

“2017年度中国科学十大进展”30项候选成果论文选登

海洋酸化对优势固氮蓝藻束毛藻的影响及其机理

◆史大林* 洪海征 沈容 张福婷 温作柱 林文芳

(厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门 361005)

摘要:由人为活动排放的二氧化碳(CO₂)而引起的海洋酸化,预计将影响对热带、亚热带海域的初级生产力有显著贡献的固氮浮游植物。本研究揭示了海洋酸化对优势固氮蓝藻束毛藻(*Trichodesmium* spp.)的生长和固氮的影响及其机理。研究表明,虽然海洋酸化中的CO₂升高对束毛藻有促进效应,但酸化的整体效应为抑制其固氮和生长。究其原因,海洋酸化引起束毛藻胞质pH下降,从而降低固氮酶效率、干扰胞内pH稳态、影响细胞产能。在铁限制条件下,由于有限的铁难以满足束毛藻响应海洋酸化胁迫所做出的生理响应,因而铁限制加剧了海洋酸化对束毛藻的负面影响。

关键词:海洋酸化;束毛藻;铁限制

中图分类号:P76 文献标识码:A

收稿日期:2018-03-08 修订日期:2018-03-12

*通讯作者, E-mail: dshi@xmu.edu.cn

作者简介:史大林,男,1977年10月生,福建福州人。2000年获厦门大学生物学学士学位,2011年获美国普林斯顿大学地球科学博士学位。2012年入选中组部“青年千人计划”后受聘厦门大学,现为厦门大学特聘教授、博导,近海海洋环境科学国家重点实验室(厦门大学)首席科学家,厦门大学环境科学研究中心主任。2012年获首批国家“优秀青年科学基金”资助,2013年入选福建省“百人计划”,2014年入选科技部“中青年科技创新领军人才”。史大林长期致力于海洋生物地球化学与全球变化研究,以碳、氮及痕量金属的海洋生物地球化学过程为研究重点,将其与浮游植物对全球变化的生理生态响应相结合,在海洋酸化对浮游植物的影响及其生物地球化学效应这一重大科学前沿领域,开展了一系列创新性的工作。

工业革命以来,由于化石燃料燃烧、森林砍伐等日益加剧的人类活动,大气中的二氧化碳(CO₂)浓度上升了逾40%[Global Carbon Project 2017],给全球气候带来了显著的影响。海洋是全球气候系统的一个重要环节,不仅存储了90%以上人类活动排放的热量,而且吸收了近三分之一人为排放的CO₂,有效的减缓了大气中CO₂水平的快速上升以及可能由此引发的更加剧烈的气候变化[Sabine等,2004]。然而,大量的CO₂进入海洋引起海

水CO₂浓度上升、pH下降,即“海洋酸化”[Doney等,2009]。预测表明,到本世纪末时表层海水中的CO₂浓度将从现在的400 μatm上升到800 μatm,相应的海水pH将从8.1下降到7.8左右[Orr等,2005],这势必影响海洋生态系统的关键过程和功能。

浮游植物是海洋生态系统的初级生产者,贡献了地球上约50%的初级生产力[Field等,1998],驱动着海洋生物泵将碳从上层海洋向深层输出、

埋藏,在海洋和全球碳循环中起着举足轻重的作用,调节着全球气候。然而,全球面积一半以上海洋的初级生产力受氮(N)营养盐缺乏的限制[Moore等,2013]。广泛分布于热带、亚热带寡营养海域的自养固氮蓝藻束毛藻(*Trichodesmium* spp.),可贡献高达50%的全球海洋总固氮量,是海洋生态系统中“新氮”的重要来源[Karl等,1997],在海洋初级生产过程和生物泵中扮演着重要角色。因此,阐明海洋酸化对束毛藻的影响及其机理,对深刻了解和预测全球变化下的海洋初级生产力、生物泵效率和气候调节功能,具有重大的科学意义。

