



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20230115

磷酸盐和硝酸盐浓度对海链藻 *Thalassiosira* sp. 沉降的影响

段好震¹, 冯媛媛², 吴凤霞¹, 李童童¹, 王雅楠¹, 王士强¹

(1. 天津科技大学海洋与环境学院, 天津 300457; 2. 上海交通大学海洋学院, 上海 200030)

摘要: 为了研究氮、磷营养盐比例变化对近海硅藻的生理效应及其对硅藻相关碳汇的影响, 分别采用半连续培养和一次性培养的方式对海链藻 (*Thalassiosira* sp.) 在不同氮磷比及不同氮、磷营养盐浓度的条件下进行模拟培养实验。结果表明: 在半连续培养中, 营养盐限制明显降低海链藻的胞内叶绿素含量及蛋白质含量, 增加了胞内生物硅含量和碳水化合物含量, 藻细胞密度变大增加沉降速率; 在一次性培养中, 指数生长期的沉降速率最低, 随着细胞生长逐步到达衰退期, 沉降速率随之升高, 而在最低营养盐浓度条件下最高。海链藻的沉降速率在低氮磷比的条件下显著升高。因此, 近海氮、磷营养元素结构的变化也会对浮游植物相关的碳沉降产生重要影响, 在富营养化的生态效应研究中不容忽视。

关键词: 硅藻; 海链藻; 氮磷比; 富营养化; 沉降速率

中图分类号: P735

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2023)06-0035-12

Effects of Phosphate and Nitrate Concentrations on the Sedimentation of the Marine Chain Alga *Thalassiosira* sp.

DUAN Haozhen¹, FENG Yuanyuan², WU Fengxia¹, LI Tongtong¹, WANG Yanan¹, WANG Shiqiang¹

(1. College of Marine and Environmental Sciences, Tianjin University of Science & Technology,
Tianjin 300457, China;

2. College of Marine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030, China)

Abstract: In order to study the physiological effects of changes in nitrogen and phosphorus nutrient ratio on offshore diatoms and their effects on diatom-associated carbon sinking, we carried out a series of semi-continuous incubation and batch culture on marine diatom *Thalassiosira* sp. under different nitrogen and phosphorus ratios and different nitrogen and phosphorus concentrations, respectively. The results showed that on the one hand in semi-continuous cultures, nutrient limitation significantly reduced the intracellular chlorophyll and protein contents, increased the intracellular biogenic silica and carbohydrate contents, and raised the sinking rate by increasing cell density. On the other hand, in the batch culture, the lowest sinking rate was observed in the exponential growth phase. As the cell growth gradually reached the stationary stage, the sinking rate significantly increased, and reached the highest under the condition of the lowest nutrient concentration. In general, our results indicated that the sinking of *Thalassiosira* sp. was significantly accelerated under low N/P ratio conditions. Therefore, changes in the structure of offshore nitrogen and phosphorus nutrients will also have important impacts on phytoplankton-related carbon sinking, which cannot be ignored in the study of the ecological effects of eutrophication.

Key words: diatoms; *Thalassiosira* sp.; N/P ratio; eutrophication; sinking rate

氮(N)和磷(P)是重要的生源要素,海水中硝酸盐和磷酸盐的浓度是决定浮游植物生物量和海洋初

级生产力分布的主要环境因子,在某些海域二者可限制浮游植物生长^[1]。氮、磷在维持浮游植物群落的生

收稿日期: 2023-05-22; 修回日期: 2023-08-14

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(42276093, 41676160, 22078247)

作者简介: 段好震(1997—),男,山东人,硕士研究生; 通信作者: 冯媛媛,副教授, yuanyuan.feng@sjtu.edu.cn

长速率、代谢速率和光合作用方面起着重要作用^[2]。氮元素参与合成藻细胞叶绿素、核酸和蛋白质,缺乏氮元素会减少细胞光合色素(如叶绿素、反应中心色素、辅助色素等)的合成,限制光系统 I 和光系统 II 反应中心蛋白的合成^[3],进而影响藻细胞对光能的吸收和转换效率。氮限制会导致藻细胞内参与碳同化反应的 Rubisco 酶含量的下降和酶活性的降低^[4],从而降低藻细胞的光合固碳能力,光合作用和细胞生长均受到抑制^[5]。研究表明,在缺氮条件下培养海洋硅藻伪矮海链藻 (*Thalassiosira pseudonana*)、圆筛藻 (*Coscinodiscus* sp.) 与赫氏颗石藻 (*Emiliania huxleyi*),其叶绿素 a 含量以及光系统 II 的光化学效率均显著降低^[6]。磷元素是参与合成腺苷二磷酸、腺苷三磷酸等高能磷酸化合物的重要基本元素,是藻细胞内细胞膜磷脂、核酸和蛋白质的重要组成部分,在细胞膜构造、细胞代谢活动和信号传输方面都起着关键作用^[7]。另外,磷元素也参与藻细胞的光合作用,磷限制不仅会影响藻细胞吸收光能、卡尔文循环等过程,而且对光合作用过程中一些关键性酶的活性也有重要影响^[7]。东海原甲藻 (*Prorocentrum donghaiense*) 与中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 在低磷条件下叶绿素含量下降,光合效率也相应降低^[8]。同时,在缺磷条件下,藻细胞中大量的蛋白质则会水解成氨基酸,参与碱性磷酸酶的合成^[9]。营养盐限制会导致浮游植物沉降速率的升高,如海链藻 (*Thalassiosira* sp.) 与中肋骨条藻在衰亡期(藻细胞大量死亡,数量减少)的沉降速率远远高于指数生长期的沉降速率^[10-11]。

近几十年来,近岸水体富营养化成了重要的环境问题,它会引发有害藻华,损害海洋生态系统的健康。《2000 年中国海洋环境质量公报》指出,我国近岸海域普遍受到无机氮、磷酸盐、油类以及重金属的污染^[12],其中东海海域沿岸氮、磷含量分别为生长阈值的 3 倍和 2 倍^[13]。富营养化引起的藻华也可导致大量有机物快速沉降到海底并被微生物分解,快速消耗氧气而引起海水出现低氧问题^[14]。在营养盐浓度发生变化的同时,近海氮、磷营养盐的比例在某些海域也发生了显著变化,如近十年来渤海海域的溶解无机磷含量较低,溶解无机氮含量显著升高^[15],偏离了传统的化学计量学比值^[16]。海水营养结构的变化也可对海洋浮游植物的生理过程产生影响,并改变浮游植物的胞内元素组成^[17]。不同种类的浮游植物生长及代谢过程对氮、磷营养盐的需求也存在差异,因此氮磷比的变化可以改变浮游植物的种群结构,影响海洋上层食物网^[18],对水生生态系统的稳定性和生产

力有一定的影响^[19]。

硅藻贡献了 40% 左右的海洋初级生产力,占全球初级生产力的 20%,是海洋生物碳泵的主要组成部分^[20-22]。在近岸海域,硅藻作为海洋浮游生态系统中的优势种群,是多种食物网的基础,在海洋生态系统的能量流动与物质循环中起着重要作用^[23-24]。由于近年来人类活动导致氮、磷元素失衡,浮游植物受营养盐限制加剧,所以研究不同营养盐条件对优势硅藻沉降速率及其生理状态的影响显得尤为重要,此类研究有利于进一步了解碳输出及缺氧区形成的过程。为了研究氮、磷营养盐比例变化对近海硅藻的生理效应及其对硅藻相关碳汇的影响,本研究分别采用半连续培养和一次性培养的方式,对近岸优势硅藻海链藻在不同氮磷比及氮、磷营养盐浓度的条件下进行模拟培养实验,并分析其在不同氮磷比、不同生长阶段的生理生化指标及沉降速率,以期为进一步认知近岸水体富营养化背景下营养盐结构变化的生态效应提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 藻种选择及保种培养条件

