

Kulstof:klorofyl-forholdet i fytoplankton

En kort analyse af kulstof:klorofyl-forholdets variation i tid og rum

Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi

Dato: 2. februar 2016

Forfattere

Hans H. Jakobsen & Stiig Markager

Institut for Bioscience

Rekvirent:

Det Marine Fagdatacenter v. Henrik Fossing

Antal sider: 10

Faglig kommentering:

Jens Würgler Hansen

Kvalitetssikring, centret:

Poul Nordemann Jensen



AARHUS
UNIVERSITET

DCE - NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

Tel.: +45 8715 0000

E-mail: dce@au.dk

<http://dce.au.dk>

Indhold

| | | |
|----------|---|----------|
| 1 | Introduktion | 3 |
| 1.1 | Modellering af forholdet mellem kulstof og klorofyl ud fra fysisk-kemiske data | 4 |
| 1.2 | Empirisk modellering af forholdet mellem kulstof og klorofyl baseret på NOVANA-data | 6 |
| 1.3 | Afrunding | 8 |
| 1.4 | Referencer | 8 |

1 Introduktion

Kvælstoftilførslen til fjorde og de kystnære marine områder er i de sidste ca. 25 år faldet med ca. 50 %. Det har afstedkommet et signifikant fald i klorofylkoncentrationer, samt en række effekter i det marine økosystem (Hansen 2015; Riemann et al. 2016). Bemærkelsesværdigt er det, at der i sammen tidssrum ikke er fundet et tilsvarende fald i kulstofbiomasserne af det marine fytoplankton. Nærværende notat er en analyse, der sigter på at forklare dette umiddelbare modsætningsforhold. Analysen tager udgangspunkt i de fysiologiske mekanismer, der regulerer henholdsvis kulstof- og klorofylindhold i fytoplankton, og en grundig analyse af alle danske overvågningsdata.

Klorofyl er en nøgleindikator for biomassen af fytoplankton. Klorofyl har den fordel, at det er unikt for fototrofe organismer og findes derfor i alt autotroft og mixotroft plankton. Klorofyl har ydermere den særlige fordel, at det er let at kvantificere og er historisk en af de hyppigst anvendte parametre i miljøovervågningsprogrammer, herunder også det danske overvågningsprogram (NOVANA). Der findes således adskillige lange tidsserier af klorofyl for de danske havområder, som anvendes i vurderinger af havmiljøets udvikling. Endvidere er klorofylkoncentrationen en af de indikatorer, som anvendes i vandrammedirektivet og vigtig for udvikling og validering af dynamiske økosystemmodeller.

Fytoplanktons kulstofbiomasse bestemmes typisk ved, at planktonprøver tælles og opmåles i et omvendt mikroskop, hvorefter cellevolumenerne konverteres til kulstofbiomasse. Fytoplankton er ligesom klorofyl en vigtig overvågningsparameter i NOVANA.

Estimerer af klorofyl kan ske ved måling af absorptionen af klorofyl ekstraheret i et opløsningsmiddel. Endvidere kan klorofyl estimeres ud fra kalibrerede fluorescensmålinger fra fx CTD-sonder eller gennemstrømningssystemer som fx "Ferry bokse". Klorofyl kan også estimeres ud fra satellitbilleder eller andre optiske teknikker, der grundlæggende måler lysabsorption ved klorofylspecifikke bølgelængder. Klorofylbestemmelsen er meget attraktiv, da bestemmelsen, uanset metode, koster langt mindre og er langt hurtigere end kulstofbiomassebestemmelsen i et omvendt mikroskop.

Formålet med klorofylbestemmelser i en oceanografisk sammenhæng er at bestemme fytoplanktonbiomassen. Dette sker oftest ud fra en antagelse om, at der findes et fast forhold mellem kulstofbiomasse af fytoplankton og klorofylkoncentrationen (C:Chl). Ofte anvendes et fast C:Chl-forhold på 50. Heraf følger, at når klorofyl falder, eksempelvis som følge af reduktionerne i kvælstof, vil de koblede biomasser af fytoplankton falde parallelt.

