

Liu Z X, Zhu Y Q, Wang Z T, *et al.* Interaction between high temperature and nutrient restriction on growth, physiology, and gene expression of *Phaeodactylum tricornutum* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2025, 49(10): 102513. [刘泽西, 朱月琦, 王梓滕, 等. 高温与营养盐限制交互作用对三角褐指藻生长、生理及基因表达的影响 [J]. 水生生物学报, 2025, 49(10): 102513.]

高温与营养盐限制交互作用对三角褐指藻生长、生理及基因表达的影响

刘泽西 朱月琦 王梓滕 王鑫威 姜海波

(宁波大学海洋学院, 宁波 315211)

摘要: 为探讨升温与营养盐限的交互作用对硅藻的影响, 研究以海洋模式硅藻——三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)为研究材料, 测定了不同温度和营养盐浓度条件下藻细胞的生长、生理指标及营养盐限制标记基因的表达情况。结果显示, 升温会加剧氮、磷营养盐缺乏对藻细胞生长的影响, 而减轻铁限制效应。基因转录表达差异进一步验证了升温与大量元素(氮、磷)及微量元素(铁)限制效应交互作用的区别。研究结果揭示了海洋硅藻对升温与营养盐限制交互作用的生理响应并非一致, 在全球变暖背景下, 升温可能会加强海洋硅藻的氮、磷限制, 但减轻海洋硅藻的铁限制, 从而影响不同海域初级生产力的变化趋势。

关键词: 升温; 营养盐限制; 交互作用; 三角褐指藻; 生理响应; 基因表达

中图分类号: Q948.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2025)10-102513-11

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0035 **CSTR:** 32229.14.SSSWXB.2025.0035



硅藻(Diatom)是海洋浮游植物群落的重要组成部分, 是当代海洋中分布最为广泛的初级生产者之一, 它通过光能驱动光合作用将海洋无机碳转化为有机碳, 贡献了海洋中约40%的生物固碳量^[1,2]。然而, 其生长和生物量的积累受到多种环境因素的制约, 例如温度、光照强度、营养盐等等。其中, 营养盐生物可利用性的缺乏限制了当今海洋大部分海域硅藻的生长^[3], 特别是在一些开阔的寡营养海域, 海洋表层的无机氮(N)、磷(P)、铁(Fe)等营养元素含量极低, 是制约海洋初级生产力的关键因子^[4-7]。研究表明, 在低氮环境下, 中心纲硅藻假微型海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)和斑点海链藻(*Thalassiosira punctigera*)的生长会受到显著抑制^[8]。同样, 氮和磷元素的缺乏, 会大幅降低羽纹纲硅藻三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)的生长速率和光合作用效率, 同时诱导其三酰甘油的积累以及膜脂质的重塑^[9]。而铁元素的限制, 主要对硅藻的光合

电子传递效率和呼吸电子传递效率及叶绿素积累等生理过程产生影响, 进而抑制其生长和生物量^[10]。另一方面, 全球变暖日益加剧, 预计到20世纪末, 平均海面温度将增加2.6—4.8℃^[11]。温度的升高会对硅藻产生一系列影响, 特别是当升温引起环境温度超过硅藻最适温度时, 会明显降低硅藻的生长速率和光合效率, 同时增强色素积累和氮代谢进程^[12,13]。

海水温度的升高影响了海洋中的一系列物理、化学变化, 随着海水变暖, 海洋中的物质循环和能量流动发生改变, 升温加剧了海洋层化现象, 进而减少了深层营养的垂直混合, 导致表层营养限制加剧^[14]; 与此同时, 由于大气沉降现象, 海洋中氮和铁的供应也发生了剧烈变化^[15,16], 这些变化对海洋生态系统的化学组成和生物地球化学循环产生了不可忽视的影响。相比于简单的、单一的环境因子对生物的影响, 多个因素产生的交互作用往往更为复杂、难测^[17]。目前已知氮、磷、铁是海洋

收稿日期: 2025-02-11; 修订日期: 2025-03-20

基金项目: 国家自然科学基金(42206083和U24A20610)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (42206083 and U24A20610)]

作者简介: 刘泽西(2000—), 女, 在读硕士研究生; 主要从事海洋藻类生理生态学和分子生物学。E-mail: 19857892686@163.com

通信作者: 王鑫威(1989—), 男, 博士, 助理研究员; 主要从事海洋藻类生理生态学和分子生物学。E-mail: wangxinwei@nbu.edu.cn

初级生产力的主要限制性营养元素, 在全球变暖背景下, 它们对海洋初级生产的限制效应会加强或减轻尚未得到明确的答案。然而, 海洋变暖会影响浮游生物和营养水平之间的耦合, 这种海洋升温与营养盐的生物可利用性之间的强烈交互作用对于浮游植物的生长及其驱动的海洋初级生产力具有深远的影响^[18, 19]。有研究表明, 对于分布于热带海域的固氮蓝藻-瓦氏鳕球藻(*Crocospheera watsonii*)和束毛藻(*Trichodesmium*), 高温能够显著减轻其铁限制作用, 促进其在铁限制条件下的生物量、固氮作用以及铁使用效率^[20, 21]。另一方面, 对于南大洋硅藻的研究也发现类似的现象, 升温可以降低拟菱形藻(*Pseudo-nitzschia*)和拟脆杆藻(*Fragilariopsis*)对铁元素的需求并提高铁吸收速率, 研究结果表明温度和铁限制交互作用可以提高南大洋海洋硅藻的初级生产力^[12, 22]。与之相反的, 升温与营养盐限制交互作用对聚球藻(*Synechococcus*)的生长及生理具有负面作用^[23]。综上, 温度升高与营养盐限制可能具有不同的交互作用, 不同营养盐限制与升温的交互作用可能产生不同的影响效果。由于不同营养元素在浮游植物细胞中的分布、生理功能以及温度依赖性存在差异, 它们的限制效应在升温后可能发生显著变化。以往的研究来自不同的藻株对营养元素限制与温度交互作用的独立研究, 培养条件和藻株未保持一致, 因此缺乏可对比性。目前尚缺乏针对某一种海洋浮游植物对不同营养盐限制与升温交互作用的长期、直接对比研究, 同时也缺乏交互作用潜在分子生物学机制方面的研究。

因此, 为了厘清营养盐限制在全球变暖背景下对海洋初级生产力的影响变化趋势, 本研究以模式海洋硅藻-三角褐指藻(*P. tricornutum*)为研究对象, 对比研究了长期升温与氮、磷、铁限制对该藻株的交互影响, 重点比较了氮、磷元素限制和铁元素限制与升温效应之间交互作用的区别以及潜在机制。研究结果将有助于揭示海洋硅藻在升温和营养盐限制条件下的响应策略, 为海洋硅藻在未来全球变暖和营养盐缺乏环境中的适应机制及海洋初级生产力的变化趋势提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 硅藻培养与实验设计

本研究使用的藻株是从西湖大学李小波实验室获得的无菌三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum* CCMP 2561), 使用Aquil*培养基^[24]进行三角褐指藻的培养研究。本实验设定22℃为三角褐指藻的正常生长温度, 26℃为高温胁迫温度, 分别在营

养盐丰富(300 μmol/L NaNO₃, 20 μmol/L NaH₂PO₄和1 μmol/L FeCl₃)、氮限制(45 μmol/L NaNO₃)、磷限制(2 μmol/L NaH₂PO₄)和铁限制(2 nmol/L FeCl₃)条件下培养三角褐指藻, 光照条件为80 μmol photons/(m²·s), 12h光照:12h黑暗的光暗比。为了使藻细胞尽快适应不同的温度与营养盐水平, 所有实验采用半连续培养方法, 本研究在不同处理条件下连续培养16个周期(以3d为1个培养周期), 各项生理指标的测定均在其生长速率趋于稳定时进行。