本研究选取硅藻优势物种中心纲海链藻 (*Thalassiosira* sp.) 作为研究对象,藻种保存于天津科技大学海洋与环境学院海洋生物地球化学实验室藻种库的恒温光照培养箱内。恒温光照培养箱保种条件为:温度 15 °C、光照强度 150 ~ 180 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、光暗周期比为 12 h/12 h,磷酸盐、硝酸盐、硅酸盐、微量营养元素和维生素按照 f/2 培养基^[25]中的用量进行添加。

1.2 实验设置

室内培养实验设置的环境因子为磷酸盐浓度和硝酸盐浓度。温度设置为 20 °C,光照强度设置为 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,光暗周期比为 12 h/12 h。磷酸盐实验共设置 0.6、0.8、3、6、16 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 5 个处理组(对应氮磷比依次为 146.6 : 1、110 : 1、29.3 : 1、14.7 : 1、5.5 : 1)。硝酸盐实验共设置 5、10、20、48、96 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 5 个处理组(对应氮磷比依次为 1.6 : 1、3.1 : 1、6.3 : 1、15 : 1、30 : 1)。除控制变量之外的其他元素均按照 f/20 培养基中的用量^[24]添加,每个处理组设置 3 个平行样。在实验中采用人工海水^[26]配制培养基,使培养体系中营养盐浓度准确。最后,取指数生长期的藻种接种至 500 mL Nalgene 培养瓶中,初始细胞丰度 $1.0 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$,在由加热棒及 HC-1000BH 型冷暖

水机(中国海利)控温的 20 °C 恒温水槽中进行培养。

半连续培养时,为使藻细胞丰度与培养体系中营养盐浓度保持相对恒定,每天用新配制的培养基稀释藻液。每天取样进行细胞计数以监测藻细胞生长情况。培养至其生长速率达到稳态(生长速率变化小于 10% 的时间超过 5 d)^[27]后进行最终收样,收样参数为叶绿素 a (Chl-a) 质量浓度、生物硅(BSi)浓度、颗粒有机磷(POP)浓度、颗粒有机碳(POC)含量、颗粒有机氮(PON)含量、细胞沉降速率、蛋白质含量及碳水化合物含量。

半连续培养结束后,将采样剩余藻种按初始细胞丰度 $1 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 转移至 500 mL Nalgene 培养瓶中进行不同营养盐梯度的一次性培养实验。每天进行藻细胞计数,隔天取样测定细胞沉降速率。

1.3 样品分析

1.3.1 藻细胞计数和叶绿素 a 浓度的测定

取 1 mL 培养藻液置于 1.5 mL 的离心管中,添加 6 μL 鲁格氏(Lugol's)试剂进行固定,避光保存在 4 °C 冰柜中,用 0.1 mL 微藻计数框在 CH20BIMF200 型光学显微镜(日本 Olympus)下进行计数。另取 2 mL 藻液,暗处理 20 min 后用 Turner 荧光仪(美国 Trilogy)测定其活体荧光值。通过式(1)计算生长速率。

$$\mu = \frac{\ln(N_2/N_1)}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

式中: μ 为生长速率, d^{-1} ; N_2 和 N_1 分别指 t_2 (收样当天)和 t_1 (收样前一天)时的活体荧光值。

用隔膜真空泵将一定体积的样品在较低压强下 ($< 0.04 \text{ MPa}$) 过滤至 GF/F 膜(美国 Whatman)上,加入 5 mL 体积分数 90% 的丙酮水溶液,在 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 环境中避光萃取 24 h,以体积分数 90% 的丙酮水溶液作为空白,用 Turner 荧光仪(美国 Trilogy)进行测定,根据过滤体积计算 Chl-a 的最终质量浓度 ($\mu\text{g/L}$)。

1.3.2 元素组成分析

颗粒有机磷(POP)含量的测定采用钼酸盐测定法^[28]。用隔膜真空泵将一定量的样品过滤到经马弗炉灼烧 ($450 \text{ }^\circ\text{C}$, 4 h) 后的 GF/F 膜(美国 Whatman)上,再以相同体积海水培养基作为空白样。用 2 mL 0.17 mol/L Na_2SO_4 溶液对含有样品的滤膜进行淋洗并抽滤。将滤膜转移至 20 mL 已经灼烧过的样品瓶中,加入 2 mL 0.017 mol/L MgSO_4 溶液,盖上铝箔纸,置于 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱中烘干。分析前,将样品置于 $450 \text{ }^\circ\text{C}$ 马弗炉中灼烧 2 h,冷却后加入 5 mL 0.2 mol/L 的 HCl 溶液,然后置于 $90 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱中干燥 30 min,冷却至

室温后加入 0.5 mL 显色剂混合均匀,等待 10 ~ 20 min,用 UV-2550 型紫外-可见分光光度计(日本岛津)在 885 nm 波长处测定样品的吸光度,最后根据标准曲线以及过滤体积计算 POP 浓度 ($\mu\text{mol/L}$)。

生物硅(BSi)使用 Brzezinski 等^[29]的显色法进行样品分析。将一定体积藻液过滤至孔径为 $0.6 \mu\text{m}$ 的聚碳酸酯滤膜(美国 Millipore)上,在 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱中烘干后室温保存。

将一定体积藻液过滤至经马弗炉灼烧 ($450 \text{ }^\circ\text{C}$, 4 h) 过的 GF/F 膜(美国 Whatman)上,装入灼烧过的铝箔纸袋,经 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 的烘箱烘干后,采用 ECS4010 型 CHN 元素分析仪(意大利 Costech)测定,根据标准曲线以及过滤体积计算颗粒有机碳(POC)^[30]及颗粒有机氮(PON)含量 ($\mu\text{mol/L}$)。

1.3.3 蛋白质和碳水化合物含量的测定

蛋白质含量的测定:将一定体积藻液过滤到 $0.6 \mu\text{m}$ 聚碳酸酯滤膜(美国 Millipore)上,保存在 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中。将样品溶解在 Milli-Q 水中,再将 1 mL 藻液与 4 mL 考马斯亮蓝 G-250 溶液充分混合,放置 5 min,用 UV-2550 型紫外-可见分光光度计(日本岛津)在 595 nm 波长处测定样品吸光度,并以牛血清白蛋白作为标准物质,根据标准曲线以及过滤体积计算蛋白质含量 ($\mu\text{g/mL}$)。

碳水化合物含量的测定:将一定体积藻液过滤至 $0.6 \mu\text{m}$ 聚碳酸酯滤膜(美国 Millipore)上,加入 5 mL 0.05 mol/L H_2SO_4 溶液, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴加热 30 min;冷却后向装有 2 mL 藻液的 20 mL 玻璃瓶中加 0.05 mL 80% 苯酚水溶液,再迅速加入 5 mL 浓硫酸,静置 30 min 进行显色(显色效果不好可延长时间),颜色稳定后用 UV-2550 型紫外-可见分光光度计(日本岛津)在 485 nm 波长处测定样品吸光度,并以葡萄糖作为标准物质^[31],根据标准曲线以及过滤体积计算碳水化合物含量 ($\mu\text{g/mL}$)。

1.3.4 沉降速率

浮游植物沉降速率的测定采用 SETCOL 沉降柱测量法^[32]。将高 33 cm、体积 420 mL 的沉降柱垂直固定于支架上,夹住 3 个出水口,把均匀混合的藻液倒入密封良好的沉降柱中,恒温下避光静置 3 h,按顺序从上、中、下层取样,测定 Chl-a 浓度,最后根据式(2)计算沉降速率。

$$\psi = \frac{B_s I}{B_t t} \quad (2)$$

式中: ψ 为沉降速率, m/d ; B_s 为沉降柱下层生物量,

$\mu\text{g/L}$; B_t 为沉降柱总生物量, $\mu\text{g/L}$; l 为沉降柱高度, cm ; t 为沉降时间, h 。

1.4 数据分析

本文数据均采用 Graphpad prism 作图软件进行分析,对每个处理组的 3 个平行样进行平均值和标准偏差计算,通过米氏方程对生长速率进行拟合,采用单因子方差分析(one-way ANOVA)与 t 检验进行显著性分析($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 生长速率

