

海洋酸化对栉孔扇贝钙化、呼吸以及能量代谢的影响

张明亮^{1,2,3} 邹 健³ 方建光^{3*} 张继红³ 杜美荣³ 李 斌^{1,2,3} 任黎华³

(¹ 中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

(² 中国科学院研究生院, 北京 100049)

(³ 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 山东省渔业资源与生态环境重点实验室
中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘 要 通过“Alkalinity anomaly technique”测定了栉孔扇贝 *Chlamys farreri* 在不同酸度条件下的钙化率和呼吸率, 发现栉孔扇贝的钙化和呼吸活动受酸化影响显著, 均随着酸化的加剧出现了明显下降。当 pH 降低到 7.9 时, 栉孔扇贝的钙化率将会下降 33% 左右; 当 pH 降到 7.3 左右时, 栉孔扇贝的钙化率将趋近于 0, 栉孔扇贝无法产生贝壳, 而此时栉孔扇贝碳呼吸率 (R_C) 与耗氧率 (R_O) 也分别下降了 14% 和 11%。随着酸化的加剧, 栉孔扇贝的能量代谢方式也会发生改变。这些变化都可能影响到栉孔扇贝的生存。

关键词 海洋酸化 栉孔扇贝 钙化 呼吸

中图分类号 Q143 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2011)04-0048-07

Impacts of marine acidification on calcification, respiration and energy metabolism of Zhikong scallop *Chlamys farreri*

ZHANG Ming-liang^{1,2,3} ZOU Jian³ FANG Jian-guang^{3*} ZHANG Ji-hong³
DU Mei-rong³ LI Bin^{1,2,3} REN Li-hua³

(¹ Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

(² Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100047)

(³ Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture,
Shandong Provincial Key Laboratory of Mariculture Ecology and Carrying Capacity,
Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT The ocean is becoming more and more acidic in unprecedented speed in the history of the earth resulting from emissions of CO₂ by human activities. The survival state of calcification organisms such as shellfish may be threatened by marine acidification. So the calcification rate and respiratory rate of *Chlamys farreri* were investigated using the alkalinity anomaly technique at different pH. It was found that calcification rate and respiration rate decreased significantly as pH declined. Calcification rate decreased by 33% when the pH of water was down to 7.9. At pH 7.3, calcification rate was almost 0, and respiratory rate (R_C) and O₂ consump-

国家科技支撑计划课题(2008BAD95B11)资助

* 通讯作者。E-mail: fangjg@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2010-10-08; 接受日期: 2010-12-02

作者简介: 张明亮(1982-), 男, 博士研究生, 主要从事海洋生态研究。E-mail: zhangml1982@yahoo.cn, Tel: (0532)85892957

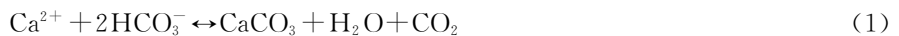
tion rate (R_0) were reduced by 14% and 11% respectively. As marine acidification intensifies, the metabolic pathways of *C. farreri* also changed. All changes above may threaten the survival of *C. farreri* in the future.

KEY WORDS Marine acidification *Chlamys farreri* Calcification Respiration

自工业革命以来,人类大量使用化石燃料,造成了大气中 CO_2 浓度大幅上升。在过去 250 年时间里,大气中 CO_2 浓度上升了 40%,已由工业革命前 280 ppm 上升到当前 394 ppm (<http://www.co2now.org>),并且呈继续上升的趋势。人类活动产生的 CO_2 约有三分之一被海洋吸收 (Fasham *et al.* 2001; Sabine *et al.* 2004),大量 CO_2 进入海洋显著改变了上层海洋的化学成分,造成了 $[\text{H}^+]$ 含量大幅上升,从而导致了海洋酸化 (Doney *et al.* 2008)。据研究,当前海水 pH 值较工业革命前已经下降了 0.1 个单位,如果 CO_2 排放仍保持当前速度,到 2100 年 pH 将会下降 0.3~0.4 个单位,而到 2300 年下降最大幅度可达 0.77 个单位 (Caldeira *et al.* 2003; Orr *et al.* 2005)。在未来的几个世纪里,全球海洋将可能达到近 3 亿年来酸性最强的程度 (Caldeira *et al.* 2003)。

