

# 天津近岸浮游植物群落对海洋酸化和硝酸盐加富的响应

蔡 婷<sup>1</sup>, 冯媛媛<sup>1,2</sup>, 席茂年<sup>1</sup>, 李敬鸿<sup>1</sup>, 王建才<sup>1</sup>, 郭 佳<sup>1</sup>

(1. 天津科技大学, 天津 300457; 2. 上海交通大学, 上海 200030)

**摘要:** 为了评估海洋酸化和富营养化耦合作用对近海浮游生态环境的影响, 本研究以天津市近岸海域浮游植物群落的生物地球化学指标为研究对象, 分别采用一次性及连续培养的方式模拟自然水华及稳态条件, 探究其对二氧化碳( $\text{CO}_2$ )和硝酸盐浓度变化及二者耦合作用的响应。实验条件设置如下: 1)对照: 二氧化碳分压  $p(\text{CO}_2)$  40.53 Pa、无硝酸盐添加; 2)酸化:  $p(\text{CO}_2)$  101.3 Pa、无硝酸盐添加; 3)加 N:  $p(\text{CO}_2)$  40.53 Pa、添加硝酸盐  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 4)酸化加 N:  $p(\text{CO}_2)$  101.3 Pa、添加硝酸盐  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。实验结果表明, 硝酸盐加富比酸化更加显著地促进浮游植物群落总叶绿素( $\text{Chl } a$ )生物量及颗粒有机碳(POC)和颗粒有机氮(PON)积累, 酸化和加 N 使浮游植物群落粒径大小升高。连续培养实验表明, 酸化和 N 加富对  $\text{Chl } a$ 、生物硅(BSi)、PON 浓度、PON 与颗粒有机磷(POP)比值(N/P)、POC 与 BSi 比值(C/BSi)及沉降速率有协同交互作用, 对 POP 和 POC 浓度及 POC 与 PON 比值(C/N)有拮抗性交互作用。在一次性培养后, 酸化显著降低了浮游植物群落的沉降速率; 而在连续培养后, 酸化和 N 加富使浮游植物群落沉降速率显著升高。这些结果表明酸化和 N 加富对与近岸浮游植物相关的生物地球化学循环及在不同生长阶段的种群碳沉降存在不同的潜在影响及交互效应。

**关键词:** 海洋酸化; 富营养化; 硝酸盐; 近岸浮游植物群落; 生物地球化学

**中图分类号:** P375    **文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-3096(2022)09-0085-13

**DOI:** 10.11759/hykw20200820002

自工业革命以来, 由于化石燃料燃烧产生  $\text{CO}_2$  排放量的增加, 导致大气中  $\text{CO}_2$  分压 [ $p(\text{CO}_2)$ ] 显著上升, 进而影响了海水碳酸盐体系, 使海水 pH 下降, 总溶解无机碳(DIC)和  $\text{HCO}_3^-$  浓度升高而  $\text{CO}_3^{2-}$  浓度降低, 这种现象被称为海洋酸化<sup>[1]</sup>。迄今表层海水平均 pH 已下降了 0.1<sup>[2]</sup>, 据政府间气候变化委员会报告预测, 如排放速度保持不变, 到 2100 年表层海水平均 pH 将再降低 0.3~0.4<sup>[3-4]</sup>。海洋酸化改变了海水的化学环境, 并对海洋生物、海洋生态系统及相关元素的生物地球化学循环产生深远影响。研究表明海洋酸化可影响海洋浮游植物的生长<sup>[5-6]</sup>并改变浮游植物种群组成<sup>[7]</sup>。一方面, 对缺乏有效碳浓缩机制的浮游植物物种,  $\text{CO}_2$  浓度升高可促进其光合固碳作用<sup>[8]</sup>。另一方面, 一些浮游植物的生物矿化作用(如颗粒藻的钙化作用)可随着海水酸化带来的  $\text{CO}_3^{2-}$  浓度及 pH 降低而受到削弱<sup>[9-11]</sup>。对在近岸海洋环境中占优势的硅藻而言, 尽管其细胞普遍具有较高效的碳浓缩机制, 但  $\text{CO}_2$  浓度升高可以降低硅藻细胞中生物硅的含量<sup>[12]</sup>, 且不同粒径大小<sup>[13]</sup>、羽纹纲与中心纲硅藻物种<sup>[11]</sup>对  $\text{CO}_2$  浓度变化的响应有明显的种间差异, 因此, 海水

环境中碳酸盐化学的改变也将导致硅藻种群结构改变<sup>[14]</sup>, 而浮游植物种群结构的改变<sup>[7]</sup>也将影响相关元素的生物地球化学循环。

此外, 随着经济加速发展, 受工业废水和城市污水的排放等影响, 我国近岸海域的富营养化问题逐渐加剧, 是近岸赤潮频发的物质基础<sup>[15]</sup>。一些海域的营养盐组成也发生了较大改变, 自 20 世纪 80 年代以来我国近海海水中总溶解无机氮浓度持续上升, 而磷酸盐浓度变化不大, 导致海水中氮磷比(N/P)显著升高<sup>[16]</sup>。氮磷等营养盐加富会提高浮游植物叶绿素含量和初级生产力<sup>[17-18]</sup>, 促进浮游植物生长、繁殖并形成水华, 进而使群落演替加速, 改变浮游植物群落结构<sup>[19-20]</sup>。研究表明, 在营养盐丰富的水体, 繁殖速率高的硅藻易成为优势种; 当营养盐缺乏或被

收稿日期: 2020-08-20; 修回日期: 2020-11-13

基金项目: 天津市教委科研项目(2017KJ014)

[Foundation: Tianjin Municipal Education Commission Research Project, No. 2017KJ014]

作者简介: 蔡婷(1996—), 甘肃秦安人, 主要从事海洋浮游植物生理生态研究, 电话: 16600301243, E-mail: 1683057255@qq.com; 冯媛媛(1980—), 通信作者, 副教授, 博士, 从事浮游植物生理生态学及生物地球化学研究, E-mail: yuanyuan.feng@sjtu.edu.cn; yyfengcocco@126.com

硅藻水华消耗至较低水平时, 对营养盐利用能力强的甲藻、鞭毛藻等则易为优势种<sup>[21-22]</sup>。水体中 N/P 也对浮游植物群落演替过程具有重要的调控作用: 例如, 在一定范围内, N/P 降低有利于甲藻占优势<sup>[23]</sup>, 而高 N/P 条件下硅藻对氮的同化速度加快<sup>[24]</sup>, 更易成为优势种<sup>[23-25]</sup>, 且硅藻粒级结构也会发生演替, 并导致浮游植物群落的生物多样性降低<sup>[26]</sup>。

在变化的近岸海洋环境中, 富营养化和酸化通常会共同作用于海洋浮游植物。有研究表明氮限制和 CO<sub>2</sub> 浓度变化可对浮游植物的生理过程产生交互效应<sup>[27]</sup>。但针对中国近岸浮游植物自然群落对酸化和富营养化耦合作用的相关研究却鲜有报道。本研究分别采用一次性培养方式<sup>[28-30]</sup>来模拟短期酸化和营养盐输入引起的藻华现象, 及连续培养方式<sup>[31]</sup>模拟在更长时间尺度上(20 d 左右)相对稳态条件下酸化和 N 加富的单一效应及耦合作用对天津市近岸自然浮游植物群落的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设计

实验所用自然浮游植物群落于 2018 年 4 月采集于天津市滨海旅游区附近海域(39.103°N, 117.841°E), 采样时水文条件为: 盐度 34, 温度 14 °C。全海水通过 200 μm 筛绢过滤后带回实验室用于培养实验。模拟培养实验条件设置如下(一次性培养及连续培养各 3 个平行样, 共计 24 个 4 L 聚碳酸酯培养瓶): 1) 对照: 无硝酸盐添加,  $p(\text{CO}_2)$  40.53 Pa; 2) 酸化: 无硝酸盐添加、 $p(\text{CO}_2)$  101.3 Pa; 3) 加 N: 添加硝酸盐 50 μmol·L<sup>-1</sup>、 $p(\text{CO}_2)$  40.53 Pa; 4) 酸化加 N: 添加硝酸盐 50 μmol·L<sup>-1</sup>、 $p(\text{CO}_2)$  101.3 Pa。