海链藻在不同磷酸盐(控制硝酸盐浓度为 $88 \mu\text{mol/L}$)和不同硝酸盐(控制磷酸盐浓度为 $3.2 \mu\text{mol/L}$)浓度下的生长速率结果如图 1 所示,图中红线是通过米氏方程拟合得到的。

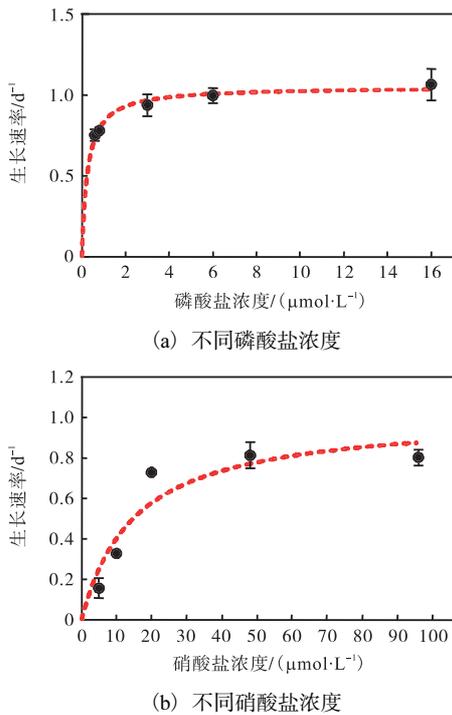


图 1 海链藻在不同磷酸盐和硝酸盐浓度下的生长速率
Fig. 1 Growth rates of *Thalassiosira* sp. under different phosphate and nitrate concentrations

两组实验中海链藻生长速率随两组营养盐的浓度变化呈现相似的趋势,在一定浓度范围内,随着营养盐浓度升高,海链藻生长速率呈逐渐升高的趋势,分别在磷酸盐浓度为 $6 \mu\text{mol/L}$ 、硝酸盐浓度为 $48 \mu\text{mol/L}$ 条件下趋近饱和。磷酸盐和硝酸盐半饱和常数(K_m)分别为 $0.26 \mu\text{mol/L}$ 和 $15.12 \mu\text{mol/L}$ 。两个实验中海链藻的最大生长速率分别为 1.05d^{-1} 和

1.02d^{-1} ,无显著差异。

2.2 叶绿素 a 与生物大分子含量

海链藻在不同磷酸盐浓度下和不同硝酸盐浓度下的胞内叶绿素 a、碳水化合物和蛋白质含量如图 2 所示。

随着磷酸盐浓度的升高,海链藻胞内叶绿素含量逐渐升高,两者基本呈线性关系,胞内叶绿素含量在磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ 时最低,在磷酸盐浓度为 $16 \mu\text{mol/L}$ 时最高。随着硝酸盐浓度升高,海链藻胞内叶绿素含量先升高后略有降低,且胞内叶绿素含量于硝酸盐浓度为 $48 \mu\text{mol/L}$ 时最高,在硝酸盐浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时最低。

随着磷酸盐浓度的升高,海链藻胞内碳水化合物含量逐渐降低,且在磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ 时最高,在磷酸盐浓度为 $16 \mu\text{mol/L}$ 时最低,前者的胞内碳水化合物含量较后者增加了 154.6% 。随着硝酸盐浓度的升高,海链藻胞内碳水化合物含量逐渐降低,且在硝酸盐浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时含量最高,在硝酸盐浓度为 $96 \mu\text{mol/L}$ 时最低,前者的胞内碳水化合物含量较后者增加了 81.77% 。

随着磷酸盐浓度的升高,海链藻胞内蛋白质含量逐渐升高,且在磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ 时最低,在磷酸盐浓度为 $16 \mu\text{mol/L}$ 时最高,后者的胞内蛋白质含量较前者增加了 123.5% 。随着硝酸盐浓度的升高,海链藻胞内蛋白质含量逐渐升高,且在硝酸盐浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时最低,在硝酸盐浓度为 $96 \mu\text{mol/L}$ 时高,后者的胞内蛋白质含量较前者增加了近 2 倍。

2.3 细胞元素含量

海链藻在不同磷酸盐浓度和不同硝酸盐浓度下的胞内 BSi、POP、POC、PON 含量如图 3 所示。

随着磷酸盐浓度的升高,海链藻胞内生物硅含量逐渐降低,且在磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ 时最高,在磷酸盐浓度为 $16 \mu\text{mol/L}$ 时最低,前者较后者增加了 50.79% 。随着硝酸盐浓度的升高,海链藻胞内生物硅含量先降低后略有升高,在硝酸盐浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时含量最高,在硝酸盐浓度为 $48 \mu\text{mol/L}$ 时最低。随着磷酸盐浓度的升高,海链藻胞内颗粒有机磷含量逐渐升高,且在磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ 时最低,在磷酸盐浓度为 $16 \mu\text{mol/L}$ 时最高,后者较前者增加了 74.14% 。随着硝酸盐浓度的升高,海链藻胞内颗粒有机磷含量总体上呈现逐渐降低的趋势,且在硝酸盐浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时最高,在硝酸盐浓度为 $96 \mu\text{mol/L}$ 时最低,前者较后者增加了 104.24% 。