1.2 升温与营养盐限制下三角褐指藻生长速率的测定

在3d为1个周期的半连续培养中, 每天从各瓶中取1 mL藻液, 使用流式细胞仪(Beckman Coulter)进行细胞计数, 并根据公式: Growth rate (μ)=ln(D_n/D_0)/ n 计算生长速率。式中, D_n 代表第 n 天的细胞数浓度。 D_0 代表初始第0天的细胞数浓度, n 代表天数。

1.3 叶绿素荧光参数的测定

分别取3 mL培养至对数期的藻细胞, 用于光系统II最大光化学量子产量(F_v/F_m)、非光化学淬灭指数(NPQ)和快速光反应曲线(RLC)的测定。藻细胞暗适应处理20min, 用AquaPen-C AP-C 100手持式叶绿素荧光仪(Photon Systems Instruments, Brno, Czech Republic)直接测定 F_v/F_m 和NPQ; 使用RLC测定的ΦPS II等参数, 根据公式: rETR=ΦPS II × PAR × 0.5 × 0.84 计算藻细胞的相对电子传递速率^[25], 再使用Origin[®] 2022拟合每个样品的快色光反应曲线(RLC), 并根据公式计算特征参数: 相对最大电子传递速率 $rETR_{max}=P_s (\alpha/(\alpha+\beta))/(\beta/(\alpha+\beta))^{\beta/\alpha}$, 最小饱和照幅度 $E_k=rETR_{max}/\alpha$, 式中, P_s 为一个定义为最大潜在相对电子传递速率(rETR)的比例因子, α 为快速光曲线(RLC)上升阶段的初始斜率, β 为快速光曲线(RLC)下降阶段的最终斜率^[26]。

1.4 叶绿素a含量的测定

抽滤10 mL藻液于GF/F玻璃纤维过滤器(Whatman, Maidstone, UK)上, 并装入2 mL棕色离心管中, 加入1.8 mL甲醇, 在-80℃中静置24h。然后用涡旋振荡仪涡旋混匀30s, 4℃, 12000 r/min离心5min, 取800 μL上清液于微量比色皿中, 使用紫外-可见分光光度计(北京普析通用, TU-1810, 中国)分别在664.1和648.6 nm波长下测定其吸光值 $A_{664.1}$ 和 $A_{648.6}$ 。根据公式: Chl. a (μg/mL)= $13.36 \times A_{664.1} - 5.19 \times A_{648.6}$ 计算单位体积叶绿素a含量^[27], 再进一步均一化至单位细胞叶绿素a含量。

1.5 三角褐指藻总RNA提取、反转录与实时荧光定量RT-qPCR

取不少于 2×10^7 个细胞至灭菌的孔径为0.22 μm

的醋酸纤维素膜上,并在液氮中速冻,保存于 -80°C 冰箱中备用。总RNA的提取参照的是TRIzol法,提取后的RNA会使用超微量分光光度计进行浓度及纯度的检测,并进行电泳检测。然后将提取的RNA进行基因组DNA的消化去除,并使用*Evo M-MLV* RT Reaction Mix (艾科瑞生物)将纯RNA反转录为cDNA,用于后续RT-qPCR相对定量检测。

选择三角褐指藻的肌动蛋白基因 β -actin作为内参基因^[28,29],选择铵盐转运蛋白(*AMT1_I*)作为氮限制响应基因^[30],碱性磷酸酶(*APA*)为磷限制响应基因^[31],铁饥饿诱导蛋白(*ISIP2b*、*ISIP3*)、铁载体结合蛋白(*FBP*)和黄素氧还蛋白(*FLDA*)为铁限制响应基因^[10]。在NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov)上查找相关基因序列,并设计引物如表1所示。qPCR使用SYBR[®] Green Premix Pro Taq HS qPCR Kit (AG11701, 艾科瑞生物, 中国), 反应体系为20 μL , 反应条件: 95°C , 5s; 60°C , 30s; 40个循环。

1.6 数据统计与分析

以上实验设置3个重复,实验数据以平均值 $\pm$ 标准偏差表示,用OriginPro 2021进行绘图。采用IBM SPSS Statistics 24进行统计分析,包括Duncan多重范围检验、双因素方差分析、单变量方差分析以及独立样本 T 检验,以 $P<0.05$ 作为显著差异水平。

2 结果

2.1 高温与营养盐限制对三角褐指藻生长速率的影响

图1展示了三角褐指藻在不同温度及氮、磷和铁三种营养盐限制条件下的适应驯化过程以及生

长速率变化趋势。在最适温度(22°C)营养盐充足条件下,三角褐指藻呈现稳定的生长趋势,不同半连续生长周期的生长速率在 0.96 ± 0.09 到 1.12 ± 0.02 波动,平均生长速率为 $(1.03\pm 0.05)/\text{d}$ 。在高温(26°C)营养盐充足培养环境下,其生长速率呈下降趋势,从起始周期的 1.04 ± 0.01 下降到第11个周期(第33天)的 0.68 ± 0.02 ,从第12个周期(第36天)开始趋于稳定,平均生长速率为 $(0.80\pm 0.02)/\text{d}$ (图1A)。在高温驯化适应后,三角褐指藻的生长速率显著低于其在最适温度的生长速率($P<0.05$)。

不管是在最适温度还是高温条件下,三角褐指藻的生长速率均会受到铁限制的影响(图1B)。具体而言,最适温度+铁限制条件下藻细胞的生长速率在 $(0.97\pm 0.06)/\text{d}$ 波动,从第7个培养周期(第21天)开始急速下降,最后稳定在 $(0.83\pm 0.01)/\text{d}$ 。类似地,而高温+铁限制培养条件下的藻细胞在培养前期与最适温度条件下藻细胞的生长速率无显著差异($P>0.05$),7个培养周期(第21天)后其生长速率开始显著下降,并最终稳定于 $(0.79\pm 0.02)/\text{d}$,显著低于最适温度+铁限制条件下的生长速率。三角褐指藻在低铁环境下的适应驯化结果表明,不管是最适温度还是高温,铁限制对三角褐指藻生长的限制作用存在一定的滞后性。

与在铁限制条件下不同,三角褐指藻对氮限制和磷限制的响应更为迅速,尤其是在高温条件下,三角褐指藻的生长速率快速下降的趋势尤为明显(图1C和1D)。如图1C所示,两个温度下藻细胞的生长速率均在氮限制12d内急剧下降并开始趋于稳定,其中,最适温度的藻细胞其生长速率稳定在 $(0.35\pm 0.03)/\text{d}$,而高温条件下藻细胞的生长速率稳定在 $(0.18\pm 0.02)/\text{d}$ 。类似地,由图1D所示,在磷限制培养条件下,三角褐指藻的生长速率快速下降后趋于稳定,经48d的适应驯化,最适温度和高温条件下藻细胞的生长速率最终分别维持在 $(0.66\pm 0.03)/\text{d}$ 和 $(0.31\pm 0.01)/\text{d}$ 。以上实验结果表明,三角褐指藻对不同营养盐限制的响应模式及程度存在显著的差异。

2.2 高温与营养盐限制交互作用对三角褐指藻生长的影响

经过16个培养周期(48d)的适应驯化,不同温度和营养盐限制条件下三角褐指藻的稳定生长速率如图2所示。在营养盐丰富条件下,三角褐指藻在 22°C 和 26°C 条件下的生长速率分别为 (1.02 ± 0.00) 和 (0.79 ± 0.01) ,高温胁迫使三角褐指藻的生长速率降低约22.7%。在氮限制和磷限制条件下,高温相较于最适温度,三角褐指藻的生长速率分别下降了约50.5%和54.1%,下降幅度显著高于营养盐丰富生长