在阳光不受遮挡的室外放置 2 个培养槽, 采用一

层中型密度网进行遮盖, 培养光照条件为 50% 自然光强, 培养温度为(14±0.2) °C, 采用连接有冷暖水机(HC-1000BH, 海利, 中国)的水浴进行控制<sup>[32]</sup>。对其中一组(12 瓶)进行为期 9 d 的一次性培养, 培养期间不再补充营养盐。另设置 12 个经过不同处理的培养瓶用于连续培养实验, 瓶盖设置培养液连续流入口, 另在瓶颈处设有流出口, 以塑料连接管与流出液接收瓶相连, 以保证培养体系体积恒定。培养基采用蠕动泵(TB100N, 申辰, 中国)以稀释速率 0.3 d<sup>-1</sup><sup>[33]</sup>连续泵入培养瓶中。培养至第 4 d 打开蠕动泵, 开始连续培养实验, 培养期间每天定时晃动培养瓶 5~7 次, 使得藻液分布均匀。两种培养方式间隔 1 d 取样测定 pH 和叶绿素 a (Chl a)。最终采样参数均为 pH、总碱度、Chl a 和颗粒有机磷(POP)、颗粒有机碳(POC)、颗粒有机氮(PON)、生物硅(BSi)及沉降速率。

海水培养液的碳酸盐体系采用曝气法调节<sup>[34]</sup>。其中向  $p(\text{CO}_2)$  40.53 Pa 实验组的培养瓶中连续通入空气,  $p(\text{CO}_2)$  101.3 Pa 实验组的培养液中通入采用二氧化碳加富器(CE-100, 武汉瑞华)调节  $p(\text{CO}_2)$  的空气-二氧化碳混合气。所有气体在通入水体之前经 0.2 μm 滤膜过滤。培养开始前, 将海水培养基在相应的 CO<sub>2</sub> 浓度下进行曝气至少 24 h, 培养过程中持续曝气至实验结束。同时, 连续培养实验中所用海水培养基也采用相应 CO<sub>2</sub> 浓度气体进行预先曝气。

### 1.2 样品采集与分析

在实验过程中, 每日对各培养瓶中海水 pH 采用台式 pH 计(SevenCompactTM S210K, Mettler Toledo, 瑞士)测定<sup>[34]</sup>; 海水总碱度(TA)采用总碱度自动滴定仪测定(G20S, Mettler Toledo, 瑞士)<sup>[35]</sup>。连续培养实验中各培养瓶中在细胞生长达到稳态后的碳酸盐体系各参数(表 1)采用 CO2SYS 软件由 pH 和 TA 值计算而来<sup>[36]</sup>。

表 1 采样时培养瓶中碳酸盐化学体系参数

Tab. 1 Carbonate chemical system parameters in the culture flask at the time of sampling

处理组	pH	质量摩尔浓度/(μmol·kg <sup>-1</sup> )				$p(\text{CO}_2)/\text{Pa}$	
		总碱度	总溶解无机碳	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>		
对照	8.20	2 450.0	2 172.2	1 982.5	175.4	14.3	38.71
酸化	7.85	2 676.0	2 546.4	2 412.1	95.3	39.1	105.5
加 N	8.14	2 182.2	1 951.2	1 797.8	138.5	14.9	40.33
酸化加 N	7.89	2 370.8	2 226.1	2 101.1	95.3	26.9	80.05

用隔膜真空泵将样品在较低压强下(<0.4 MPa)过滤至 GF/F 膜上(Whatman, 美国)用于测定总 Chl a

含量。分级 Chl a 则依次通过 20 μm、2 μm 聚碳酸酯滤膜和 GF/F 膜进行取样, 保存于-20 °C。叶绿素 a

样品浸泡于 90%丙酮, 在-20 °C及暗处萃取 24 h, 使用紫外分光光度计(UV-2550, 日本岛津)按照三色法测量和计算叶绿素 *a* 浓度<sup>[37]</sup>。

将样品过滤到经马弗炉灼烧(450 °C, 4 h)后的 GF/F 膜(Whatman, 美国)上用于测定 POP 含量, 用 2 mL 0.17 mol/L Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液淋洗抽滤。将滤膜转移至含 2 mL 0.017 mol/L MgSO<sub>4</sub> 溶液的样品瓶(已灼烧)中, 盖上铝箔纸, 置于 60 °C烘箱中烘干后用紫外可见分光光度计(UV-2550, 岛津, 日本)按钼酸盐测定法<sup>[38]</sup>测定其 POP 含量。

BSi 样品过滤至 0.6 μm 聚碳酸酯滤膜(Millipore, 美国), 置于 60 °C烘箱中烘干后用显色法分析<sup>[39]</sup>。POC 和 PON 样品过滤至经马弗炉灼烧过的 GF/F 膜上, 烘干后采用元素分析仪(ECS4010, Costech, 意大利)测定<sup>[27]</sup>。

浮游植物群落沉降速率采用沉降柱沉降法(SETCOL)通过对沉降前后沉降柱底部的叶绿素生物采样测定的方法进行计算<sup>[40]</sup>。

### 1.3 数据处理

环境因子的交互效应依据 Flot 等<sup>[41]</sup>方法计算, 单一环境因子[酸化(A)或加氮(N)]或者两个环境因子共同变化(A+N)下对某生理生化参数的观测影响(observed effect, OE)依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)根据公式<sup>[41-42]</sup>:  $ME(A+N) = [1 + OE(A)] \times [1 + OE(N)] - 1$  计算。当 OE(A)和 OE(N)均为正或均为负时, 在  $|OE(A+N)| > |ME(A+N)|$  条件下, 两种环境因子为协同性交互效应, 在  $|OE(A+N)| < |ME(A+N)|$  条件下, 两种环境因子为对抗性交互效应; 当 OE(A)和 OE(N)为一正一负时, 两种环境因子为对抗性交互效应。本文绘图采用 Origin 8.5 和 Graphpad prism 8 软件。双因素方差分析(Two-way ANOVA)采用 SPSS 19.0 软件( $P < 0.05$  时为显著性差异)。

## 2 结果

### 2.1 海水碳酸盐体系

在培养期间, 培养体系中 pH 在两种  $p(\text{CO}_2)$  处理组别存在明显差异。在培养实验的前期( $t_1 \sim t_4$ ), 由于原位海水中的 pH 较低(~8.01), 在对照和加 N 组中其 pH 处于升高趋势, 但从  $t_5$  至最终采样期间 pH 在这两个实验组别达到相对稳定, 各组别的平均值变化

范围为 8.10~8.20。酸化组在  $t_1 \sim t_6$  期间, pH 平均值在 7.9 附近波动, 到了培养末期( $t_8 \sim t_{12}$ )在 7.80 附近波动; 而在酸化加 N 组中, 在整个实验培养期间 pH 平均值一直在 7.80~7.95 间波动。在最终采样时( $t_{12}$ )通过 pH 和 TA 测定计算所得海水碳酸盐体系(表 1)显示, 在对照和加 N 组中, 培养体系中  $p(\text{CO}_2)$  分别为 38.71 Pa 和 40.33 Pa; 在酸化和酸化加 N 组中  $p(\text{CO}_2)$  分别为 105.5 Pa 和 80.05 Pa。

### 2.2 浮游植物生物量

#### 2.2.1 总叶绿素浓度

一次性培养(图 1a)中, 各处理组的叶绿素浓度在培养前 7 d 快速升高。添加硝酸盐浓度叶绿素含量明显增高, 但在相同硝酸盐浓度下 CO<sub>2</sub> 浓度变化影响并不显著, 其最高值出现在酸化加 N 组( $t_7$ , 75.99 μg·L<sup>-1</sup>)。在连续培养实验(图 1b)中, 叶绿素含量先呈增长趋势, 直到蠕动泵开启进行稀释之后至第 6~8 d 达到稳定。同样的, 在  $t_6$  之后, 总叶绿素浓度在加 N 组(129.9 μg·L<sup>-1</sup>)和酸化加 N 组( $t_{10}$  达到最高, 311.05 μg·L<sup>-1</sup>)显著高于对照( $t_{10}$ , 26.62 μg·L<sup>-1</sup>)及酸化组( $t_{10}$ , 27.50 μg·L<sup>-1</sup>), 而 CO<sub>2</sub> 浓度变化对其影响不显著。