所有海洋生物都将面临着来自酸化的巨大威胁。海洋酸化不仅会影响初级生产者的外观结构,还会改变其细胞内的 C、N 元素比和光合作用能力 (Riebesell *et al.* 2007; Iglesias-Rondriguez *et al.* 2008) 以及降低对 Fe 元素的利用 (Sunda 2010; Shi *et al.* 2010)。海洋的整个初级生产过程也将因此受到影响。对于其他海洋生物,酸化则可能会造成其基因表达受损 (O'Donnell *et al.* 2009)、幼体发育畸形率和死亡率大幅提高 (Kurihara *et al.* 2004a、b)、成体细胞传导受阻和免疫下降 (Bibby *et al.* 2008) 等不良影响,严重影响其生存能力。此外,酸化还会损害某些鱼类的嗅觉,进而影响其躲避敌害和洄游等行为 (Munday *et al.* 2009; Dixson *et al.* 2010)。酸化将对海洋生物乃至整个海洋系统造成不可估量的危害 (Hofmann *et al.* 2009)。

双壳类是海水养殖的重要经济种类,也无法摆脱来自海洋酸化的威胁。海洋酸化将降低贝类的钙化率。贝类能够通过钙化反应(1)生成碳酸钙质(主要以文石和方解石的结晶相存在)的贝壳 (Frankignoulle *et al.* 1995):



在钙化的同时, CaCO_3 还会发生溶解反应:



因此贝类的钙化率将受 CaCO_3 饱和度 (Ω) 影响(3):

$$\Omega = \frac{[\text{Ca}^{2+}] \times [\text{CO}_3^{2-}]}{K'_{sp}} \quad (3)$$

式中, K'_{sp} 为溶解度常数,与海水的温度、盐度、压力以及 CaCO_3 结晶相相关。 $[\text{Ca}^{2+}]$ 在海水中基本保持稳定,因此 Ω 主要取决于 $[\text{CO}_3^{2-}]$ 。由于大量 CO_2 溶入海洋,与 CO_3^{2-} 发生反应(4),将导致 $[\text{CO}_3^{2-}]$ 下降,从而使 Ω 下降 (Orr *et al.* 2005),降低了贝类钙化率。



Orr 等(2005)通过模型预测未来表层海洋 $\Omega_{\text{文石}}$ 将大幅下降,势必会影响贝类等海洋生物的钙化活动。Gazeau 等(2007)通过实验预计到 2100 年长牡蛎 *Crassostrea gigas* 和紫贻贝 *Mytilus edulis* 的钙化率将分别下降 10% 和 25%; Miller 等(2009)也通过实验预测到 2100 年北美牡蛎 *Crassostrea virginica* 和近江牡蛎 *Crassostrea ariakensis* 幼体贝壳面积和 CaCO_3 含量将明显下降。酸化不仅影响贝类钙化,还可能降低贝类的呼吸,Michaelidis 等(2005)发现地中海贻贝 *Mytilus galloprovincialis* 在长期酸化培养中会出现呼吸下降的现象。贝类养殖业也将因为酸化蒙受巨大损失,Cooley 等(2009)估计,到 2060 年,海洋酸化将导致美国贝类产业大幅下滑,造成经济损失累计可达 14 亿美元。

栉孔扇贝是我国北方重要的经济种类 (Guo *et al.* 1999),未来海洋酸化很可能会影响栉孔扇贝的生存,进而影响其养殖业的存在和发展。但目前尚无酸化对其生理活动影响以及其对酸性条件适应性的研究,本研究首次探讨了海洋酸化对栉孔扇贝钙化和呼吸代谢的影响。

