

# 温度和 $p\text{CO}_2$ 对中肋骨条藻释放挥发性 卤代烃的影响\*

尹丽菁<sup>1</sup> 杨斌<sup>2</sup> 于红<sup>1</sup> 杨桂朋<sup>1</sup> 何真<sup>1①</sup>

(1. 中国海洋大学化学化工学院 山东青岛 266100; 2. 北部湾大学 广西北部湾海洋环境变化与灾害研究重点实验室 广西钦州 535011)

**摘要** 挥发性卤代烃(volatile halocarbon, VHCs)是大气中一类重要的臭氧层破坏者和环境污染物,海洋微藻释放是大气 VHCs 的重要来源,在调节全球气候中起着至关重要的作用。该研究在 2 个温度( $T=20$ 、 $25\text{ }^\circ\text{C}$ )和 2 个  $\text{CO}_2$  分压( $p\text{CO}_2=395$ 、 $790\text{ mg/L}$ )条件下,模拟研究了温度和  $p\text{CO}_2$  升高对中肋骨条藻生长和 3 种 VHCs ( $\text{CHBr}_3$ 、 $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$ )释放量的影响。研究表明, $p\text{CO}_2=395\text{ mg/L}$ ,  $T=25\text{ }^\circ\text{C}$  时,中肋骨条藻的生长情况最佳; $p\text{CO}_2=790\text{ mg/L}$ ,  $T=20\text{ }^\circ\text{C}$  时,中肋骨条藻的生长情况最差。温度升高时, $\text{CHBr}_3$ 、 $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  的平均浓度分别增加了 10.55%、9.45%和 12.18%; $p\text{CO}_2$  升高时, $\text{CHBr}_3$  和  $\text{CHBrCl}_2$  的平均浓度分别降低了 19.29%和 30.80%;温度和  $p\text{CO}_2$  同时升高时, $\text{CHBr}_3$  和  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  的平均浓度分别增加了 8.06%和 29.02%。该结果表明,温度和  $p\text{CO}_2$  同时升高对中肋骨条藻 VHCs 释放产生了协同效应,加剧了温室气体 VHCs 的释放。

**关键词** 气候变化;挥发性卤代烃;中肋骨条藻

中图分类号 P734.4 doi: 10.11693/hyhz20221100304

自工业革命以来,化石燃料的燃烧和城市化的加速发展造成人为二氧化碳( $\text{CO}_2$ )排放增加,全球气候也因此发生了变化(Gu *et al.*, 2017)。一方面,大气中  $\text{CO}_2$  分压( $p\text{CO}_2$ )的升高加剧了  $\text{CO}_2$  在海洋中的溶解,溶解性无机碳(DIC)体系变化导致海水 pH 值降低,引起海洋酸化(ocean acidification, OA)(Wolf-Gladrow *et al.*, 1999)。另一方面,大气温室气体浓度的上升使全球平均气温每十年增加约  $0.2\text{ }^\circ\text{C}$  (Hansen *et al.*, 2006),预计到 2100 年平均海面温度的上升幅度将在  $1.4\sim 5.8\text{ }^\circ\text{C}$  (Stocker *et al.*, 2013)。受到 OA 和全球变暖等气候变化的影响,海洋生态系统将发生一系列复杂变化。

挥发性卤代烃(volatile halocarbon, VHCs)是大气中一类重要的痕量温室气体,其中包括短寿命挥发性溴代烃,如一溴二氯甲烷( $\text{CHBrCl}_2$ )、二溴一氯

甲烷( $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ )、三溴甲烷( $\text{CHBr}_3$ )等(Jia *et al.*, 2019)。VHCs 在紫外线的照射下可以发生化学降解或者光降解产生卤素自由基(如 Cl, Br 等),这些卤素自由基在对流层和平流层中参与化学反应,不仅能够直接对大气臭氧造成破坏(Wayne *et al.*, 1995),而且也能影响大气中其他气体的浓度(如  $\text{CH}_4$ ,  $\text{NO}_2$ ),从而影响全球气候变化(Cincinelli *et al.*, 2012)。VHCs 的来源主要包括海洋释放、工业释放和生物及煤燃烧,其中海洋释放为主要来源,占大气中短寿命挥发性溴代烃的 90% (Carpenter *et al.*, 2000; Abrahamsson *et al.*, 2004)。研究表明海洋中 VHCs 由海洋大型藻类(Hughes *et al.*, 2016)、浮游植物(Lim *et al.*, 2017)、蓝藻及细菌产生释放(Hughes *et al.*, 2013)。虽然大型藻类 VHCs 释放速率比浮游植物高 1~2 个数量级,但是由于大型藻类仅在近岸海域分布,而浮游植物在

\*国家自然科学基金项目,41830534 号;山东省自然科学基金项目,ZR2021MD034 号;北部湾大学广西北部湾海洋灾害重点实验室开放基金项目,2021KF01 号。尹丽菁,硕士研究生,E-mail: Ylj106903@163.com

通信作者:何真,硕士生导师,副教授,E-mail: zhenhe@ouc.edu.cn

收稿日期:2022-11-19,收修改稿日期:2023-01-03

海洋中广泛分布,因此,浮游植物释放,尤其是硅藻释放被认为是海洋 VHCs 的主要来源(Scarratt *et al.*, 1996; Lim *et al.*, 2018)。

海洋酸化和全球变暖可能会引发未来生态系统重组和海洋微藻群落组成的进一步变化(Brodie *et al.*, 2014), 最终影响区域 VHCs 释放(Mtolera *et al.*, 1996; Abrahamsson *et al.*, 2003)。研究表明温度和  $p\text{CO}_2$  作为外界环境胁迫使微藻细胞发生氧化应激产生更多的  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 增加 VHCs 的释放以应对氧化应激(Abrahamsson *et al.*, 2003)<sup>725</sup>。如 Laturus 等(2000)研究了温度对南极微藻影响,发现温度升高会增加  $\text{CHBr}_3$  的产量。对南极赤潮藻的类似研究也表明,将温度从 12 °C 提高到 23 °C 后,  $\text{CHBr}_3$  的释放量增加了两倍左右(Abrahamsson *et al.*, 2003)<sup>727</sup>。然而,目前关于微藻释放 VHCs 对  $p\text{CO}_2$  响应的研究还没有一致的结论。在对亚热带和热带海藻的研究中发现  $p\text{CO}_2$  升高, VHCs 释放量增加(Mithoo-Singh *et al.*, 2017); Mtolera 等(1996)<sup>93</sup> 的研究指出当海水 pH 降低,  $\text{CHBr}_3$  和  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  的释放量减少。温度和  $p\text{CO}_2$  的变化可以对海洋浮游植物的生长速率和光合作用产生交互作用(Feng *et al.*, 2008), 但是现阶段关于温度和  $p\text{CO}_2$  交互作用对海洋微藻 VHCs 释放的研究甚少。海洋硅藻是海洋中主要的生产者(Falkowski *et al.*, 2004), 也是自然源 VHCs 的主要贡献者(倪洁等, 2020)。中肋骨条藻是我国近岸海域常见的浮游硅藻(霍文毅等, 2001)。因此,本研究以赤潮藻中肋骨条藻为研究对象,通过测定藻密度、叶绿素 *a* 浓度、活性氧(ROS)和最大光化学效率( $F_v/F_m$ )等参数探究中肋骨条藻在全球变暖以及海洋酸化气候背景下  $\text{CHBr}_3$ 、 $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  释放情况。通过分析 3 种 VHCs 释放与生物量、ROS、 $F_v/F_m$  等与 VHCs 释放有关的生理参数之间的关系,阐明温度及  $p\text{CO}_2$  影响 VHCs 释放的作用机理。本研究将为评价全球气候变暖和海洋酸化对中肋骨条藻的生长及释放 VHCs 的影响提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 藻类培养

