## 大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高对繁茂膜海绵滤食海水细菌能力的影响

张晓芳<sup>1</sup>,徐 辉<sup>2</sup>,刘宏文<sup>2</sup>,王明涛<sup>4</sup>,王仁斌<sup>3</sup>,李 毅<sup>4</sup>,赵德辉<sup>4</sup>,李振强<sup>3</sup>, 石其寿<sup>5</sup>,赵伟东<sup>4</sup>,王 伟<sup>3</sup>,付晚涛<sup>6,7</sup>

(1. 獐子岛集团股份有限公司, 辽宁 大连 116001; 2. 大连市环境监测中心, 辽宁 大连 116023; 3. 长海渔港 监督处, 辽宁 大连 116500; 4. 长海县渔政管理所, 辽宁 大连 116500; 5. 长海县海洋与渔业局 獐子岛监督 管理站, 辽宁 大连 116503; 6. 大连海洋大学 海洋科技与环境学院, 辽宁 大连 116023; 7. 辽宁省高校近岸 海洋环境科学与技术重点实验室, 辽宁 大连 116023)

摘要:通过模拟大气 CO<sub>2</sub>浓度升高,研究其对海绵滤食细菌功能的影响。在模拟大气 CO<sub>2</sub>浓度升高生态系统中,探究了大气 CO<sub>2</sub>浓度 387、500、750 和 1 000 μmol/mol 环境下繁茂膜海绵(Hymeniacidon perlevis)滤食灭菌海水中大肠杆菌(Escherichia coli AS 1.1017)和灿烂弧菌(Vibrio splendidus)的能力。结果表明:在24h 实验期间,模拟大气 CO<sub>2</sub>从目前约 387 μmol/mol 升高至 500 μmol/mol,繁茂膜海绵滤 食大肠杆菌和灿烂弧菌效率提高了。当模拟大气 CO<sub>2</sub> 750 μmol/mol 时,繁茂膜海绵滤食海水中大肠杆菌和灿烂弧菌功能都下降了,说明繁茂膜海绵已经受到大气较高浓度 CO<sub>2</sub> 损害。模拟大气 CO<sub>2</sub> 为 1 000 μmol/mol 时,繁茂膜海绵基本丧失了滤食海水中大肠杆菌和灿烂弧菌的功能。上述结果可为了 解大气 CO<sub>2</sub>浓度对近岸海洋生态系统的影响提供科学依据。

关键词: 大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高; 影响; 繁茂膜海绵(*Hymeniacidon perlevis*); 滤食; 细菌 中图分类号: X55 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2017)07-0016-07 DOI: 10.11759/hykx20170227001

地球大气 CO<sub>2</sub> 稳定在 280  $\mu$ mol/mol 几千万年, 在过去 100 多年大气 CO<sub>2</sub> 升高了约 35%,目前大气 CO<sub>2</sub>在 387  $\mu$ mol/mol 左右,这已经影响海洋生态系 统发生了不可逆变化<sup>[1-4]</sup>。2014 年联合国政府间气候 变化专门委员会(http: //www.ipcc.ch/)发布报告,对 以 CO<sub>2</sub> 为主的温室气体浓度升高给海洋生态系统尤 其近岸海洋生态系统影响提出了严重警告。

在动物界中,海绵(Sponge)单独构成多孔动物 门(Phylum Porifera)<sup>[5]</sup>,几乎分布于所有深度、所有维 度海水中<sup>[6]</sup>,尤其在近岸海洋生态系统中海绵扮演 重要角色<sup>[7-9]</sup>。作为固着性、滤食性动物<sup>[5]</sup>,海绵丰富 的水沟系构造具有极强滤水、组留海水中颗粒有机 物能力<sup>[10]</sup>,尤其过滤细菌能力高达 96%<sup>[11-12]</sup>。由于 绝大多数种属海绵由硅质骨针构成骨架<sup>[5-6]</sup>,因此海 绵被认为海水酸化的受益者。

近海生态系统中的细菌对人类生产生活尤其对 海水养殖业具有关键影响<sup>[13-14]</sup>,近海细菌主要被滤食 性动物所摄食。考察大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高对近海滤食性 动物摄食细菌能力影响,对研究近海生态环境变化具 有一定意义。本文以广泛分布于中国黄海和渤海的繁 茂膜海绵(Hymeniacidon perlevis)为模式生物,探究大 气 CO<sub>2</sub> 浓度升高对海绵滤食海水中细菌能力影响。

1 材料与方法

#### 1.1 实验材料与装置

实验药品除标明外均为分析纯。砂滤海水来源 于大连海洋大学;煮沸砂滤海水获得灭菌砂滤海水。 繁茂膜海绵采集于大连市黑石礁潮间带海域,其运 输、暂养、前处理等见参考文献[12,15],主要是从 潮间带采集海绵组织块,带回实验室后用砂滤海水