#### 2.2.2 分级叶绿素浓度

初始( $t_0$ )海水样品中, 小型浮游植物(20~200 μm)、微型浮游植物(2~20 μm)和超微型浮游植物(0.2~2 μm)的叶绿素浓度占比分别为 34.50%、48.85% 和 16.59%。在培养中, 小型及微型浮游植物叶绿素浓度受硝酸盐添加的影响大于酸化的影响。一次性培养(图 2)中, 自  $t_5$  开始, 小型浮游植物叶绿素浓度在加 N 组和酸化加 N 组显著高于其他两个无 N 添加组, 在  $t_7$  达到峰值, 且酸化加 N 组叶绿素浓度为 49.31 μg·L<sup>-1</sup>; 微型浮游植物叶绿素浓度在对照组于  $t_5$  达到最高值(12.93 μg·L<sup>-1</sup>)后略有降低, 在酸化组于  $t_7$  达到最高值(18.72 μg·L<sup>-1</sup>)且高于对照组, 而在加 N 及酸化加 N 处理组, 其浓度持续升高直至最终采样日( $t_9$ ), 且加 N 组(56.91 μg·L<sup>-1</sup>)略高于酸化加 N 组(54.86 μg·L<sup>-1</sup>), 其平均值较对照组分别高 76.77% 和 67.11%; 而在培养期间超微型浮游植物叶绿素浓度在各处理组均较低, 最高值出现在对照( $t_5$ , 3.16 μg·L<sup>-1</sup>)及加 N 组( $t_5$ , 2.53 μg·L<sup>-1</sup>), 到培养末期各处理组间无显著差异(0.50~1.75 μg·L<sup>-1</sup>)。连续培养(图 3)中, 自  $t_6$  开始, 小型、微型浮游植物叶绿素浓度在加 N 组和酸化加 N 组显著高于其他两个无 N 添加组。小型浮游植物叶绿素浓度在加 N 组于  $t_{11}$  达到最高值

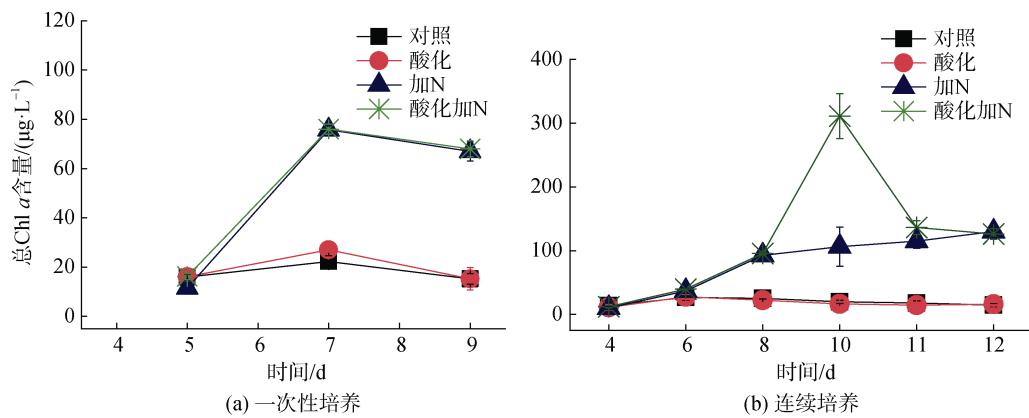


图 1 一次性培养和连续培养中各实验组的总叶绿素浓度随时间变化情况

Fig. 1 Total chlorophyll concentrations in batch and continuous cultures in the four experimental conditions during incubation  
注: 误差棒代表平行样间标准偏差

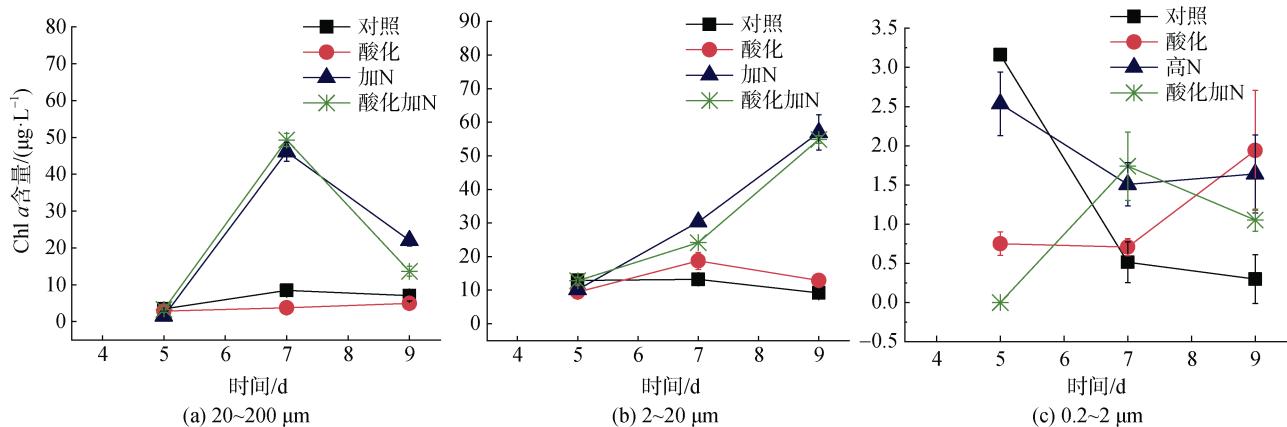


图 2 一次性培养中各实验组的分级叶绿素浓度随时间变化情况

Fig. 2 Size-fractionated chlorophyll concentrations in the four experimental conditions during the batch culture  
注: 误差棒代表平行样间标准偏差

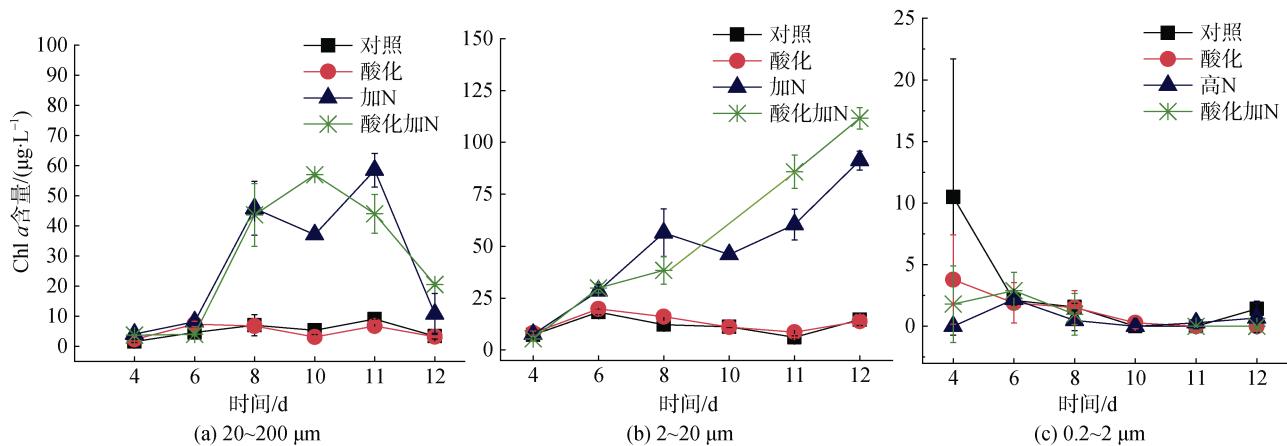


图 3 培养期间连续培养下的分级叶绿素浓度随时间变化情况

Fig. 3 Size-fractionated chlorophyll concentrations in the four experimental conditions during continuous incubation  
注: 误差棒代表平行样间标准偏差

( $58.46 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )且略高于酸化加 N 组( $t_{10}$ ,  $56.95 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ); 微型浮游植物叶绿素浓度在对照组和酸化组于  $t_6$  达到最高值( $18.18 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $19.76 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )后略有降低, 而在加 N 及酸化加 N 处理组, 其浓度持续升高直至最终采样日( $t_{12}$ ), 且酸化加 N 组( $111.6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )略高于加 N 组( $91.24 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ); 在培养期间超微型浮游植物叶绿素浓度在各处理组均较低, 最高值出现在对照( $t_4$ ,  $10.50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 到培养末期各处理组间无显著差异( $0.50\sim2.90 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )。

