果

### 2.1 细胞 Chl-*a* 含量

不同条件下 *Emiliania huxleyi* NIWA1108 的细胞 Chl-*a* 含量如图 1 所示. 当硝酸盐浓度一致, 不同  $\text{CO}_2$  分压条件下 *Emiliania huxleyi* NIWA1108 胞内 Chl-*a* 含量变化较小. 但是在氮限制的条件下,  $p(\text{CO}_2)$  400  $\mu\text{atm}$  处理组中胞内 Chl-*a* 含量与氮充足条件下相比降低了 58.9%. 在高二氧化碳分压和氮限制的共同作用下, 胞内的 Chl-*a* 含量进一步降低, 比  $p(\text{CO}_2)$  400  $\mu\text{atm}$ 、氮充足的对照组降低了 66.2%.

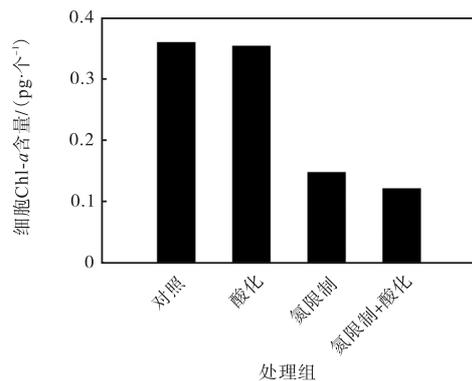


图1 不同条件下 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的细胞 Chl-a 含量

Fig. 1 Contents of cellular chlorophyll a in *Emiliana huxleyi* NIWA1108 under different conditions

## 2.2 细胞元素含量

*Emiliana huxleyi* NIWA1108 的细胞 POP 含量受到 CO<sub>2</sub> 分压升高和氮限制的影响(表 2)。在氮充足的条件下,仅升高 CO<sub>2</sub> 分压,细胞 POP 含量比对照组降低 23.1%;在氮限制条件下,细胞 POP 含量比对照组降低了 48.8%;高 CO<sub>2</sub> 浓度和氮限制的共同作用下,细胞 POP 含量进一步降低,降低了 65.4%。

与细胞 POP 含量相似,细胞 PON 含量随 CO<sub>2</sub> 分压升高有下降的趋势(表 2),而氮限制则进一步降低了该含量。在酸化和氮限制的共同作用下细胞内 PON 含量下降程度最高(与对照组相比降低了 54.0%)。

表 2 不同条件下 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的细胞元素含量

Tab. 2 Cellular elemental contents of *Emiliana huxleyi* NIWA1108 under different conditions

处理组	细胞元素含量/(pg·个 <sup>-1</sup> )				PIC/POC
	POP	PON	POC	PIC	
对照	0.224	3.198	24.684	18.706	0.758
酸化	0.201	2.344	22.760	15.208	0.668
氮限制	0.135	2.091	20.726	7.442	0.359
氮限制+酸化	0.104	1.472	19.719	2.315	0.117

二氧化碳分压的升高及氮限制均使细胞 POC 含量略有下降(表 2),与对照组相比,分别降低 7.8% 和 16.0%,而酸化+氮限制组则进一步降低,较对照组降低 20%。而 PIC 含量受海水酸化以及氮限制的影响比较大(表 2),酸化组中 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的细胞 PIC 含量与对照组相比降低了 18.7%;氮限制使得 PIC 含量大大降低(与对照组相比降低 60.2%);氮限制和海水酸化的共同作用下,进一步降低了 PIC 含量(与对照组相比降低 87.6%)。

与对照组相比,仅升高 CO<sub>2</sub> 分压的酸化组中,细

胞 PIC 与 POC 比值(PIC/POC)有所降低(表 2),降低了 11.8%,氮限制下 PIC/POC 下降得更为明显,氮限制处理组中 PIC/POC 较对照组降低了 52.6%;在酸化+氮限制处理组,细胞 PIC/POC 最低,比对照组降低 84.5%,比酸化组降低 82.4%。

## 2.3 沉降速率

高 CO<sub>2</sub> 分压条件下(酸化组) *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的沉降速率较对照组略有降低,而氮限制更加明显地降低了其沉降速率,氮限制及酸化+氮限制处理组分别较对照组下降 47.9% 和 48.4%(图 2)。