围绕“海洋酸化对束毛藻生长和固氮的影响”这一关键科学问题,近十年来国际上开展了大量的室内受控培养研究,总体上发现海洋酸化促进束毛藻的生长和固氮[Barcelos e Ramos等,2007; Hutchins等,2007; Kranz等,2009; Levitan等,2007]。这是因为,束毛藻的核酮糖-1,5-二磷酸羧化氧化酶(RubisCO)与反应底物CO₂的亲合力非常低,其固碳的半饱和CO₂浓度(K_{1/2})大于100 μM,远高于表层海水中的CO₂浓度(10—15 μM)[Badger等,1998]。束毛藻需消耗细胞能量和资源运行CO₂浓缩机制(CO₂-Concentrating Mechanism, CCM),以提高RubisCO周围的CO₂浓度,从而满足光合固碳作用对CO₂的需求。因此,海水CO₂浓度的升高将使CCM下调[Kranz等,2009],由此节省的能量可被再分配用于固氮等其他细胞过程,从而促进固氮和生长[Kranz等,2011]。然而,尽管所采用的实验条件相同,上述研究不仅获得的生长速率波动显著(从<0.2到>0.5 day⁻¹不等)、且观测到的酸化促进效应亦却存在巨大差异,并对其缺乏科学的解释。此外,与上述发现相矛盾的是,少数现场研究则发现酸化不影响、甚至抑制束毛藻固氮[Gradoville等,2014; Böttjer等,2014]。

就该重大科学问题,若不能探明真相、揭示引起研究结果相互矛盾的原因,将影响对未来海洋碳、氮生物地球化学循环的准确认识和预测。

针对该备受关注的热点和疑点,我们开展了系统性的实验室和现场研究工作。通过对海水培养基成分的分析并结合系统的受控培养实验,我们发现先前报道的海洋酸化对束毛藻固氮的促进作用,很可能是由于相关研究使用的人工海水培养基受铜和氨的污染所导致的假象——酸化降低了过量的铜和氨对束毛藻的毒性作用,使得其生长和固氮速率加快。其原因在于,当海水pH下降时,一方面,CO₃²⁻和OH⁻浓度下降使得具有生物可利用性/毒性的CuCO₃和Cu(OH)₂浓度下降[Ruetter等,1979];另一方面,NH₃和NH₄⁺之间的平衡转向离子态的NH₄⁺,从而降低可以经扩散进入细胞而抑制光合系统中心的NH₃的浓度[Drath等,2008]。在以天然海水为培养基开展的实验中,我们实现了对海水酸化的CO₂效应和pH效应的区分,发现CO₂升高对束毛藻的促进作用小于海水pH下降对其的抑制作用,导致海洋酸化的净效应为抑制束毛藻的固氮和生长。通过生理、生化和蛋白质组学分析相结合,我们进一步阐明了酸化效应的机理:尽管CO₂升高使得束毛藻的碳浓缩机制下调、节省了少许能量消耗,但是海水pH下降引起束毛藻胞质pH随之下降,从而导致束毛藻为维持胞内pH稳态(pH homeostasis)需上调跨类囊体膜的质子(H⁺)转运,并显著增加能量的消耗。

痕量金属铁(Fe)是束毛藻所不可或缺的微量营养元素,其在寡营养海域表层海水中的浓度通常低于1nM,故成为束毛藻固氮和生长最主要的限制因子之一[Sohm等,2011]。然而,迄今的束毛藻酸化研究多采用富营养条件,无法真实反映在寡营养海区中酸化对浮游植物的影响。我们采用痕量金属洁净技术,发现酸化导致束毛藻固氮酶