实验所用的中肋骨条藻取自中国海洋大学海洋污染生态化学实验室。所用海水取自我国东海,分别用 0.47 和 0.22  $\mu\text{m}$  的醋酸纤维滤膜过滤。实验采用 1 000 mL 胶塞培养瓶,培养瓶用 10%的盐酸溶液浸泡 24 h 后用纯水冲洗 3 遍,用 Milli-Q 水冲洗 1 遍,最

后将过滤海水与胶塞封口瓶一起放入高压灭菌锅经 121 °C 高温灭菌 20 min。

培养期间,以现在大气中  $p\text{CO}_2$  (395 mg/L)以及环境温度(20 °C)作为对照组(M1),通过添加饱和  $\text{CO}_2$  海水溶液(徐军田等, 2010),达到现在大气  $p\text{CO}_2$  的 2 倍(790 mg/L),通过培养箱设置培养温度 20 和 25 °C,设置实验组 M2、M3 和 M4,每组设置三个平行样。微藻初始藻密度为  $7.46 \times 10^4$  cells/mL,培养期间需每天多次振荡培养瓶,以防止藻类沉淀,保证藻类生长状态良好及溶解气体保持稳定。接种后每隔 2 天上午 9:00 进行取样,取样 100 mL 后,补充相应海水并加饱和  $\text{CO}_2$  培养液调节  $p\text{CO}_2$  至设定值,保持无顶空状态,具体培养条件见表 1。

表 1 中肋骨条藻的培养条件  
Tab.1 Incubation conditions of *Skeletonema costatum*

培养条件	对照组		实验组	
	M1	M2	M3	M4
环境因子	$T=20^\circ\text{C}$ $p\text{CO}_2=395$ mg/L	$T=25^\circ\text{C}$ $p\text{CO}_2=395$ mg/L	$T=20^\circ\text{C}$ $p\text{CO}_2=790$ mg/L	$T=25^\circ\text{C}$ $p\text{CO}_2=790$ mg/L
培养液	f/2 培养液(高温灭菌)			
光暗周期	12 h : 12 h			
光照强度	4 000 lux			
光源	白色冷荧光灯管			
培养方式	半连续培养			
培养体积	1 000 mL, 无顶空			

### 1.2 微藻光合生理特征参数的测定

藻细胞密度采用血细胞计数板在电子显微镜(CX31RTSE, 日本奥林巴斯)下计数;叶绿素 *a* 浓度测定采用荧光分光光度计(日立 F-4500)测定,具体方法参照文献(Passow *et al.*, 1994);  $F_v/F_m$  测定采用 Aquapen AP110-C,测定前进行 15 min 的暗处理;ROS 的检测采用标准检测试剂盒(南京建成生物工程研究所),具体方法参照文献(Lang *et al.*, 2022)。

### 1.3 VHCs 浓度的测定

用气密性玻璃注射器(SGE, 澳大利亚)抽取 30 mL 藻液经 0.45  $\mu\text{m}$  聚醚砜滤膜过滤后注入吹扫捕集系统中的气提室,采用流量为 60 mL/min 的高纯氮气吹扫 14 min,吹扫后的气体经高氯酸镁和载体氢氧化钠干燥后,再用液氮(-176 °C)冷阱捕集浓缩,最后用沸水解吸 4 min,解吸后气体进入连接电子捕获检测器(ECD)的气相色谱仪(岛津 GC2030)分析测定。使用 VHCs 液体混合标准样品(美国 o2is 公司;  $\text{CHBrCl}_2$ ,

2.019 mg/L;  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ , 4.015 mg/L;  $\text{CHBr}_3$ , 4.007 mg/L) 和外标法对 VHCs 浓度进行定量分析, 该方法的检出限为  $0.01 \times 10^{-12} \sim 0.22 \times 10^{-12}$  mol/L, 相对标准偏差为 1.83%~3.97%。具体方法见文献(Yuan *et al.*, 2016)。

#### 1.4 抑制率和促进率计算公式:

$$\begin{aligned} \text{藻细胞密度抑制率} &= (1-p/c) \times 100\%, \\ \text{促进率} &= (1-c/p) \times 100\%, \end{aligned} \quad (1)$$

其中,  $c$  和  $p$  分别为对照组和实验组的藻细胞密度。

$$\begin{aligned} \text{叶绿素 } a \text{ 含量抑制率} &= (1-P/C) \times 100\%, \\ \text{促进率} &= (1-C/P) \times 100\%, \end{aligned} \quad (2)$$

其中,  $C$  和  $P$  分别为对照组和实验组的叶绿素  $a$  含量。

#### 1.5 数据分析方法

使用 SPSS 22.0 统计软件对本研究实验的结果进行了统计分析, 采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  表示有显著差异。

## 2 结果

### 2.1 微藻生物量和生理参数的变化

#### 2.1.1 藻密度和叶绿素 $a$ 浓度的变化

在不同培养条件下, 中肋骨条藻在第 1~5 天处于快速增长期, 且均在第 5 天出现峰值, 在第 5 天进入稳定期后有所下降, 在 7~11 天内藻密度随培养时间变化不大, 在第 13 天, M3 和 M4 组的藻密度明显降低(图 1a)。中肋骨条藻的叶绿素  $a$  浓度与藻密度的变化相似(图 1b)。与对照组 M1 相比,  $p\text{CO}_2$  升高(M3)时叶绿素  $a$  浓度降低, 而温度升高(M2)时叶绿素  $a$  浓度增加。温度升高(M2)对藻密度的促进率在第 7 天达到最大值 20.19%, 对叶绿素  $a$  的促进率在第 5 天达到最大值 22.46%(图 1c)。 $p\text{CO}_2$  升高(M3)对藻密度和叶绿素  $a$  的抑制率均在第 13 天达到最大值, 分别为 58.87%和 39.90%(图 1d)。