Mængden af klorofyl og for den sags skyld alle andre fytoplanktonpigmenter, der har en funktion i forbindelse med absorption af sollys, er variabel og påvirket af faktorer såsom lys, næringsstofftilgængelighed samt temperatur (Chan 1978; Geider 1987; Neale et al. 1989; Thompson 1999; Thompson 2006; Thompson et al. 1992; Thompson et al. 1991). Det betyder, at det celledspecifikke klorofylindhold ikke er konstant.

Næringsstofftilgængeligheden spiller en afgørende rolle for forholdet mellem klorofyl og kulstof. Især spiller kvælstof en vigtig rolle i det marine miljø for

det cellespecifikke indhold af klorofyl. Det er bl.a. demonstreret, at C:Chl-forholdet stiger med faldende kvælstoftilgængelighed (Antia et al. 1991; Geider 1987; Harrison et al. 1976; Harrison et al. 1990; Jakobsen et al. 2015; Jakobsen & Markager 2016; Osborne & Geider 1986). Det betyder for eksempel, at der under eutrofierede forhold vil være et relativt lavt forhold mellem kulstof og klorofyl sammenlignet med oligotrofierede forhold.

Lys spiller også en væsentlig rolle i reguleringen af det det cellespecifikke klorofyl. Reducerede lysforhold øger således det cellespecifikke indhold af klorofyl for at optimere cellens evne til at optage lysfotoner (Beardall & Morris 1976; Falkowski & Owens 1980; Markager 1993; Richardson et al. 1983). Omvendt vil klorofylindholdet aftage ved høje lysintensiteter (Markager & Sand-Jensen 1996; Morgan & Kalff 1979). Ligeledes er lyset afgørende for fikseringen af kulstof ved fotosyntese, og kulstofindholdet vil derfor stige med stigende lysintensitet.

Temperaturen påvirker også forholdet mellem klorofyl og kulstof, men effekten er kompleks og afhænger af, om det er lys eller næringsstoffer, som begrænser væksten. I undersøgelser med overskud af lys og kvælstof, hvor temperaturen blev hævet fra 0 til 30 °C, faldt forholdet mellem kulstof og klorofyl fra 130 til 10 (Geider 1987; Thompson et al. 1992). Det skyldes, at fotosyntesens kulstoffiksering stiger langsommere med stigende temperatur end den specifikke vækstrate. Når væksten var næringsbegrænset, var effekten modsat, idet forholdet mellem kulstof og klorofyl faldt med faldende temperaturer (Geider 1987).

Grundlæggende øges kulstofindholdet i cellerne, når kulstoffikseringen overstiger den specifikke vækstrate, når væksten er begrænset af utilstrækkelig næring eller lave temperaturer. Kulstof kan både akkumuleres som kulhydrater og fedtsyrer.

Det er derfor ikke overraskende, at der i litteraturen rapporteres et bredt spænd af værdier for forholdet mellem kulstof og klorofyl, der spænder mellem 6 til 333 (Calvo-Diaz et al. 2008; Cloern et al. 1995; Falkowski et al. 1985; Geider 1987; Jakobsen et al. 2015; Sathyendranath et al. 2009).

Ud fra den viden vi har nu omkring det fysisk-kemiske miljøes påvirkning på fytoplanktoncellernes fysiologi, kan vi argumentere for, at der i det marine miljø må være en fast cyklisk variation i forholdet mellem kulstof og klorofyl. Det må således forventes, at der om vinteren vil være et lavt forhold, der gennem foråret, når lyset og temperaturer stiger, øges for at kulminere ved midsommer med en maksimal værdi bestemt af tilgængeligheden af kvælstof. I nærværende notat vil vi undersøge, om dette også er tilfældet i de danske kystområder. Vi vil også undersøge, om vi ud fra viden om fytoplanktons fysiologiske respons på kvælstoftilgængeligheden kan forklare den manglende kobling mellem udviklingen i fytoplanktons indhold af klorofyl og fytoplanktons biomasse.