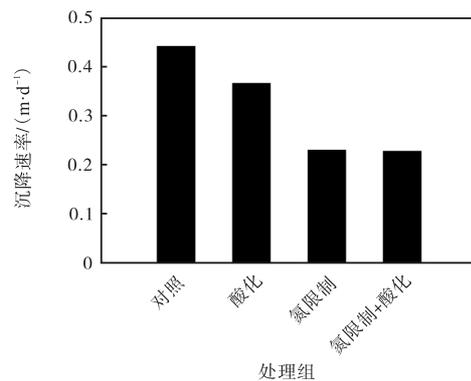


图2 不同条件下 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的沉降速率

Fig. 2 Sinking rates of *Emiliana huxleyi* NIWA1108 under different conditions

## 2.4 细胞形态

不同条件下 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的扫描电镜照片如图 3 所示。

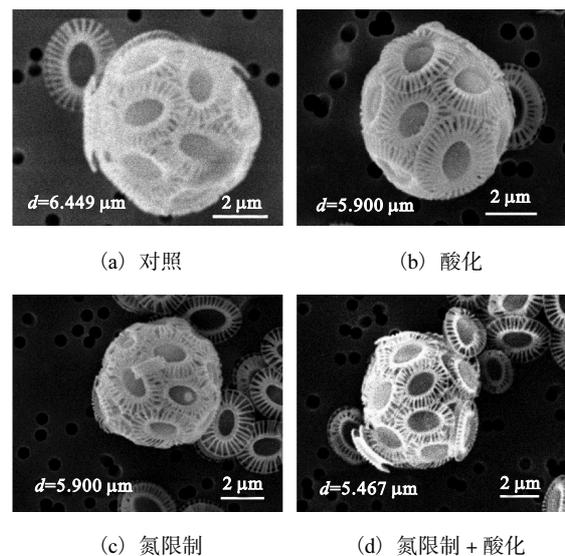


图3 在不同条件下 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的扫描电镜照片

Fig. 3 SEM images of *Emiliana huxleyi* NIWA1108 under different conditions

与对照组相比, *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的颗石球体积在高二氧化碳分压和氮限制条件下均有所降低, 在氮限制条件下细胞相对更小且颗石粒脱落更多; 在酸化 + 氮限制处理组, 其颗石球体积最小、颗石粒直径也较小且存在大量颗石粒脱落。

### 2.5 海洋酸化和氮限制的交互作用

酸化和氮限制对颗石藻 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的各项生理及生物地球化学指标的交互作用见表 3。数据分析表明, 酸化和氮限制对 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 细胞 Chl-*a* 含量、PIC 含量、PIC/POC、细胞 PON 含量及 POP 含量产生协同性交互效应, 而酸化和氮限制对细胞 POC 含量和沉降速率产生对抗性交互效应。

表 3 酸化和氮限制对颗石藻 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的各项生理及生物地球化学指标的交互作用

Tab. 3 Interactive effects of ocean acidification and nitrogen limitation on different physiological and biogeochemical parameters of *Emiliana huxleyi* NIWA1108

指标	OE <sub>A</sub> /%	OE <sub>N</sub> /%	OE <sub>A+N</sub> /%	ME <sub>A+N</sub> /%	交互作用
Chl- <i>a</i> 含量	-1.6	-58.9	-66.2	-59.6	*
POC 含量	-7.8	-16.0	-20.1	-22.6	**
PIC 含量	-18.7	-60.2	-87.6	-67.6	*
PIC/POC	-11.8	-52.6	-84.4	-58.2	*
PON 含量	-26.7	-34.6	-54.0	-52.1	*
POP 含量	-10.0	-39.5	-53.5	-45.6	*
沉降速率	-17.0	-47.9	-48.4	-56.8	**