收稿日期: 2017-02-27; 修回日期: 2017-04-11

基金项目:"十二五"国家科技支撑计划项目(2015BAD13B05); 辽宁省 海洋与渔业厅科研计划项目(201215); 大连海洋大学 2012 年校列科研 项目(2012HYDX09)

<sup>[</sup>Foundation: National Science and Technology Support Program of 12th Five-Year, No.2015BAD13B05; Research Project of Department of Ocean and Fisheries of Liaoning Province, No. 201215; Project of Science-Technology in 2012 from Dalian Ocean University, No. 2012HYDX09]

作者简介:张晓芳(1978-),女,山东莱州人,高级工程师,硕士,从 事海水养殖和科研项目管理工作,电话:0411-39016238,E-mail: xiaofang8318@126.com;付晚涛(1969-),通信作者,男,黑龙江阿城 人,教授,博士,从事海洋生态和海洋生物资源利用等领域研究,电 话:15904117729,E-mail:fuwantao@dlou.edu.cn

清洗表面泥沙和大型海藻等附着物,然后分割成小 块海绵组织(每块约 2~3 g),然后放在通气水族缸中 暂养 1~2 d。大肠杆菌(*Escherichia coli* AS 1.1017)和 灿烂弧菌(*Vibrio splendidus*)来源于辽宁省高效近岸 海洋环境科学与技术重点实验室。模拟大气 CO<sub>2</sub> 浓 度升高影响近岸海洋生物的实验室生态系统(以下简 称模拟生态系统)采用发明专利:全球气候变化背景 下海洋潮间带生态环境模拟系统及其应用<sup>[16]</sup>中模拟 大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高条件下潮间带海洋生物受到影响 的装置与方法。

## 1.2 模拟大气不同浓度 CO2 对繁茂膜海绵 滤食海水中大肠杆菌能力影响

大肠杆菌(*Escherichia coli* AS 1.1017)富集培养 液制备与参考文献[8]相同。

在模拟大气 CO<sub>2</sub>为 500 µmol/mol 实验中, 使用 5 个独立模拟生态系统考察模拟大气不同浓度 CO2 对繁茂膜海绵滤食海水中大肠杆菌能力影响。在每 个独立模拟生态系统中分别装入 25 L 冷却至室温的 灭菌砂滤海水、然后接种 10 mL 大肠杆菌富集培养 液,其中第1个模拟生态系统不放入海绵,作为空白 组:剩余 4 个模拟生态系统分别放入在水族缸中暂 养的若干海绵组织块、合计约25g、其中1个通入空 气(387 µmol/mol), 作为对照组, 余下 3 个模拟生态 系统通入 CO<sub>2</sub> 500 µmol/mol, 作为实验组 1、2、3。 在 0、3、6、9、12 和 24 h、分别在上述 5 个模拟生态 系统中取海水 5 mL(重复取水样 3 次), 然后从 5 mL 水样中取 100 uL 海水, 10 倍系列稀释, 然后涂在 LB 琼脂平板(3个平行样),在37℃培养24h后菌落计数。 实验开始时和实验结束后,称量海绵质量,并监测模 拟生态系统中海水 pH 值(赛多利斯 PB-10 酸度计)。

在模拟大气 CO<sub>2</sub>为 750 μmol/mol 和 1000 μmol/mol 实验中,除了实验组 1、2、3 中使用 CO<sub>2</sub>分别为 750 μmol/mol 和 1 000 μmol/mol 外,其他与模拟大 气 CO<sub>2</sub>为 500 μmol/mol 实验相同。

## 1.3 模拟大气不同浓度 CO2 对繁茂膜海绵 滤食海水中灿烂弧菌能力影响

灿烂弧菌(Vibrio splendidus)富集培养液制备与 参考文献[8]中鳗弧菌 II(Vibrio anguillarum II)富集 培养液制备相同。

考察模拟大气 CO<sub>2</sub> 500 µmol/mol 对繁茂膜海绵 滤食海水中灿烂弧菌能力影响实验, 与 1.2 实验中相 同, 只是用 1 mL 灿烂弧菌代替 10 mL 大肠杆菌。同 样在 0、3、6、9、12 和 24 h,分别在 5 个模拟生态系 统中取海水 5 mL(重复取水样 3 次),然后从 5 mL 水样 中取 100 μL 海水, 10 倍系列稀释,然后涂在 2216E 琼 脂平板(3 个平行样),在 28 ℃培养 2 d 后菌落计数。