微型浮游植物在各处理组中均占主要比例, 在一次性培养中, 与对照组相比, 小型浮游植物占比在酸化组中增加, 其他各处理组中均有所降低。连续

培养中酸化和加 N 处理均使微型浮游植物较对照组生物量增高, 而小型、超微型浮游植物生物量则相对减少。微型浮游植物占比在一次性培养的加 N、酸化加 N 组中较对照组各增加了 15.72%、31.74%, 而在酸化组中较对照降低了 13.64%; 在连续培养中则比对照组各增加了 14.03%、18.54%、20.19%。而小型浮游植物占比在一次性培养的酸化组较对照组增加了 8.55%, 加 N、酸化加 N 组中则各降低了 26.87%、51.69%。在连续培养的酸化、加 N、酸化加 N 组较对照各降低了 8.53%、25.54%、28.60%。超微型浮游植物在一次性培养的酸化组(9.79%)和连续培养的对照组(8.30%)中占比相对最高(图 4a, b)。

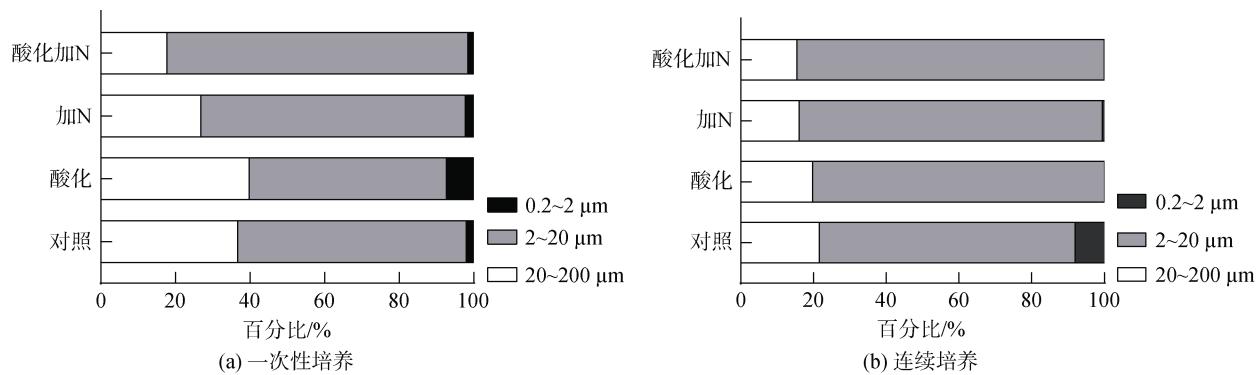


图 4 一次性培养和连续培养收样时分级叶绿素百分含量的占比图

Fig. 4 Percentage of size-fractionated chlorophyll concentration during the final sampling of batch and continuous cultures

### 2.3 元素组成变化

培养后各处理组的浮游植物 POP 和 BSi 浓度均显著增加。在一次性培养中, 相比于对照组, 浮游植物 POP 浓度在酸化组、加 N 组及酸化加 N 组各增高了 4.64%、8.67%、13.88%(图 5a), 而浮游植物 BSi 浓度各降低了

24.31%、7.52%、11.78%(图 6a); 连续培养中, 各处理中浮游植物 POP 浓度没有显著差异, 酸化组、加 N 组及酸化加 N 组的 POP 浓度各增高了 3.11%、5.62%、7.48%(图 5b), 而酸化加 N 组的 BSi 浓度( $13.18 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )显著高于酸化组( $7.74 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )和加 N 组( $8.43 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )(图 6b)。

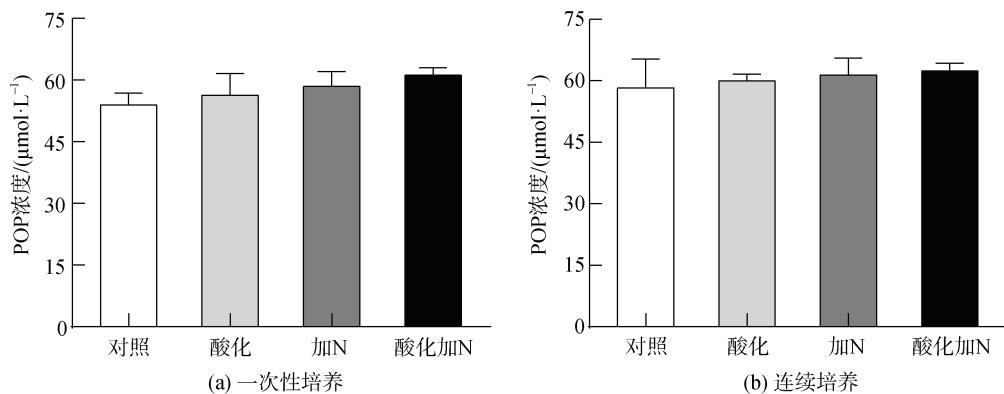


图 5 一次性培养和连续培养后的颗粒有机磷(POP)浓度

Fig. 5 POP concentrations in batch and continuous cultures

注: 错误棒代表平行样间标准偏差

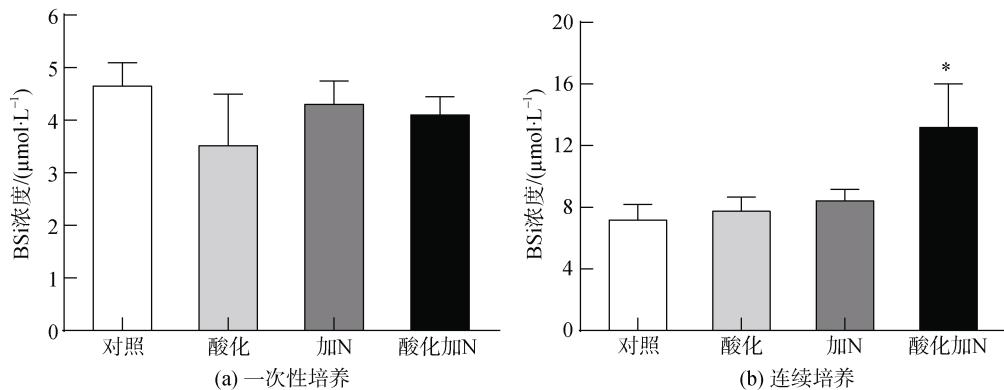


图 6 一次性培养和连续培养后收样时各处理组生物硅(BSi)浓度

Fig. 6 BSi concentrations in batch and continuous cultures

注: 误差棒代表平行样间标准偏差, \*代表与对照组有显著差异,  $P < 0.05$ 

连续培养实验中, 浮游植物 POC 与 BSi 比值 C/BSi 在酸化加 N 组中降低程度(38.73%)显著高于酸化组(11.11%)和加 N 组(19.10%)(图 7)。浮游植物 PON 含量受硝酸盐添加的影响大于受酸化的影响。酸化组中浮游植物的 POC 含量、PON 含量以及 PON 与 POP 比值(N/P)各降低了 4.78%、11.84%、14.68%, 而 POC 与 PON 比值(C/N)增加了 8.01%。加 N 处理组中 PON 含量和 N/P 各增加 26.50%、19.51%, 而 C/N 显著降低了 22.12%(图 7, 表 2)。

## 2.4 沉降速率

浮游植物群落沉降速率也显著受到了酸化和硝酸盐浓度变化的影响, 但在一次性培养和连续培养末期呈现了不同的趋势。在一次性培养收样时, 统计结果表明沉降速率显著受到了酸化和硝酸盐浓度变化的影响, 具体表现在无硝酸盐加富, 酸化组沉降速率显著低于对照组(图 8a,  $P < 0.05$ ), 在硝酸盐加富条件下, 沉降速率也在酸化加 N 组低于加 N 组(图 8a,  $P = 0.053$ )。在相同二氧化碳分压下, N 加富升高了