1 材料与方 法

1.1 实验原理

海水总碱度是指每 kg 海水中氢离子结合体(当温度为 25℃ 时,离子强度为 0,解离常数 $k \leq 10^{-4.5}$ 的弱酸解离形成的碱)超过氢离子给予体(解离常数 $\geq 10^{-4.5}$ 的酸)的摩尔数,单位为 mol/kg(Dickson 1981)。但在生物和生态学研究中,一般取 mol/L 为单位。总碱度(TA)可表示为:

$$\begin{aligned} \text{TA} = & [\text{HCO}_3^-] + 2[\text{CO}_3^{2-}] + [\text{B}(\text{OH})_4^-] + [\text{B}(\text{OH})_3] + [\text{OH}^-] + [\text{HPO}_4^{2-}] \\ & + 2[\text{PO}_4^{3-}] + [\text{SiO}(\text{OH})_3^-] + [\text{NH}_3] + [\text{HS}^-] - [\text{H}^+]_{\text{F}} \\ & - [\text{HSO}_4^-] - [\text{HF}] - [\text{H}_3\text{PO}_4]^- \dots \end{aligned} \quad (5)$$

式中, $[\text{H}^+]_{\text{F}}$ 代表自由氢离子浓度,省略号代表含量极低可以忽略的弱酸。

由反应(1)可知,在贝类钙化过程中,每 1mol CaCO_3 生成,海水的总碱度会降低 2mol。虽然生物呼吸也在向水体释放 CO_2 ,但生物呼吸释放出的 CO_2 由于发生化学反应(6),因此呼吸不会改变水体的碱度(Smith *et al.* 1978)。



贝类排泄活动会使水体中 N、P 等营养盐浓度略有增加,但引起的碱度变化极小,可忽略不计(Gazeau *et al.* 2007)。因此可以通过封闭培养,测定生物钙化前后水体的总碱度变化来估算钙化速率,此种方法称为“Alkalinity anomaly technique”,在国外广泛应用于成礁珊瑚以及其他海洋生物钙化速率的测定(Boucher-Rodoni *et al.* 1993; Gattuso *et al.* 1998; Gazeau *et al.* 2007)。

因此,栉孔扇贝钙化率 G ($\mu\text{mol}/\text{FW g} \cdot \text{h}$) 可用公式(7)表示:

$$G = \frac{(TA_i - TA_f) \times V}{2 \times T \times M} \quad (7)$$

式中, TA_i 和 TA_f 分别为培养前、后水体的总碱度 ($\mu\text{mol}/\text{L}$); V 为实验水体体积 (L); T 为培养时间 (h); M 为实验扇贝鲜重 (g)。

由公式(1)可知,由于钙化反应形成固态 CaCO_3 ,因此钙化会引起水体中的溶解无机碳(DIC) ($\mu\text{mol}/\text{L}$) 含量下降;但是呼吸产生的 CO_2 进入水体,会使水体 DIC 含量上升,因此水体 DIC 含量的变化是由呼吸和钙化两部分引起的。水体 DIC 的变化可表示为:

$$\Delta\text{DIC} = \Delta\text{DIC}_R - \Delta\text{DIC}_G = \text{DIC}_f - \text{DIC}_i \quad (8)$$

式中, ΔDIC 为水体 DIC 的净变化, ΔDIC_R 为呼吸引起的 DIC 变化, ΔDIC_G 为钙化引起的 DIC 变化, DIC_i 和 DIC_f 为培养前、后的 DIC 含量。 ΔDIC_G 可表示为:

$$\Delta\text{DIC}_G = \frac{TA_i - TA_f}{2} \quad (9)$$

因此, CO_2 呼吸率 R_C ($\mu\text{mol}/\text{FW g} \cdot \text{h}$) 可以表示为:

$$R_C = \frac{\Delta\text{DIC}_R \times V}{T \times M} = \frac{(\Delta\text{DIC} + \Delta\text{DIC}_G) \times V}{T \times M} \quad (10)$$

1.2 实验材料

实验所用扇贝为养殖扇贝,于 2009 年 12 月取自青岛胶州湾 ($36^\circ 07' 04.98''\text{N}$, $120^\circ 36' 12.30''\text{E}$),取样后在 4 h 之内带回实验室,清洗表面附着物,在 50L 水箱中驯养。实验海水为胶州湾近岸海水,驯养过程中每天定时换水,并投喂角毛藻作为饵料。驯养 7 d,整个驯养过程水温为 $16 \pm 1^\circ\text{C}$,pH 为 8.1 ± 0.1 ,盐度为 28.1 ± 0.2 。驯化结束后,取壳高 5~6cm 个体进行实验,称量实验个体平均湿重为 $21.78 \pm 2.34\text{g}$ 。