注: \*表示协同性交互效应; \*\*表示对抗性交互效应。

## 3 讨论

本研究采用了恒化连续培养 (chemostat continuous incubation) 的方式<sup>[33]</sup>, 研究该藻在指数生长阶段的稳态条件下氮限制、酸化以及二者的交互作用对其生理指标的影响, 更好地模拟自然低硝酸盐水体中颗石藻 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的自然生长状态。这与报道的一次性培养实验 (batch culture) 有所不同<sup>[34]</sup>, 一次性培养实验达到的氮限制条件往往是在营养盐消耗殆尽后的静止平台生长期, 藻细胞濒于衰亡, 更与藻类发生大规模水华后处于衰退期的状态相近。

氮限制可明显抑制 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的生长、光合作用、钙化作用, 并降低其沉降速率, 表明硝酸盐浓度是控制该藻生理生化过程的重要环境因子。同样, Feng 等<sup>[23]</sup>也发现硝酸盐浓度在 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 生长、光合及钙化作用

中起到的重要作用, 且在 5 种环境因子中最为重要。氮是合成核酸和蛋白质的必需元素, 氮限制可能会减少一些作为光合作用和钙化作用的重要转运体的蛋白质的生产<sup>[35]</sup>。在本研究中, 氮限制使 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的细胞大小减小, 因而细胞 POC 和 PIC 含量均有所降低, 然而氮限制下细胞 PIC 降低的幅度更大, 从而导致了细胞 PIC/POC 比值在氮限制下明显下降。这与 Müller 等<sup>[36]</sup>和 Perrin 等<sup>[37]</sup>研究结果有所不同, 其研究对象为处于静止生长期的 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的细胞而无论在低光照或者高光照条件下, 氮限制增加了细胞 PIC/POC 比值, 主要原因是处于静止期的藻细胞在细胞生长的 G1 期, 钙化作用继续而细胞分裂暂停, 导致细胞 PIC 含量相对升高, 本研究对象为指数生长期藻细胞, 在极低硝酸盐浓度下, 其钙化作用较细胞分裂更大程度受到抑制。氮限制导致的细胞体积减小和 PIC 含量降低也大大降低了其相对于海水的比密度, 从而导致沉降速率降低, 这将会进一步降低该藻向深海的碳沉降通量。同样的, 本研究中, 随着细胞变小, 细胞 Chl-*a* 含量也减少, 细胞 PON 含量降低<sup>[23,38]</sup>。同时由于功能性蛋白合成受到氮限制影响, 降低对营养盐的吸收与有机磷合成, 导致细胞 POP 含量也降低。

本研究进一步表明了酸化和氮限制对颗石藻的生理和生物地球化学指标的潜在交互影响。酸化会导致颗石藻细胞花费更多的能量维持细胞内 pH 平衡<sup>[39]</sup>, 因此随着 CO<sub>2</sub> 分压升高, *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的钙化作用通常会随之减弱<sup>[7,35]</sup>。本研究中, 当 *p*(CO<sub>2</sub>) 由 400 μatm 升高至 800 μatm 时, 细胞 PIC 含量和 PIC/POC 比值均有所降低; 而这种趋势在氮限制下尤为明显, 换句话说, 酸化和氮限制的交互作用对 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的钙化作用产生了负向协同效应。此外, 酸化和氮限制也对 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 的细胞碳氮比和碳磷比产生了正向协同效应。考虑到在未来全球变化下的海洋环境中, 除了海洋酸化的趋势外<sup>[40]</sup>, 寡营养海域尤其是氮限制海域也会逐渐扩张<sup>[41]</sup>, 因此, 为了更加准确地预测全球变化下颗石藻的生理学响应及该响应带来的对海洋生物地球化学尤其是碳循环的影响, 酸化和氮限制的这种协同影响不容忽视。

## 4 结论

通过对颗石藻 *Emiliana huxleyi* NIWA1108 进行恒化连续培养, 揭示了在稳态生长条件下, 氮限制对

该藻的生理学指标影响较大,减小了颗石球的体积,降低了细胞各元素含量;而酸化则进一步降低了细胞元素含量,尤其是细胞无机碳含量以及 PIC/POC 比值,其沉降速率也随之降低.酸化和氮限制对颗石藻生理及生物地球化学指标尤其是钙化作用存在着潜在协同效应,这为进一步预测全球变化下颗石藻这一重要功能群的响应以及气候变化相关海洋生物地球化学模型的建立提供了理论支撑.