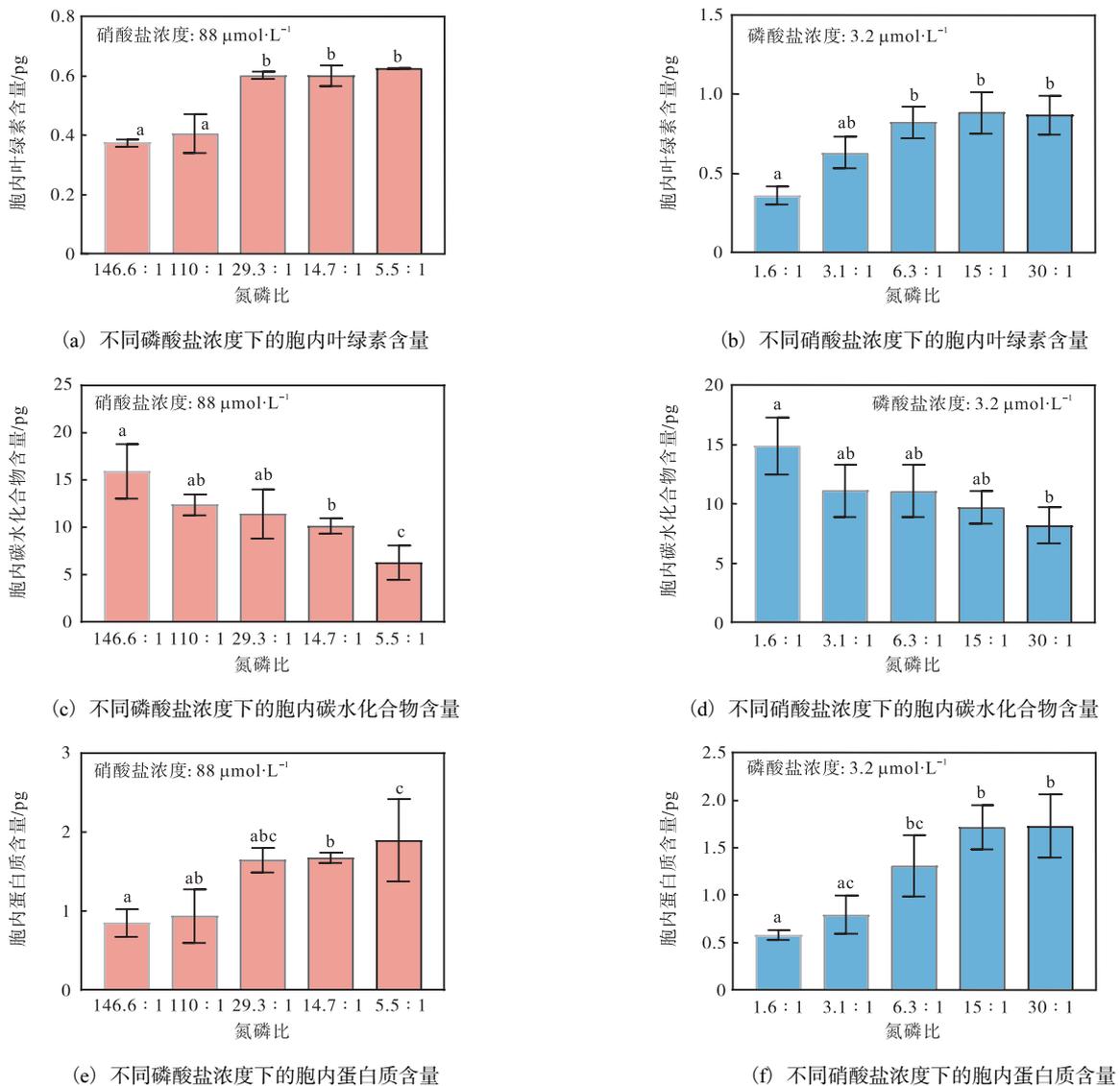


图 2 海链藻在不同磷酸盐浓度和不同硝酸盐浓度下的胞内叶绿素 a、碳水化合物和蛋白质含量

Fig. 2 Cellular Chl-a, carbohydrate and protein contents of *Thalassiosira* sp. under different phosphate and nitrate concentrations

随着磷酸盐浓度的升高,海链藻胞内颗粒有机碳含量先降低后略有升高,且在磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ 时最高,在磷酸盐浓度为 $6 \mu\text{mol/L}$ 时最低,前者较后者增加了 44.86%。随着硝酸盐浓度的升高,海链藻胞内颗粒有机碳含量大致呈上升趋势,且在硝酸盐浓度为 $96 \mu\text{mol/L}$ 时最高,在硝酸盐浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时最低。

随着磷酸盐浓度的升高,海链藻胞内颗粒有机氮含量逐渐降低,且在磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ 时最高,在磷酸盐浓度为 $16 \mu\text{mol/L}$ 时最低,前者较后者增加了 170.92%。随着硝酸盐浓度的升高,海链藻胞内颗粒有机氮含量呈逐渐上升趋势,且在硝酸盐浓度为 $96 \mu\text{mol/L}$ 时最高,在硝酸盐浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时最低,前者较后者增加了 198.89%。

2.4 胞内元素比

海链藻在不同磷酸盐浓度和不同硝酸盐浓度下的胞内元素比如图 4 所示。

不同营养盐条件对海链藻胞内颗粒有机碳与颗粒有机氮的物质的量之比 $[n(\text{C})/n(\text{N})]$ 有显著影响 ($P < 0.05$)。在磷酸盐实验中, $n(\text{C})/n(\text{N})$ 随着磷酸盐浓度的升高而升高,且在磷酸盐浓度为 $16 \mu\text{mol/L}$ 时最高 (6.58 ± 0.75),在磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ 时最低 (3.28 ± 0.37),前者比后者高 100.61%。在硝酸盐实验中, $n(\text{C})/n(\text{N})$ 随着硝酸盐浓度的升高大致呈现降低趋势,且在硝酸盐浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时最高 (12.12 ± 4.23),在硝酸盐浓度为 $48 \mu\text{mol/L}$ 时最低 (6.37 ± 0.48),前者比后者高 90.27%。

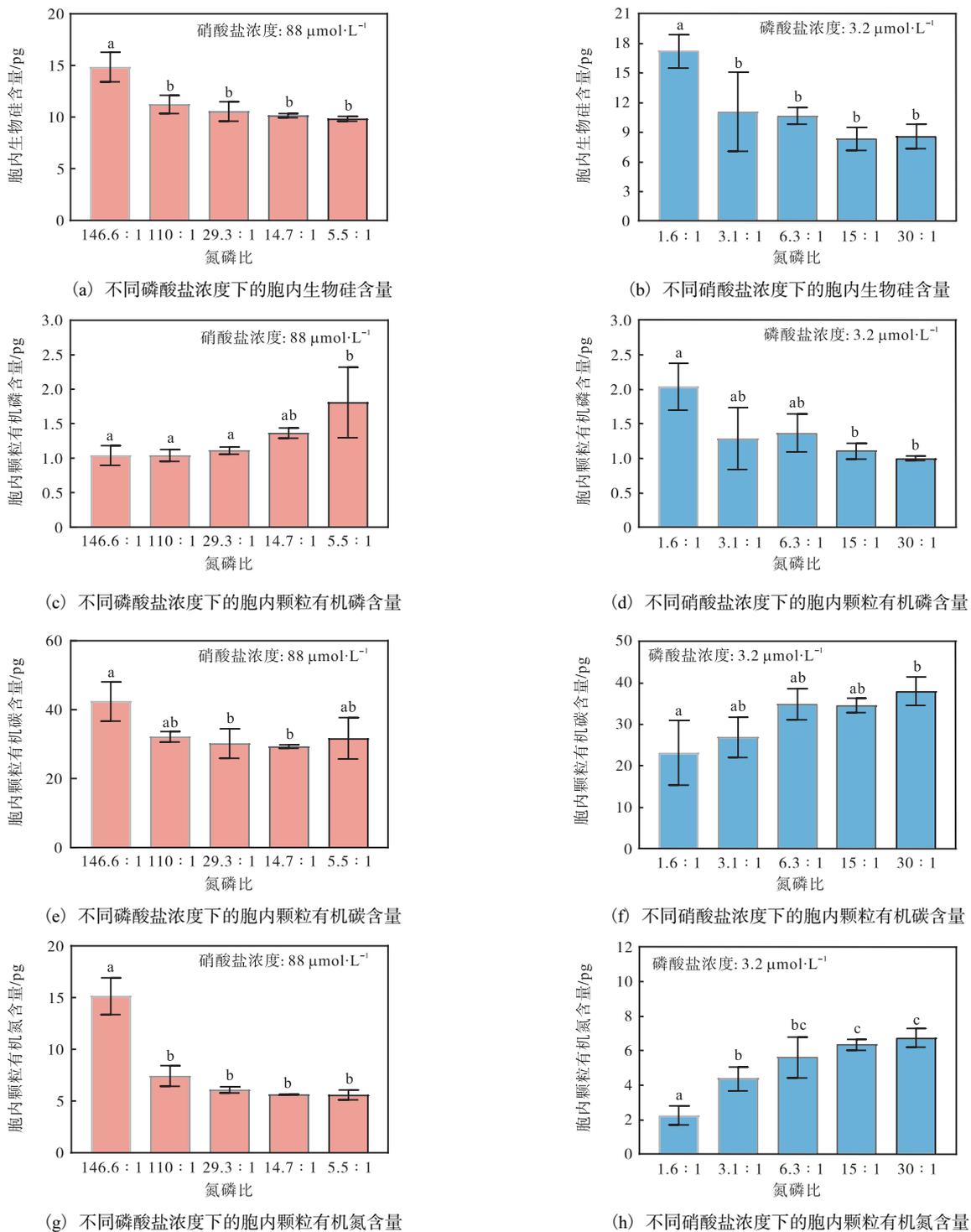


图3 海链藻在不同磷酸盐浓度下和不同硝酸盐浓度下的胞内 BSi、POP、POC、PON 含量

Fig. 3 Cellular BSi, POP, POC and PON contents of *Thalassiosira* sp. under different phosphate and nitrate concentrations

