

学校编码: 10384

密级_____

学号: 22320130153783

厦门大学

博士学位论文

浮游植物环境变化生理学研究：
硅藻与束毛藻

Studies on Environmental Change Physiology of Phytoplankton:

Diatom and *Trichodesmium*

刘娜娜

指导教师姓名: 高坤山 教授

专业名称: 海洋生物

论文提交日期: 2016年09月

论文答辩时间: 2016年11月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2016年09月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(高坤山教授)课题组的成果,获得(高坤山教授)课题组经费或实验室的资助,在(海洋环境生理)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

2016年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文(包括纸质版和电子版)，允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

()1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

()2. 不保密，适用上述授权。

(请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。)

声明人(签名)：

2016 年 月 日

目录

摘要	I
Abstract.....	III
缩略词(Abbreviations)	VII
第 1 章 文献综述与研究意义.....	1
第一节 硅藻和束毛藻的生物学特性	1
1.1 硅藻的特性及生态意义.....	1
1.2 束毛藻的特性及生态意义.....	2
第二节 环境因子变动的生物学效应	4
2.1 全球变暖.....	4
2.1.1 温度对浮游植物的影响.....	6
2.2 海洋酸化.....	10
2.2.1 海洋酸化对浮游植物的影响.....	11
2.3 紫外辐射.....	13
2.3.1 紫外辐射对浮游植物的影响.....	14
2.3.2 浮游植物应对紫外辐射的策略.....	15
2.4 其它环境因子.....	16
2.4.1 光.....	16
2.4.2 氮.....	17
2.4.3 磷.....	17
第三节 多种环境因子的复合效应	19
3.1 温度和酸化的耦合效应	19
3.2 温度和紫外的耦合效应	19
第四节 研究方法	21
4.1 固氮速率的测定	21
4.2 无机碳亲和力的测量方法	21
4.2.1 光合作用速率与溶解性无机碳浓度的关系.....	21
4.2.2 细胞胞内无机碳库.....	22

第五节 研究目的及意义	23
第 2 章 酸化和光强对三角褐指藻的耦合影响	24
1 前言	24
2 材料与方法	25
2.1 藻种培养	25
2.2 碳酸盐系统的控制	25
2.3 生长速率和叶绿素的测量	25
2.4 叶绿素荧光参数的测定	26
2.5 初级生产力的测定	26
2.6 光合固碳速率与无机碳浓度关系的测定	27
2.7 胞内无机碳库的测定	28
2.8 结果处理与数据分析	28
3 结果	31
3.1 碳酸盐系统	31
3.2 生长和叶绿素	32
3.3 光化学荧光参数	34
3.4 碳固定	38
3.5 细胞对溶解性无机碳的亲合力	39
4 讨论	44
5 小结	48
第 3 章 束毛藻对环境因子变动的生理学响应	49
第一节 束毛藻的生长特性及其对硅藻的作用	49
1 前言	49
2 材料与方法	49
2.1 藻种培养	49
2.2 细胞数和叶绿素的测量	50
2.3 固氮日变动的测量	51
2.4 快速光响应曲线的测量	51
2.5 数据处理与统计分析	51

3 结果	52
3.1 束毛藻的生长曲线.....	52
3.2 束毛藻生长过程中荧光参数的变动.....	53
3.3 不同生长阶段束毛藻的固氮速率日变动.....	56
3.4 滤液中两种硅藻的生长情况.....	57
4 讨论	59
5 小结	60
第二节 高低光强对 CCMs 的影响	61
1 前言	61
2 材料与方法	61
2.1 藻种培养.....	61
2.2 阳光辐射的测定.....	61
2.3 生长和叶绿素 <i>a</i> 测定.....	62
2.4 碳酸酐酶作用的测定.....	62
2.5 光合作用与溶解性无机碳的关系测定.....	62
2.6 细胞胞内无机碳库的测定.....	62
2.7 数据处理与统计分析.....	62
3 结果	63
3.1 高低光下束毛藻的生长速率和叶绿素 <i>a</i>	63
3.2 高低光下束毛藻碳酸酐酶的作用.....	64
3.3 高低光下束毛藻对 DIC 的亲合力.....	65
4 讨论	68
5 小结	70
第三节 磷和光强的复合效应	71
1 前言	71
2 材料与方法	71
2.1 藻种培养.....	71
2.2 细胞比生长速率和叶绿素 <i>a</i> 含量的测定.....	72
2.3 叶绿素荧光参数的测定.....	72
2.4 固氮速率日变动的测定.....	73