#### 参考文献:

- [1] Friedlingstein P, Cox P, Betts R, et al. Climate-carbon cycle feedback analysis: Results from the C4 MIP model intercomparison[J]. *Journal of Climate*, 2006, 19(14): 3337-3353.
- [2] Beardall J, Stojkovic S, Larsen S. Living in a high CO<sub>2</sub> world: Impacts of global climate change on marine phytoplankton[J]. *Plant Ecology & Diversity*, 2009, 2(2): 191-205.
- [3] Fabry V J, Seibel B A, Feely R A, et al. Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes[J]. *ICES Journal of Marine Science*, 2008, 65(3): 414-432.
- [4] Gao K, Aruga Y, Asada K, et al. Enhanced growth of the red alga *Porphyra yezoensis* Ueda in high CO<sub>2</sub> concentrations[J]. *Journal of Applied Phycology*, 1991, 3(4): 355-362.
- [5] Hendriks I E, Duarte C M, Álvarez M. Vulnerability of marine biodiversity to ocean acidification: A meta-analysis[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2010, 86(2): 157-164.
- [6] Gao K, Aruga Y, Asada K, et al. Calcification in the articulated coralline alga *Corallina pilulifera*, with special reference to the effect of elevated CO<sub>2</sub> concentration[J]. *Marine Biology*, 1993, 117(1): 129-132.
- [7] Riebesell U, Zondervan I, Rost B, et al. Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO<sub>2</sub>[J]. *Nature*, 2000, 407(6802): 364-367.
- [8] Hutchins D A. Oceanography: Forecasting the rain ratio[J]. *Nature*, 2011, 476(7358): 41-42.
- [9] Sarmiento J L, Slater R, Barber R, et al. Response of ocean ecosystems to climate warming[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2004, 18(3): 1-23.
- [10] Rost B, Riebesell U. Coccolithophores and the Biological Pump: Responses to Environmental Changes[M]. New York: Cambridge University Press, 2004.
- [11] Winter A, Siesser W G. Coccolithophores[M]. New York: Cambridge University Press, 1994.
- [12] 孙军. 今生颗石藻的有机碳泵和碳酸盐反向泵[J]. *地球科学进展*, 2007, 22(12): 1231-1239.
- [13] Milliman J D. Production and accumulation of calcium carbonate in the ocean: Budget of a nonsteady state[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 1993, 7(4): 927-957.
- [14] Roth P H. Distribution of Coccoliths in Oceanic Sediments[M]. New York: Cambridge University Press, 1994: 199-218.
- [15] Moore T S, Dowell M D, Franz B A. Detection of coccolithophore blooms in ocean color satellite imagery: A generalized approach for use with multiple sensors[J]. *Remote Sensing of Environment*, 2012, 117: 249-263.
- [16] Holligan P M, Viollier M, Harbour D S, et al. Satellite and ship studies of coccolithophore production along a continental shelf edge[J]. *Nature*, 1983, 304(5924): 339-342.
- [17] Westbroek P, Brown C W, van Bleijswijk J, et al. A model system approach to biological climate forcing. The example of *Emiliana huxleyi*[J]. *Global and Planetary Change*, 1993, 8(1/2): 27-46.
- [18] Hönisch B, Ridgwell A, Schmidt D N, et al. The geological record of ocean acidification[J]. *Science*, 2012, 335(6072): 1058-1063.
- [19] Langer G, Benner I. Effect of elevated nitrate concentration on calcification in *Emiliana huxleyi*[J]. *Journal of Nannoplankton Research*, 2009, 30: 77-80.
- [20] Lefebvre S C, Benner I, Stillman J H, et al. Nitrogen source and pCO<sub>2</sub> synergistically affect carbon allocation, growth and morphology of the coccolithophore *Emiliana huxleyi*: Potential implications of ocean acidification for the carbon cycle[J]. *Global Change Biology*, 2012, 18(2): 493-503.
- [21] Rokitta S D, Rost B. Effects of CO<sub>2</sub> and their modulation by light in the life-cycle stages of the coccolithophore *Emiliana huxleyi*[J]. *Limnology and Oceanography*, 2012, 57(2): 607-618.
- [22] Sett S, Bach L T, Schulz K G, et al. Temperature modulates coccolithophorid sensitivity of growth, photosynthesis and calcification to increasing seawater pCO<sub>2</sub>[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88308.
- [23] Feng Y, Roleda M Y, Armstrong E, et al. Environmental controls on the growth, photosynthetic and calcification rates of a Southern Hemisphere strain of the coccolitho-