不同营养盐条件对海链藻胞内颗粒有机碳与颗粒有机磷的物质的量之比 $[n(C)/n(P)]$ 的影响不同 ($P < 0.05$)。在磷酸盐实验中, $n(C)/n(P)$ 随着磷酸盐浓度的升高而降低, 且在磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ 时最高 (105.42 ± 4.07), 在磷酸盐浓度为 $16 \mu\text{mol/L}$ 时

最低 (46.11 ± 6.34), 前者比后者高 128.63%。在硝酸盐实验中, $n(C)/n(P)$ 随着硝酸盐浓度的升高呈现逐渐升高的趋势, 且在硝酸盐浓度为 $96 \mu\text{mol/L}$ 时最高 (98.26 ± 5.94), 在硝酸盐浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时最低 (29.08 ± 8.55), 前者比后者高 237.90%。

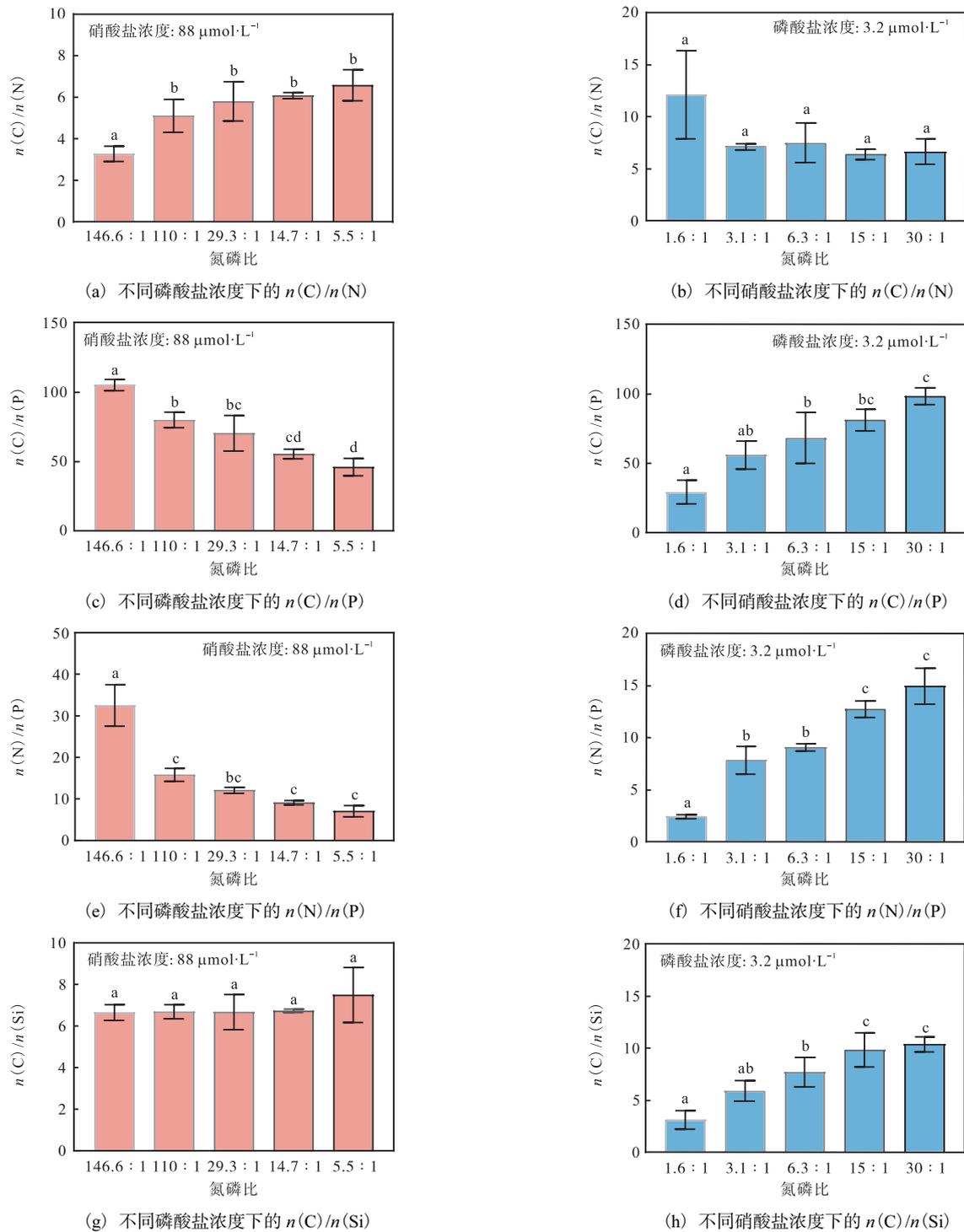


图 4 海链藻在不同磷酸盐浓度下和不同硝酸盐浓度下的胞内元素比

Fig. 4 Cellular element ratio of *Thalassiosira sp.* under different phosphate and nitrate concentrations

不同营养盐条件对海链藻胞内颗粒有机氮与颗粒有机磷的物质的量之比 [$n(N)/n(P)$] 的影响不同 ($P < 0.05$)。在磷酸盐实验中, $n(N)/n(P)$ 随着磷酸盐浓度的升高而降低, 且在磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ 时最高 (32.52 ± 5.01), 在磷酸盐浓度为 $16 \mu\text{mol/L}$ 时最低 (7.08 ± 1.35), 前者比后者高 359.32%。在硝酸盐

实验中, $n(N)/n(P)$ 随着硝酸盐浓度的升高而升高, 且在硝酸盐浓度为 $96 \mu\text{mol/L}$ 时最高 (14.97 ± 1.71), 在硝酸盐浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时最低 (2.43 ± 0.20), 前者比后者高 516.05%。

不同营养盐条件对海链藻胞内颗粒有机碳与生物硅的物质的量之比 [$n(C)/n(Si)$] 的影响不同 ($P <$

0.05)。在磷酸盐实验中, $n(C)/n(Si)$ 随着磷酸盐浓度的升高大致呈升高趋势, 且在磷酸盐浓度为 $16 \mu\text{mol/L}$ 时最高 (7.49 ± 1.32), 在磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ 时最低 (6.65 ± 0.38), 前者比后者高 12.63%。在硝酸盐实验中, $n(C)/n(Si)$ 随着硝酸盐浓度的升高而升高, 且在硝酸盐浓度为 $96 \mu\text{mol/L}$ 时最高 (10.37 ± 0.72), 在硝酸盐浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时最低 (3.10 ± 0.90), 前者比后者高 234.52%。