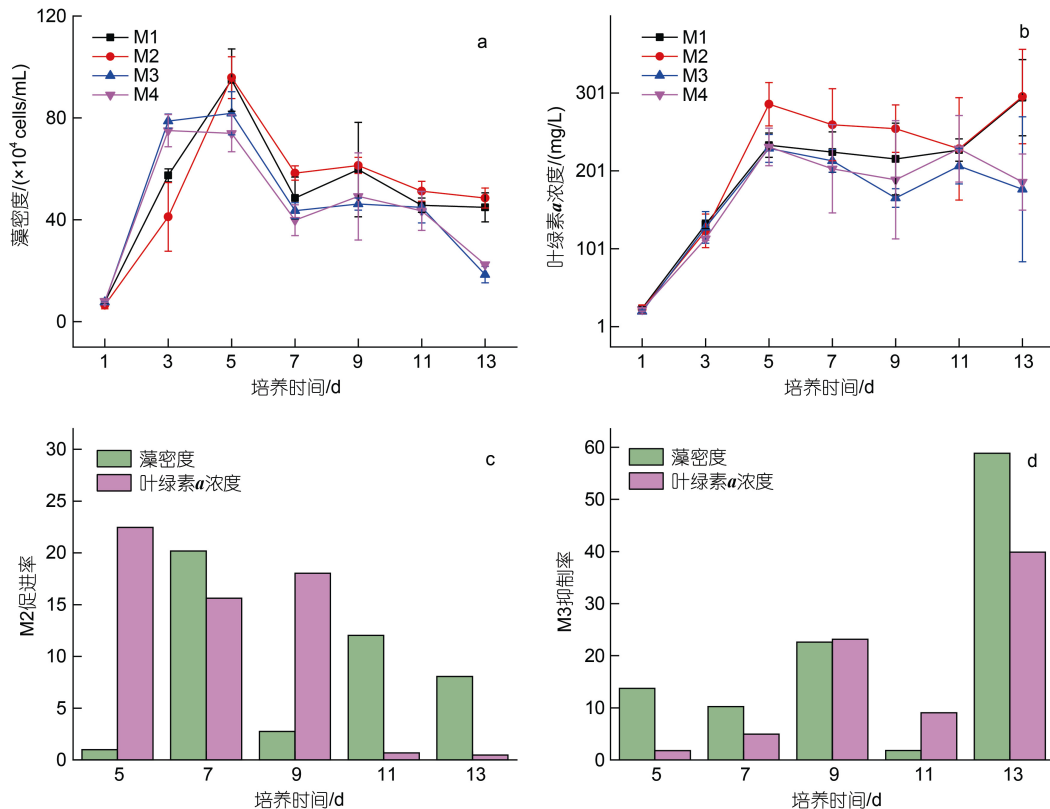


图 1 对照组(M1)以及实验组(M2~M4)中肋骨条藻藻密度(a)、叶绿素  $a$  浓度(b)、M2 促进率(c)和 M3 抑制率(d)随培养时间的变化

Fig.1 The change of density (a), chlorophyll  $a$  (b) in control group (M1) and experimental group (M2~M4), the promotion rate of M2 (c), the inhibition rate of M3 (d) with incubation time on *Skeletonema costatum*

#### 2.1.2 $F_v/F_m$ 的变化

如图 2 所示, 在不同培养条件下, 中肋骨条藻的初始  $F_v/F_m$  值相近(0.16~0.19), 在培养前 3 天迅速增加, 培养第 3 天出现  $F_v/F_m$  的峰值后开始降低, 至第 9 天出现  $F_v/F_m$  的最小值。温度

升高时,  $F_v/F_m$  增加, 在第 7 天增加了 37.86%。 $p\text{CO}_2$  升高后,  $F_v/F_m$  降低, 在第 11 天降低了 11.34%。由图 1d 可知,  $p\text{CO}_2$  升高后引起的海洋酸化会降低中肋骨条藻的藻密度, 由图 3 可知, 不同处理组,  $F_v/F_m$  与藻

密度之间存在显著正相关性( $R=0.689, P<0.01$ ), 表明  $p\text{CO}_2$  升高对微藻的生长和光合作用均产生不利影响。

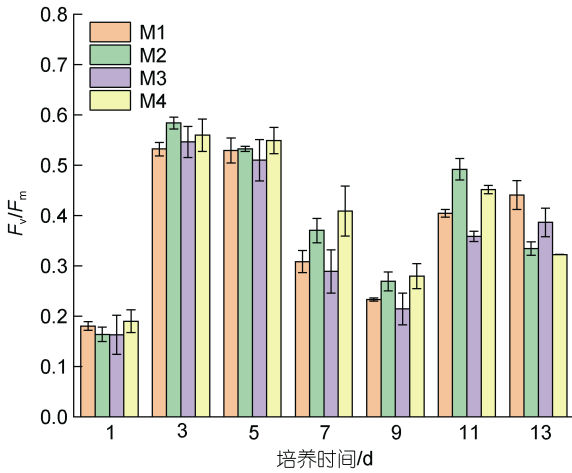


图2 对照组(M1)以及实验组(M2~M4)中肋骨条藻的  $F_v/F_m$  随培养时间的变化

Fig.2 The change of  $F_v/F_m$  in control group (M1) and experimental group (M2 ~ M4) with the incubation time on *Skeletonema costatum*

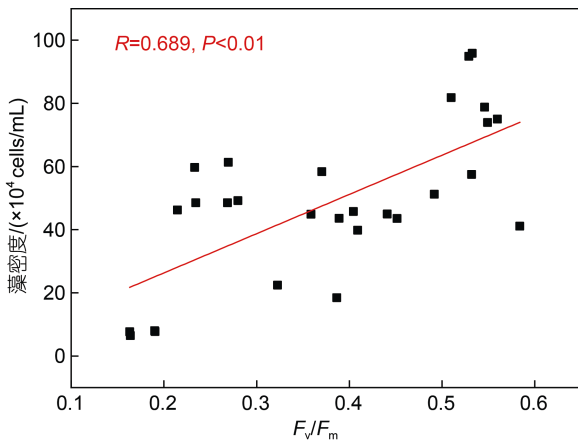


图3 中肋骨条藻藻液藻密度与  $F_v/F_m$  的相关性

Fig.3 Correlation between algal density and  $F_v/F_m$  on *Skeletonema costatum*