在模拟大气 CO<sub>2</sub> 750 μmol/mol 和 1 000 μmol/mol 对繁茂膜海绵滤食灿烂弧菌能力影响实验中,除了 实验组 1、2、3 中使用 CO<sub>2</sub>分别为 750 μmol/mol 和 1 000 μmol/mol 外,其他与模拟大气 CO<sub>2</sub>为 500 μmol/mol 实验相同。

#### 1.4 阻留率计算

阻留率(RR, 个/(h·g))作为表征无脊椎动物<sup>[19]</sup>尤 其海绵<sup>[20]</sup>的阻留海水中物质的能力。根据下式计算 阻留率<sup>[11]</sup>,

RR =  $(C_0 - C_t)V/(T \cdot W)$  (1) 式中,  $C_0$ 和  $C_t$ 代表初始时刻和 t 时刻海水中微生物密 度(个/mL), V 代表容器中海水体积(L), T 代表时间(h), W 代表海绵鲜质量(g)。

#### 1.5 数据统计与分析

实验每次重复取样 3 次,统计学意义检验采用 学生 *t* 检验。

#### 2 结果

#### 2.1 模拟生态系统中海水的温度和 pH

实验期间,模拟生态系统中海水温度保持在 12~17℃。对照组海水 pH 在 8.01~8.20; CO<sub>2</sub>为 500、 750 和 1 000 μmol/mol 的实验组海水 pH 值分别为 7.86~7.95、7.70~7.78、7.49~7.58。

#### 2.2 海绵质量变化

在模拟大气 CO<sub>2</sub>为 500、750 和 1 000 μmol/mol 对 繁茂膜海绵滤食灭菌海水中大肠杆菌影响实验中,海 绵质量变化见表 1。除了模拟大气 CO<sub>2</sub> 1 000 μmol/mol 实验组实验结束时海绵质量平均比实验开始时减少 4.71%之外,实验结束时对照组和实验组的海绵质量 均比实验初始时增加,其中对照组和实验组平均增 长率分别为 4.96%和 7.20%(500 μmol/mol)、6.97%和 1.99% (750 μmol/mol)、6.11% (1 000 μmol/mol)。

在模拟大气 CO<sub>2</sub> 为 500、750 和 1 000 μmol/mol 对繁茂膜海绵滤食灭菌海水中灿烂弧菌影响实验中, 海绵质量变化见表 2。对照组中,海绵质量在实验结 束时都大于实验开始时。实验组中,模拟大气 CO<sub>2</sub> 浓度 500 μmol/mol 的海绵质量在实验结束时比实验

组别				实验结束时		-
			实验组海绵质量 均值及偏差(g)	 海绵质量 (g)	实验组海绵质量 均值及偏差(g)	- 海绵质量 增长率(%)
500 μmol/mol	对照组	25.58	-	26.85	-	4.96
	实验组1	25.12		26.65		6.09
	实验组 2	25.27	25.09±0.16	27.1	26.90±0.19	7.24
	实验组3	24.89		26.95		8.28
750 μmol/mol	对照组	24.39	-	26.09	-	6.97
	实验组1	24.86		25.17		1.25
	实验组 2	25.25	24.89±0.28	25.87	25.39±0.34	2.45
	实验组3	24.57		25.13		2.28
1 000 µmol/mol	对照组	25.05	-	26.58	-	6.11
	实验组1	25.87		24.1		-6.84
	实验组 2	24.6	25.31±0.53	23.35	24.11±0.63	-5.08
	实验组3	25.45		24.89		-2.20

表 1 模拟大气 CO<sub>2</sub> 500、750 和 1000 μmol/mol 对繁茂膜海绵滤食大肠杆菌影响实验中海绵质量 Tab. 1 The quality of *Hymeniacidon perlevis* filter-feeding *Escherichia coli* AS 1.1017 in 500、750 和 1000 μmol/mol

表 2 模拟大气 CO<sub>2</sub> 500、750 和 1000 μmol/mol 对繁茂膜海绵滤食灿烂弧菌影响实验中海绵质量 Tab. 2 The quality of *Hymeniacidon perlevis* filter-feeding *Vibrio splendidus* in 500、750 和 1000 μmol/mol

组别		实验初始时		实验结束时		海伯氏目
		海绵质量 (g)	实验组海绵质量 均值及偏差(g)	海绵质量 (g)	实验组海绵质量 均值及偏差(g)	- 海纬顶重 增长率(%)
500 μmol/mol	对照组	24.96	-	26.02	-	4.25
	实验组1	24.9		25.89		3.98
	实验组 2	25.31	25.24±0.26	26.20	26.09±0.14	3.52
	实验组 3	25.53		26.17		2.51
750 μmol/mol	对照组	25.26	-	26.47	-	4.79
	实验组1	24.89		23.56		-5.34
	实验组 2	25.36	25.05±0.22	23.18	23.20±0.28	-8.60
	实验组 3	24.91		22.87		-8.92
1 000 μmol/mol	对照组	24.78	-	26.2	-	5.73
	实验组1	24.7		21.35		-13.56
	实验组 2	25.21	25.23±0.44	22.08	22.00±0.50	-12.42
	实验组 3	25.78		22.56		-12.49