表1 实时荧光定量PCR引物信息

Tab. 1 RT-qPCR primer information

基因名称Gene name	引物序列Primer sequence (5'—3')
β -actin	CAACGTGCCTGCCATGTAC CCTTCGTAGATCGGCACAGT
<i>AMT1_I</i>	GTTGGATGCCTGTGGTGG GTGTAATCACGGAGCGCG
<i>APA</i>	TGGCCACCATAGCTTCCTTTGA ATTTGTGTTACCGCACCTACA
<i>ISIP2b</i>	TGCTTGAACGAAACCCAGGT TCACAACCACAGGGACCAAAA
<i>ISIP3</i>	AAAGTTCGCCAGCTGCATTG AATCGCCGCAAATGAGGTTG
<i>FBP</i>	TACCGTCATGCAGCCGAAAT TGGACGCAGGACATTCGAAA
<i>FLDA</i>	TTCGTCAGCGCACTACTGTT TTCGTCAGCGCACTACTGTT

条件下。相反地, 在铁限制条件下, 高温相较于最适温度, 三角褐指藻的生长速率下降了约6.5%, 显著低于营养盐丰富条件。值得注意的是, 22℃时铁限制使三角褐指藻生长速率降低18.0%, 而在26℃时, 三角褐指藻的生长速率在营养盐丰富和铁限制条件下没有显著差异($P>0.05$)。研究结果表明, 高温加剧了氮限制和磷限制对三角褐指藻生长的影响, 而反过来高温减轻了铁限制对三角褐指藻生长的影响。

2.3 高温与营养盐限制交互作用对三角褐指藻光合作用的影响

三角褐指藻的光系统Ⅱ最大光化学量子产量(F_v/F_m)在不同温度和营养盐限制条件下的变化情况如图3A所示。总体而言, 三角褐指藻在本研究中最大的 F_v/F_m 在22℃营养盐丰富条件下获得, 为 0.65 ± 0.01 。氮、磷、铁营养盐限制以及高温均会降低三角褐指藻的 F_v/F_m ($P<0.05$), 其中氮限制和铁限制的影响尤为明显。然而, 温度升高能在一定程度上缓解因营养盐限制而引起的 F_v/F_m 下降。相较

于磷限制而言, 藻细胞光合系统对于氮和铁的缺乏更为敏感。图3B所示的是在不同温度和营养盐限制条件下的非光化学淬灭指数(Non-photochemical quenching, NPQ)。实验结果显示, 处于最适温度(22℃)营养盐丰富培养条件下的藻细胞, 其NPQ值处于最低水平, 仅为 0.11 ± 0.01 。而无论是温度升高还是受到营养盐限制, 均会导致藻细胞热耗散现象加剧, 促使NPQ值升高($P<0.05$)。当22℃时, 三角褐指藻在铁、氮、磷限制下, NPQ分别提升至原来的1.5、3.5和6.6倍。在营养盐丰富及氮和铁限制条件下, 温度的升高进一步加剧了NPQ的上升, 从而促进了热耗散的产生, 而磷限制条件下, 温度对NPQ没有显著影响($P>0.05$)。

快速光曲线的结果显示(图4), 在最适温度下(22℃), 营养盐限制使得三角褐指藻相对电子传递速率(rETR)显著降低($P<0.05$), 铁、氮和磷限制分别使得藻细胞的相对最大电子传递速率($rETR_{max}$)降低45.0%、50.6%和34.4%, 相应地, 初始斜率 α 和光饱和点 E_k 也相对于完全培养的藻细胞显著降低

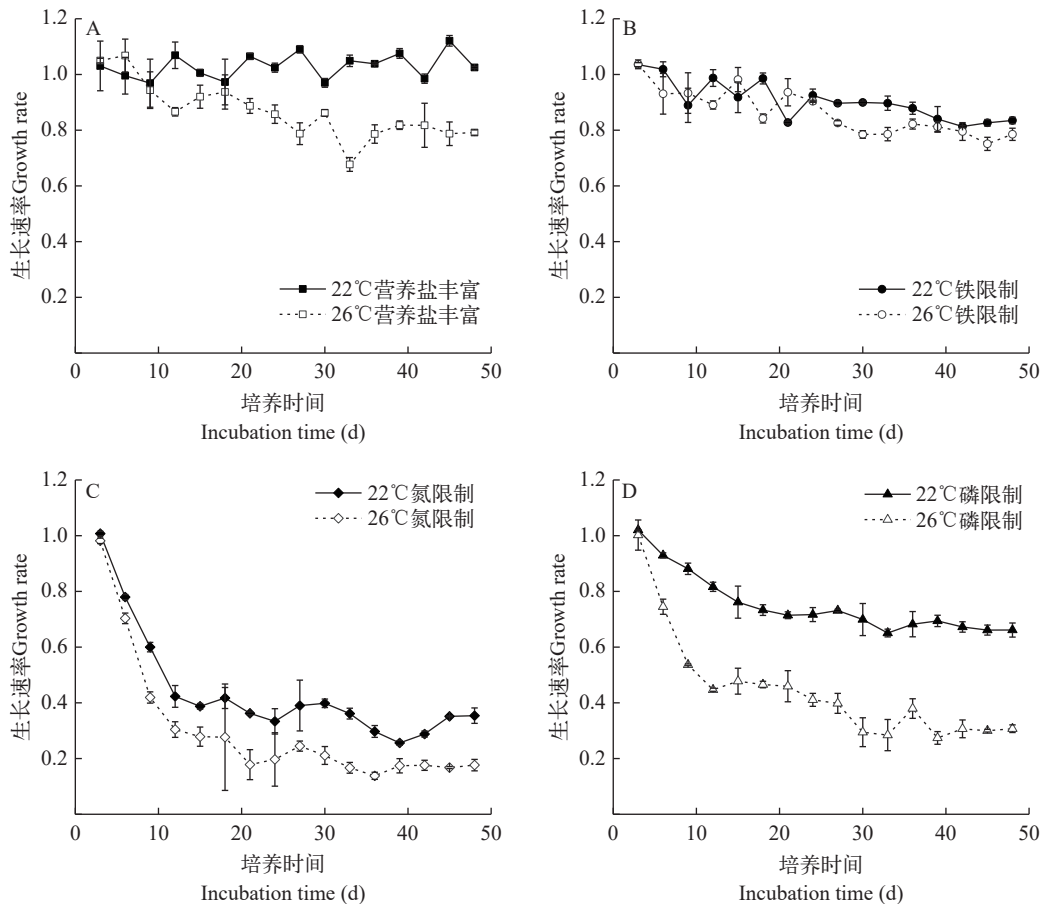


图1 不同温度与营养盐浓度条件下适应驯化过程中三角褐指藻生长速率的变化曲线

Fig. 1 The growth rate curves of *Phaeodactylum tricornutum* during acclimation under different temperature and nutrient concentrations

A、B、C、D图分别表示正常、铁限制、氮限制、磷限制营养盐条件

Fig. A, B, C, and D represent normal, Fe, N, and P nutrient limitation conditions, respectively

(表 2)。但值得注意的是, 升温似乎能够一定程度缓解营养盐限制引起的光合效率的下降。相较于 22℃ 营养盐限制的各个处理组, 在 26℃ 条件下三角褐指藻的相对电子传递速率曲线、相对最大电子传递速率、初始斜率 α 和光饱和点 E_k 都显著升高 ($P<0.05$)。这一系列现象表明温度和营养盐对藻细胞的光保护机制具有显著的调控作用, 环境中温度及营养盐浓度的变化对藻细胞的光合作用过程有着深刻影响。

2.4 高温与营养盐限制交互作用对三角褐指藻胞内叶绿素 a 含量的影响

由图 5A 所示, 高温和营养盐限制都会引起单位体积叶绿素 a 含量的下降。营养盐丰富条件下, 单位体积叶绿素 a 含量在 22℃ 和 26℃ 时分别为 (404.07 ± 22.23) 和 $(136.28 \pm 1.84) \mu\text{g/L}$, 高温使三角褐指藻单位体积叶绿素 a 含量下降 66.3%。与之类似, 氮限制