1.1 Modellering af forholdet mellem kulstof og klorofyl ud fra fysisk-kemiske data

Flere empiriske modeller har igennem tiden beskrevet forholdet mellem kulstof og klorofyl med det formål at kunne forudsige forholdet. For eksempel er det i den oceanografiske litteratur bredt accepteret, at forholdet mellem kulstof og klorofyl kan bestemmes vha. lineær regression (Morel 1988;

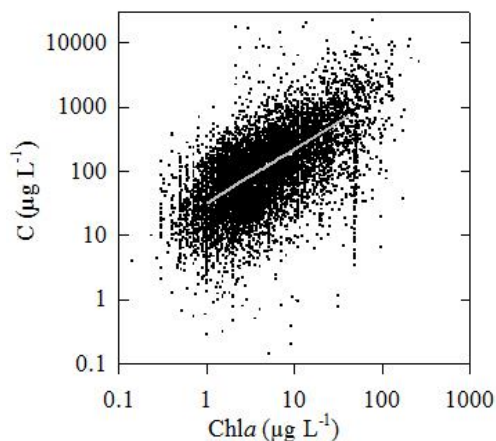
Sathyendranath et al. 2009) (figur 1.1). Linjen i figur 1.1 viser en tilpasset regressionslinje, der følger modellen:

$$\log C = \log A + \beta \times \log Chl \quad \text{formel 1}$$

Det betyder, at fytoplankton versus klorofyl (Chl) kan beskrives som en simpel andenordens funktion

$$C = A \times Chl^\beta \quad \text{formel 2}$$

Figur 1.1. Kulstofindholdet i fytoplankton mod samhørende målinger af klorofyl *a* baseret på data fra NOVANA-programmet i perioden 1989-2014. Bemærk begge akser er logaritmiske.

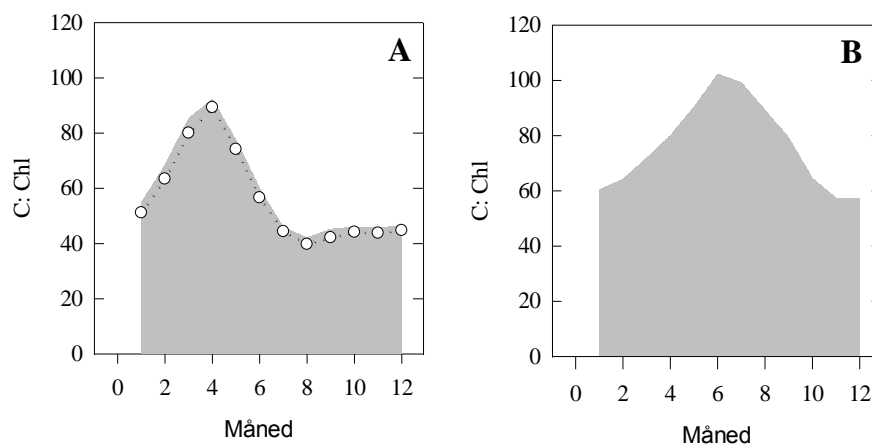


Sammenhængen mellem kulstof og klorofyl, som beskrevet med

$$C = A \times Chl^\beta \quad \text{formel 2}$$

er hyppigt anvendt i satellitovervågning af større havområder, hvor kendskabet til fytoplanktonbiomassen er nødvendig for at kunne bestemme primærproduktionen til brug i fx klimamodeller. Når alle sammenhørende data i NOVANA-databasen for klorofyl og fytoplanktonbiomasser fittes til formel 1, bestemmes konstanterne A og β til hhv. 32 og 0,82 (grå linje i figur 1.1). Værdien for A på 32 betyder, at C:Chl-forholdet er 32 ved en klorofylkoncentration på 1. En β -værdi mindre end 1, her 0,82, betyder, at forholdet mellem kulstof og klorofyl falder med stigende klorofylkoncentrationer, hvorved hypotesen om et konstant forhold mellem kulstof og klorofyl bør forkastes.

Figur 1.2. Modeestimer af det månedlige kulstof: klorofyl-forhold. **A** er estimeret ud fra Geider (1987). **B** er bestemt vha. modellen beskrevet af Cloern et al. (1995). Der er anvendt data fra NOVANA som modelparameter. Data er beregnet som månedsgennemsnit.