开始时平均增长了 3.37%, 模拟大气 CO<sub>2</sub> 为 750 和
1 000 μmol/mol 的海绵质量在实验结束时分别比实
验开始时平均减少了 7.62%和 12.82%。

## 2.3 模拟大气CO2 浓度升高环境下繁茂膜 海绵滤食海水中大肠杆菌动力学过程

在模拟大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高生态系统中, 繁茂膜 海绵滤食灭菌海水中大肠杆菌的动力学过程见图 1 (500 μmol/mol)、图2 (750 μmol/mol)和图3 (1 000 μmol/mol)。 在上述 3 个独立实验中, 每个实验的空白组大肠杆菌 密度尽管在 24 h 实验期间的不同时间检测点有波动, 但彼此间没有显著性差异(P<0.05)。对照组大肠杆菌 密度变化趋势基本相同,大肠杆菌密度由初始时 (162.3±18.6)×10<sup>4</sup> 个/mL(500 µmol/mol)、(155.9±27.6)× 10<sup>4</sup> 个/mL(750 µmol/mol)和(169.9±31.2)×10<sup>4</sup> 个/mL (1000 µmol/mol)分别下降为 9 h 时(20.3±3.5)× 10<sup>4</sup> 个/mL、(8.9±2.8)×10<sup>4</sup> 个/mL和(15.2±4.5)×10<sup>4</sup> 个/mL, 也即在 9 h 时间海绵滤食了 87.5%、94.3%和 91.0% 的大肠杆菌,相对应的阻留率分别为 15 777.8×10<sup>4</sup>、 16 333.3×10<sup>4</sup> 和 17 188.9×10<sup>4</sup> 个/(h·g)。实验组大肠杆 菌密度也随时间而降低,9h时海水中大肠杆菌密度 分别为(9.0±1.6)×10<sup>4</sup>(500 µmol/mol)、(20.7±3.0)×10<sup>4</sup> (750 µmol/mol)和(108.7±4.8)×10<sup>4</sup>个/mL(1 000 µmol/mol), 分别比各自初始时大肠杆菌密度减少94.2%、86.6%和 37.8%,对应的阻留率分别为 16 296.3×10<sup>4</sup>、14 874.1× 10<sup>4</sup>和6444.4×10<sup>4</sup>个/(h·g)。



图 1 模拟大气 CO<sub>2</sub> 500 μmol/mol 对繁茂膜海绵滤食灭菌 海水中大肠杆菌功能的影响

Fig. 1 Influence of CO<sub>2</sub> 500 μmol/mol on capacity of Hymeniacidon perlevis filter-feeding Escherichia coli AS 1.1017 in sterilized seawater



图 2 模拟大气 CO<sub>2</sub> 750 μmol/mol 对繁茂膜海绵滤食灭 菌海水中大肠杆菌功能的影响

- Fig. 2 Influence of CO<sub>2</sub> 750 µmol/mol on capacity of Hymeniacidon perlevis filter-feeding Escherichia coli AS 1.1017 in sterilized seawater
- 2.4 模拟大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高环境下繁茂膜 海绵滤食海水中灿烂弧菌动力学过程

在模拟大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高生态系统中, 繁茂膜 海绵滤食灭菌海水中灿烂弧菌的动力学过程见图 4 (500 μmol/mol)、图 5 (750 μmol/mol)和图 6 (1 000 μmol/mol)。 在上述 3 个独立实验中, 空白组灿烂弧菌密度均呈



图 3 模拟大气 CO<sub>2</sub> 1000 μmol/mol 对繁茂膜海绵滤食灭 菌海水中大肠杆菌功能的影响

Fig. 3 Influence of CO<sub>2</sub> 1000 μmol/mol on capacity of Hymeniacidon perlevis filter-feeding Escherichia coli AS 1.1017 in sterilized seawater



- 图 4 模拟大气 CO<sub>2</sub> 500 μmol/mol 对繁茂膜海绵滤食灭 菌海水中灿烂弧菌功能的影响
- Fig. 4 Influence of CO<sub>2</sub> 500 µmol/mol on capacity of *Hymeniacidon perlevis* filter-feeding *Vibrio splendidus* in sterilized seawater