和磷限制条件下, 高温均显著降低三角褐指藻单位体积叶绿素 a 含量, 分别降低了 49.3% 和 66.2%。不同的是, 在铁限制条件下, 尽管高温降低单位体积叶绿素 a 含量, 但是其下降幅度最小, 为 11.7%。单位体积叶绿素 a 含量主要跟藻细胞的生物量以及生

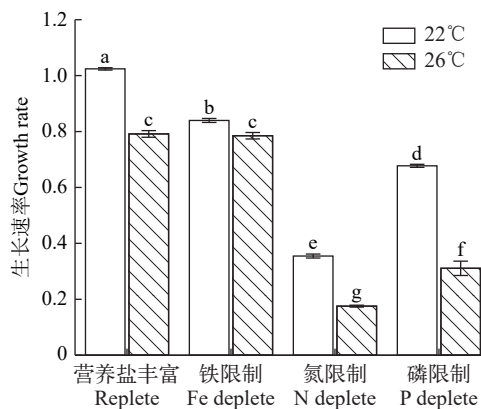


图 2 不同温度与营养盐浓度下三角褐指藻的生长速率

Fig. 2 Growth rate of *Phaeodactylum tricornutum* under different temperature and nutrient concentrations

不同字母标签的平均值差异有统计学意义 ($P<0.05$); 下同
The mean values of different letter labels are statistically significant ($P<0.05$); The same applies below

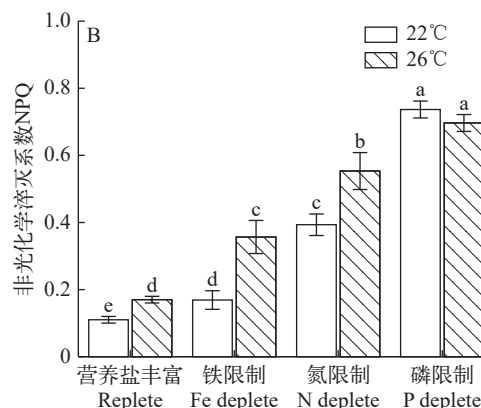
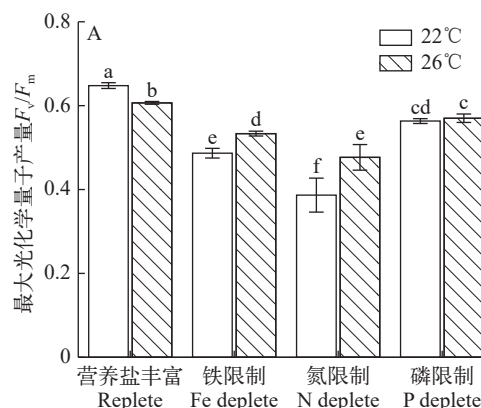
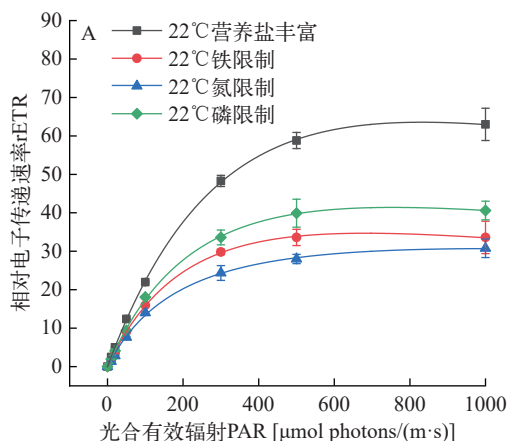


图 3 不同温度与营养盐浓度下三角褐指藻的(A)最大光化学量子产量 F_v/F_m 和(B)非光化学淬灭系数NPQ

Fig. 3 (A) maximum photochemical quantum yield of PS II (F_v/F_m) and (B) non-photochemical quenching coefficient (NPQ) of *Phaeodactylum tricornutum* at different temperature and nutrient concentrations

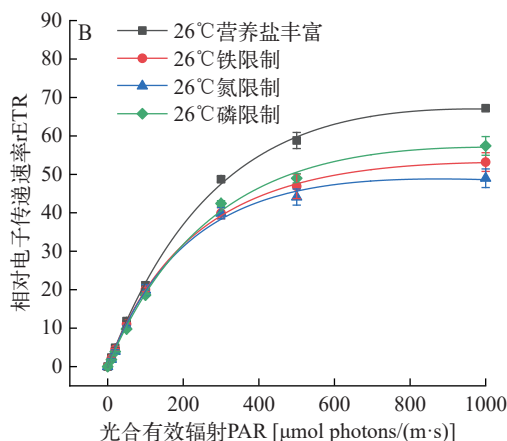


图 4 不同温度与营养盐浓度下三角褐指藻的快速光反应曲线

Fig. 4 Rapid light response curves of *Phaeodactylum tricornutum* under different temperature and nutrient concentrations

表 2 不同温度与营养盐浓度对三角褐指藻快速光响应曲线相关参数的影响

Tab. 2 Effects of different temperature and nutrient concentrations on the parameters of rapid photoresponse curve of *Phaeodactylum tricornutum*

温度 Temperature (°C)	营养盐水平 Nutrient level	相对最大 电子传递 速率rETR _{max}	初始斜率 α	光饱和点 E_k
22	营养盐丰富	63.975± 3.575 ^a	0.266± 0.009 ^a	240.082± 10.248 ^a
	铁限制	35.105± 2.902 ^c	0.211± 0.012 ^{cd}	166.758± 16.076 ^{cd}
	氮限制	31.509± 3.441 ^c	0.192± 0.004 ^d	163.547± 14.163 ^d
	磷限制	41.884± 2.578 ^a	0.226± 0.014 ^c	185.769± 22.030 ^{bcd}
	营养盐丰富	67.172± 0.232 ^a	0.260± 0.016 ^a	259.085± 16.035 ^a
	铁限制	53.241± 2.633 ^b	0.262± 0.025 ^a	204.869± 25.723 ^b
	氮限制	49.484± 1.140 ^b	0.257± 0.006 ^{ab}	192.863± 8.553 ^{bc}
	磷限制	57.359± 2.559 ^b	0.232± 0.002 ^{bc}	247.751± 12.295 ^a

注: 不同字母标签的平均值差异有统计学意义($P<0.05$)

Note: The mean values of different letter labels are statistically significant ($P<0.05$)

长速率相关, 因此这一结果与本研究中的生长速率的变化趋势一致。将单位体积的叶绿素 a 含量与细胞数进行均一化(图 5B)。高温显著降低营养盐丰富条件下三角褐指藻单位细胞叶绿素 a 含量, 而与之相反的是, 高温显著升高氮、磷和铁限制条件下三角褐指藻单位细胞叶绿素 a 含量, 这一结果与本研究中的光合作用效率的变化趋势一致。该研究结果表明, 单位体积叶绿素 a 含量主要体现三角褐指藻的生长状态, 受到营养盐限制的显著影响, 且高温加剧氮、磷营养盐的胁迫效应而减轻铁限制的影响。单位细胞叶绿素 a 含量则体现与光合作用的一致性, 即升温降低了营养盐限制对胞内叶绿素 a 含量的影响。