1.3 实验过程

设置了 pH 8.1、7.9、7.6、7.3、7.0 共 5 个实验组。pH 8.1 组直接采用胶州湾近岸海水,其他组通过向海

水中充入 CO₂ 气体来得到。pH 值采用 NBS 标度,使用 Mettler 公司的 SevenMulti 型台式 pH 计测定,每次使用前都进行校正。实验开始时从各组海水分别虹吸取水样 3 份,其中 200ml 用于测定 DO,120ml 用于测定 DIC,120ml 用于测定 TA。每组取样 3 次,计算其各项指标平均值作为初始值。DO 使用改进的 Winkler 法进行测定(Hitchman 1978),测量相对标准偏差为 ±0.1mg/L。DIC 水样加入 0.02% 饱和 HgCl₂ 溶液于阴暗处密封冷藏保存(DOE 1994);TA 水样迅速使用 GF/F 过滤(Boucher-Rodoni *et al.* 1993; Gazeau *et al.* 2007),在过滤过程中尽量避免与空气接触,保存方法同 DIC 水样。DIC 与 TA 在取样后尽可能在短的时间内测定。TA 使用 Apollo SciTech 公司生产的 AS-ALK2 型碱度自动滴定仪采用自动电位滴定法测定(Gattuso *et al.* 1993),相对标准偏差为 ±2μmol/L。DIC 使用岛津公司生产的 TOC-VCPN 总有机碳分析仪测定,测量偏差 < ±1%。

每实验组设置 5 个平行和 1 个对照,共使用 6 个呼吸瓶,在呼吸瓶内充满实验海水。在其中 5 个呼吸瓶中各放入 3~5 个扇贝,对照不放入扇贝。等扇贝适应 30 min 后,将所有呼吸瓶密封,2 h 后再次取样测定 DO、DIC、TA。

1.4 数据处理

在计算平行实验前后 DO、DIC、TA 变化量时扣除相应对照前后差值,然后根据本文 1.1 里描述的方法计算扇贝在各盐度梯度下的钙化率 G 和 CO₂ 呼吸率 R_c ,同时计算耗氧率 R_o 以及呼吸熵 RQ 。使用 SPSS 17.0 对所得结果进行单因素方差分析(ANOVA), $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极其显著。

2 结果

各实验组 DO 初始值在 9.4~9.7mg/L 之间,均处于或接近饱和状态,不会因 DO 不足对扇贝呼吸造成抑制作用。由于扇贝的钙化活动,实验前后各呼吸瓶中 TA 的变化范围为 -50~20μmol/L;DIC 也在钙化和呼吸的协同作用下增加了 100~200μmol/L。DIC 的上升引起了 pH 下降,各呼吸瓶下降范围在 0.05~0.08 之间。为了提高 G 的测定精度,实验选择在小水体中进行,但也因此无法避免呼吸引起的 pH 下降,这也是钙化实验无法避免的问题。表 1 中各个 pH 梯度实际为实验前后的平均值。

表 1 栉孔扇贝在不同 pH 下的钙化率、呼吸率以及呼吸熵

Table 1 The calcification rate, respiratory rate and respiratory quotient of *Chlamys farreri* at different pH

pH	$G(\mu\text{mol}/\text{FW g} \cdot \text{h})$	$R_c(\mu\text{mol}/\text{FWg} \cdot \text{h})$	$R_o(\mu\text{mol}/\text{FWg} \cdot \text{h})$	RQ
8.08	0.43 ± 0.02 ^a	2.32 ± 0.17 ^a	2.67 ± 0.18 ^a	0.87 ± 0.02 ^a
7.87	0.29 ± 0.05 ^b	2.33 ± 0.11 ^a	2.61 ± 0.08 ^a	0.89 ± 0.04 ^a
7.58	0.22 ± 0.02 ^c	2.27 ± 0.18 ^b	2.56 ± 0.14 ^a	0.89 ± 0.03 ^a
7.28	-0.02 ± 0.05 ^c	2.00 ± 0.08 ^b	2.37 ± 0.08 ^a	0.85 ± 0.02 ^a
6.96	-0.23 ± 0.04 ^d	1.66 ± 0.05 ^b	2.19 ± 0.06 ^b	0.76 ± 0.01 ^b