工作效率降低,细胞因此上调富铁的固氮酶以应对酸化造成的胁迫。除此之外,为了应对海水酸化造成的胁迫,束毛藻还需要大量的铁维持胞质pH稳态、增加能量的生产。在铁限制的条件下,上述应对酸化胁迫的策略,迫使光合系统和呼吸传递链上同样富铁的多个关键蛋白的表达被严重抑制,从而导致酸化的负效应显著加剧。在室内实验的基础上,我们以南海寡营养海区天然固氮生物群落为研究对象,开展了痕量金属洁净的现场受控培养实验,发现酸化降低了以束毛藻为优势类群的固氮生物群落的固氮速率,但却使得束毛藻固氮酶基因 *nifH* 的转录显著上调,表明了酸化导致固氮效率下降,这与我们实验室的机理研究结果相吻合,并且印证了在其他海区的研究发现。

我们的研究发现不仅揭示了海洋酸化对海洋“新氮”重要贡献者束毛藻的影响及其机理,而且为之前就该重大科学问题的争议提供了科学解释,将有助于提升对全球变化下海洋碳、氮生物地球化学循环过程及其效应的认识。需要指出的是,除受痕量金属铁缺乏限制外,寡营养海区中束毛藻的生长还受磷缺乏限制或磷—铁共同限制。此外,在室内培养中束毛藻通常以藻丝体(*trichomes*)的形态存在,而在自然生境下的束毛藻则常常聚集形成束状体(*colonies*)。当束毛藻形成束状体的时候,由于较大的个体导致海水中 CO_2 的扩散供给受到限制,因此海水 CO_2 浓度上升所带来的促进效应将可能大于海水pH下降所产生的抑制效应,从而在整体上促进束毛藻的固氮作用。例如,有研究报道海洋酸化促进了从墨西哥湾和马尾藻海收集到的束毛藻束状体的固氮作用[Hutchins等,2009;Lomas等,2012]。因此,在研究海洋酸化对束毛藻影响这一海洋全球变化领域的重大科学问题时,还应结合磷或磷—铁共同限制

条件以及考虑束毛藻的不同形态来进一步开展系统、深入的研究工作。■

●参考文献

- [1] Badger, M. R., Andrews, T. J., Whitney, S. M., Ludwig, M., Yellowlees, D. C., Leggat, W., & Price, G. D. (1998). The diversity and coevolution of Rubisco, plastids, pyrenoids, and chloroplast-based CO_2 -concentrating mechanisms in algae. *Canadian Journal of Botany*, 76(6), 1052–1071.
- [2] Barcelos e Ramos, J., Biswas, H., Schulz, K. G., LaRoche, J., & Riebesell, U. (2007). Effect of rising atmospheric carbon dioxide on the marine nitrogen fixer *Trichodesmium*. *Global Biogeochemical Cycles*, 21(2), 1–6.
- [3] Böttjer, D., Karl, D. M., Letelier, R. M., Viviani, D. A., & Church, M. J. (2014). Experimental assessment of diazotroph responses to elevated seawater pCO_2 in the North Pacific Subtropical Gyre. *Global Biogeochemical Cycles*, 28(6), 601–616.
- [4] Doney, S. C., Fabry, V. J., Feely, R. A., & Kleypas, J. A. (2009). Ocean acidification: the other CO_2 problem. *Annual Review of Marine Science*, 1, 161–192.
- [5] Drath, M., Kloft, N., Batschauer, A., Marin, K., Novak, J., & Forchhammer, K. (2008). Ammonia triggers photodamage of photosystem II in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. Strain PCC 6803. *Plant Physiology*, 147(1), 206–215.
- [6] Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T., & Falkowski, P. (1998). Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science*, 281(5374), 237–240.
- [7] Global Carbon Project. 2017. www.globalcarbonproject.org.
- [8] Gradoville, M. R., White, A. E., Böttjer, D., Church, M. J., & Letelier, R. M. (2014). Diversity trumps acidification: Lack of evidence for carbon dioxide enhancement of *Trichodesmium* community nitrogen or carbon fixation at Station ALOHA. *Limnology and Oceanography*, 59(3), 645–659.
- [9] Hutchins, D. A., Fu, F. X., Zhang, Y., Warner, M. E., Feng, Y., Portune, K., . . . Mulholland, M. R. (2007). CO_2 control of *Trichodesmium* N_2 fixation, photosynthesis, growth rates, and elemental ratios: Implications for past, present, and future ocean biogeochemistry. *Limnology and Oceanography*, 52(4), 1293–1304.