2.5 沉降速率

海链藻在不同磷酸盐浓度和不同硝酸盐浓度下的半连续培养沉降速率、一次性培养细胞丰度和一次性培养沉降速率分别如图 5、图 6 所示。

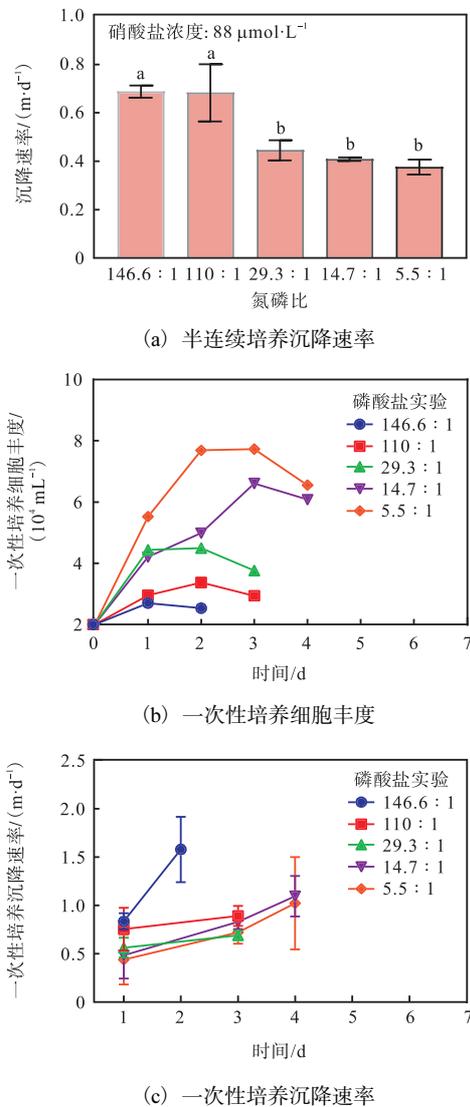


图 5 海链藻在不同磷酸盐浓度下的半连续培养沉降速率、一次性培养细胞丰度和一次性培养沉降速率
Fig. 5 Sinking rates in the semi-continuous incubation, cell abundances in the batch culture and sinking rates in the batch culture of *Thalassiosira sp.* under different phosphate concentrations

随两种营养盐浓度的升高, 海链藻的沉降速率均呈现降低的趋势, 分别于磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ [$(0.69 \pm 0.03) \text{m/d}$] 和硝酸盐浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ [$(0.77 \pm 0.02) \text{m/d}$] 时最高。磷酸盐实验中, 磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ 时的沉降速率较 $16 \mu\text{mol/L}$ 时升高 82.92% ($P < 0.05$); 硝酸盐实验中, 硝酸盐浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 时的沉降速率较 $96 \mu\text{mol/L}$ 时升高 157.30% ($P < 0.05$)。

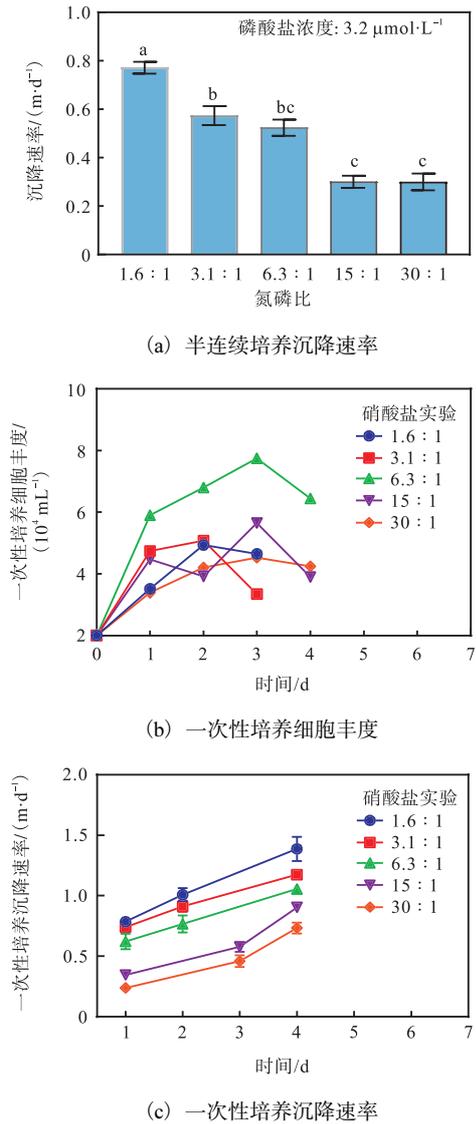


图 6 海链藻在不同硝酸盐浓度下的半连续培养沉降速率、一次性培养细胞丰度和一次性培养沉降速率
Fig. 6 Sinking rates in the semi-continuous incubation, cell abundances in the batch culture and sinking rates in the batch culture of *Thalassiosira sp.* under different nitrate concentrations

在为期 4 d 的一次性培养实验中, 海链藻在指数生长期的沉降速率总体小于 0.9m/d , 在磷酸盐浓度为 $0.6 \mu\text{mol/L}$ 的条件下, 第 2 天细胞丰度显著衰退,

在 0.8 $\mu\text{mol/L}$ 、3 $\mu\text{mol/L}$ 条件下,于第 3 天到达衰退期,而在 6 $\mu\text{mol/L}$ 、16 $\mu\text{mol/L}$ 下,衰退期始于第 4 天。海链藻在硝酸盐浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 的条件下,于第 3 天到达衰退期,在硝酸盐浓度为 48 $\mu\text{mol/L}$ 、96 $\mu\text{mol/L}$ 的条件下,于第 4 天开始衰退。

指数生长期(第 1 天)的沉降速率最低,随着细胞生长逐步到达衰退期,沉降速率随之显著升高,而在营养盐本底值最低条件下达到最高,平台期沉降速率约是指数生长期的 1.2 倍,衰退期沉降速率约是指数生长期的 2 倍。

3 讨论

在氮、磷营养盐限制的条件下,海链藻胞内叶绿素 a、蛋白质含量受到了显著影响,其主要原因是营养盐缺乏限制了它们的合成^[8]。但与硝酸盐限制相比,本实验中低磷酸盐浓度对海链藻生长速率的削弱程度低于硝酸盐限制。氮和磷是植物的必需营养元素,能够调节细胞的生长和代谢,并且在细胞的生命周期中都扮演着非常重要的角色。已有研究表明,氮、磷等营养元素在浮游植物的生物膜形成和核酸组成等方面至关重要^[33]。在本实验中,低磷抑制 POP 的合成,低氮反而促进 POP 的合成。低氮和低磷都显著促进碳水化合物的合成,减少蛋白质的合成,可能是生长速率较低条件能推动碳水化合物的合成,而某些蛋白质合成受到抑制^[3, 34]。低磷和低氮条件都增加沉降速率,低氮对其影响更加显著,这是由于低氮条件比低磷条件胞内生物硅含量更多,而蛋白质含量则相反。

人类活动加速了全球变化,在过去的几十年间,人类活动除了造成大气中二氧化碳浓度快速升高之外,向生物圈释放出的活性氮远远高于磷的输入,从而显著改变了地表的氮磷比^[33],受陆源径流输入变化和海洋生物分解转化的影响,近海海域磷限制成为一种常见现象^[35]。氮磷比失衡会改变浮游植物的元素组成,影响其自身蛋白质、脂质等的含量^[36-37],最终影响其生长。不同种类浮游植物利用氮和磷的方式不同,氮磷比失衡可能会改变一些浮游植物的优势地位,进而影响整个群落结构^[38]。氮磷比失衡还会导致水体富营养化,引发水华等问题。

在本研究中,营养盐限制显著提升沉降速率。浮游植物光合作用产生的有机碳通过食物链和食物网在上层水体中循环,死亡后以有机物碎屑方式沉降至海底^[39-40],浮游植物在全球海洋碳循环中具有重要