注:不同字母表示差异显著($P < 0.05$ 为差异显著)

Note: Different superscript means significant difference ($P < 0.05$)

表 1 为栉孔扇贝在不同 pH 条件下的钙化率 $G(\mu\text{mol}/\text{FW g} \cdot \text{h})$ 、二氧化碳呼出率 $R_c(\mu\text{mol}/\text{FW g} \cdot \text{h})$ 、耗氧率 $R_o(\mu\text{mol}/\text{FW g} \cdot \text{h})$ 、以及呼吸熵 RQ 。根据统计分析,发现 G 与 R_c 受酸化影响极其显著, R_o 与 RQ 影响显著。 G 、 R_c 、 R_o 都随着酸化的变强,出现了不同程度的下降(图 1、图 2),特别是 G 在 pH 7.3 附近趋近于 0,随着酸性的进一步变强将变成负值。分别对 G 、 R_c 、 R_o 、 RQ 进行曲线拟合,发现 G 与 pH 线性相关系数最高,呈负线性相关: $G = 0.685\text{pH} - 4.306$ ($R^2 = 0.88$, $P < 0.01$),而 R_c 、 R_o 、 RQ 与 pH 的曲线关系不显著,但也随着 pH 下降而下降。 RQ 在 pH 8.1~7.3 范围内并没有显著变化,只在 pH 7.0 时明显低于其他各组。

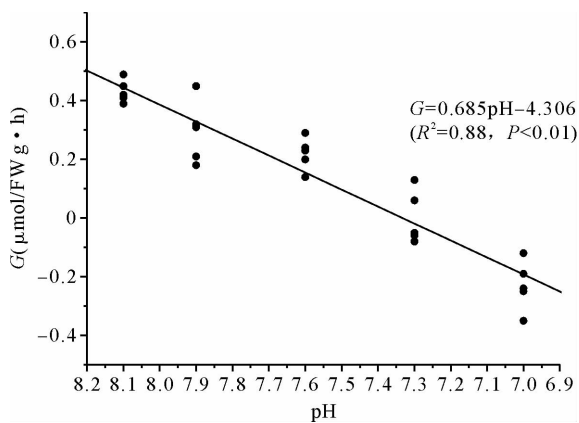


图 1 栉孔扇贝在不同 pH 条件下的钙化率

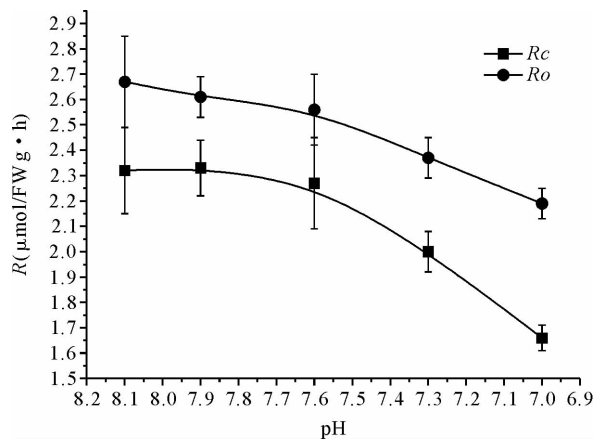
Fig. 1 The calcification rate of *C. farreri* at different pH