**2.1.3 ROS 的变化** 如图4所示, 培养第1天藻细胞内 ROS 值较高, 在第3~5天后有所降低, 在第7天和第11天出现 ROS 峰值。培养前3天, 与 M1 相比, M2 组的 ROS 显著增加, 在第1天增加了 70.64%, 在培养第5天后低于对照组 M1; 而 M3 组 ROS 的产生降低, 在第11天降低了 22.64%。上述结果表明温度和  $p\text{CO}_2$  的改变均会影响藻细胞体内的 ROS 含量。

**2.2 VHCs 释放的变化**

**2.2.1 温度对 VHCs 释放的影响** 对照组 M1 在培养的前 7 天,  $\text{CHBr}_3$  释放量缓慢增加(图 5a), M2 组

$\text{CHBr}_3$  释放量略有降低, 培养 7 天后,  $\text{CHBr}_3$  释放量显著增加; M2 组  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  释放量前 7 天缓慢增加后降低, 均在第 7 天出现最小值(图 5b), 而对对照组 M1 在第 7 天出现极大值。 $\text{CHBrCl}_2$  的释放量显著高于  $\text{CHBr}_3$  和  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ , 且随培养时间变化呈现 M 形; 温度升高导致  $\text{CHBr}_3$  和  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  释放量峰值提前。通过比较 3 种三卤代甲烷的总释放量发现(图 5d, 5e, 5f), 高温组 M2 显著增加  $\text{CHBr}_3$ 、 $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  的总释放量, 分别增加了 10.55%、9.45%和 12.18%。

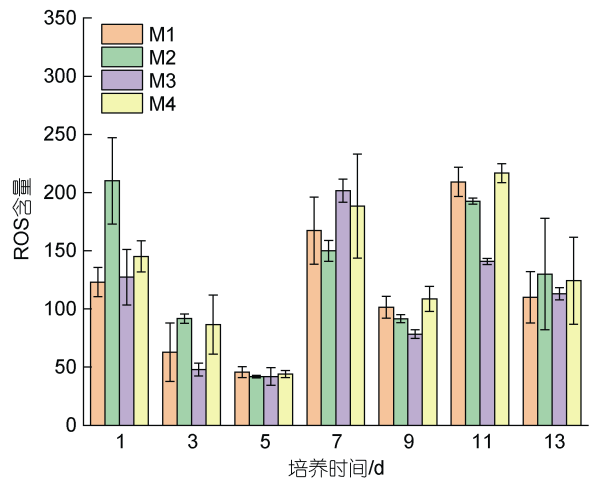


图4 对照组(M1)以及实验组(M2~M4)中肋骨条藻的 ROS 含量随培养时间的变化

Fig.4 The change of ROS in control group (M1) and experimental group (M2~M4) with incubation time on *Skeletonema costatum*

**2.2.2  $p\text{CO}_2$  对 VHCs 释放的影响**  $\text{CHBr}_3$ 、 $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  释放量在前 5 天缓慢增长(图 5a, 5b, 5c), 与对照组 M1 相比, M3 组对  $\text{CHBr}_3$  释放量的影响不明显,  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  释放量显著升高; 培养 5 天后, M3 组显著降低了  $\text{CHBr}_3$ 、 $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  的释放; 其释放量峰值均在第 11 天出现。 $\text{CHBrCl}_2$  的释放量随培养时间变化为 M 形, 而  $\text{CHBr}_3$  和  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  为单峰。通过比较 3 种三卤代甲烷的总释放量发现(图 5d, 5e, 5f), M3 组显著降低了  $\text{CHBr}_3$  和  $\text{CHBrCl}_2$  的总释放量, 分别降低了 19.29%和 30.80%, 而对  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  总释放量没有显著影响。

**2.2.3 温度和  $p\text{CO}_2$  的交互作用对 VHCs 释放的影响** 培养前 5 天, 与对照组 M1 相比, 温度和  $p\text{CO}_2$  同时升高(M4)对  $\text{CHBr}_3$  释放的影响并不明显(图 5a), 却显著促进了  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  的释放(图 5b, 5c); 在培养后 5 天, M4 组显著促进了 3 种三卤代甲烷的释放(图 5a, 5b, 5c), 且释放量峰值均出现在第 11 天,