- [10] Hutchins, D. A., Mulholland, M. R., & Fu, F. (2009). Nutrient cycles and marine microbes in a CO₂-enriched ocean. *Oceanography*, 22(4), 128–145.
- [11] Karl, D. M., Letelier, R., Tupas, L. M., Je, D., Christian, J. R., & DV, H. (1997). The role of nitrogen fixation in biogeochemical cycling in the subtropical North Pacific Ocean. *Nature*, 388(6642), 533–538.
- [12] Kranz, S. A., Eichner, M., & Rost, B. (2011). Interactions between CCM and N₂ fixation in *Trichodesmium*. *Photosynth Res*, 109(1–3), 73–84.
- [13] Kranz, S. A., Sültemeyer, D., Richter, K.-U., & Rost, B. (2009). Carbon acquisition by *Trichodesmium*: the effect of pCO₂ and diurnal changes. *Limnology and Oceanography*, 54(2), 548–559.
- [14] Levitan, O., Rosenberg, G., Setlik, I., Setlikova, E., Grigel, J., Klepetar, J., . . . Berman-Frank, I. (2007). Elevated CO₂ enhances nitrogen fixation and growth in the marine cyanobacterium *Trichodesmium*. *Global Change Biology*, 13(2), 531–538.
- [15] Lomas, M., Hopkinson, B., Losh, J., Ryan, D., Shi, D., Xu, Y., & Morel, F. (2012). Effect of ocean acidification on cyanobacteria in the subtropical North Atlantic. *Aquatic Microbial Ecology*, 66(3), 211–222.
- [16] Moore, C. M., Mills, M. M., Arrigo, K. R., Berman-Frank, I., Bopp, L., Boyd, P. W., Jaccard, S. L. (2013). Processes and patterns of oceanic nutrient limitation. *Nature Geoscience*, 6(9), 701.
- [17] Orr, J. C., Fabry, V. J., Aumont, O., Bopp, L., Doney, S. C., Feely, R. A., . . . Yool, A. (2005). Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature*, 437(7059), 681–686.
- [18] Rueter, J. G., McCarthy, J. J., & Carpenter, E. J. (1979). The toxic effect of copper on *Oscillatoria (Trichodesmium) theibautii*. *Limnology and Oceanography*, 24(3), 558–562.
- [19] Sabine, C. L., Feely, R. A., Gruber, N., Key, R. M., Lee, K., Bullister, J. L., . . . Rios, A. F. (2004). The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *Science*, 305(5682), 367–371.
- [20] Sohm, J. A., Webb, E. A., & Capone, D. G. (2011). Emerging patterns of marine nitrogen fixation. *Nature Reviews Microbiology*, 9(7), 499–508.

The Complex Effects of Ocean Acidification on the Prominent N₂-fixing Cyanobacterium *Trichodesmium*

Shi Dalin Hong Haizheng Shen Rong Zhang Futing Wen Zuozhu Lin Wenfang

(State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen, Fujian, P.R. China,

361005)

Abstract: Acidification of seawater caused by anthropogenic carbon dioxide (CO₂) is anticipated to influence the growth of dinitrogen (N₂) - fixing phytoplankton, which contribute a large fraction of primary production in the tropical and subtropical ocean. We found that growth and N₂-fixation of the ubiquitous cyanobacterium *Trichodesmium* decreased under acidified conditions, notwithstanding a beneficial effect of high CO₂. Acidification resulted in low cytosolic pH and reduced N₂-fixation rates despite elevated nitrogenase concentrations. Low cytosolic pH required increased proton pumping across the thylakoid membrane and elevated adenosine triphosphate production. These requirements were not satisfied under field or experimental iron-limiting conditions, which greatly amplified the negative effect of acidification.

Key words: Ocean acidification; *Trichodesmium*; Iron limitation