- 图 5 模拟大气 CO<sub>2</sub> 750 μmol/mol 对繁茂膜海绵滤食灭 菌海水中灿烂弧菌功能的影响
- Fig. 5 Influence of CO<sub>2</sub> 750 µmol/mol on capacity of *Hymeniacidon perlevis* filter-feeding *Vibrio splendidus* in sterilized seawater



图 6 模拟大气 CO<sub>2</sub> 1000 μmol/mol 对繁茂膜海绵滤食灭 菌海水中灿烂弧菌功能的影响

Fig.6 Influence of CO<sub>2</sub> 1000 µmol/mol on capacity of *Hymeniacidon perlevis* filter-feeding *Vibrio splendidus* in sterilized seawater

现先降低再增长趋势,24h时灿烂弧菌密度为初始时 的 2.98 倍、说明海水中灿烂弧菌具有快速繁殖生长 能力; 对照组中灿烂弧菌密度变化走势与空白组的 基本相同,其密度一直低于空白组灿烂弧菌密度, 在 24 h 时对照组灿烂弧菌平均密度是其初始时 2.47 倍、但比空白组 24h 时灿烂弧菌密度低 11.5%, 说明 繁茂膜海绵具有滤食海水中灿烂弧菌能力。在模拟 500 µmol/mol 实验组中(图 4), 灿烂弧菌密度呈现先 降低再升高走势、其细菌密度也一直低于空白组的 在 24 h 时实验组灿烂弧菌平均密度比空白组的低 34.2%, 说明模拟 500 μmol/mol 促进繁茂膜海绵增强滤 食灭菌海水中灿烂弧菌效率。在模拟 750 μmol/mol 实 验组中灿烂弧菌走势也呈现先降低再升高趋势(图 5)、 在 24 h 时灭菌海水中灿烂弧菌平均密度低于空白组的 15.8%、但高于对照组的 14.7%、说明 750 µmol/mol 已 经抑制了繁茂膜海绵滤食海水中灿烂弧菌效率。在 模拟 1 000 umol/mol 实验组中(图 6)、灿烂弧菌密度 呈现逐渐增加趋势,并且基本一直高于空白组和对 照组的弧菌密度,24h时灿烂弧菌密度高于空白组的 20.9%、说明 750 μmol/mol 已经几乎完全阻碍了繁茂 膜海绵滤食海水中灿烂弧菌功能。

## 3 讨论

海绵广泛分布于海洋环境<sup>[5]</sup>,尤其在沿岸上升 流海域的基岩底质上固着生长着种类丰富、生物量 众多的海绵<sup>[6]</sup>,滤食海水中细菌<sup>[11-12]</sup>、浮游生物<sup>[10]</sup> 等粒径小于 50 μm 的颗粒有机质<sup>[7]</sup>和溶解有机质<sup>[8]</sup>, 具有重要生态作用<sup>[5,7]</sup>。已经发现鉴定的 8 500 多种 海绵中的绝大多数由硅质骨架构成,因此海绵被认 为有可能是大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高导致海水酸化的受益 者,因为底栖固着生长的钙质生物将受到海水酸化负 面影响。在以前研究中,繁茂膜海绵已经展现了很好的 泵水、阻留细菌、微藻、非生命有机质的能力<sup>[11-12]</sup>。 本实验模拟大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高导致海水酸化环境下, 研究繁了茂膜海绵的生长、阻留非侵染性细菌和侵 染性细菌的能力。

## 3.1 大气 CO2 浓度升高与细菌共同作用对 繁茂膜海绵质量影响

繁茂膜海绵具有滤食大肠杆菌转化为自身生物 量的功能。目前大气 CO<sub>2</sub> 浓度下,实验结束时海绵适 量比实验开始时平均增加 6.01%,这与地中海海绵 (*Chondrilla nucula* Schmidt, 1862)生物量变化的结果 相近<sup>[11]</sup>。当模拟大气 CO<sub>2</sub> 升高至 500 μmol/mol,实验 结束时繁茂膜海绵质量比实验开始时平均增加 7.20%(表 1),这个结果与繁茂膜海绵阻留海水中总有 机碳结果相似<sup>[15]</sup>,表明 500 μmol/mol 没有影响繁茂膜 海绵的生长。当模拟大气 CO<sub>2</sub> 升高至 750 μmol/mol 和 1 000 μmol/mol,实验结束时海绵质量分别比实验 开始时仅增加 1.99%和–4.71%,表明 750 μmol/mol 和 1 000 μmol/mol 已经负面影响海绵生长。