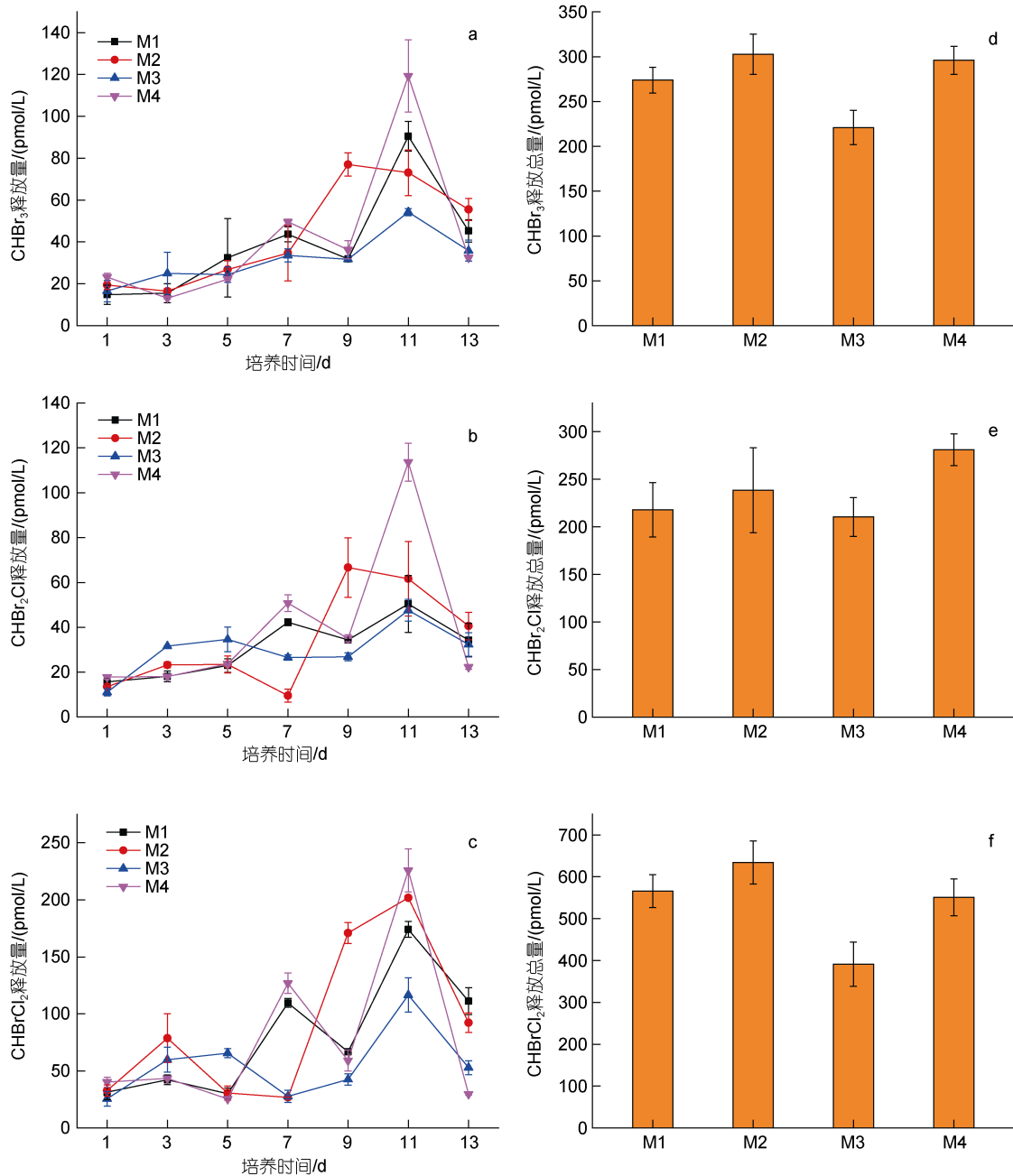


图5 对照组(M1)以及实验组(M2~M4)中肋骨条藻  $\text{CHBr}_3$  (a)、 $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  (b)、 $\text{CHBrCl}_2$  (c)浓度随培养时间的变化及  $\text{CHBr}_3$ 、 $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ 、 $\text{CHBrCl}_2$ 的释放总量(d, e, f)

Fig.5 Changes of  $\text{CHBr}_3$  (a),  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  (b), and  $\text{CHBrCl}_2$  (c) released by *Skeletonema costatum* in the control group (M1) and experimental groups (M2~M4) with the incubation time and the total released amount of  $\text{CHBr}_3$  (d),  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  (e), and  $\text{CHBrCl}_2$  (f)

$\text{CHBr}_3$ 、 $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  的总释放量分别增加了 8.06%、29.02%和 2.57%。

### 3 讨论

#### 3.1 温度和 $p\text{CO}_2$ 对微藻生物量和生理参数的影响

3.1.1 温度和  $p\text{CO}_2$  对藻密度和叶绿素  $a$  浓度的影响 温度升高时, 中肋骨条藻的藻密度和叶绿素  $a$

均增加, 而  $p\text{CO}_2$  升高时, 中肋骨条藻的藻密度和叶绿素  $a$  浓度均降低(图 1)。已有研究证实中肋骨条藻在温度由  $10^\circ\text{C}$  升高到  $15^\circ\text{C}$  后, 会导致叶绿素  $a$  浓度明显增加, 而不同  $p\text{CO}_2$  在不同时期对叶绿素  $a$  浓度的影响并不显著(Bénard *et al.*, 2019)。在  $p\text{CO}_2$  升高时, 典型硅藻旋链角毛藻藻密度和叶绿素  $a$  浓度均会显著降低, 与本研究结论一致(于海潮等, 2020)。此外,

由于微藻生长对温度和  $p\text{CO}_2$  等气候变化十分敏感, 其生长代谢酶的活性、碳吸收的光合作用和其他代谢过程均会受到温度和  $p\text{CO}_2$  的影响(Li *et al.*, 2020), 因此, 不同微藻的最佳生长温度和  $p\text{CO}_2$  条件具有物种特异性, 也受不同培养条件的影响。

**3.1.2 温度和  $p\text{CO}_2$  对  $F_v/F_m$  的影响** 温度升高时, 中肋骨条藻  $F_v/F_m$  增加, 而  $p\text{CO}_2$  升高时, 中肋骨条藻的  $F_v/F_m$  降低(图 2)。 $F_v/F_m$  是光反应中心(PSII)活性的重要指示, 能够反映温度和  $p\text{CO}_2$  变化对中肋骨条藻光合作用的影响, 当微藻在适宜的环境中生长,  $F_v/F_m$  会逐渐达到最大值(Lang *et al.*, 2022)。Keng 等(2021)的研究发现, 4 种热带海藻的  $F_v/F_m$  随着温度由 20 °C 升高到 25 °C 而增加, 并在适应生长条件后有所降低, 与本研究结果一致, 而在其温度升高到 40 °C 后,  $F_v/F_m$  下降了 90%, 表明光合作用严重受损。因此, 我们推测相较于 20 °C, 25 °C 时中肋骨条藻的光合作用增强。此外, Mithoo-Singh 等(2017)的研究表明,  $p\text{CO}_2$  升高会降低特定的褐藻的  $F_v/F_m$ , 与本文研究结果一致, 表明由  $p\text{CO}_2$  升高引起的海水酸化对微藻的光合作用产生了不利影响。

**3.1.3 温度和  $p\text{CO}_2$  对 ROS 的影响** 温度升高会增加指数期中肋骨条藻藻细胞内的 ROS (图 4)。随微藻生长逐步适应温度的升高, 其 ROS 水平降低。这些结果表明外界环境胁迫会促使藻细胞 ROS 的变化(Lang *et al.*, 2022)。García-Gómez 等(2014)的研究发现  $p\text{CO}_2$  改变会影响微藻的 ROS, 当  $p\text{CO}_2$  升高, ROS 降低。此外, 藻细胞内的 ROS 与  $F_v/F_m$  有关,  $F_v/F_m$  增加后微藻的光合活性增加, 进而产生更多的氧化应激

(Dummermuth *et al.*, 2003)。因此, 微藻生长对温度升高具有一个适应过程, 会通过增加微藻的  $F_v/F_m$  来增加微藻的光合作用, 进而在藻细胞内产生更多的 ROS。