2.5 高温对三角褐指藻营养盐限制标记基因的表达及其基因表达的影响

铵盐转运蛋白 $AMT1_I$ 和PhoD家族中编码碱性磷酸酶的 APA 基因作为氮限制和磷限制响应的生物标记基因, 本文研究了其对三角褐指藻响应高温和氮、磷营养盐限制交互作用的基因表达情况(图 6)。在氮限制条件下, $AMT1_I$ 在22°C的表达量相较于营养盐丰富处理组上调10.42倍, 而当温度升高至26°C时, 该基因在氮限制条件下的表达水平相较于营养盐丰富条件进一步上调至约72.87倍(图 6A), 这表明高温能显著提高氮限制下 $AMT1_I$ 的表达水平。类似地, 碱性磷酸酶基因 APA 在22°C磷限制条件下相较于营养盐丰富条件上调表达12.35倍, 而在26°C磷限制时进一步上调表达达至约33.63倍, 表明高温显

著提高 APA 在磷限制条件下的表达水平。以上结果从基因层面证明环境温度的升高与氮、磷限制之间存在紧密的协同效应, 升温可能会加剧三角褐指藻的氮限制和磷限制效应。

另一方面, 研究发现升温与铁限制的交互作用对三角褐指藻似乎有与氮、磷限制时截然不同的响应。本研究测定了三角褐指藻的缺铁标记基因(铁饥饿诱导蛋白 $ISIP2b$ 、铁饥饿诱导蛋白 $ISIP3$ 、铁载体结合蛋白 FBP 和黄素氧还蛋白 $FLDA$)在高温和Fe限制条件下的基因表达水平(图 6C—F)。4个基因相较于营养盐丰富处理组都有显著的上调表达($P<0.05$), 在最适温度(22°C)时分别上调136.03、15.29、55.09和114.20倍, 但是当环境温度升高(26°C)时, 它们相较于营养盐丰富处理组仅分别上调35.52、5.89、31.86和31.58倍, 上调倍数均较22°C时有显著降低。实验结果表明, 温度升高降低了铁限制响应基因的表达, 从基因表达的层面揭示了升温似乎能够在一定程度上缓解铁限制对三角褐指藻的影响。

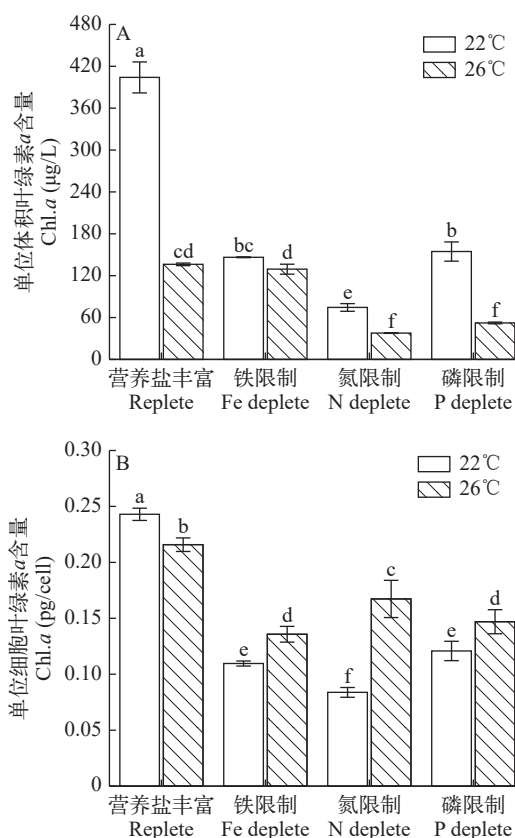


图 5 不同温度与营养盐浓度下三角褐指藻的(A)单位体积和(B)单位细胞叶绿素 a 含量

Fig. 5 Content of (A) unit volume and (B) unit cell chlorophyll a in *Phaeodactylum tricornutum* at different temperature and nutrient concentrations

3 讨论

高温和营养盐限制是影响海洋浮游植物生长和代谢的关键环境因子^[3, 5-7, 32]。高温主要通过促进浮游植物的呼吸速率从而消耗更多能量并打破

原本的能量平衡导致生长速率的降低, 另一方面高温会改变相关蛋白酶的活性从而影响光合作用、营养吸收等重要生理过程^[33]。本研究结果表明, 在营养盐丰富条件下, 高温(26℃)显著抑制三角褐指藻的生长、最大潜在光合作用效率(F_v/F_m)和叶绿

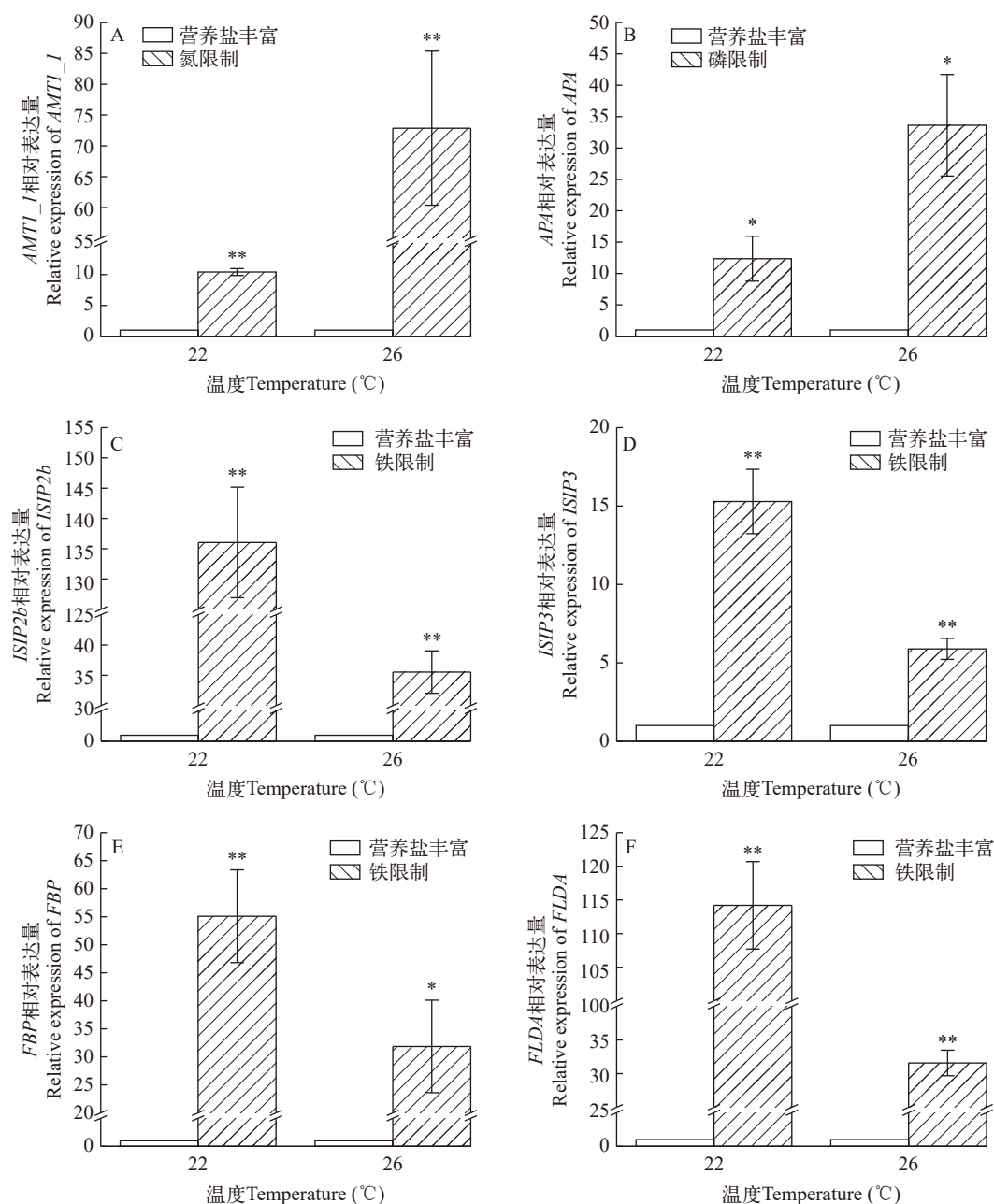


图6 升温与营养盐限制下三角褐指藻中基因相对表达量

Fig. 6 The relative expression of genes in *Phaeodactylum tricornutum* under warming and nutrient restriction