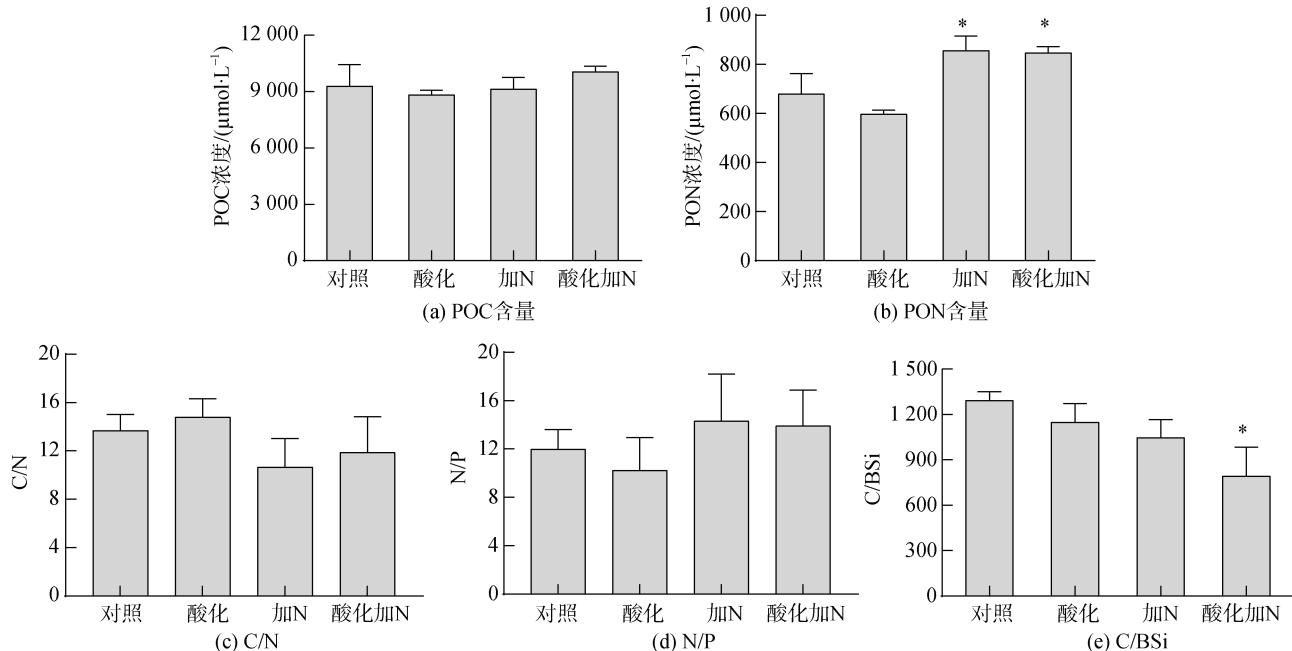


图 7 连续培养收样时各处理组中的颗粒有机碳(POC)和颗粒有机氮(PON)浓度、碳/氮(C/N)、氮/磷(N/P)和碳/生物硅(C/BSi)比值

Fig. 7 POC concentrations, PON concentrations, C/N, N/P, and C/BSi ratios in the four experimental treatments on the final sampling day of the continuous culture

注: 误差棒代表平行样间标准偏差, \* 代表与对照组有显著差异,  $P < 0.05$

表 2 连续培养后酸化和硝酸盐加富对浮游植物群落生物量及元素计量学指标的交互作用

Tab. 2 Interactive effects of ocean acidification and nitrogen enrichment on the Chl *a* biomass and elemental stoichiometry of the phytoplankton sampled from the continuous culture

指标	OE(A)/%	OE(N)/%	OE(A+N)/%	ME(A+N)/%	交互作用
Chl <i>a</i>	7.56	86.89	86.47	72.76	+
POP	3.12	5.62	7.48	8.91	-
BSi	7.79	13.37	83.60	26.52	+
POC	-4.78	-1.48	8.53	-6.19	-
PON	-11.84	26.50	25.1	11.53	+
C/N	8.01	-22.12	-13.24	-15.88	-
N/P	-14.68	19.51	16.14	1.97	+
C/BSi	-11.11	-19.10	-38.73	-28.10	+
沉降速率	-6.11	4.26	24.26	-2.11	+

注: + 表示协同性交互效应; - 表示拮抗性交互效应

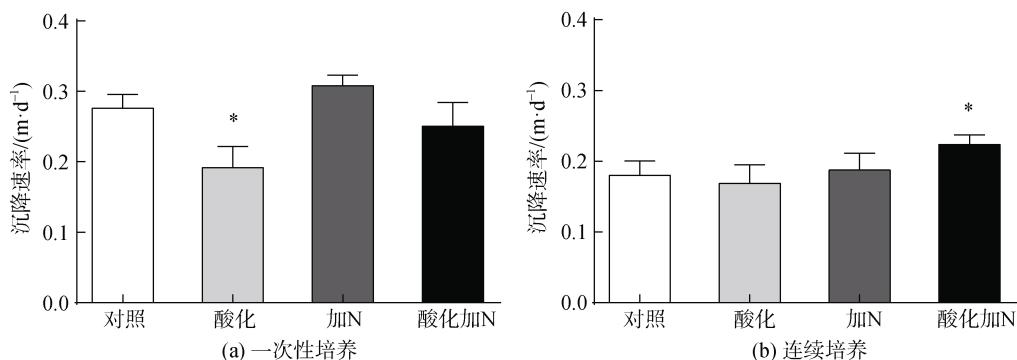


图 8 一次性培养和连续培养后的沉降速率

Fig. 8 Sinking rates in batch and continuous cultures

注: 误差棒代表平行样间标准偏差, \* 代表与对照组有显著差异,  $P < 0.05$

沉降速率。在连续培养收样时, 沉降速率主要受到了 N 加富的显著影响, 酸化加 N 组沉降速率显著高于对照组及酸化组(图 8b)。

## 2.5 酸化和硝酸盐浓度的交互作用

酸化和硝酸盐加富对连续培养后浮游植物群落生物量及元素计量学指标的交互作用见表 2。通过对连续培养后各参数进行分析, 发现酸化和硝酸盐加富对浮游植物的 Chl *a* 含量、BSi、PON 浓度、N/P、C/BSi 及沉降速率产生协同性交互效应, 而对 POP 浓度、POC 和 C/N 产生拮抗性交互效应。

## 3 讨论

本研究采用一次性和连续培养的方式, 研究海洋酸化和 N 加富及其耦合作用对天津近岸浮游植物生理指标的影响。结果表明, 硝酸盐加富比酸化更显著地促进了小型和微型浮游植物的叶绿素生物量及种群 POC、PON 积累。同时连续培养实验表明, 酸

化和 N 加富对叶绿素、BSi、PON 浓度、N/P、C/BSi 及沉降速率有协同交互作用, 对 POP 和 POC 浓度及 C/N 有拮抗性交互作用, 潜在表明酸化和 N 加富的耦合作用与酸化和 N 加富的单一效应存在较大差异。在一次性培养后, 酸化显著降低了浮游植物群落的沉降速率; 而在连续培养后, 酸化和 N 加富使浮游植物群落沉降速率显著升高。由于一次性培养实验是对自然环境中水华的发生至消退过程的模拟, 而连续培养实验则是对相对稳定的海洋环境的模拟, 该结果表明在群落不同生长阶段酸化和 N 加富对碳沉降存在不同潜在影响。总之, 本研究结果将为我们进一步分析和预测在日益复杂的全球变化多重环境压力下<sup>[43]</sup>, 不同生长阶段(水华末期和稳态条件)的浮游植物群落相关的海洋生物地球化学变化提供理论依据。

海水中的营养盐为浮游植物的生长和代谢提供了物质基础, 在很多海域中营养盐浓度是限制浮游

植物生产力的主要环境因子<sup>[44]</sup>。天津近岸水域无机氮浓度通常较高, 范围为 8~60  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[45]</sup>。在春季海水表层温度和光照强度适宜, 藻类等浮游生物生物量增加并快速吸收利用营养盐, 导致海水中硝酸盐含量降低甚至消耗殆尽, 导致水华的消亡<sup>[46]</sup>。在本实验中, 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的硝酸盐加富显著增加了天津近岸浮游植物群落的叶绿素生物量及 POC、PON 浓度。 $\text{Chl } \alpha$  是一种色素-蛋白质复合体, 其合成往往受到氮浓度的影响, 而营养盐加富通常使藻体更易利用 N、P 元素进行核酸和蛋白质等生理合成过程<sup>[47]</sup>, 进而促进浮游植物生长, 并促进种群的 POC 和 PON 的积累。而与 N 加富相比, 酸化对浮游植物的  $\text{Chl } \alpha$  浓度变化影响并不显著。这与 Tortell 等<sup>[48-49]</sup>和 Raven 等<sup>[50]</sup>的研究结果相似。由于近岸海水受到了河流输入和废水排放的影响, 其 pH 日波动及季节波动范围较大<sup>[51]</sup>, 在某些近岸海域  $\text{CO}_2$  浓度通常高于开阔大洋, 因此近岸浮游植物可能已经适应了较高的  $\text{CO}_2$  浓度及其波动变化。此外, 近岸海域中浮游植物的优势种多为硅藻, 有研究表明<sup>[52]</sup>硅藻的光合作用在当今  $\text{CO}_2$  浓度下可能已达到饱和, 因此  $\text{CO}_2$  浓度升高对其生理指标影响并不显著。