2.5 固碳速率日变动测定.....	73
2.6 数据处理与统计分析.....	73
3 结果.....	74
3.1 磷对束毛藻生长和叶绿素 <i>a</i> 含量的影响.....	74
3.2 转换实验时束毛藻的荧光参数变动.....	75
3.3 转换实验中束毛藻的固碳、固氮速率.....	79
4 讨论.....	84
5 小结.....	86
第四节上 短期的酸化与温度的耦合效应	87
1 前言.....	87
2 材料与方法.....	87
2.1 藻种培养.....	87
2.2 海水碳酸盐系统的测定.....	88
2.3 生长、叶绿素 <i>a</i> 的测定.....	88
2.4 固氮速率日变动的测定.....	88
2.5 固碳速率日变动的测定.....	88
2.6 颗粒有机碳(POC)和颗粒有机氮(PON)含量的测定	89
2.7 光合无机碳亲和力的测定.....	89
2.8 数据处理和统计分析.....	89
3 结果.....	90
3.1 碳酸盐系统.....	90
3.2 比生长速率和 C:N 比值.....	91
3.3 荧光数据.....	92
3.4 固氮和固碳速率.....	94
3.5 无机碳亲和力.....	97
4 讨论.....	100
5 小结.....	102
第四节下 长期酸化与升温的耦合效应	103
1 前言.....	103
2 材料与方法.....	103

2.1 藻种培养.....	103
2.2 生长速率和叶绿素 <i>a</i> 的测定.....	104
2.3 颗粒有机碳(POC)和颗粒有机氮(PON)含量的测定	104
2.4 固氮速率日变动的测定.....	104
2.5 固碳速率日变动的测定.....	104
2.6 数据处理与统计分析.....	104
3 结果.....	105
3.1 长期培养过程中束毛藻的生长速率和 C:N 比值.....	105
3.2 转换实验中束毛藻细胞的生长速率和叶绿素 <i>a</i> 含量.....	106
3.3 转换实验中束毛藻的 POC 和 PON.....	107
3.4 转换实验中束毛藻的固碳和固氮速率.....	111
4 讨论.....	113
5 小结.....	115
第 4 章 中尺度浮游生物对海洋酸化的生理学响应.....	116
1 前言.....	116
2 材料与方法.....	117
2.1 实验设计.....	117
2.2 藻种.....	117
2.3 细胞计数.....	118
2.4 叶绿素 <i>a</i> 的测量.....	118
2.5 初级生产力.....	118
2.6 数据统计分析.....	118
3 结果.....	119
3.1 中尺度实验的生长过程分成三个阶段.....	119
3.2 不同藻种的生长.....	121
3.3 初级生产力.....	123
4 讨论.....	128
5 小结.....	130
第 5 章 多重环境压力下五缘湾浮游植物群落的固碳变动.....	131

1 前言	131
2 材料与方法	131
2.1 水样采集.....	131
2.2 实验设计.....	131
2.3 叶绿素 <i>a</i> 定量.....	132
2.4 数据处理与统计分析.....	132
3 结果	134
3.1 阳光辐射和叶绿素 <i>a</i>	134
3.2 浮游植物群落的光合固碳速率.....	135
3.3 升温 5 ℃ 对浮游植物光合固碳速率的影响.....	137
3.4 升温 5 ℃ 对高低光下紫外辐射抑制率的影响.....	139
4 讨论	143
5 小结	146
总结与创新点	147
参考文献	149
发表与拟投稿论文	175

Contents

Abstract	I
Abbreviations	VII
Chapter 1 Literature review and research purpose	1
1 Biological Characteristics of <i>Trichodesmium</i>	1
1.1 Characteristics and ecological significance of diatom	1
1.2 Characteristics and ecological significance of <i>Trichodesmium</i>	2
2 Environmental factors on biological effects	4
2.1 Global warming	4
2.1.1 Effects of temperature on phytoplankton.....	6
2.2 Ocean acidification	10
2.2.1 Effects of OA on phytoplankton	11
2.3 Solar UV radiation	13
2.3.1 Effects of UV radiation on phytoplankton.....	14
2.3.2 Responses of phytoplankton to UV radiation	15
2.4 Other global change forcing	16
2.4.1 Light	16
2.4.2 Nitrogen	17
2.4.3 Phosphorus	17
3 Composite effects of various environmental factors	19
3.1 Combined effects of temperature and OA	19
3.2 Combined effects of temperature and UV radiation	19
4 Research methods	21
4.1 Methods for measuring N₂ fixation rate	21
4.2 Methods for measuring the DIC affinity	21
4.2.1 Relationship between photosynthetic rate and DIC concentration	21
4.2.2 Intracellular DIC pool.....	22
5 Research objectives and scheme	23
Chapter 2 Combined effects of light and OA on <i>Phaeodactylum</i> <i>tricornutum</i>	24
1 Introduction	24
2 Materials and Methods	25