### 3.2 温度和 $p\text{CO}_2$ 对 VHCs 的影响

**3.2.1 温度对 VHCs 的影响** 温度升高后, 3 种 VHCs 释放量均增加且释放量峰值提前(图 5)。这与文献报道的结果类似, 已有研究证明  $\text{CHBr}_3$  释放量随温度升高而增加(Borlongan *et al.*, 2017)。温度升高会增加南极微藻  $\text{CHBr}_3$  的产量(Laturnus *et al.*, 2000)<sup>300</sup>。温度从 12 °C 提高到 17 °C, 绿藻(*Enteromorpha intestinalis*)  $\text{CHBr}_3$  的释放量增加了两倍左右(Abrahamsson *et al.*, 2003)<sup>727</sup>。微藻 VHCs 释放量与藻细胞的生长阶段有关(Lim *et al.*, 2018), 前 5 天微藻处于指数增长期时, 藻密度和叶绿素 *a* 浓度增加(图 1), 此时 VHCs 释放总量略有增加(图 5), 叶绿素 *a* 浓度与  $\text{CHBr}_3$ 、 $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  的释放量呈现显著正相关( $R=0.396\sim 0.507$ ,  $P<0.05$ )(图 6)。此外, 温度的改变会诱导微藻细胞产生大量 ROS, 其主成分之一的  $\text{H}_2\text{O}_2$  通过催化反应激活过氧化物酶的活性, 促进 VHCs 产生(Dietz, 2016)。在培养前 5 天, 温度升高会使藻细胞产生显著的氧化应激反应, 导致 ROS 在藻细胞中累积(图 4), 虽然这一时期藻密度不高(图 1a), 但 VHCs 释放量稍有增加。培养第 7~11 天, 微藻适应了温度的升高, 因此 ROS 值明显低于对照组。在培养的第 11 天, ROS 出现峰值, 导致 VHCs 释放量出现峰值。总体而言, 温度可以通过影响藻细胞的生长、氧化应激、光合效能等影响 VHCs 的产生和释放。温度对海洋微藻产生 VHCs 的影响机制十分复杂, 有待进一步探究。

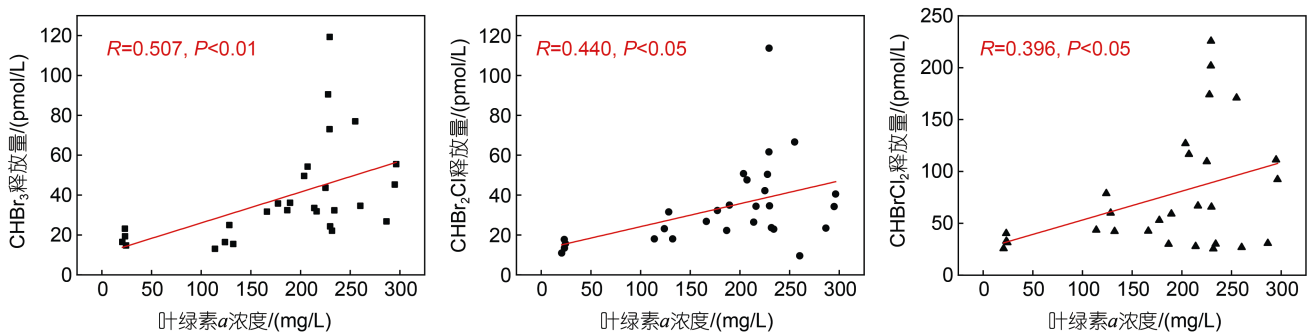


图 6 中肋骨条藻叶绿素 *a* 浓度与  $\text{CHBr}_3$ 、 $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  的相关性  
Fig. 6 Correlation of chl *a* to  $\text{CHBr}_3$ ,  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ , and  $\text{CHBrCl}_2$  on *Skeletonema costatum*

**3.2.2  $p\text{CO}_2$  对 VHCs 的影响**  $p\text{CO}_2$  升高促进微藻指数期的 VHCs 释放, 抑制微藻稳定期的 VHCs 释放, 对总释放量起抑制作用(图 5)。已有研究指出海水 pH 值由 8.0 降低到 7.2,  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ 、 $\text{CHBrCl}_2$  和  $\text{CHBr}_3$  的

释放量降低(Mithoo-Singh *et al.*, 2017)。Mtolera 等(1996)的研究指出, 海水 pH 值降低使  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  的释放量减少; 此外, Hopkins 等(2013)在北极地区进行的围隔实验指出, 升高  $p\text{CO}_2$  对 VHCs 的



影响不大,但其室内培养实验结果表明,升高  $p\text{CO}_2$ ,  $\text{CHBr}_3$  释放量增加(Hopkins *et al.*, 2013); Webb 等(2016)在波罗的海的围隔实验也指出  $p\text{CO}_2$  升高对  $\text{CHBr}_3$  和  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  的释放量没有影响。以上研究结果的不同,可能由于研究不同海域、不同季节均会对实验结果产生不同的影响。另外,不同藻类对环境变化和氧化应激的耐受和适应能力不同(Laturnus *et al.*, 2000),也会导致实验结果的差异。由图 1 可知,培养前 5 天,  $p\text{CO}_2$  升高时,藻密度略有升高,此时 VHCs 释放量增加,表明 VHCs 的释放量与生物量有关(倪洁等, 2020)<sup>122</sup>; 而培养 5 天后,  $p\text{CO}_2$  升高时,藻密度降低,生物量减少, VHCs 释放量减少。此外,  $p\text{CO}_2$  升高会降低微藻的  $F_v/F_m$  (图 2), 同时结合  $F_v/F_m$  与藻密度之间的显著正相关性(图 3), 推测  $p\text{CO}_2$  升高对微藻的生长和光合作用均产生不利影响,进而抑制了 VHCs 的释放。已有研究表明,  $p\text{CO}_2$  升高后,会影响藻细胞对无机碳的获取,进而改变其生长速率(Li *et al.*, 2018)。此外,细胞代谢酶的反应速率依赖于 pH 值,因此偏离最佳 pH 值可能会削弱细胞功能(Hinga, 2002)。酸化还会引起海水化学性质的改变,影响金属吸附相和溶解相之间平衡,进而导致微量金属的在海水中的组分发生变化,并增加铜等元素的毒性(Granéli *et al.*, 1993)。因此,酸化可能通过多种机制对藻细胞产生负面影响,进而抑制了 VHCs 的释放。

**3.2.3 温度和  $p\text{CO}_2$  的交互作用对 VHCs 的影响**  $p\text{CO}_2$  升高会抑制 3 种 VHCs 的释放,酸化基础上升高  $5\text{ }^\circ\text{C}$ , 将促进 VHCs 的释放,温度对 VHCs 的促进作用高于  $p\text{CO}_2$  的抑制作用(图 5)。温度和  $p\text{CO}_2$  胁迫通过直接或间接的方式影响了藻细胞的光合作用、酶的活性,进而影响了 VHCs 的释放。已有研究证明温度和  $p\text{CO}_2$  交互作用下,温度对硅藻生长的影响更显著(Feng *et al.*, 2008)<sup>95</sup>, Olischläger 等(2013)的报道指出预测的海洋酸化水平可能会加剧升温对微藻生长和光合作用的影响。与  $p\text{CO}_2$  升高相比,温度和  $p\text{CO}_2$  同时升高促进了  $F_v/F_m$  的增加(图 3)和 ROS 的产生(图 4)。这说明在温度和  $p\text{CO}_2$  的交互作用下, VHCs 释放主要受藻细胞生理状态如微藻的生长、ROS 和光合活性的影响。ROS 增加后由卤过氧化物酶催化  $\text{H}_2\text{O}_2$  进行卤化反应产生抗氧化应激的 VHCs,  $F_v/F_m$  的增加表明微藻的光合活性增加,导致 VHCs 释放量增加。综上所述,温度和  $p\text{CO}_2$  同时升高对中肋骨条藻 VHCs 释放产生了协同效应,进一步加剧了温室气体 VHCs 的释放。关于温度和  $p\text{CO}_2$  的交互作用对 VHCs 释放的影响还需要进一步的探究。