## 3.2 大气 CO2 浓度升高对繁茂膜海绵滤食 海水中大肠杆菌功能影响

尽管大肠杆菌在近海海域海水中含量较高[41]、 但仅作为海绵的食物而不具有侵染海绵功能[11-12]。 在模拟大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高对繁茂膜海绵滤食大肠杆 菌影响实验的对照组(387 μmol/mol)中, 繁茂膜海绵 展现了极强的滤食海水中大肠杆菌能力,在12h平 均滤食了 96.8%大肠杆菌、与 0.5 L 灭菌海水中的繁 茂膜海绵<sup>[12]</sup>和地中海海绵<sup>[11]</sup>滤食大肠杆菌效果相 近。在健康状况下、海绵泵入海水进入体内丰富水沟 系进而从中阻留细菌的效率是相对稳定的<sup>[17-19]</sup>、在 12 h 内对照组 25 L 灭菌海水中繁茂膜海绵滤食大肠 杆菌的平均阻留率是 13.14×10<sup>7</sup> 个/(h·g), 略高于 10.5 h 0.5 L 灭菌海水中繁茂膜海绵滤食大肠杆菌的阻留率  $7.78 \times 10^7$  个/(h·g)<sup>[12]</sup>, 比地中海海绵的阻留效率大约 高 10 倍<sup>[11]</sup>。繁茂膜海绵<sup>[12]</sup>和地中海海绵<sup>[11]</sup>在阻留效 率上的明显差异因为不同种海绵体内水沟系结构不 同, 1997 年 Turon<sup>[19]</sup>使用人造乳胶微球证明了这个 观点。

随着模拟大气 CO2 浓度由目前约 387 µmol/mol

升高至 500 µmol/mol, 刺激了繁茂膜海绵滤食海水 中大肠杆菌效率(图 1), 在 9 小时实验组和对照组 (500 umol/mol)大肠杆菌平均密度分别为(2.7±1.6)× 10<sup>4</sup> 个/mL 和(20.3±3.5)×10<sup>4</sup> 个/mL, 相应地阻留率分别 为 16 296.3×104 个/(h·g)(实验组)和 15 777.8×10<sup>4</sup> 个/(h·g) (对照组), 这个结果与模拟大气 CO<sub>2</sub> 500 µmol/mol 条件下, 繁茂膜海绵阻留灭菌海水中总有机碳效率 的结果非常相近<sup>[15]</sup>,由此说明大气 CO<sub>2</sub> 升高至 500 umol/mol 促进了繁茂膜海绵阻留大肠杆菌和总 有机碳的效率。模拟大气 CO2 750 µmol/mol 影响了 繁茂膜海绵滤食灭菌海水中大肠杆菌能力,9h时实 验组和对照组大肠杆菌平均密度分别为(20.7±3.0)× 10<sup>4</sup> 个/mL 和(8.9±2.8)×10<sup>4</sup> 个/mL(图 2), 相应地阻留率分 别为14874.1×10<sup>4</sup>个/(h·g)(实验组)和16333.3×10<sup>4</sup>个/(h·g) (对照组)。这个结果在模拟大气 CO<sub>2</sub> 750 μmol/mol 条件下繁茂膜海绵阻留灭菌海水中总有机碳的现象 相似<sup>[15]</sup>。在模拟大气 CO<sub>2</sub> 1 000 µmol/mol, 尽管繁茂 膜海绵还具有滤食大肠杆菌能力,9h时实验组平均 大肠杆菌密度(108.7±4.8)×10<sup>4</sup> 个/mL 低于空白组大 肠杆菌密度(165.1±18.9)×10<sup>4</sup> 个/mL, 但远高于对照 组大肠杆菌密度(15.2±4.5)×10<sup>4</sup> 个/mL(图 3), 映相对 繁茂膜海绵阻留率分别为 6 444.4×10<sup>4</sup> 个/(h·g)(实验 组)和 17 188.9×10<sup>4</sup>个/(h·g)(对照组)。由于大肠杆菌不 具有侵染海绵能力、可见模拟大气 CO<sub>2</sub>1 000 µmol/mol 极大地损害了繁茂膜海绵滤食海水中大肠杆菌能力。

## 3.3 大气 CO2 浓度升高对繁茂膜海绵滤食 海水中灿烂弧菌功能影响

尽管海绵也可以阻留滤食弧菌,但弧菌具有很 强侵染海洋生物能力,因此海绵阻留、滤食海水中弧 菌与弧菌侵染海绵细胞是相互竞争关系。在现有大 气 CO<sub>2</sub> 浓度条件下,繁茂膜海绵已经展现了与弧菌的 上述竞争关系<sup>[12]</sup>,即当鳗弧菌 II(*Vibrio anguillarum* II) 初始密度较低时,繁茂膜海绵的滤食功能占主导作 用;当鳗弧菌 II(*Vibrio anguillarum* II)初始密度较高 时,弧菌的侵染海绵细胞功能占主导作用。在模拟大 气 CO<sub>2</sub> 升高(500、750 和 1000 μmol/mol)对繁茂膜海 绵滤食灿烂弧菌影响的 3 个独立实验中对照组和空 白组结果也展示了这种规律(图 4—图 6)。