A. 铵盐转运蛋白基因 *AMT1_I*; B. 碱性磷酸酶基因 *APA*; C. 铁饥饿诱导蛋白基因 *ISIP2b*; D. 铁饥饿诱导蛋白基因 *ISIP3*; E. 铁载体结合蛋白基因 *FBP*; F. 黄素氧还蛋白基因 *FLDA*; 通过SPSS进行独立样本 *T* 检验; *代表与营养盐丰富处理组之间具有显著差异 ($P < 0.05$); **代表与营养盐丰富处理组之间具有极显著差异 ($P < 0.01$)

A. Ammonium salt transporter gene *AMT1_I*; B. alkaline phosphatase gene *APA*; C. Iron-starvation-induced protein gene *ISIP2b*; D. Iron-starvation-induced protein *ISIP3*; E. ferriiferer-binding protein gene *FBP*; F. flavodoxin gene *FLDA*; The independent sample *T* test conducted by SPSS show a significant difference between * representative and nutrient rich treatment group ($P < 0.05$), and a very significant difference between ** representative and nutrient rich treatment group ($P < 0.01$)

表 3 升温与营养盐生物可利用性交互效应对三角褐指藻生长和生理参数的显著性

Tab. 3 Significance of interaction effects of warming and nutrient bioavailability on growth and physiological parameters of *Phaeodactylum tricornutum*

指标Index	温度与氮元素 Temperature and N	温度与磷元素 Temperature and P	温度与铁元素 Temperature and Fe
Growth rate	<0.01 ^{**} , -	<0.05 [*] , -	<0.01 ^{**} , +
F_v/F_m	<0.05 [*] , +	<0.01 ^{**} , +	<0.01 ^{**} , +
NPQ	> 0.05, na	<0.05 [*] , -	<0.05 [*] , +
Chl. <i>a</i> (pg/cell)	<0.01 ^{**} , +	<0.01 ^{**} , +	<0.01 ^{**} , +
Chl. <i>a</i> (μg/L)	<0.01 ^{**} , +	<0.01 ^{**} , +	<0.01 ^{**} , +
α	<0.01 ^{**} , +	> 0.05, na	> 0.05, na
rETR _{max}	<0.01 ^{**} , +	<0.05 [*] , +	<0.01 ^{**} , +
E_k	> 0.05, na	> 0.05, na	> 0.05, na

注: 表中为单变量方差分析结果的 P 值; 符号*和**分别表示对应的 P 值小于0.05或0.01; na表示没有显著交互效应; +表示升温促进三角褐指藻对营养盐的利用, -表示升温抑制三角褐指藻对营养盐的利用

Note: The values in the table are the P values of the results of univariate analysis of variance; The symbols * and ** indicate that the corresponding P value is smaller than 0.05 or 0.01, respectively; n.a.: no significant interaction effect; The + indicates that temperature rise promotes the utilization of nutrient salts by *Phaeodactylum tricornutum*, and - indicates that temperature rise inhibits the utilization of nutrient salts by *Phaeodactylum tricornutum*

素 α 含量, 但是增加非光化学淬灭(NPQ)引起的热耗散, 而对光合电子传递速率则没有显著的影响。虽然, 有研究发现硅藻的生长速率似乎随温度呈线性增加, 然而, 由于各种酶的活性在一定范围内与温度变化密切相关, 生物代谢速率通常会随着温度的上升而升高, 在达到最高值后又随着温度的升高快速下降^[34]。本研究的高温已经超过三角褐指藻的最适温度(22℃), 因此对于三角褐指藻的生长和生理代谢相关的酶都具有抑制作用, 而NPQ的增加正是由于高温胁迫引起的热耗散的增加。同时, 升温有可能影响三角褐指藻光合作用暗反应所需酶, 进而导致其生长速率的降低^[35]。氮和磷都是细胞生长所必需的大量元素, 对生物维持其基本生命活动具有重要作用, 其中氮是构成细胞中所有蛋白质氨基酸的主要成分^[36], 氮元素还是浮游植物光合色素的主要组成成分^[37]; 而磷是用于合成核酸(尤其是核糖体RNA)、三磷酸腺苷、细胞膜以及一些蛋白质所必不可少的^[38]。因此, 氮和磷元素的缺乏会引起浮游植物生长以及代谢速率的降低。本研究结果表明, 氮限制和磷限制都会显著抑制三角褐指藻的生长、叶绿素 a 的含量及光合作用相关生理指标。虽然铁元素是微量元素, 却是浮游植物光合电子传递链和呼吸电子传递链的主要辅因子^[10, 39], 本

研究表明铁限制同样也会抑制三角褐指藻生长速率、光合作用效率以及叶绿素 a 含量。但是, 三角褐指藻对氮限制和磷限制的适应与对铁限制的适应过程有着明显的区别, 特别是高温条件下, 三角褐指藻对不同营养盐限制(氮磷限制vs.铁限制)的生理响应具有显著差异。本研究发现三角褐指藻对于大量元素氮和磷的限制表现出较高的敏感性, 在氮、磷限制下培养2—3个周期后藻细胞生长速率迅速下降。与之形成对比的是, 三角褐指藻对铁限制的适应呈现出一种延迟响应的特性, 即在低铁环境下经过较长一段时间的持续培养后, 才逐渐显现出被抑制的生长表现。可能铁元素对于三角褐指藻来说虽是必不可少, 但是对其需求量相对于氮和磷来说相对较低, 况且三角褐指藻在细胞内含有大量的储铁蛋白可以储存有大量的铁元素^[10, 40], 还有研究表明三角褐指藻由于其特有的铁吸收代谢机制, 能够耐受极低的铁离子浓度^[41, 42]。因此, 三角褐指藻对缺铁的适应过程需要比缺氮和磷花费更多的培养周期。

高温和氮、磷和铁元素限制均对三角褐指藻产生负面效应, 但高温与营养盐限制之间存在着强烈的交互效应, 且这种交互作用对于不同的营养盐的生物可利用性的影响程度各不相同。通过多变量分析, 表 3总结了升温与营养盐生物可利用性交互效应对三角褐指藻生长速率和生理指标的显著性差异。具体而言, 氮、磷限制会降低三角褐指藻的生长速率, 而温度升高会加剧氮、磷限制对藻细胞的抑制效应, 这与前期关于氮、磷限制与温度交互作用的研究报道相一致。Anderson等^[43]通过改变美国罗德岛州纳拉甘西特湾(Narragansett Bay)的一个适应寒冷的浮游植物群落的温度和营养盐条件, 发现二者对浮游植物的生长具有显著的交互效应, 变暖可以放大氮、磷限制对浮游植物的生长限制效应。Thomas等^[44]在海洋硅藻假微型海链藻(*T. pseudonana*)的研究结果表明, 在低氮和低磷的环境中, 藻细胞的最适生长温度相较于正常环境降低了3—6℃。值得注意的是, 与氮、磷限制和升温的交互作用对三角褐指藻的影响不同, 本研究结果表明, 升温明显缓解了铁限制对三角褐指藻生长的负面效应。类似地, 在铁限制和升温同时发生的情况下, Jiang等^[20]和Yang等^[45]的研究表明, 升温能显著提高赤道太平洋中部的铁限制海域中海洋固氮蓝藻—束毛藻(*Trichodesmium*)和瓦氏鳄球藻(*C. watsonii*)的生物量和固氮量, 主要是由于基于碳或者氮的特定铁利用效率(N/C-iron use efficiencies)的显著提高。同样地, 对于南大洋硅藻的研究发现, 升温提