Andre og mere komplekse modeller, der for eksempel anvender temperatur og indstråling (Taylor et al. 1997) eller temperatur, indstråling og kvælstofkoncentration som forklaringsvariabler (Cloern et al. 1995), er beskrevet i den videnskabelige litteratur (figur 1.2). I figur 1.2 ses modelberegninger af månedsgennemsnit for forholdet mellem klorofyl og kulstofbiomasse baseret på sammenhørende fysisk-kemiske data for lys, temperatur og kvælstof-tilgængelighed indsamlet parallelt med data til bestemmelse af fytoplanktonbiomassen angivet i figur 1.1. Det skal bemærkes, at begge modellerne i figur 1.2 viser en sæsonvariation i C:Chl-forholdet med lave vinter- og høje sommerværdier. Modelberegningerne i figur 1.2 viser ligeledes, at der er en diskrepans i timingen af det maksimale C:Chl forhold. Den ene model (Geider 1987) forudsiger, at maksimale værdier optræder i april, hvorimod den anden model (Cloern et al. 1995) forudsiger, at maksimale værdier findes i juni. Derimod er begge modeller enige om, at vinterniveauet for C:Chl-forholdet ligger omkring 40-50.

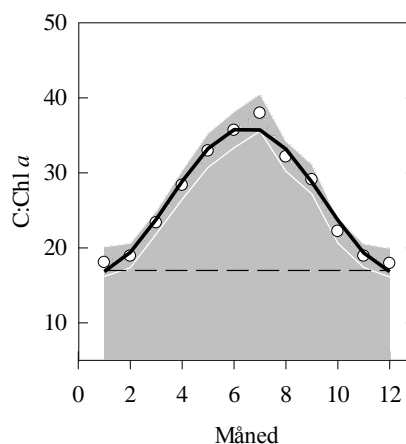
Begge modellerne er baseret på laboratorieforsøg, og det er relevant at anvende det omfattende datasæt, som findes i NOVANA-programmet, til at analysere forholdene i en dansk sammenhæng. Vi har anvendt månedsgennemsnit for C:Chl-forholdet for at undersøge, om bestemmelserne af kulstof og klorofyl i fytoplankton i NOVANA følger et cyklisk mønster som forudsagt i figur 1.2 og om udviklingen er relateret til næringsstofkoncentrationerne. Analysen er også beskrevet i (Jakobsen & Markager 2016).

1.2 Empirisk modellering af forholdet mellem kulstof og klorofyl baseret på NOVANA-data

Månedsgennemsnittet for C:Chl-forholdet for alle NOVANA-data viser et udpræget sæsonmønster, som er næsten symmetrisk omkring en maksimal værdi i midten af året (figur 1.3). I modsætningen til modelestimerne i figur 1.2 viser NOVANA-data vinterværdier, der er betydeligt lavere, omkring ~16. Der er på baggrund af NOVANA-dataene udviklet en cosinus-model, som beskriver C:Chl-forholdet på et givent tidspunkt (Jakobsen & Markager 2016). Modellens parameter er baseret på måned (M), sommer maksimum C:Chl tidslige placering (P , enhed er måned), vinter C:Chl ($w = 15 \pm 0,89$) samt amplitudeværdien ($a = 24 \pm 1,5$)

$$C : Chl = w + a \cdot \left(\frac{\cos\left(\frac{M - 0.5 - P}{12} \cdot 2\pi - \pi\right) + 1}{2} \right) \quad \text{formel 3}$$

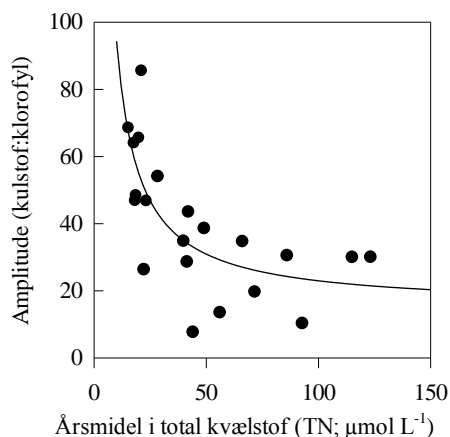
Figur 1.3. Månedlige forhold mellem kulstof og klorofyl for alle data fra det danske NOVANA-program (○). Data er beregnet som månedsgennemsnit af log-normal transformerede værdier. De gråskraverede grænseværdier angiver ± 95 percentiler. Den fuldt optrukne linje er et model-estimat (formel 3) baseret på parallelle kulstof- og klorofylbestemmelser fra NOVANA.