在模拟大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高对繁茂膜海绵滤食灿 烂弧菌影响的实验组中, 尽管灿烂弧菌密度都呈现 先下降再升高的趋势, 但展现了三种完全不同特征 (图 4—图 6)。模拟大气 CO<sub>2</sub> 500 μmol/mol 实验组灿 烂弧菌平均密度一直低于对照组灿烂弧菌密度(图 4), 可见此条件下繁茂膜海绵仍然可以一定程度控制灿 烂弧菌生长。模拟大气 CO<sub>2</sub> 750 µmol/mol 实验组灿 烂弧菌密度低于空白组的、但高于对照组的(图 5), 说明大气 750 µmol/mol 已经消弱了繁茂膜海绵滤食 海水中灿烂弧菌能力,这个结果与大气 CO<sub>2</sub> 高浓度 消弱了繁茂膜海绵阻留海水中总有机碳能力的结果 相互验证<sup>[18]</sup>。模拟大气 CO<sub>2</sub> 1 000 µmol/mol 实验组 灿烂弧菌密度除了在 3 h 时低于空白组灿烂弧菌密 度,其他时间均高于空白组的灿烂弧菌密度(图 6), 这表明名此条件下繁茂膜海绵已经基本丧失了主动 泵入海水并从中阻留颗粒物能力<sup>[19]</sup>。

### 4 结论

海绵是仍然生存的、最古老的多细胞动物<sup>[6-7]</sup>, 在近 6 亿年进化历史中<sup>[20]</sup>海绵应该被大自然塑造成 功了具有很好适应环境能力。模拟大气 CO<sub>2</sub> 浓度从 目前约 387 μmol/mol 升高至 500 μmol/mol,繁茂膜 海绵滤食大肠杆菌和灿烂弧菌效率提高了。当模拟 大气 CO<sub>2</sub> 浓度达到、超过 750 μmol/mol 时,繁茂膜海 绵滤食海水中大肠杆菌和灿烂弧菌功能都下降了,说 明繁茂膜海绵细胞已经受到大气较高浓度 CO<sub>2</sub> 损害。

#### 参考文献:

- [1] Hoegh-Guldberg O, Bruno J F. The impact of climate change on the world's marine ecosystems[J]. Science, 2010, 328: 1523-1528.
- [2] Harley C D G, Randall Hughes A, Hultgren K M, et al. The impacts of climate change in coastal marine systems[J]. Ecology Letters, 2006, 9(2): 228-241.
- [3] 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: 362-366.
- [4] 王健鑫,刘雪珠,陶诗.海洋酸化对异养细菌生态效应的研究进展[J].海洋科学,2013,37(11):103-108.
   Wang Jianxin, Liu Xuezhu, Tao Shi. Research progress of ocean acidification on ecological effects of heterotrophic bacteria[J]. Marine Sciences, 2013, 37(11):103-108.
- [5] Nicholss S, Worheide G. Sponges: New views of old animals[J]. Integrative and Comparative Biology, 2005, 45(2): 333-334.
- [6] Rutzler K. Associations between Caribbean sponges and photosynthetic organisms[M]//New Perspectives in Sponge Biology. Washington D C: Smithsonian Institution Press, 1990: 455-466.
- [7] Officer C B, Smayda T J, Mann R. Benthic fiter feeding: A natural eutrophication control [J]. Marine Ecology Progress Series, 1982, 9: 203-210.
- [8] Gili J M, Coma R. Benthic suspension feeders: Their paramount role in litteroal marine food webs[J]. Trends in Ecology and Evolution, 1998, 13(8): 316-321.
- [9] 张喜昌,张卫,褚亚东,等. 繁茂膜海绵清除大肠 杆菌的过程[J]. 海洋科学, 2015, 39(5): 21-27.

Zhang Xichang, Zhang Wei, Chu Yandong, et al. The process of removing the bacteria from the thick film sponge[J]. Marine Sciences, 2015, 39(5): 21-27.