图 2 栉孔扇贝在不同 pH 条件下的呼吸率

Fig. 2 The respiratory rate of *C. farreri* at different pH

3 讨论

海洋生物钙化生成的 CaCO_3 主要以文石和方解石结晶形式存在 (Caldeira *et al.*, 2003; Guinotte *et al.*, 2008)。而海洋酸化改变了上层海洋的化学结构,造成了文石和方解石饱和度急剧下降,这必然导致海洋生物钙化率下降。目前已观测到成礁珊瑚 (Gattuso *et al.*, 1998; Langdon *et al.*, 2000)、翼足类 (Feely *et al.*, 2004; Orr *et al.*, 2005)、有孔虫类 (Bijma *et al.*, 2002) 以及双壳贝类 (Gazeau *et al.*, 2007; Miller *et al.*, 2009) 等类群随着酸化的加剧出现了钙化率下降的现象。

本研究发现,当 pH 降低到 7.9 时,栉孔扇贝的钙化率将会下降 33% 左右,根据对未来海水 pH 的预测,到 2100 年,海洋 pH 将下降到 7.8~7.7 之间,这将意味着在未来几十年的时间里,栉孔扇贝的钙化率就会出现大幅下降,而到 2300 年海水 pH 降到 7.3 左右时,栉孔扇贝的钙化率将趋近于 0,无法产生贝壳,这对栉孔扇贝的生存无疑是致命的。

尽管大多数科学家认为海洋酸化将会降低海洋生物的钙化,但是也有些科学家认为某些类群在一定范围内的酸化将会促进生物的钙化 (Ridgwell *et al.*, 2010)。Wood 等 (2008) 发现蛇尾虫 *Amphiura filiformis* 在酸化条件下钙化将会加强; Ries 等 (2009) 发现蓝蟹 *Callinectes sapidus* 和东方巨对虾 *Penaeus plebejus* 钙化率随着文石饱和度下降而升高。无论海洋生物钙化活动随酸化是提高还是降低,都需要在生理上做出一定的补偿,这种补偿是以牺牲正常的能量代谢为代价的,这无疑会影响生物的生存能力。蛇尾虫 *Amphiura filiformis* 钙化率虽然在酸化条件下提高了,但是其代谢也提高了,大量肌肉组织被用于代谢,其健康状况和生存能力必然会出现下降 (Wood *et al.*, 2009)。Michaelidis 等 (2005) 和 Beesley 等 (2008) 发现酸化不仅降低了贝类钙化率,还同时降低了其代谢和健康状况。随着贝壳在酸化条件下的溶解加剧,产生的 Ca^{2+} 进入贝类体内,造成血淋巴内 Ca^{2+} 含量上升,由于 Ca^{2+} 与细胞信号传导相关,因此其细胞信号传导无疑也将受到酸化的影响 (Bibby *et al.*, 2008)。由此可见,海洋酸化不仅仅是作用于生物的钙化,还同时作用于生物的其他生理过程,并通过在各项生理活动之间协调和补偿使生物适应酸化环境,最终导致其健康状况的下降。本研究发现, R_c 和 R_o 都随着酸化的加剧降低了。pH 7.3 时 R_c 与 R_o 较 pH 8.1 时分别下降了 14% 和 11%, 随着酸化进一步的加剧, R_c 与 R_o 还会进一步下降。呼吸的降低将会导致代谢的减慢,从而导致其生长的减缓,这对贝类生长是非常不利的。RQ 在 pH 8.1~7.3 范围内变化不大,表明酸化对栉孔扇贝的能量代谢方式影响不大,代谢底物主要以碳水化合物为主;但到 pH 7.0 时,能量代谢方式将会发生改变,代谢底物主要以蛋白质为主,这无疑是不益于其健康的 (Barber *et al.*, 1985)。

海洋酸化正在以地球历史上前所未有的速度改变着海水的化学结构,预计到 2300 年海水 pH 将下降到 7.3 左右,栉孔扇贝贝壳将无法生成,呼吸也会出现大幅下降,栉孔扇贝将面临着巨大的生存压力,整个扇贝养