Ved hjælp af modellen (formel 3) er det muligt at bestemme variationer mellem de forskellige fytoplanktonstationer i NOVANA-programmet og derved anskueliggøre, om der er en sammenhæng mellem den maksimale sommer-værdi (amplituden) og kvælstoftilgængeligheden. Sammenstillingen viser, at der er en signifikant ikke-lineær sammenhæng mellem amplituden og årsmidlen af kvælstofkoncentrationerne (*figur 1.4*). Det skal bemærkes, at værdien for vinter C:Chl-forholdet i store træk er ens på de forskellige NOVANA-stationer. En vinter C:Chl-værdi på 16 er lav i forhold til tidligere rapporter, men overstiger de teoretiske C:Chl minimumsværdier på 5-10 (Geider 1987).

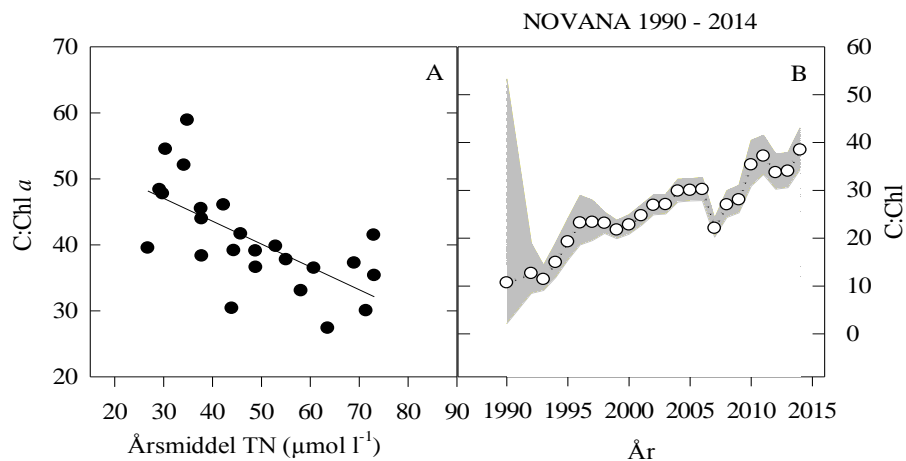
NOVANA-data udgør ~7.500 individuelle målinger jævnt fordelt over en længere årrække, hvorimod videnskabelige undersøgelser ofte beskriver intensive kampagner, der strækker sig over kortere perioder. Ligeledes fokuserer feltundersøgelser sjældent på vinterperioden, hvor vækst og produktion oftest er lav. Der er dog foretaget enkelte feltundersøgelser af sæsonvariationen i forholdet mellem kulstof og klorofyl af pico-plankton i Biscayen, hvorfra der er rapporteret vinterværdier på ~ 20 (Calvo-Diaz et al. 2008; Vazquez-Dominguez et al. 2013). Dette er i overensstemmelse med de lave vinterværdier fundet i NOVANA-data.

Figur 1.4. Sammenhængen mellem den maksimale sommer-amplitude (se *figur 1.3*) og årsmidlen af koncentrationen af TN.



Da amplituden tilsyneladende er drevet af næringsstofkoncentrationen, som eksempelvis årsmiddel af totalt kvælstof (TN) (*figur 1.4*), må der være en sammenhæng mellem kvælstofreduktioner og forholdet mellem kulstof og klorofyl. I *figur 1.5B* er afbildet sammenhængen mellem årsmidlen af C:Chl-forholdet og årsmidlen af TN for perioden 1990-2014. Denne periode dækker TN-koncentrationer mellem ca. $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($700 \mu\text{g N L}^{-1}$) i begyndelsen af perioden, til de nyeste værdier på omkring $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($280 \mu\text{g N L}^{-1}$) fra periodens slutning (*figur 1.5A*). I samme periode er årsmiddel for C:Chl-forholdet steget fra cirka 22 til 38. Ændringen over tid er vist på *figur 1.5B*, der viser ændringen i kulstof:klorofyl-forholdet siden 1990. Hældningen på *figur 1.5B* er $\sim 0,8 \text{ år}^{-1}$ og angiver, at reduktionen i kvælstof har en direkte effekt på fytoplanktonets kulstof:klorofyl-forhold.