高铁的使用效率从而极大减少了优势硅藻种群—拟菱形藻(*Pseudo-nitzschia*)的铁需求, 面对未来全球变暖的情境下, 使其成为南大洋缺铁海域中具有竞争优势的种群^[12]。尽管也有研究表明, 另外一些南大洋硅藻在铁限制条件下, 最佳生长点和最高耐热极限降低, 在气候变暖时更易受到不利影响^[46]。

本研究还进一步从基因表达层面研究了三角褐指藻应对升温 and 营养盐限制交互作用的响应机制。铵盐转运蛋白编码基因*AMT1_1*和碱性磷酸酶编码基因*APA*是特异性的氮限制和磷限制响应基因, 可以作为氮限制和磷限制程度的指示基因^[30, 31]。有研究发现, 利用氮限制和磷限制指示基因的启动子构建的化学发光突变株可以用于培养基中氮和磷营养元素的浓度的测算, 并且与化学方法测得的数据具有良好的线性关系, 也能够测算不同温度条件下氮磷营养元素的生物可利用性^[47]。本研究利用氮、磷限制指示基因*AMT1_1*和*APA*在不同温度和营养盐限制条件下的表达量分析, 研究发现氮限制条件下*AMT1_1*的表达量及磷限制条件下*APA*的表达量均显著提高, 但是升温进一步提高*AMT1_1*在氮限制条件下和*APA*在磷限制条件下表达量, 说明升温提高了三角褐指藻的氮限制和磷限制程度, 该结果与三角褐指藻应对升温 and 氮、磷限制交互作用的生理结果一致。同样地, *ISIP2b*、*ISIP3*和*FBP*皆为三角褐指藻铁获取吸收过程中至关重要的基因, 在硅藻特异性非还原性铁吸收过程中发挥重要作用^[42, 48], 而黄素氧还蛋白(*FLDA*)在细胞处于低铁状态下取代含铁蛋白铁氧还蛋白, 以此实现铁经济型利用^[49], 适应在低铁环境下生存, 这4个基因均在铁限制条件下显著上调表达^[10, 50], 本文选择这4个基因作为铁限制响应基因。qRT-PCR的结果显示, 单一营养盐限制均会使各个营养盐限制响应基因显著上调表达, 而不同的是, 随着温度的升高, 铁限制响应基因*ISIP2b*、*ISIP3*、*FBP*和*FLDA*的相对表达量较最适温度(22℃)培养是显著降低, 表明升温减轻了铁限制的作用。硅藻遍布于全球海洋的各个栖息地, 几乎覆盖了所有可观测到的温度范围, 因此, 全球气候变化驱动的海洋变暖对海洋硅藻产生了广泛的影响^[33]。本研究表明, 升温 and 营养盐限制之间具有强烈的交互作用, 而且升温与氮和磷元素的交互作用对三角褐指藻的影响和升温与铁元素的交互作用影响具有显著的差异, 这为揭示海洋硅藻在全球范围内不同营养盐和气候条件下的多样性及其对环境变化的相应策略提供了重要依据。然而, 升温与营养盐限制的交互作用对硅藻的影响需要进一步的研究, 特别是硅藻应对升温与营

养盐交互作用的内在分子机制值得深入挖掘。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Tréguer P, Bowler C, Moriceau B, *et al.* Influence of diatom diversity on the ocean biological carbon pump [J]. *Nature Geoscience*, 2018, **11**(1): 27-37.
- [2] Field C B, Behrenfeld M J, Randerson J T, *et al.* Primary production of the biosphere: Integrating terrestrial and oceanic components [J]. *Science*, 1998, **281**(5374): 237-240.
- [3] Van de Waal D B, Litchman E. Multiple global change stressor effects on phytoplankton nutrient acquisition in a future ocean [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2020, **375**(1798): 20190706.
- [4] Zhu J, Hao Q, Zhang W, *et al.* Effects of nutrient limitations on the sinking velocity of *Thalassiosira weissflogii* [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2024, **43**(6): 163-172.
- [5] Thingstad T F, Law C S, Krom M D, *et al.* Response to comment on “Nature of phosphorus limitation in the ultraoligotrophic Eastern Mediterranean” [J]. *Science*, 2006, **312**(5781): 1748.
- [6] Hutchins D A, Boyd P W. Marine phytoplankton and the changing ocean iron cycle [J]. *Nature Climate Change*, 2016, **6**(12): 1072-1079.
- [7] Bristow L A, Mohr W, Ahmerkamp S, *et al.* Nutrients that limit growth in the ocean [J]. *Current Biology*, 2017, **27**(11): R474-R478.
- [8] Li G, Campbell D A. Interactive effects of nitrogen and light on growth rates and RUBISCO content of small and large centric diatoms [J]. *Photosynthesis Research*, 2017, **131**(1): 93-103.
- [9] Huang B, Marchand J, Blanckaert V, *et al.* Nitrogen and phosphorus limitations induce carbon partitioning and membrane lipid remodelling in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* [J]. *European Journal of Phycology*, 2019, **54**(3): 342-358.
- [10] Allen A E, LaRoche J, Maheswari U, *et al.* Whole-cell response of the pennate diatom *Phaeodactylum tricornutum* to iron starvation [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, **105**(30): 10438-10443.
- [11] Collins M, Knutti R, Arblaster J, *et al.* Long-term Climate Change: Projections, Commitments and Irreversibility. In *Climate Change 2013: The Physical Science Basis* [M]. Cambs: Cambridge University Press, 2014: 1029-1136.
- [12] Jabre L J, Allen A E, McCain J S P, *et al.* Molecular underpinnings and biogeochemical consequences of enhanced diatom growth in a warming Southern Ocean [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, **118**(30): e2107238118.
- [13] Hong T, Huang N, Mo J Z, *et al.* Transcriptomic and physiological responses of a model diatom (*Phaeodacty-*