二氧化碳分压升高或硝酸盐加富均显著促进了浮游植物群落小型和微型浮游植物的占比, 这在一次性培养第 5~7 d 和连续培养第 8~11 d 期间尤为明显。与本实验结果相似, Burkhardt 等<sup>[53]</sup>研究表明  $\text{CO}_2$  浓度升高会影响细胞大小, 从而使浮游植物群落组成发生变化。高二氧化碳分压条件下通常更有利硅藻种群中细胞较大的中心纲硅藻在群落中占优<sup>[54-55]</sup>, 且不同  $\text{CO}_2$  浓度条件下, 改变氮磷比使优势种变化更显著<sup>[56]</sup>。实验模型<sup>[57]</sup>也表明大气  $\text{CO}_2$  浓度加倍将导致具有较低无机碳亲和力的浮游植物种类生物量增加。但在挪威水域中浮游植物群落没有受到  $\text{CO}_2$  浓度变化的显著影响<sup>[58]</sup>。这表明大气  $\text{CO}_2$  浓度变化能潜在影响浮游植物不同种类之间的竞争和种群演替, 并影响种群的粒径大小。在未来气候变化引起海水酸化和近岸营养盐浓度增加下, 浮游植物群落可能会向着更大粒径的群体演变。

在本研究中, 酸化和 N 加富对浮游植物群落化学计量学参数也产生了显著影响。有研究表明, 高二氧化碳分压不仅增加了浮游植物的 C/N, 糖类、脂肪酸和蛋白质的结构和含量也发生了变化<sup>[59]</sup>。另外, 水体营养水平如氮、磷的限制, 也会影响浮游植物化学元素比值, 且不同浮游植物还表现出明显的种间差异<sup>[60]</sup>。

本研究经连续培养后, 酸化处理使浮游植物 C/N 升高, 这与一些前期研究结果一致, 多种浮游植物种群的 C/N 和 C/P 会随  $\text{CO}_2$  浓度的升高而升高<sup>[61-62]</sup>, 进而影响元素生物地球化学循环。硝酸盐加富也显著升高了浮游植物 POP、BSi、PON 含量及 N/P。有研究结果显示, 氮限制条件下, 颗石藻 *Emiliania huxleyi* 藻胞内氮含量略有降低<sup>[63]</sup>; 对中肋骨条藻和新月菱形藻的营养盐限制研究中, 也得出相似的结论<sup>[64]</sup>。 $\text{CO}_2$  浓度的变化也会引起浮游植物对营养盐需求水平的变化<sup>[56]</sup>, 并对浮游植物化学元素比值产生交互作用。

浮游植物的沉降速率与浮游植物的碳输出与碳沉降有潜在的相关性。本研究结果表明浮游植物的沉降速率在一次性培养和连续培养中对酸化和 N 加富的响应有不同的趋势, 这可能与培养介质中的营养盐水平有关。在一次性培养的末期, 营养盐被消耗殆尽, 并引起浮游植物如硅藻细胞中生化参数的改变, 如单位藻细胞内生物硅的积累<sup>[65]</sup>, 进而升高其相对密度, 导致沉降速率升高。此外, 快速的向下沉降可增加个体较大的硅藻细胞表面的营养盐通量, 可将低营养盐的条件下硅藻沉降速率的升高视为在硅藻细胞应对营养盐限制的一种生理学适应和代谢控制策略<sup>[66]</sup>。因此, 在本实验中浮游植物沉降速率在营养盐水平相对稳定的连续培养实验中显著低于一次性培养实验中各处理组水平。Steele 和 Yentsch 的研究<sup>[67]</sup>也表明, 活跃分裂藻细胞的沉降速率比衰老细胞的沉降速率减缓一半。此外, 酸化也会引起硅藻硅质化程度降低<sup>[12]</sup>, 进而降低硅藻的沉降速率, 这在一次性培养实验中尤为明显。但在连续培养实验中, 在营养盐较为充足的条件下, 二氧化碳分压升高和 N 加富均可能促进了种群向更大粒径的硅藻占优方向发展<sup>[48, 68]</sup>, 因此在酸化加 N 组, 群落的 BSi 浓度显著升高, 从而显著增加了浮游植物细胞的密度并引起压重效应, 导致沉降速率增加。因此, 这些不同响应趋势表明在水华发生的不同阶段酸化和 N 加富对浮游植物群落碳沉降的单一及耦合效应也有所不同, 在水华阶段酸化的效应显著, 导致浮游植物群落碳沉降减缓, 而在稳态条件下, 酸化和 N 加富的耦合效应则最为显著, 导致种群碳沉降升高, 从而影响浮游植物相关的碳通量。

## 4 结论及展望

本研究表明 N 加富较酸化更显著促进了浮游植物生物量增殖, 酸化和 N 加富均引起浮游植物种群

向着较大粒径浮游植物更占优的趋势演替，并影响相关的元素比值和沉降速率。酸化和N加富对浮游植物相关的生物地球化学指标也产生了潜在的协同或拮抗的交互作用，而群落不同生长阶段(水华及稳态条件下)的碳沉降对酸化和N加富的响应也有所不同。以上结果有助于我们进一步理解受人类活动影响较大的近岸海域浮游植物对海洋酸化和N加富的耦合作用的响应，并分析预测由此产生的对生物地球化学循环和碳沉降和输出以及对上层食物链的影响。但在本研究中并未对浮游植物的种群组成变化进行细致研究，未来的研究应对近岸海域中优势物种对酸化和营养盐加富的响应进行从单一物种的生理学及分子生物学响应机制的研究、并进一步上升到对近岸浮游植物种群演替和组成的系统性调查，也需要将模拟培养实验结果与对自然种群的长期调查观测结果相结合，以期对海洋环境变化背景下的浮游植物的生理生态学响应及其反馈效应有更深入的理解。

#### 参考文献：

- [1] ZEEBE R E. History of Seawater carbonate chemistry, atmospheric CO<sub>2</sub> and ocean acidification[J]. Annual Review of Earth & Planetary Sciences, 2012, 40(1): 141-165.
- [2] FEELY R A, SABINE C L, LEE K, et al. Impact of anthropogenic CO<sub>2</sub> on the CaCO<sub>3</sub> system in the oceans[J]. Science, 2004, 305(5682): 362-366.
- [3] ORR J C, FABRY V J, AUMONT O, et al. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms[J]. Nature, 2005, 437(7059): 681-686.
- [4] CALDEIRA K, WICKETT M E. Ocean model predictions of chemistry changes from carbon dioxide emissions to the atmosphere and ocean[J]. Journal of Geophysical Research, 2005, 110(C9): C09S04.
- [5] 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.
- [6] HENDRIKS I E, DUARTE C M, ÁLAREZ M. Vulnerability of marine biodiversity to ocean acidification: A meta-analysis[J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2010, 86(2): 157-164.
- [7] ROST B, ZONDERVAN I, WOLF-GLADROW D. Sensitivity of phytoplankton to future changes in ocean carbonate chemistry: Current knowledge, contradictions and research directions[J]. Marine Ecology-progress Series, 2008, 373: 227-237.
- [8] LENNART T B, LUKE C M M, KAI G S, et al. Dissecting the impact of CO<sub>2</sub> and pH on the mechanisms of photosynthesis and calcification in the coccolithophore *Emiliania huxleyi*[J]. New Phytologist, 2013, 199(1): 121-134.
- [9] VAN DE WAAL D, JOHN U, ZIVERI P, et al. Ocean acidification reduces growth and calcification in a marine dinoflagellate[J]. PLoS One, 2013, 8(6): e65987.
- [10] MEYER J, RIEBESELL U. Reviews and syntheses: Responses of coccolithophores to ocean acidification: a meta-analysis[J]. Biogeosciences, 2015, 12(6): 1671-1682.
- [11] FENG Y, HARE C, LEBLANC K, et al. The effects of increased  $p(\text{CO}_2)$  and temperature on the North Atlantic spring bloom: I. The phytoplankton community and biogeochemical response[J]. Steven Wilhelm, 2009, 388(6): 13-25.
- [12] MILLIGAN A, VARELA D, BRZEZINSKI M, et al. Dynamics of silicon metabolism and silicon isotopic discrimination in a marine diatom as a function of  $p(\text{CO}_2)$  [J]. Limnology and Oceanography, 2004, 49(2): 322-329.
- [13] WU Y, CAMPBELL D, IRWIN A, et al. Ocean acidification enhances the growth rate of larger diatoms[J]. Limnology and Oceanography, 2014, 59(3): 1027-1034.
- [14] 高坤山. 海洋酸化的生理生态效应及其与升温、UV辐射和低氧化的关系[J]. 厦门大学学报：自然科学版, 2018, 57(6): 66-76.  
GAO Kunshan. Ecological and physiological effects of ocean acidification and their correlations with warming, UV radiation and deoxygenation[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2018, 57(6): 66-76.
- [15] 孙丕喜, 王宗灵, 战闰, 等. 胶州湾海水中无机氮的分布与富营养化研究[J]. 海洋科学进展, 2005, 23(4): 466-471.  
SUN Pixi, WANG Zongling, ZHAN Run, et al. Study on dissolved inorganic nitrogen distributions and eutrophication in the Jiaozhou Bay[J]. Advances in Marine Science, 2005, 23(4): 466-471.
- [16] 石强, 陈江麟, 李崇德. 渤海无机氮年际变化分析[J]. 海洋通报, 2002, 21(2): 22-29.  
SHI Qiang, CHENG Jianglin, LI Chongde. An analysis of the annual variety of inorganic nitrogen in the Bohai Sea[J]. Marine Science Bulletin, 2002, 21(2): 22-29.
- [17] CAPRIULO G M, SMITH G, TROY R. The planktonic food web structure of a temperate zone estuary, and its alteration due to eutrophication[J]. Hydrobiologia, 2002, 475(1): 263-333.
- [18] 蔡子平, 陈孝麟. 海洋围隔生态系中叶绿素a的变化及其影响因素[J]. 应用海洋学学报, 1991, 10(3): 229-234.