## 4 结论

(1) 温度升高促进中肋骨条藻 VHCs 的释放,与对照组  $T=20\text{ }^\circ\text{C}$  相比,  $25\text{ }^\circ\text{C}$  时  $\text{CHBr}_3$ 、 $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  的释放量分别增加了 10.55%、9.45% 和 12.18%; 温度升高时,指数期中肋骨条藻的  $F_v/F_m$  和 ROS 均增加,表明温度升高通过促进微藻的光合作用产生更多的氧化应激,进而促进 VHCs 的释放。

(2)  $p\text{CO}_2$  升高抑制中肋骨条藻 VHCs 的释放,与对照组  $p\text{CO}_2=395\text{ mg/L}$  相比,  $p\text{CO}_2=790\text{ mg/L}$  时  $\text{CHBr}_3$  和  $\text{CHBrCl}_2$  释放量的抑制率分别高达 19.29% 和 30.80%;  $p\text{CO}_2$  升高时,藻密度、叶绿素  $a$  浓度和  $F_v/F_m$  均会降低,且叶绿素  $a$  浓度与  $F_v/F_m$  存在显著相关性( $R=0.689$ ,  $P<0.01$ ),表明由  $p\text{CO}_2$  升高引起的海水酸化通过抑制微藻的生长和光合作用,进而抑制 VHCs 的释放。

(3) 温度和  $p\text{CO}_2$  同时升高促进中肋骨条藻 VHCs 的释放,与对照组相比,  $T=25\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $p\text{CO}_2=790\text{ mg/L}$  时  $\text{CHBr}_3$ 、 $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  和  $\text{CHBrCl}_2$  释放的促进率分别为 8.06%、29.02% 和 2.57%,这进一步表明,温度和  $p\text{CO}_2$  同时升高对中肋骨条藻 VHCs 释放产生了协同效应,进一步加剧了温室气体 VHCs 的释放。

## 参 考 文 献

- 于海潮, 张洪海, 高旭旭, 等, 2020. 温度和 pH 变化对旋链角毛藻生长及释放二甲基硫化物的影响[J]. 中国海洋大学学报, 50(7): 94-100.
- 倪洁, 刘珊珊, 陈妍, 等, 2020. 光照和硝酸盐浓度对东海原甲藻和三角褐指藻释放挥发性卤代烃的影响[J]. 海洋学报, 42(12): 119-128.
- 徐军田, 高坤山, 2010. 二氧化碳和阳光紫外辐射对龙须菜生长和光合生理的影响[J]. 海洋学报, 32(5): 144-151.
- 霍文毅, 俞志明, 邹景忠, 等, 2001. 胶州湾中肋骨条藻赤潮与环境因子的关系[J]. 海洋与湖沼, 32(3): 311-318.
- ABRAHAMSSON K, BERTILSSON S, CHERICI M, *et al.*, 2004. Variations of biochemical parameters along a transect in the Southern Ocean, with special emphasis on volatile halogenated organic compounds [J]. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 51(22/23/24): 2745-2756.
- ABRAHAMSSON K, CHOO K S, PEDERSÉN M, *et al.*, 2003. Effects of temperature on the production of hydrogen peroxide and volatile halocarbons by brackish-water algae [J]. Phytochemistry, 64(3): 725-734.
- BÉNARD R, LEVASSEUR M, SCARRATT M, *et al.*, 2019. Contrasting effects of acidification and warming on dimethylsulfide concentrations during a temperate estuarine fall bloom mesocosm experiment [J]. Biogeosciences, 16(6): 1167-1185.
- BORLONGAN I A G, GERUNG G S, NISHIHARA G N, *et al.*,