- lum tricornutum*) to heat shock and heat selection [J]. *Ecological Indicators*, 2023(153): 110420.
- [14] Sallée J B, Pellichero V, Akhoudas C, *et al.* Summertime increases in upper-ocean stratification and mixed-layer depth [J]. *Nature*, 2021, **591**(7851): 592-598.
- [15] König D, Conway T M, Hamilton D S, *et al.* Surface ocean biogeochemistry regulates the impact of anthropogenic aerosol Fe deposition on the cycling of iron and iron isotopes in the North Pacific [J]. *Geophysical Research Letters*, 2022, **49**(13): e2022GL098016.
- [16] Jickells T D, Buitenhuis E, Altieri K, *et al.* A reevaluation of the magnitude and impacts of anthropogenic atmospheric nitrogen inputs on the ocean [J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2017, **31**(2): 289-305.
- [17] 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.
- [18] Monteiro F M, Dutkiewicz S, Follows M J. Biogeographical controls on the marine nitrogen fixers [J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2011, **25**(2): GB2003.
- [19] Edwards M, Richardson A J. Impact of climate change on marine pelagic phenology and trophic mismatch [J]. *Nature*, 2004, **430**(7002): 881-884.
- [20] Jiang H B, Fu F X, Rivero-Calle S, *et al.* Ocean warming alleviates iron limitation of marine nitrogen fixation [J]. *Nature Climate Change*, 2018, **8**(8): 709-712.
- [21] Deng L X, Cheung S Y, Kang C K, *et al.* Elevated temperature relieves phosphorus limitation of marine unicellular diazotrophic cyanobacteria [J]. *Limnology and Oceanography*, 2022, **67**(1): 122-134.
- [22] Jabre L, Bertrand E M. Interactive effects of iron and temperature on the growth of *Fragilariopsis cylindrus* [J]. *Limnology and Oceanography Letters*, 2020, **5**(5): 363-370.
- [23] Liu K, Suzuki K, Chen B, *et al.* Are temperature sensitivities of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* impacted by nutrient availability in the subtropical northwest Pacific [J]? *Limnology and Oceanography*, 2021, **66**(3): 639-651.
- [24] Sunda W G, Price N M, Morel F M M. Trace Metal Ion Buffers and Their Use in Culture Studies [M]. Kagoshima-shi: Kagoshima University, 2005: 35-63.
- [25] Schreiber U, Bilger W, Neubauer C. Chlorophyll Fluorescence as a Nonintrusive Indicator for Rapid Assessment of in Vivo Photosynthesis [M]. *Ecophysiology of Photosynthesis*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1995: 49-70.
- [26] Ralph P J, Gademann R. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity [J]. *Aquatic Botany*, 2005, **82**(3): 222-237.
- [27] Lichtenthaler H K, Buschmann C. Chlorophylls and carotenoids: Measurements and Characterization by UV-VIS Spectroscopy [J]. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 2001, **1**(1): F4.3. 1-F4.3. 8.
- [28] Suzuki T, Higgins P J, Crawford D R. Control selection for RNA quantitation [J]. *Biotechniques*, 2000, **29**(2): 332-337.
- [29] Aumeier C, Polinski E, Menzel D. Actin, actin-related proteins and profilin in diatoms: A comparative genomic analysis [J]. *Marine Genomics*, 2015(23): 133-142.
- [30] Smith S R, Dupont C L, McCarthy J K, *et al.* Evolution and regulation of nitrogen flux through compartmentalized metabolic networks in a marine diatom [J]. *Nature Communications*, 2019, **10**(1): 4552.
- [31] Alipanah L, Winge P, Rohloff J, *et al.* Molecular adaptations to phosphorus deprivation and comparison with nitrogen deprivation responses in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* [J]. *PLoS One*, 2018, **13**(2): e0193335.
- [32] Yvon-Durocher G, Montoya J M, Trimmer M, *et al.* Warming alters the size spectrum and shifts the distribution of biomass in freshwater ecosystems [J]. *Global Change Biology*, 2011, **17**(4): 1681-1694.
- [33] Liang Y, Koester J A, Liefer J D, *et al.* Molecular mechanisms of temperature acclimation and adaptation in marine diatoms [J]. *The ISME Journal*, 2019, **13**(10): 2415-2425.
- [34] Gao K S, Beardall J, Häder D P, *et al.* Effects of Ocean Acidification on Marine Photosynthetic Organisms Under the Concurrent Influences of Warming, UV Radiation, and Deoxygenation [J]. *Frontiers in Marine Science*, 2019(6): 322.
- [35] Liu Q Y, Xu X L, Liu J Y, *et al.* Effects of ocean warming and nitrogen limitation on growth and photosynthesis of *Phaeodactylum tricornutum* [J]. *Marine Science Bulletin*, 2019, **38**(2): 194-201. [柳清杨, 徐兴莲, 刘佳仪, 等. 海水升温与氮限制对三角褐指藻生长及光合作用的影响 [J]. *海洋通报*, 2019, **38**(2): 194-201.]
- [36] Liefer J D, Garg A, Fyfe M H, *et al.* The Macromolecular Basis of Phytoplankton C:N:P Under Nitrogen Starvation [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019(10): 763.
- [37] Xu Z Z, Zhou G S. Combined effects of water stress and high temperature on photosynthesis, nitrogen metabolism and lipid peroxidation of a perennial grass *Leymus chinensis* [J]. *Planta*, 2006, **224**(5): 1080-1090.
- [38] Toseland A, Daines S J, Clark J R, *et al.* The impact of temperature on marine phytoplankton resource allocation and metabolism [J]. *Nature Climate Change*, 2013, **3**(11): 979-984.
- [39] Wu M, McCain J S P, Rowland E, *et al.* Manganese and iron deficiency in Southern Ocean *Phaeocystis antarctica* populations revealed through taxon-specific protein indicators [J]. *Nature Communications*, 2019, **10**(1): 3582.
- [40] Liu X F, Theil E C. Ferritins: Dynamic management of biological iron and oxygen chemistry [J]. *Accounts of Chemical Research*, 2005, **38**(3): 167-175.
- [41] Morrissey J, Sutak R, Paz-Yepes J, *et al.* A novel protein,

- ubiquitous in marine phytoplankton, concentrates iron at the cell surface and facilitates uptake [J]. *Current Biology*, 2015, **25**(3): 364-371.
- [42] Coale T H, Moosburner M, Horák A, *et al.* Reduction-dependent siderophore assimilation in a model pennate diatom [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, **116**(47): 23609-23617.
- [43] Anderson S I, Franzè G, Kling J D, *et al.* The interactive effects of temperature and nutrients on a spring phytoplankton community [J]. *Limnology and Oceanography*, 2022, **67**(3): 634-645.
- [44] Thomas M K, Aranguren-Gassis M, Kremer C T, *et al.* Temperature-nutrient interactions exacerbate sensitivity to warming in phytoplankton [J]. *Global Change Biology*, 2017, **23**(8): 3269-3280.
- [45] Yang N N, Merkel C A, Lin Y A, *et al.* Warming iron-limited oceans enhance nitrogen fixation and drive biogeographic specialization of the globally important cyanobacterium *Crocospaera* [J]. *Frontiers in Marine Science*, 2021(8): 628363.
- [46] Boyd P W. Physiology and iron modulate diverse responses of diatoms to a warming Southern Ocean [J]. *Nature Climate Change*, 2019, **9**(2): 148-152.
- [47] Liu H, Wei J N, Wang X W, *et al.* Detection of nutrient bioavailability in water bodies based on *Synechococcus* reporter genes [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, **47**(12): 1899-1908. [刘浩, 韦嘉宁, 王鑫威, 等. 基于聚球藻报告基因的水体营养盐生物可利用性检测 [J]. *水生生物学报*, 2023, **47**(12): 1899-1908.]
- [48] Turnšek J, Brunson J K, Viedma M D M, *et al.* Proximity proteomics in a marine diatom reveals a putative cell surface-to-chloroplast iron trafficking pathway [J]. *eLife*, 2021(10): e52770.
- [49] Gao X, Bowler C, Kazamia E. Iron metabolism strategies in diatoms [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2021, **72**(6): 2165-2180.
- [50] Smith S R, Gillard J T F, Kustka A B, *et al.* Transcriptional orchestration of the global cellular response of a model pennate diatom to diel light cycling under iron limitation [J]. *PLoS Genetics*, 2017, **13**(3): e1006688.

INTERACTION BETWEEN HIGH TEMPERATURE AND NUTRIENT RESTRICTION ON GROWTH, PHYSIOLOGY, AND GENE EXPRESSION OF *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM*

LIU Ze-Xi, ZHU Yue-Qi, WANG Zi-Teng, WANG Xin-Wei and JIANG Hai-Bo

(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: Diatoms are one of the most important groups of marine phytoplankton. Warming and nutrient limitation are the most important limiting factors affecting the growth and metabolism of marine diatoms in contemporary oceans. However, the effects of their complex interaction on diatoms have received little attention. In this study, the marine model diatom *Phaeodactylum tricornutum* was used as the research material, and the growth, physiological indexes, and expression of nutrient limitation marker genes were measured under different temperature and nutrient concentration conditions. The results showed that the effects of nitrogen and phosphorus nutrient limited on the growth of algal cells were increased by warming, while the effect of iron limitation was reduced. The gene expression analysis further verified the difference between the interaction of warming and limitation of macro elements (nitrogen and phosphorus), and interactive effects of microelement (iron) limitation. The above results reveal that the physiological response of diatoms to the interaction between warming and nutrient limitation is not consistent. In the context of global warming, rising temperature may strengthen the nitrogen and phosphorus limitation of diatoms, but reduce the iron limitation, thus affecting the change trend of primary productivity in different sea areas.

Key words: Warming; Nutrient limitation; Interaction; *Phaeodactylum tricornutum*; Physiological response; Gene expression