- CAI Ziping, CHEN Xiaolin. Changes in chlorophyll-*a* and its relative factors in marine enclosure ecosystem[J]. Journal of Applied Oceanography, 1991, 10(3): 229-234.
- [19] 林昱, 唐森铭. 海洋围隔生态系中无机氮对浮游植物演替的影响[J]. 生态学报, 1994, 14(3): 323-326.
- LIN Yu, TANG Senming. Effect of inorganic nitrogen on phytoplankton succession in marine mesocosms[J]. Acta Ecologica Sinica, 1994, 14(3): 323-326.
- [20] VAN DER WAL P, VAN BLEIJSWIJK J D L, EGGE J K. Primary productivity and calcification rate in blooms of the coccolithophorid *Emiliania huxleyi* (Lohmann) Hay et Mohler developing in mesocosms[J]. Sarsia, 1994, 79(4): 401-408.
- [21] 陈慈美, 包建军, 吴瑜端. 纳污海域营养物质形态及含量水平与浮游植物增殖竞争关系— I .磷的效应[J]. 海洋环境科学, 1990, 9(1): 6-12.
- CHEN Cimei, BAO Jianjun, WU Yuduan. Competitive relationship between the forms and content levels of nutrients in the polluted sea area and the proliferation of phytoplankton— I . The effect of phosphorus[J]. Marine Environmental Science, 1990, 9(1): 6-12.
- [22] RIEBESELL U. Phytoplankton carbon dynamics during a winter-spring diatom bloom in an enclosed marine ecosystem: primary production, biomass and loss rates[J]. Marine Biology, 1989, 103(1): 131-142.
- [23] 朱旭宇, 黄伟, 曾江宁, 等. 氮磷比对冬季浮游植物群落结构的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2013(2): 293-299.
- ZHU Xuyu, HUANG Wei, ZENG Jiangning, et al. Effects of nitrogen and phosphorus ratios on phytoplankton community structure in winter[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2013(2): 293-299.
- [24] CLOERN J, RICHARD D. Phytoplankton community ecology: principles applied in San Francisco Bay[J]. Marine Ecology Progress Series, 2005, 285: 11-28.
- [25] ESCARAVAGEA V, PRINS T C, SMAAL A C, et al. The response of phytoplankton communities to phosphorus input reduction in mesocosm experiments[J]. Journal of Experimental Marine Biology & Ecology, 1996, 198(1): 55-79.
- [26] CUVIN-ARALAR M L, FOCKEN U, BECKER K, et al. Effects of low nitrogen-phosphorus ratios in the phytoplankton community in Laguna de Bay, a shallow eutrophic lake in the Philippines[J]. Aquatic Ecology, 2004, 38(3): 387-401.
- [27] 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, 2019.
- LIAO Yan. The interactive effects of CO<sub>2</sub> and temperature on the physiology of marine phytoplankton[D].
- Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2019.
- [28] HUTCHINS D, FRANCES D, CLINTON E H. A ship-board natural community continuous culture system for ecologically relevant low-level nutrient enrichment experiments[J]. Limnology & Oceanography Methods, 2013, 1(1): 82-91.
- [29] LANGER G, NEHRKE G, PROBERT I, et al. Strain-specific responses of *Emiliania huxleyi* to changing seawater carbonate chemistry[J]. Biogeosciences, 2009, 6(11): 2637-2646.
- [30] PAASCHE E, BRUBAK S. Enhanced calcification in the coccolithophorid *Emiliania huxleyi* (Haptophyceae) under phosphorus limitation[J]. Phycologia, 1994, 33: 324-330.
- [31] NOVICK A, SZILARD L. Experiments with the chemostat on spontaneous mutations of bacteria[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1950, 36(12): 708-719.
- [32] 冯媛媛, 郭佳, 席茂年. 便携式船载连续培养装置: 201822136998.4[P]. 2018-12-19.
- FENG Yuanyuan, GUO Jia, XI Maonian. Portable ship-board continuous culture device: 201822136998.4[P]. 2018-12-19.
- [33] GAUL W, ANTIA A N, KOEVE W. Microzooplankton grazing and nitrogen supply of phytoplankton growth in the temperate and subtropical northeast Atlantic[J]. Marine Ecology Progress, 1999, 189: 93-104.
- [34] MCGRAW C, CHRISTOPHER E C, MALCOLM R R, et al. An automated pH-controlled culture system for laboratory-based ocean acidification experiments[J]. Limnology and Oceanography Methods, 2010, 8: 686-694.
- [35] DICKSON A, CHRIS S, CHRISTIAN J R. Guide to best practices for ocean CO<sub>2</sub> measurements[J]. North Pacific Marine Science Organization, 2007, 3(8): 191.
- [36] DICKSON A G, MILLERO F J. A comparison of the equilibrium constants for the dissociation of carbonic acid in seawater media[J]. Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers, 1987: 34(10): 1733-1743.
- [37] WELSCHMEYER N A. Fluorometric analysis of chlorophyll a in the presence of chlorophyll b and pheophytins[J]. Limnology and Oceanography, 1994, 39(8): 1985-1992.
- [38] SOLÓRZANO L, SHARP J H. Determination of total dissolved phosphorus and particulate phosphorus in natural waters[J]. Limnology & Oceanography, 1980, 25(4): 754-758.
- [39] BRZEZINSKI M A, NELSON D M. The annual silica cycle in the Sargasso Sea near Bermuda[J]. Deep-Sea Research Part I, 1995, 42(7): 1215-1237.