2017. Light and temperature effects on photosynthetic activity of *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* (brown and green color morphotypes) from Sulawesi Utara, Indonesia [J]. *Phycological Research*, 65(1): 69-79.
- BRODIE J, WILLIAMSON C J, SMALE D A, *et al*, 2014. The future of the northeast Atlantic benthic flora in a high CO<sub>2</sub> world [J]. *Ecology and Evolution*, 4(13): 2787-2798.
- CARPENTER L J, LISS P S, 2000. On temperate sources of bromoform and other reactive organic bromine gases [J]. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 105(D16): 20539-20547.
- CINCINELLI A, PIERI F, ZHANG Y, *et al*, 2012. Compound Specific Isotope Analysis (CSIA) for chlorine and bromine: a review of techniques and applications to elucidate environmental sources and processes [J]. *Environmental Pollution*, 169: 112-127.
- DIETZ K J, 2016. Thiol-based peroxidases and ascorbate peroxidases: why plants rely on multiple peroxidase systems in the photosynthesizing chloroplast? [J]. *Molecules and Cells*, 39(1): 20-25.
- DUMMERMUTH A L, KARSTEN U, FISCH K M, *et al*, 2003. Responses of marine macroalgae to hydrogen-peroxide stress [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 289(1): 103-121.
- FALKOWSKI P G, KATZ M E, KNOLL A H, *et al*, 2004. The evolution of modern eukaryotic phytoplankton [J]. *Science*, 305(5682): 354-360.
- FENG Y Y, WARNER M E, ZHANG Y H, *et al*, 2008. Interactive effects of increased pCO<sub>2</sub>, temperature and irradiance on the marine coccolithophore *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae) [J]. *European Journal of Phycology*, 43(1): 87-98.
- GARCÍA-GÓMEZ C, GORDILLO F J L, PALMA A, *et al*, 2014. Elevated CO<sub>2</sub> alleviates high PAR and UV stress in the unicellular chlorophyte *Dunaliella tertiolecta* [J]. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 13(9): 1347-1358.
- GRANÉLI E, HARALDSSON C, 1993. Can increased leaching of trace metals from acidified areas influence phytoplankton growth in coastal waters? [J]. *Ambio*, 22(5): 308-311.
- GU X Y, LI K Q, PANG K, *et al*, 2017. Effects of pH on the growth and NH<sub>4</sub>-N uptake of *Skeletonema costatum* and *Nitzschia closterium* [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 124(2): 946-952.
- HANSEN J, SATO M, RUEDY R, *et al*, 2006. Global temperature change [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(39): 14288-14293.
- HINGA K R, 2002. Effects of pH on coastal marine phytoplankton [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 238: 281-300.
- HOPKINS F E, KIMMANCE S A, STEPHENS J A, *et al*, 2013. Response of halocarbons to ocean acidification in the Arctic [J]. *Biogeosciences*, 10(4): 2331-2345.
- HUGHES C, JOHNSON M, UTTING R, *et al*, 2013. Microbial control of bromocarbon concentrations in coastal waters of the western Antarctic Peninsula [J]. *Marine Chemistry*, 151: 35-46.
- HUGHES C, SUN S, 2016. Light and brominating activity in two species of marine diatom [J]. *Marine Chemistry*, 181: 1-9.
- JIA Y, TEGTMEIER S, ATLAS E, *et al*, 2019. How marine emissions of bromoform impact the remote atmosphere [J]. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 19(17): 11089-11103.
- KENG F S L, PHANG S M, ABD RAHMAN N, *et al*, 2021. Halocarbon emissions by selected tropical seaweeds exposed to different temperatures [J]. *Phytochemistry*, 190: 112869.
- LANG X P, NI J, HE Z, 2022. Effects of polystyrene microplastic on the growth and volatile halocarbons release of microalgae *Phaeodactylum tricornerutum* [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 174: 113197.
- LATURNUS F, GIESE B, WIENCKE C, *et al*, 2000. Low-molecular-weight organoiodine and organobromine compounds released by polar macroalgae—The influence of abiotic factors [J]. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 368(2/3): 297-302.
- LI P F, YANG G P, LIU C Y, 2020. Combined effects of elevated temperature and pCO<sub>2</sub> on the production of DMSP and DMS in the culture of *Amphidinium carterae* [J]. *Journal of Applied Phycology*, 32(2): 1063-1074.
- LI P F, YANG G P, ZHANG J, *et al*, 2018. Impacts of elevated pCO<sub>2</sub> on trace gas emissions in two microalgae: *Phaeocystis globosa* and *Nitzschia closterium* [J]. *Environmental Chemistry*, 14(7): 425-441.
- LIM Y K, PHANG S M, ABDUL RAHMAN N, *et al*, 2017. Halocarbon emissions from marine phytoplankton and climate change [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14(6): 1355-1370.
- LIM Y K, PHANG S M, STURGES W T, *et al*, 2018. Emission of short-lived halocarbons by three common tropical marine microalgae during batch culture [J]. *Journal of Applied Phycology*, 30(1): 341-353.
- MITHOO-SINGH P K, KENG F S L, PHANG S M, *et al*, 2017. Halocarbon emissions by selected tropical seaweeds: species-specific and compound-specific responses under changing pH [J]. *PeerJ*, 5: e2918.
- MTOLERA M S P, COLLÉN J, PEDERSÉN M, *et al*, 1996. Stress-induced production of volatile halogenated organic compounds in *Eucheuma denticulatum* (Rhodophyta) caused by elevated pH and high light intensities [J]. *European Journal of Phycology*, 31(1): 89-95.
- OLISCHLÄGER M, WIENCKE C, 2013. Ocean acidification alleviates low-temperature effects on growth and photosynthesis of the red alga *Neosiphonia harveyi* (Rhodophyta) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 64(18): 5587-5597.
- PASSOW U, ALLDREDGE A L, LOGAN B E, 1994. The role of particulate carbohydrate exudates in the flocculation of diatom blooms [J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 41(2): 335-357.
- SCARRATT M G, MOORE R M, 1996. Production of methyl chloride and methyl bromide in laboratory cultures of marine phytoplankton [J]. *Marine Chemistry*, 54(3/4): 263-272.
- STOCKER T F, QIN D, PLATTNER G K, *et al*, 2014. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis*. Working Group I



- to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [M]. Cambridge, UK: Cambridge University Press: 1-1552.
- WAYNE R P, POULET G, BIGGS P, *et al*, 1995. Halogen oxides: radicals, sources and reservoirs in the laboratory and in the atmosphere [J]. *Atmospheric Environment*, 29(20): 2677-2881.
- WEBB A L, LEEDHAM-ELVIDGE E, HUGHES C, *et al*, 2016. Effect of ocean acidification and elevated  $f\text{CO}_2$  on trace gas production by a Baltic Sea summer phytoplankton community [J]. *Biogeosciences*, 13(15): 4595-4613.
- WOLF-GLADROW D A, RIEBESELL U, BURKHARDT S, *et al*, 1999. Direct effects of  $\text{CO}_2$  concentration on growth and isotopic composition of marine plankton [J]. *Tellus B: Chemical and Physical Meteorology*, 51(2): 461-476.
- YUAN D, YANG G P, HE Z, 2016. Spatio-temporal distributions of chlorofluorocarbons and methyl iodide in the Changjiang (Yangtze River) estuary and its adjacent marine area [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 103(1/2): 247-259.

## EFFECTS OF TEMPERATURE AND $p\text{CO}_2$ CHANGES ON THE RELEASE OF VOLATILE HALOCARBON FROM *SKELETONEMA COSTATUM*

YIN Li-Jing<sup>1</sup>, YANG Bin<sup>2</sup>, YU Hong<sup>1</sup>, YANG Gui-Peng<sup>1</sup>, HE Zhen<sup>1</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Marine Disaster in the Beibu Gulf, Beibu Gulf University, Qinzhou 535011, China)

**Abstract** Volatile halocarbons (VHCs) are important ozone layer destroyers and environmental pollutants in the atmosphere. As an important source of atmospheric VHCs, ocean plays an important role in regulating global climate. We conducted an experiment to simulate this process in combination of 20 °C and 25 °C vs partial pressure of  $\text{CO}_2$  ( $p\text{CO}_2$ ) of 395 mg/L and 790 mg/L to understand the effects of elevated temperature and  $p\text{CO}_2$  on the growth and release of VHCs from *Skeletonema costatum*. Results show that when  $p\text{CO}_2=395$  mg/L at 25 °C, the growth of *S. costatum* was the best and when  $p\text{CO}_2=790$  mg/L at 20 °C, the growth was the worst. With the increase of temperature, the average concentration of  $\text{CHBr}_3$ ,  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ , and  $\text{CHBrCl}_2$  was increased by 10.55%, 9.45%, and 12.18%, respectively. With the increase of  $p\text{CO}_2$ , the average concentration of  $\text{CHBr}_3$  and  $\text{CHBrCl}_2$  was decreased by 19.29% and 30.80%, respectively. When temperature and  $p\text{CO}_2$  were increased at the same time, the mean concentrations of  $\text{CHBr}_3$  and  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$  were increased by 8.06% and 29.02%, respectively. This result further indicated that the simultaneous increase of temperature and  $p\text{CO}_2$  had a synergistic effect on the release of VHCs from the algae, which further aggravated the release of greenhouse gas VHCs.

**Key words** climate change; volatile halocarbons; *Skeletonema costatum*