2.1 Culture conditions	25
2.2 Perturbation of carbonate system.....	25
2.3 Determination of growth rate and Chl contents	25
2.4 Determination of fluorescence parameters	26
2.5 Determination of primary productivity	26
2.6 Determination of carbon fixation (P-C curve)	27
2.7 Intracellular DIC pool.....	28
2.8 Statistical analysis	28
3 Results	31
3.1 Carbonate system.....	31
3.2 Growth and Chl contents	32
3.3 Fluorescence parameters	34
3.4 Carbon fixation	38
3.5 Photosynthetic DIC affinity	39
4 Discussion.....	44
5 Conclusion	48
Chapter 3 Physiological responses of <i>Trichodesmium</i> to the changes of environmental factors	49
1 Characteristic of <i>Trichodesmium</i> growth and its function on diatom.....	49
1 Introduction.....	49
2 Materials and Methods	49
2.1 Culture conditions	49
2.2 Determination of cells and Chl contents	50
2.3 Determination of diel variation of N ₂ fixation rate	51
2.4 Determination of rapid light curve (RLC)	51
2.5 Statistical analysis	51
3 Results	52
3.1 Growth curve of <i>Trichodesmium</i>	52
3.2 Fluorescence parameters	53
3.3 Diel changes of N ₂ fixation for <i>Trichodesmium</i> under different growth phase	56
3.4 Growth of two diatom cultured in the filtrate	57
4 Discussion.....	59

5 Conclusion	60
2 The influence of different light on the CCMs	61
1 Introduction	61
2 Materials and Methods	61
2.1 Culture conditions	61
2.2 Determination of solar radiation	61
2.3 Determination of growth and Chl <i>a</i> contents	62
2.4 Determination of function of CA	62
2.5 Determination of photosynthetic DIC affinity (P-C curve)	62
2.6 Determination of intracellular DIC pool.....	62
2.7 Statistical analysis	62
3 Results	63
3.1 Growth and Chl <i>a</i> contents	63
3.2 Function of CA	64
3.3 Photosynthetic DIC affinity	65
4 Discussion	68
5 Conclusion	70
3 Composite effects of Phosphorus and light	71
1 Introduction	71
2 Materials and Methods	71
2.1 Culture conditions	71
2.2 Determination of cell number and Chl <i>a</i> contents	72
2.3 Determination of fluorescence parameters	72
2.4 Determination of diel variation of N ₂ fixation.....	73
2.5 Determination of diel variation of carbon fixation	73
2.6 Statistical analysis	73
3 Results	74
3.1 The influence of phosphorus on the growth and Chl <i>a</i> contents.....	74
3.2 Fluorescence parameters	75
3.3 Carbon and N ₂ fixation rate during the shift experiments	79
4 Discussion	84
5 Conclusion	86
4.1 Short-term effects of OA and temperature	87
1 Introduction	87

2 Materials and Methods	87
2.1 Culture conditions	87
2.2 Determination of carbonate system.....	88
2.3 Determination of growth and Chl <i>a</i> content	88
2.4 Determination of diel variation of N ₂ fixation.....	88
2.5 Determination of diel variation of carbon fixation	88
2.6 Determination of POC/PON contents	89
2.7 Determination of photosynthetic DIC affinity (P-C curve)	89
2.8 Statistical analysis	89
3 Results	90
3.1 Carbonate system.....	90
3.2 Growth and ratios of C:N	91
3.3 Fluorescence parameters	92
3.4 Carbon fixation rate and nitrogen fixation rate	94
3.5 Photosynthetic DIC affinity	97
4 Discussion	100
5 Conclusion	102
4.2 Long-term effects of OA and temperature	103
1 Introduction	103
2 Materials and Methods	103
2.1 Culture conditions	103
2.2 Determination of growth and Chl <i>a</i> content	104
2.3 Determination of POC/PON contents	104
2.4 Determination of N ₂ fixation rate.....	104
2.5 Determination of carbon fixation rate	104
2.6 Statistical analysis	104
3 Results	105
3.1 Growth and ratio of POC:PON for long-term culture	105
3.2 Growth and Chl <i>a</i> contents for the shift experiments	106
3.3 POC/PON contents for the shift experiments	107
3.4 Carbon fixation and N ₂ fixation rate for the shift experiments.....	111
4 Discussion	113
5 Conclusion	115