Figur 1.5. Årsmiddel i forholdet mellem klorofyl og kulstof (C:Chl) som funktion af årsmiddel i total kvælstof (TN) (A) samt udviklingen i årsmiddel for C:Chl i perioden 1990-2014 (B). Den grå skravering angiver ± 1 standardafvigelse. Data er baseret på prøver indsamlet fra 22 stationer i NOVANA-programmet.



Det er vanskeligt at fastslå endepunktet i udviklingen i forholdet mellem kulstof og klorofyl. Men figur 1.5B peger på, at årsmidlen af forholdet mellem kulstof og klorofyl er steget med en faktor 2 i den periode, hvor kvælstoftilførslen er reduceret med omtrent 50 %.

1.3 Afrunding

C:Chl-forholdet responderer i høj grad på det omgivne miljø, og denne variation følger det forventede fysiologiske mønster med lave værdier ved lysbegrænsning og rigelig tilgang af kvælstof og høje værdier om sommeren, især på stationer som udviser tegn på kvælstofbegrænsning. Det betyder, at fytoplankton er i stand til at kompensere fysiologisk på ændringer i kvælstoftilgængeligheden, ved at forskyde forholdet mellem kulstofbiomassen og klorofylkoncentrationen. Dette kan forklare, at kulstofbiomassen har været stabil i de danske farvande på trods af indsatsen med at reducere kvælstoftilgængeligheden. Dette til trods for at de reducerede kvælstofkoncentrationer har resulteret i faldende klorofylkoncentrationer. De præcise mekanismer bag disse fysiologiske tilpasninger er ikke endelig kortlagt.

1.4 Referencer

- Antia, N. J., Harrison, P. J., Oliveira, L. (1991). The role of dissolved organic nitrogen in phytoplankton nutrition, cell biology and ecology. *Phycologia* 30(1): 1-89.
- Beardall, J., Morris, I. (1976). Concept of light intensity adaptation in marine phytoplankton - Some experiments with *Phaeodactylum tricornutum*. *Mar Biol* 37(4): 377-387.
- Calvo-Diaz, A., Moran, X. A. G., Suarez, L. A. (2008). Seasonality of picophytoplankton chlorophyll *a* and biomass in the central Cantabrian Sea, southern Bay of Biscay. *J Mar Syst* 72(1-4): 271-281.
- Chan, A. T. (1978). Comparative physiological study of marine diatoms and dinoflagellates in relation to irradiance and cell size. I. growth under continuous light. *J Phycol* 14(4): 396-402.
- Cloern, J. E., Grenz, C., Videgar, L. L. (1995). An empirical model of the phytoplankton chlorophyll:carbon ratio - The conversion factor between productivity and growth rate. *Limnol Oceanogr* 40(7): 1313-1321.