作用。浮游植物直接沉降是海洋有机碳沉降过程的中心环节^[41],研究浮游植物碳沉降过程对理解该海域生物地球化学循环效率、低氧区形成等生态环境问题具有重要意义,比如对群落而言,缺氧虽然提高了沿海浮游植物的初级生产力^[42],但是藻种向潜在有害类群转移^[43]。对个体而言,有学者研究结果表明缺氧增加了威氏海链藻的光合作用能力和生长速率^[42],但是也有学者发现缺氧显著抑制中肋骨条藻生长并对其生理活动产生负面影响^[44]。浮游植物通过光合作用固定有机碳,通过沉降速率影响碳循环^[45]。浮游植物通过光合作用产生颗粒有机碳,再通过各种食物网,最终死亡的生物体或有机碎屑在重力作用下沉降,一般称为生物泵过程。浮游植物沉降作为海洋生物泵的重要组成部分,在海洋碳循环中占有重要地位。上层的碳输入到底层,有利于碳的埋藏(碳汇)。本文研究表明,高氮磷比和低氮磷比均会显著增加海链藻的沉降速率;海链藻不同生长阶段的沉降速率不同,在指数生长期最小,在衰退期达到最大,营养盐本底值最低处理组沉降速率最大,这可能是由于藻细胞中脂质^[46]含量随生长周期变化影响藻细胞密度,最终影响浮游植物的沉降速率。在藻细胞衰退阶段,细胞内蛋白质、碳水化合物等有机物逐渐分解,形成胶体,胶体吸附附近分子后质量增加;此外,细胞内气体不断释放,减小浮力,增加藻细胞沉降速率。稳态水体(或者水华开始形成时)生态系统处于相对平衡状态,而水华衰退期则以特定物种为主导,物种多样性大幅降低,生态平衡被打破^[47]。因此,研究藻华衰退期和稳态水体在群落组成、营养盐含量等方面的差异^[48],对维持水生生态系统的稳定有重要生态学意义。

氮磷比对沉降速率产生影响。在本文的研究中,低硝酸盐浓度对沉降速率的影响比低磷酸盐浓度的大,低氮磷比对沉降速率影响大。在低氮磷比条件下,POP、BSi 含量明显升高,生长速率、蛋白质含量相对较低。生长速率低的条件下细胞体积会增大,胞内碳水化合物增多,也会增大沉降速率。Rhee^[49]的研究表明,藻细胞 PON 含量在氮限制条件下略有降低,POP 贮存含量明显升高;藻细胞 POP 含量在磷限制条件下无显著变化,而 PON 含量略有增加^[50]。在本研究和大多数前期研究中,氮缺乏会导致高碳氮比,而磷缺乏会导致高碳磷比和氮磷比^[51-52], $n(\text{PON})/n(\text{POP})$ 与氮磷比呈正相关。李铁等^[53]在对中肋骨条藻和新月菱形藻的营养限制研究中得出与之相似的结论,本文两个实验的藻细胞内 POP 和

PON 含量变化与前人研究结果相似。

沉降速率的变化会通过改变碳循环时间影响海洋碳循环,影响氮、磷、硅等营养要素的沉降和循环(如过高会导致营养盐损失,影响和改变海洋中营养盐的循环与分布以及浮游植物的生长),进而影响生物多样性和食物网结构的发展^[54]。

4 结 语

营养盐限制影响胞内生物硅、碳水化合物、蛋白质等元素及物质组成变化,相比于磷限制,氮限制对沉降速率的影响更强烈,在低磷酸盐浓度、低硝酸盐浓度下沉降速率最高,在氮磷比为 1.6 时沉降速率最高。对比发现,在指数生长期和衰退期,由于藻细胞生理条件变化,所以内部物质也发生变化,如蛋白质、碳水化合物分解释放形成胶体,吸附周围颗粒增加自身质量和内部气泡释放减小浮力,导致藻细胞在衰退期沉降速率大幅升高。

尽管本研究初步发现了海链藻对磷酸盐浓度和硝酸盐浓度变化的响应差异,但是在本研究中并未结合现场观测实验。因此,未来的研究还需多结合一些现场观测实验。此外,未来的研究还需探讨不同浮游植物种群、氮磷比对不同浮游植物及其种群结构变化等,进一步全面分析对碳沉降的影响以及对生物地球化学循环的影响。

参考文献:

- [1] 韩博平,韩志国,付翔. 藻类光合作用机理与模型[M]. 北京:科学出版社,2003:17-34.
- [2] ELSER J J, BRACKEN M E, CLELAND E E, et al. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwa, marine and terrestrial ecosystems[J]. Ecology letters, 2007, 10(12): 1135-1142.
- [3] GEIDER R J, ROCHE J L, GREENE R M, et al. Response of the photosynthetic apparatus of *Phaeodactylum tricorutum* (Bacillariophyceae) to nitrate, phosphate, or iron starvation I [J]. Journal of phycology, 1993, 29(6): 755-766.
- [4] GEIDER R J, MACINTYRE H L, GRAZIANO L M, et al. Responses of the photosynthetic apparatus of *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) to nitrogen and phosphorus limitation[J]. European journal of phycology, 1998, 33(4): 315-332.
- [5] YOUNG E B, BEARDALL J. Rapid ammonium-and nitrate-induced perturbations to Chl a fluorescence in nitrogen-stressed *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyta) [J]. Journal of phycology, 2003, 39(2): 332-342.
- [6] LOEBL M, COCKSHUTT A M, CAMPBELL D A, et al. Physiological basis for high resistance to photoinhibition under nitrogen depletion in *Emiliania huxleyi* [J]. Limnology and oceanography, 2010, 55(5): 2150-2160.
- [7] 潘晓华,石庆华,郭进耀,等. 无机磷对植物叶片光合作用的影响及其机理的研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 1997(3): 201-208.
- [8] 赵艳芳,俞志明,宋秀贤,等. 营养盐对长江口 2 种主要赤潮原因藻光合色素和光合作用影响的比较研究[J]. 环境科学, 2009, 30(3): 700-706.
- [9] 赵晓玮. 环境中不同氮磷营养盐浓度及氮源形态对米氏凯伦藻 (*Karenia mikimotoi*) 生长的影响研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2010.
- [10] PASSOW U. Species-specific sedimentation and sinking velocities of diatoms[J]. Marine biology, 1991, 108(3): 449-455.
- [11] STEELE J H, YENTSCH C S. The vertical distribution of chlorophyll[J]. Journal of the marine biological association of the United Kingdom, 1960, 39(2): 217-226.
- [12] 韦兴平. 国家海洋局发布《2000 年中国海洋环境质量公报》[J]. 海洋环境科学, 2001(2): 75.
- [13] 王保栋. 黄海和东海营养盐分布及其对浮游植物的限制[J]. 应用生态学报, 2003(7): 1122-1126.
- [14] CHEN C C, GONG G C, SHIAH F K. Hypoxia in the East China Sea: one of the largest coastal low-oxygen areas in the world[J]. Marine environmental research, 2007, 64(4): 399-408.
- [15] 傅婷婷,陈宝红,暨卫东,等. 中国近海营养盐含量和结构的时空变化及其影响[C]//福建省海洋协会. 福建省海洋学会 2014 年学术年会暨福建省科协第十四届学术年会论文集. 平潭:福建省海洋协会, 2014: 865-871.
- [16] REDFIELD A C. The biological control of chemical factors in the environment[J]. Science progress, 1960, 11: 150-170.
- [17] 陈蕾. N/P 比失衡对海洋浮游生物的影响及其沿食物网的传递[D]. 青岛:中国科学院大学(中国科学院海洋研究所), 2015.
- [18] 孙凌,金相灿,钟远,等. 不同氮磷比条件下浮游藻类群落变化[J]. 应用生态学报, 2006(7): 1218-1223.
- [19] 胡傲,李宇辉,杨予静,等. 不同生长型沉水植物配置对生物量积累和水质净化效果的影响[J]. 湖泊科学, 2022, 34(5): 1484-1492.
- [20] JIN X, GRUBER N, DUNNE J P, et al. Diagnosing the contribution of phytoplankton functional groups to the