殖业也将因此蒙受巨大的损失。以上变化是否会给扇贝带来灭绝的风险,还需要进一步的研究。

参 考 文 献

- Barber, B. J., and Blake, N. J. 1985. Substrate catabolism related to reproduction in the bay scallop *Argopecten irradians concentricus* as determined by O/N and RQ physiological indexes. *Mar. Biol.* 87(1): 13~18
- Beesley, A., Lowe, D. M., Pascoe, C. K., and Widdicombe, S. 2008. Effect of CO₂-induced seawater acidification on the health of *Mytilus edulis*. *Clim. Res.* 37:215~225
- Bibby, R., Widdicombe, S., Parry, H., Spicer, J., and Pipe, R. 2008. Effect of ocean acidification on the immune response of the blue mussel *Mytilus edulis*. *Aqua. Biol.* 2:67~74
- Bijma, J., Honisch, B., and Zeebe, R. E. 2002. Impact of the ocean carbonate chemistry on living foraminifera shell weight; comment on "carbonate ion concentration in glacial-age deepwaters of the Caribbean sea" by WS Broecker and E Clark. *Geochem. Geophys. Geosyst.* 3:1064. doi:10.1029/2002GC000388
- Boucher-Rodoni, R., and Boucher, G. 1993. Respiratory quotient and calcification of *Nautilus macromphalus* (Cephalopoda: Nautiloidea). *Mar. Biol.* 117:629~633
- Caldeira, K., and Wickett, M. E. 2003. Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature*, 425: 365
- Cooley, S. R., and Doney, S. C. 2009. Anticipating ocean acidification's economic consequences for commercial fisheries. *Environ. Res. Lett.* 4 doi:10.1088/1748-9326/4/2/024007
- Dickson, A. G. 1981. An exact definition of total alkalinity and procedure for the estimation of alkalinity and total inorganic carbon from titration data. *Deep-Sea Res.* 28(A):609~623
- Dixson, D. L., Munday, P. L., and Jones, G. P. *et al.* 2010. Ocean acidification disrupts the innate ability of fish to detect predator olfactory cues. *Ecol. Lett.* 13: 68~75
- DOE. 1994. Handbook of methods for the analysis of various parameters of the carbon dioxide system in sea water; version 2, Dickson, A. G. & Goyet, C. eds., ORNL/CDIAC-74
- Doney, S. C., Fabry, V. J., Feely, R. A., and Kleypas, J. A. 2008. Ocean acidification; The other CO₂ problem. *Annu. Rev. Mar. Sci.* 1:169~192
- Fasham, M. J. S., Ballifio, B. M., and Bowles, M. C. 2001. A new vision of ocean biogeochemistry after a decade of the Joint Global Ocean Flux Study (JGOFS), AMBIO, Special Report, 10: 4~31
- Feely, R. A., Sabine, C. L., Leek, K., Berelson, W., and Kleypas, J. A. 2004. Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the oceans. *Science*, 305:362~366
- Frankignoulle, M., Dichon, M., and Gattuso, J-P. 1995. Aquatic calcification as a source of carbon dioxide. *NATO ASI Series*, 133: 265~271
- Gattuso, J-P., Pichon, M., Delesalle, B., and Frankignoulle, M. 1993. Community metabolism and air-sea CO₂ fluxes in a Coral reef ecosystem (Moorea French Polynesia). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 96: 259~267
- Gattuso, J-P., Frankignoulle, M., Bourge, I., Romaine, S., and Buddemeier, R. W. 1998. Effect of calcium carbonate saturation of seawater on coral calcification. *Glob. Plan. Chan.* 18: 37~46
- Gazeau, F., Quiblier, C., Jansen, J. M., Gattuso, J-P., Middelburg, J., and Heip, C. H. R. 2007. Impacts of elevated CO₂ on shellfish calcification. *Geophys. Res. Lett.* 34; doi: 10.1029/2006GL028554
- Guinotte, J. M., and Fabry, V. J. 2008. Ocean acidification and its potential effects on marine ecosystems. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1134:320~342
- Guo X. M., Ford, S. E., and Zhang, F. S. 1999. Molluscan aquaculture in China. *J. Shellfish. Res.* 18:19~31
- Hitchman, M. L. 1978. Measurement of dissolved oxygen. In: John Wiley & Sons editors. New York, 255
- Hofmann, M., and Schellnhuber, H. J. 2009. Ocean acidification affects carbon pump and triggers extended marine oxygen holes. *P. N. A. S.* 106(52):3 017~3 022
- Kurihara, H., and Shirayama, Y. 2004. Effect of increased atmospheric CO₂ on sea urchin early development. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 274:161~169
- Kurihara, H., Shinji, S., and Shirayama, Y. 2004. Effects of raised CO₂ on the egg production rate and early development of two marine copepods (*Acartiasteari* and *Acartia erythraea*). *Mar. Pollu. Bull.* 49:721~727
- Langdon, C. 2003. Review of experimental evidence for effects of CO₂ on calcification of reef builders. In: Proceedings of the 9th international coral reef symposium. Bali, Indonesia, 23~27
- Michaelidis, B., Ouzounis, C., Palaras, A., and Porner, H. O. 2005. Effects of long-term moderate hypercapria on acid-balance and growth rate