- [40] 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.
- [41] FLOT 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.
- [42] FENG Y, ROLEDA M Y, ARMSTRONG E, et al. Effects of multiple drivers of ocean global change on the physiology and functional gene expression of the coccolithophore *Emiliania huxleyi*[J]. Global Change Biology, 2020, 26(10): 5630-5645.
- [43] BOYD P W, COLLINS S, DUPONT S, et al. Experimental strategies to assess the biological ramifications of multiple drivers of global ocean change—a review[J]. Global Change Biology, 2018, 24(6): 2239-2261.
- [44] 张春雷. 长江口邻近海域围隔实验中营养盐对浮游植物生长的影响及其动力学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006.
- ZHANG Chunlei. Effects of nutrients on phytoplankton growth and its dynamics study in Mesocosm experiments in Changjiang River estuary and its adjacent area[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2006.
- [45] 王晓宇, 杨红生, 孙金生, 等. 天津近岸海域氮磷营养盐分布及富营养化评价[J]. 海洋科学, 2011, 35(9): 56-61.
- WANG Xiaoyu, YANG Hongsheng, SUN Jinsheng, et al. Distribution of nutrients and eutrophication assessment in Tianjin Coastal Area[J]. Marine Sciences, 2011, 35(9): 56-61.
- [46] 沈国英, 施并章. 海洋生态学[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 1990.
- SHEN Guoying, SHI Bingzhang. Ocean ecology[M]. Xiamen: Xiamen University Press, 1990.
- [47] 刘信安, 湛敏, 马艳娥. 三峡库区流域藻类生长与营养盐吸收关系[J]. 环境科学, 2005, 26(4): 97-101.
- LIU Xinan, ZHAN Min, MA Yan'e. Relationship between algae growth and nutrient uptake in Three Gorges Reservoir Area[J]. Environmental Science. 2005, 26(4): 97-101.
- [48] TORTELL P D, RAU G H, MOREL F M M. Inorganic carbon acquisition in coastal Pacific phytoplankton communities[J]. Limnology and Oceanography, 2000, 45(7): 1485-1500.
- [49] TORTELL P D, REINFELDER J R, MOREL F M M. Active uptake of bicarbonate by diatoms[J]. Nature, 1997, 390(6657): 243-244.
- [50] RAVEN J A. Inorganic carbon acquisition by marine autotrophs[J]. Advances in Botanical Research, 1997, 27(8): 85-209.
- [51] 董旭. 近岸水体 CO<sub>2</sub> 季节和季节内短期变化特征及调控机制研究—基于浮标观测[D]. 厦门: 厦门大学, 2012.
- DONG Xu. Seasonal and intraseasonal variations of CO<sub>2</sub> in coastal waters and their regulation mechanism - Based on buoy observation[D]. Xiamen: Xiamen University, 2012.
- [52] ROST B, RIEBESELL U, BURKHARDT S, et al. Carbon acquisition of bloom-forming marine phytoplankton[J]. Limnology and Oceanography, 2003, 48(1): 55-67.
- [53] BURKHARDT S, RIEBESELL U, ZONDERVAN I. Effects of growth rate, CO<sub>2</sub> concentration, and cell size on the stable carbon isotope fractionation in marine phytoplankton[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1999, 63(22): 3729-3741.
- [54] HARE C E, LEBLANC K, DITULLIO G R, et al. Consequences of increased temperature and CO<sub>2</sub> for phytoplankton community structure in the Bering Sea[J]. Marine Ecology Progress Series, 2007, 352(12): 9-16.
- [55] TORTELL P D, DITULLIO G R, SIGMAN D M, et al. CO<sub>2</sub> effects on taxonomic composition and nutrient utilization in an Equatorial Pacific phytoplankton assemblage[J]. Marine Ecology Progress Series, 2002, 236(4): 37-43.
- [56] ROCHELLE-NEWALL E, DELILLE B, FRANKIGNOULLE M, et al. Chromophoric dissolved organic matter in experimental mesocosms maintained under different *p*(CO<sub>2</sub>) levels[J]. Marine Ecology Progress Series, 2004, 272: 25-31.
- [57] SCHIPPERS P, VERMAAT J E, DE KLEIN, et al. The effect of atmospheric carbon dioxide elevation on plant growth in freshwater ecosystems[J]. Ecosystems, 2004, 7(1): 63-74.
- [58] PAULINO A I, EGGE J K, LARSEN A. Effects of increased atmospheric CO<sub>2</sub> on small and intermediate sized osmotrophs during a nutrient induced phytoplankton bloom[J]. Biogeosciences Discussions, 2008, 5(3): 739-748.
- [59] BEARDALL J, STOJKOVIC S. Living in a high CO<sub>2</sub> world: Impacts of global climate change on marine phytoplankton[J]. Transactions of the Botanical Society of Edinburgh, 2009, 2(2): 191-205.
- [60] 陈宝红, 陈长平, 陈金民, 等. 厦门海域营养盐含量和比率变化及其对浮游植物群落的影响[J]. 应用海洋学报, 2012, 31(2): 246-253.
- CHEN Baohong, CHEN Changping, CHEN Jinming, et al. Changes of nutrient content and ratio in Xiamen sea area and their effects on phytoplankton community[J]. Journal of Applied Oceanography, 2012, 31(2): 246-253.
- [61] HESSEN D O, ANDERSON T R. Excess carbon in

- aquatic organisms and ecosystems: Physiological, ecological and evolutionary implications[J]. *Limnology & Oceanography*, 2008, 53(4): 1685-1696.
- [62] FIELD C B, BEHRENFIELD M J, RANDERSON J T, et al. Primary production of the biosphere: Integrating terrestrial and oceanic components[J]. *Science*, 1998, 281(5374): 237-240.
- [63] BUITENHUIS, ERIK T, BAAR D, et al. Photosynthesis and calcification by *Emiliania huxleyi* (prymnesio-phyceae) as a function of inorganic carbon species[J]. *Journal of Phycology*, 1999, 35(5): 949-959.
- [64] 李铁, 史致丽, 李俊, 等. 营养盐对中肋骨条藻和新月菱形藻部分生化组成和性质的影响[J]. 海洋与湖沼, 2000, 31(3): 239-245.  
LI Tie, SHI Zhili, LI Jun, et al. Effects of nutrients on some biochemical constituents and properties of *Skeletonema costatum* and *Nitzschia closterium*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2000, 31(3): 239-245.
- [65] BIENFNAG P K, HARRISON P J, QUARMBY L M. Sinking rate response to depletion of nitrate, phosphate and silicate in four marine diatoms[J]. *Marine Biology*, 1982, 67: 295-302.
- [66] GEMMELL B J, OH G, BUSKEY E J, et al. Dynamic sinking behaviour in marine phytoplankton: rapid changes in buoyancy may aid in nutrient uptake[J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2016, 283(1840): 20161126.
- [67] 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.
- [68] LOMAS M W, GLIBERT P M. Comparisons of nitrate uptake, storage, and reduction in marine diatoms and flagellates[J]. *Journal of Phycology*, 2000, 36(5): 903-913.

# Response of Tianjin coastal phytoplankton community to ocean acidification and nitrate enrichment

CAI Ting<sup>1</sup>, FENG Yuan-yuan<sup>1, 2</sup>, XI Mao-nian<sup>1</sup>, LI Jing-hong<sup>1</sup>, WANG Jian-cai<sup>1</sup>, GUO Jia<sup>1</sup>

(1. Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China; 2. Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030, China)

**Received:** Aug. 20, 2020

**Key words:** ocean acidification; eutrophication; nitrate; coastal phytoplankton community; biogeochemistry

**Abstract:** To assess the effects of the coupling of ocean acidification (OA) and eutrophication on the coastal phytoplankton ecosystems, this study mainly investigated the interactive effects of the changes in CO<sub>2</sub> and nitrate concentrations on the biogeochemistry of the phytoplankton community in coastal Tianjin area. Both batch incubation and continuous incubation were conducted under four experimental conditions: 1) control, no nitrate addition,  $p(\text{CO}_2)$  40.53 Pa; 2) OA, no nitrate addition,  $p(\text{CO}_2)$  101.3 Pa; 3) N addition: nitrate 50 μmol/L,  $p(\text{CO}_2)$  40.53 Pa; and 4) OA + N addition: nitrate 50 μmol/L,  $p(\text{CO}_2)$  101.3 Pa. Our study suggests that nitrate enrichment promoted more accumulation of total chlorophyll biomass, particulate organic carbon (POC), and particulate organic nitrogen (PON) concentrations than OA. Both OA and N enrichment increased the cell size of the phytoplankton community. The results from the continuous incubation experiments suggest that OA and N enrichments had a synergistic interactive effect on Chl *a*, biogenic silica (BSi) and PON concentrations, PON to particulate organic phosphorous ratio (N/P), POC to BSi ratio (C/BSi), and the sinking rate; however, antagonistic interactive effects were observed on the POP and POC concentrations and POC to PON ratio (C/N). After the batch culture, OA significantly reduced the sinking rate of the phytoplankton community. Nevertheless, OA and N enrichment significantly increased the sinking rate of the phytoplankton community in the continuous culture. These results indicate that acidification and N enrichment might have potential different interactive effects on the biogeochemical cycles associated with coastal phytoplankton and the carbon export of phytoplankton populations at different growth stages.

(本文编辑: 杨 悅)