- production and export of particulate organic carbon, CaCO_3 , and opal from global nutrient and alkalinity distributions[J]. *Global biogeochemical cycles*, 2006, 20(2): 1–17.
- [21] SANDERS R, HENSON S A, KOSKI M, et al. The biological carbon pump in the North Atlantic[J]. *Progress in oceanography*, 2014, 129: 200–218.
- [22] 冯媛媛, 王建才, 蔡婷. 海洋酸化与升温对浮游植物种群的影响研究综述[J]. *天津科技大学学报*, 2022, 37(2): 61–70.
- [23] FIELD C B, BEHRENFELD M J, RANDERSON J T, et al. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components[J]. *Science*, 1998, 281(5374): 237–240.
- [24] RAMACHANDRA T V, MAHAPATRA D M, GORDON R. Milking diatoms for sustainable energy: biochemical engineering versus gasoline-secreting diatom solar panels[J]. *Industrial & engineering chemistry research*, 2009, 48(19): 8769–8788.
- [25] GUILLARD R R L, RYTHER J H. Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran[J]. *Canadian journal of microbiology*, 1962, 8(2): 229–239.
- [26] BERGES J A, FRANKLIN D J, HARRISON P J. Evolution of an artificial seawater medium: improvements in enriched seawater, artificial water over the last two decades[J]. *Journal of phycology*, 2001, 37(6): 1138–1145.
- [27] FENG Y Y, WARNER M E, ZHANG Y H, et al. Interactive effects of increased $p\text{CO}_2$, temperature and irradiance on the marine coccolithophore *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae) [J]. *European journal of phycology*, 2008, 43(1): 87–98.
- [28] SOLÓRZANO L, SHARP J H. Determination of total dissolved phosphorus and particulate phosphorus in natural waters[J]. *Limnology and oceanography*, 1980, 25(4): 754–758.
- [29] BRZEZINSKI M A, NELSON D M. The annual silica cycle in the Sargasso Sea near Bermuda[J]. *Deep sea research part I: oceanographic research papers*, 1995, 42(7): 1215–1237.
- [30] 廖晏. 二氧化碳和温度对海洋浮游植物生理指标的交互影响[D]. 天津: 天津科技大学, 2018.
- [31] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. *Analytical chemistry*, 1956, 28(3): 350–356.
- [32] 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.
- [33] MANTZOROU A, VERVERIDIS F. Microalgal biofilms: a further step over current microalgal cultivation techniques[J]. *Science of the total environment*, 2019, 651: 3187–3201.
- [34] 郭佳, 冯媛媛, 侯丹丹, 等. 钙化与非钙化株系颗石藻 *Emiliania huxleyi* 胞内元素组成对氮限制的响应比较[J]. *天津科技大学学报*, 2021, 36(6): 22–28.
- [35] DYHRMAN S T, CHAPPELL P D, HALEY S T, et al. Phosphonate utilization by the globally important marine diazotroph *Trichodesmium* [J]. *Nature*, 2006, 439(7072): 68–71.
- [36] 周伟华, 吴云华, 陈绍勇. 南沙群岛海域沉积物间隙水营养盐(氮、磷、硅)的研究[J]. *热带海洋学报*, 2001, 20(4): 49–55.
- [37] BROWN M R, JEFFREY S W, VOLKMAN J K, et al. Nutritional properties of microalgae for mariculture[J]. *Aquaculture*, 1997, 151(1/2/3/4): 315–331.
- [38] LAI J X, YU Z M, SONG X X, et al. Responses of the growth and biochemical composition of *Prorocentrum donghaiense* to different nitrogen and phosphorus concentrations[J]. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 2011, 405(1/2): 6–17.
- [39] HILLEBRAND H, SOMMER U. Diversity of benthic microalgae in response to colonization time and eutrophication[J]. *Aquatic botany*, 2000, 67(3): 221–236.
- [40] CERMEÑO P, LEE J B, WYMAN K, et al. Competitive dynamics in two species of marine phytoplankton under non-equilibrium conditions[J]. *Marine ecology progress series*, 2011, 429: 19–28.
- [41] 孙军. 海洋浮游植物与生物碳汇[J]. *生态学报*, 2011, 31(18): 5372–5378.
- [42] QIU Y, LAWS E A, WANG L, et al. The potential contributions of phytoplankton cells and zooplankton fecal pellets to POC export fluxes during a spring bloom in the East China Sea[J]. *Continental shelf research*, 2018, 167: 32–45.
- [43] SUN J Z, WANG T F, HUANG R P, et al. Enhancement of diatom growth and phytoplankton productivity with reduced O_2 availability is moderated by rising CO_2 [J]. *Communications biology*, 2022, 5(1): 1–12.
- [44] MA S F, WHEREAT E B, LUTHER G W. Shift of algal community structure in dead end lagoons of the Delaware Inland Bays during seasonal anoxia[J]. *Aquatic microbial ecology*, 2006, 44(3): 279–290.

- [45] WU R S S, WO K T, CHIU J M Y. Effects of hypoxia on growth of the diatom *Skeletonema costatum*[J]. Journal of experimental marine biology and ecology, 2012, 420: 65–68.
- [46] 殷建平, 王友绍, 徐继荣, 等. 海洋碳循环研究进展[J]. 生态学报, 2006(2): 566–575.
- [47] 陈炜, 梁明明, 白永安, 等. 小球藻不同生长时期总脂含量和脂肪酸组成的变化[J]. 水产科学, 2013, 32(9): 545–548.
- [48] 刘永定, 常锋毅, 潘晓洁, 等. 淡水生态系统稳态转换理论及其指导意义[C]//中国海洋湖沼学会藻类学分会. 中国海洋湖沼学会藻类学分会第七届会员大会暨第十四次学术讨论会论文摘要集. 呼和浩特: 中国海洋湖沼学会藻类学分会, 2007: 34.
- [49] RHEE G Y. Effects of N:P atomic ratios and nitrate limitation on algal growth, cell composition, and nitrate uptake[J]. Limnology and oceanography, 1978, 23(1): 10–25.
- [50] 蒲新明, 吴玉霖. 浮游植物的营养限制研究进展[J]. 海洋科学, 2000, 24(2): 27–30.
- [51] LANGER G, OETJEN K, BRENNEIS T. Coccolithophores do not increase particulate carbon production under nutrient limitation: a case study using *Emiliania huxleyi* (PML B92/11) [J]. Journal of experimental marine biology and ecology, 2013, 443: 155–161.
- [52] PERRIN L, PROBERT I, LANGER G, et al. Growth of the coccolithophore *Emiliania huxleyi* in light-and nutrient-limited batch reactors: relevance for the BIOSOPE deep ecological niche of coccolithophores[J]. Biogeosciences, 2016, 13(21): 5983–6001.
- [53] 李铁, 胡立阁, 史致丽. 营养盐对中肋骨条藻和新月菱形藻生长及氮磷组成的影响[J]. 海洋与湖沼, 2000(1): 46–52.
- [54] DUCKLOW H W, STEINBERG D K, BUESSELER K O. Upper ocean carbon export and the biological pump [J]. Oceanography, 2001, 14(4): 50–58.

责任编辑: 周建军

(上接第 34 页)

- transport and morphological responses of a silty coast to a cold front event in the southwest Bohai Bay of China[J]. Estuarine, coastal and shelf science, 2022, 278: 108106.
- [18] 罗克志, 陶建峰. 岸线变化下渤海湾水沙通量变化研究[C]//第二十届中国海洋(岸)工程学术讨论会论文集: 下. 南京: 河海大学出版社, 2022: 181–188.
- [19] 匡翠萍, 戚健文, 蒋茗韬, 等. 泥沙输运与海床演变对曹妃甸港口工程的响应特征[J]. 同济大学学报(自然科学版), 2014, 42(12): 1840–1845.
- [20] 宋竑霖, 匡翠萍, 梁慧迪, 等. 港口工程建设对渤海湾西南岸水沙动力环境的影响[J]. 同济大学学报(自然科学版), 2017, 45(4): 511–518.

责任编辑: 周建军