- in marine mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 293:109~118
- Miller, A. W., Reynolds, A. C., Sobrino, C., and Riedel, G. F. 2009. Shellfish face uncertain future in high CO₂ world: influence of acidification on oyster larvae calcification and growth in estuaries. *PLoS ONE* 4(5):e5661. doi:10.1371/journal.pone.0005661
- Munday, P. L., Dixon, D. L., Donelson, J. M., Jones, G. P., Pratchett, M. S., Devitsna, G. V., and Døving, K. B. 2009. Ocean acidification impairs olfactory discrimination and homing ability of a marine fish. *P. N. A. S.* 105(6): 1 848~1 852
- O'Donnell, M. J., Hammond, L. M., and Hofmann, G. E. 2009. Predicted impact of ocean acidification on a marine invertebrate: elevated CO₂ alters response to thermal stress in sea urchin larvae. *Mar. Biol.* 156(3):439~446
- Orr, J. C., Fabry, V. J., Aumont, O., Bopp, L., Doney, S. C., Feely, R. A., Gnanadesikan, A., Gruber, N., Ishida, A., Joos, F., Key, R. M., Lindsay, K., Maier-Reimer, E., Matear, R., Monfray, P., Mouchet, A., Najjar, R. G., Plattner, G-K., Rodgers, K. B., Sabine, C. L., Sarmiento, J. L., Schlitzer, R., Slater, R. D., Totterdell, I. J., Weirig, M-F., Yamanaka, Y., and Yool, A. 2005. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature*, 437: 681~686
- Ridgwell, A., and Schmidt, D. N. 2010. Past constraints on the vulnerability of marine calcifiers to massive carbon dioxide to massive carbon dioxide release. *Nature Geoscience*. doi:10.1038/NGEO755
- Riebesell, U., Schulz, K. G., Bellerby, R. G. J., Botros, M., Fritsche, P., Meyerhöfer, M., Nondal, G., Oschlies, A., Wohlers, J., and Zöllner, E. 2007. Enhanced biological carbon consumption in a high CO₂ ocean. *Nature*, 450: 545~549
- Ries, J. B., Cohen, A. L., and McCorkle, D. C. 2009. Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO₂-induced ocean acidification. *Geology*, 37 (12):1 131~1 134
- Sabine, C. L., Feely, R. A., Gruber, N., Key, R. M., Lee, K., Bullister, J. L., Wannikhof, R., Wong, C. S., Wallace, D. W. R., Tibbrook, B., Millero, F. J., Peng, T-H., Kozyr, A., Ono, T., and Rios, A. F. 2004. The ocean sink for anthropogenic CO₂. *Science*, 305:367~371
- Shi, D. L., Xu, Y., Hopkinson, B. M., and Morel, F. M. M. 2010. Effect of ocean acidification on iron availability to marine phytoplankton. *Science*, 327: 676~679
- Smith, S. V., and Kinsey, D. W. 1978. Calcification and organic carbon metabolism as indicated by carbon dioxide. In: Stoddart, D. R. and Johannes, R. E. (eds.) *Coral reefs: research methods*. UNESCO, Manila, 469~484
- Sunda, W. G. 2010. Iron and carbon pump. *Science*, 327:654~655
- Wood, H. L., Spicer, J. I., and Widdicombe, S. 2008. Ocean acidification may increase calcification rates, but at a cost. *Proc. R. Soc. B*275: 1 767~1 773