- phore *Emiliana huxleyi*[J]. *Limnology and Oceanography*, 2017, 62(2): 519–540.
- [24] Engel A, Zondervan I, Aerts K, et al. Testing the direct effect of CO<sub>2</sub> concentration on a bloom of the coccolithophorid *Emiliana huxleyi* in mesocosm experiments[J]. *Limnology and Oceanography*, 2005, 50(2): 493–507.
- [25] Guillard R R L, Hargraves P E. *Stichochrysis immobilis* is a diatom, not a chrysophyte[J]. *Phycologia*, 1993, 32(3): 234–236.
- [26] Lewis E, Wallace D, Allison L J. Program Developed for CO<sub>2</sub> System Calculations[R]. New York: Department of Applied Science Brookhaven National Laboratory, 1998.
- [27] Utermöhl H. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik: Mit 1 Tabelle und 15 abbildungen im Text und auf 1 Tafel[J]. *Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie: Mitteilungen*, 1958, 9(1): 1–38.
- [28] Welschmeyer N A. Fluorometric analysis of chlorophyll *a* in the presence of chlorophyll *b* and pheopigments[J]. *Limnology and Oceanography*, 1994, 39(8): 1985–1992.
- [29] Solorzano L, Sharp J H. Determination of total dissolved phosphorus and particulate phosphorus in natural waters[J]. *Limnology and Oceanography*, 1980, 25(4): 754–758.
- [30] Bienfang P K. SETCOL: A technologically simple and reliable method for measuring phytoplankton sinking rates[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1981, 38(10): 1289–1294.
- [31] Folt C L, Chen C Y, Moore M V, et al. Synergism and antagonism among multiple stressors[J]. *Limnology and Oceanography*, 1999, 44(3): 864–877.
- [32] Müller M N, Trull T W, Hallegraeff G M. Independence of nutrient limitation and carbon dioxide impacts on the Southern Ocean coccolithophore *Emiliana huxleyi*[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(8): 1777–1787.
- [33] Novick A, Szilard L. Experiments with the chemostat on spontaneous mutations of bacteria[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1950, 36(12): 708–719.
- [34] Hutchins D A, Pustizzi F, Hare C E, et al. A shipboard natural community continuous culture system for ecologically relevant low-level nutrient enrichment experiments[J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2003, 1(1): 82–91.
- [35] Raven J A, Crawford K. Environmental controls on coccolithophore calcification[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2012, 470: 137–166.
- [36] Müller M N, Antia A N, LaRoche J. Influence of cell cycle phase on calcification in the coccolithophore *Emiliana huxleyi*[J]. *Limnology and Oceanography*, 2008, 53(2): 506–512.
- [37] Perrin L, Probert I, Langer G, et al. Growth of the coccolithophore *Emiliana huxleyi* in light- and nutrient-limited batch reactors: Relevance for the BIOSOPE deep ecological niche of coccolithophores[J]. *Biogeosciences*, 2016, 13(21): 5983–6001.
- [38] Rouco M, Branson O, Lebrato M, et al. The effect of nitrate and phosphate availability on *Emiliana huxleyi* (NZEH) physiology under different CO<sub>2</sub> scenarios[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 155.
- [39] Riebesell U, Tortell P D. Effects of Ocean Acidification on Pelagic Organisms and Ecosystems[M]. Oxford: Oxford University Press, 2011.
- [40] IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*[R]. Switzerland: IPCC Secretariat, 2013.
- [41] Polovina J J, Howell E A, Abecassis M. Ocean's least productive waters are expanding[J]. *Geophysical Research Letters*, 2008, 35(3): L03618.

责任编辑: 周建军