Chapter 4 Physiological responses of mesocosm phytoplankton to OA	116
.....	
1 Introduction	116
2 Materials and Methods	117
2.1 Experimental design.....	117
2.2 Algae	117
2.3 Cell counting	118
2.4 Determination of Chl <i>a</i> concentration.....	118
2.5 Primary productivity	118
2.6 Statistical analysis	118
3 Results	119
3.1 Three phases for the phytoplankton growth.....	119
3.2 Growth for different algae.....	121
3.3 Primary productivity	123
4 Discussion	128
5 Conclusion	130
Chapter 5 Carbon fixation for phytoplankton from Wuyuan Bay	
changed under stress of several environmental factors	131
1 Introduction	131
2 Materials and Methods	131
2.1 Samples Collection	131
2.2 Experimental design.....	131
2.3 Determination of Chl <i>a</i> concentration.....	132
2.4 Statistical analysis	132
3 Results	134
3.1 Solar radiation and Chl <i>a</i> concentration.....	134
3.2 Photosynthetic carbon fixation rate of phytoplankton assemblages	135
3.3 Influences of elevated 5 °C on the photosynthetic carbon fixation rate..	137
3.4 Influences of elevated 5 °C on the negative impacts of UV radiation ...	139
4 Discussion	143
5 Conclusion	146
Conclusion and innovation	147
References	149

Publications.....175

厦门大学博硕士论文摘要库

摘要

气候变化引发全球最大两个环境变化：全球变暖和海洋酸化。海洋升温使得大洋上部混合层变浅，层内营养盐浓度降低、生物接受的累积 UV 辐射量增大。这些物理、化学环境的变化可影响海洋初级生产力，并扰动海洋生态系统。为此，本文以硅藻、束毛藻（重要固氮蓝藻）为研究对象，探讨多种环境因子变动对其固碳、固氮、光生理等过程的影响，并用短期、长期以及室内、室外实验，来分析它们对环境变动的响应。主要结果如下：

1、海水 $p\text{CO}_2$ 增加，导致三角褐指藻胞内无机碳库减少，且细胞 CO_2 浓缩机制 (CCMs) 被下调的程度与生长光强相关。当 $p\text{CO}_2$ 从 400 上升至 5000 μatm 时，高 ($200 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)、低 ($20 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 光处理的三角褐指藻胞内无机碳库分别下降 60% 和 81%，细胞对无机碳的亲合力分别下降 55% 和 48%。高 $p\text{CO}_2$ (5000 μatm) 下，低光 (光限制) 条件下生长的三角褐指藻 CCMs 下调程度大于高光 (饱和光强) 下的细胞，且使得细胞生长速率发生较大变化。生长速率对 $p\text{CO}_2$ 升高的响应，表现为：低光下先上升后平稳，而高光下先上升后下降。

2、 $p\text{CO}_2$ 升高提高了浮游植物群落藻华期的光合固碳量。五缘湾中尺度实验平台上，开展的中水量 (3000 L) 实验结果显示，以三角褐指藻为主的藻华耐受低营养盐的能力强，在营养盐浓度低于检测线时，仍能维持长达 10 天的高生物量。 $p\text{CO}_2$ 升高，使得浮游植物藻华期的颗粒有机碳积累量增加了 46-102%，且净固碳量也显著上升了 44%-106%。

3、固氮蓝藻束毛藻的固氮作用，在寡营养盐海区，发挥着重要作用，常经受光强与磷浓度的变化。当所处环境的光强超过其最适生长光强时，束毛藻的 CCMs 下调，胞内碳库减少，而胞内碳酸酐酶的活性在无机碳运输中的作用增强。高磷 (磷充足) 或低磷 (磷限制) 生长的束毛藻在低光 ($120 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 下培养 8 代后，转至高光 ($400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 后，发现，24 h 内，磷限制和磷充足细胞的日固氮量分别增加 60% 和 13%；磷限制细胞的日固碳量没受影响，磷充足细胞的日固碳量下降 16%。磷限制细胞转到磷充足条件下，其日固氮量分别提高 121% (24 h) 和 108% (72 h)。将低光、低磷生长的束毛藻转至高磷、高光条件下，24 h 内，其日固氮量和日固碳量分别提高 177% 和 26%；72 h 内，其日固氮量与

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.