- [10] 付晚涛, 张 卫, 金美芳, 等. 繁茂膜海绵滤食养殖水体 中过剩饵料的初步研究[J]. 海洋环境科学, 25(3): 29-32.
  Fu Wantao, Zhang Wei, Jin Meifang, et al. A preliminary study on the overabundance of bait in the luxuriant membrane sponge.[J]. Marine Environmental Sciences, 25(3): 29-32.
- [11] Milanese M, Chelossi E, Manconi R, et al. The marine sponge *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862 as an elective candidate for bioremediation in integrated aquaculture[J]. Biomolecular Engineering, 2003, 20: 363-368.
- [12] Fu W T, Sun L M, Zhang W, et al. Potential of the marine sponge *Hymeniacidon perleve* as a bioremediator of pathogenic bacteria in integrated aquaculture ecosystems[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2006, 93(6): 1112-1122.
- [13] 樊景凤,宋立超,张喜昌,等.辽东湾沿岸水域甲肝病毒和粪大肠菌群分布[J].海洋环境科学,2004,23(4):35-37.
  Fan Jingfeng, Song Lichao, Zhang Xichang, et al. Distribution of hepatitis a virus and fecal coliform in coastal waters of liaodong bay[J]. Marine Environment Science, 2004, 23 (4): 35-37.
- [14] 国家海洋局. 中国海洋环境状况公报[R]. 北京: 国

家海洋局,2015.

State oceanic administration, bulletin of China's Marine environmental status[R]. Beijing: sState Oceanic Administration, 2015.

- [15] 徐辉, 刘宏文, 安宗福, 等. 大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高对繁 茂膜海绵阻留海水中有机碳功能的影响[J]. 大连海 洋大学学报, 2015, 30(1): 79-84.
  Xu Hui, Liu Hongwen, An Zongfu, et al. Effects of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration on the organic carbon function in the retention of thick film sponges in seawater[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2015, 30(1): 79-84.
- [16] 付晚涛,张菊林,安宗福,等.全球气候变化背景下 海洋潮间带生态环境模拟系统及其应用[P].中国, ZL 2012 1 0054111.1[P]. 2015-01-21.
- [17] Reiswig H M. In situ pumping activities of tropical demospongiae[J]. Marine Biology, 1971, 9: 38-50.
- [18] Reiswig H M. Water transport, respiration and energetics of three tropical marine sponges[J]. Journal of experimental marine biology and ecology, 1974, 14: 231-249.
- [19] Turon X, Galera J, Uriz M J. Clearance rates and aquiferous systems in two sponges with contrasting lifehistory strategies[J]. Journal of Experimental Zoology, 1997, 78: 22-36.
- [20] Li C W, Chen J Y, Hua T E. Precambrian sponges with cellular structures[J]. Science, 1998, 279 (6): 879-882.

# Influence of increasing atmospheric $CO_2$ concentration on the ability of the marine sponge *Hymeniacidon perlevis* to filter-feed bacteria in seawater

ZHANG Xiao-fang<sup>1</sup>, XU Hui<sup>2</sup>, LIU Hong-wen<sup>2</sup>, WANG Ming-tao<sup>4</sup>, WANG Ren-bin<sup>3</sup>, LI Yi<sup>4</sup>, ZHAO De-hui<sup>4</sup>, LI Zhen-qiang<sup>3</sup>, SHI Qi-shou<sup>5</sup>, ZHAO Wei-dong<sup>4</sup>, WANG Wei<sup>3</sup>, FU Wan-tao<sup>6, 7</sup>

(1. Zoneco Group Co., Ltd, Dalian 116001, China; 2. Center of Environment Monitoring of Dalian, Dalian 116023, China; 3. Fishing Port Supervision Department of Chang Hai, Dalian 116500, China; 4. Fishery Management of Chang Hai, Dalian 116500, China; 5. Zhangzidao Supervision and Management of Ocean and Fisheries Administration of Chang Hai, Dalian 116503, China; 6. Collage of Marine Science-Technology and Environment, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China; 7. Key Laboratory of Nearshore Marine Environmental Science and Technology of Liaoning Province's University, Dalian 116023, China)

#### Received: Nov. 24, 2016

Key words: elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration; influence; Hymeniacidon perlevis; filter-feeding; marine bacteria

Abstract: The influence of carbon dioxide  $(CO_2)$  concentration on the capability of *Hymeniacidon perlevis* filter-feeding bacteria was studied by simulating an elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration. In the simulated ecosystem, the capability of *H. perlevis* filter-feeding *Escherichia coli* AS 1.1017 and *Vibrio splendidus* was explored, respectively, in sterilized seawater under 387, 500, 750 and 1 000 µmol/mol. The results showed that the efficiency of *H. perlevis* filter-feeding bacteria was improved when the CO<sub>2</sub> concentration elevated from 387 µmol/mol to 500 µmol/mol; however, the capacity of *H. perlevis* filter-feeding bacteria was decreased when the CO<sub>2</sub> concentration elevated to 750 µmol/mol. This result indicates that the relatively high CO<sub>2</sub> concentration damages the filter-feeding efficiency of *H. perlevis*, and the efficiency was lost when the CO<sub>2</sub> concentration elevated to 1000 µmol/mol. This study provides a scientific basis for predicting the effect of atmospheric CO<sub>2</sub> concentration on the coastal ecosystem.