- Falkowski, P. G., Dubinsky, Z., Wyman, K. (1985). Growth-irradiance relationships in phytoplankton. *Limnol Oceanogr* 30(2): 311-321.
- Falkowski, P. G., Owens, T. G. (1980). Light-shade adaptation - Two strategies in marine phytoplankton. *Plant Physiol* 66(4): 592-595.
- Geider, R. J. (1987). Light and temperature dependence of the carbon to chlorophyll *a* ratio in microalgae and cyanobacteria - implications for physiology and growth of phytoplankton. *New Phyto.* 106(1): 1-34.
- Hansen, J. W. (2015) Marine områder 2014. NOVANA (*In Danish language*). Aarhus Universitet. Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi nr. 167.
- Harrison, P. J., Conway, H. L., Dugdale, R. C. (1976). Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. I. Cellular chemical composition and steady-state growth kinetics of *Skeletonema costatum*. *Mar Biol* 35(2): 177-186.
- Harrison, P. J., Thomsen, H. A., Calderwood, G. S. (1990). Effects of nutrient and light limitation on the biochemical composition of phytoplankton. *J Appl Phycol* 2: 45-56.
- Jakobsen, H. H., Blanda, E., Staehr, P. A., Jepsen, P. M., Højgård, J., Rayner, T. A., Pedersen, M. F., Hansen, B. W. (2015). Development of phytoplankton communities: Implications of nutrient injections on phytoplankton composition, pH and ecosystem production. *J Exp Mar Biol Ecol* 473: 81-89.
- Jakobsen, H. H., Markager, S. (2016). Carbon to chlorophyll ratio for phytoplankton in temperate coastal waters: seasonal patterns and relationship to nutrients. *Limnol Oceanogr in revision*.
- Markager, S. (1993). Light absorption and quantum yield for growth in 5 species of marine macroalgae. *J Phycol* 29(1): 54-63.
- Markager, S., Sand-Jensen, K. (1996). Implications of thallus thickness for growth irradiance relationships of marine macroalgae. *Eur J Phycol* 31(1): 79-87.
- Morel, A. (1988). Optical modeling of the upper ocean in relation to its biogenous matter content (case I waters). *J Geophys Res* 93(C9): 10749-10768.
- Morgan, K. C., Kalff, J. (1979). Effect of light and temperature interactions on growth of *Cryptomonas erosa* (Cryptophyceae). *J Phycol* 15(2): 127-134.
- Neale, P. J., Cullen, J. J., Yentsch, C. M. (1989). Biooptical inferences from chlorophyll *a* fluorescence: What kind of fluorescence is measured in flow cytometry? *Limnol Oceanogr* 34(8): 1739-1748.
- Osborne, B. A., Geider, R. J. (1986). Effect of nitrate nitrogen limitation on photosynthesis of the diatom *Phaeodactylum tricorutum* Bohlin (Bacillariophyceae). *Plant Cell and Environment* 9(8): 617-625.
- Richardson, K., Beardall, J., Raven, J. A. (1983). Adaptation of unicellular algae to irradiance: an analysis of strategies. *New Phyto.* 93: 157-191.

Riemann, B., Carstensen, J., Dahl, K., Fossing, H., Hansen, J. W., Jakobsen, H. H., Josefson, A. B., Krause-Jensen, D., Markager, S., Staehr, P. A., Timmermann, K., Windolf, J., Andersen, J. H. (2016). Recovery of Danish coastal ecosystems after reductions in nutrient loading: A holistic ecosystem approach. *Eustaries and Coast* 39: 82-97.

Sathyendranath, S., Stuart, V., Nair, A., Oka, K., Nakane, T., Bouman, H., Forget, M. H., Maass, H., Platt, T. (2009). Carbon-to-chlorophyll ratio and growth rate of phytoplankton in the sea. *Mar Ecol Prog Ser* 383: 73-84.

Taylor, A. H., Geider, R. J., Gilbert, F. J. H. (1997). Seasonal and latitudinal dependencies of phytoplankton carbon-to-chlorophyll a ratios: Results of a modelling study. *Mar Ecol Prog Ser* 152(1-3): 51-66.

Thompson, P. A. (1999). The response of growth and biochemical composition in daylength, temperature, and irradiance in the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae). *J Phycol* 35(6): 1215-1223.

Thompson, P. A. (2006). Effects of temperature and irradiance on marine microalgal growth and physiology. *Algal cultures, analogues of blooms and applications*, Science Publishers Inc., Enfield, NH., USA. pp. 571-638.

Thompson, P. A., Guo, M. X., Harrison, P. J. (1992). Effects of variation in temperature. I. on the biochemical composition of 8 species of marine phytoplankton. *J Phycol* 28(4): 481-488.

Thompson, P. A., Harrison, P. J., Parslow, J. S. (1991). Influence of irradiance on cell volume and carbon quota for ten species of marine phytoplankton. *J Phycol* 27(3): 351-360.

Vazquez-Dominguez, E., Moran, X. A. G., Lopez-Urrutia, A. (2013). Photoacclimation of picophytoplankton in the central Cantabrian Sea. *Mar Ecol Prog Ser* 493: 43-56.