

胶州湾营养盐限制的上行效应研究^{*}

王 勇 周 毅

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

孙鹤鲲

(青岛市环保局, 青岛 266071)

在许多水体生态系统中, 浮游植物的生长受到营养盐可利用性的调控(Howarth, 1988)。在一定的浓度范围内, 营养盐对浮游植物的生长有促进作用, 但如果营养盐浓度过低, 则会对浮游植物的生长产生限制作用, 过高则有毒理作用。

由于人类活动的影响, 导致大量富含 N、P 的工业与生活污水排放入海水中, 造成沿岸海水的富营养化。营养盐本底含量的增加对沿岸海水中浮游植物群落的组成影响巨大(Durate, 1995)。Pedersen 等(1996)指出, 在沿岸海洋生态系统中, 富营养化的结果会促进生长快速、生活周期短的藻类的丰度与生产力迅速增加, 而生长缓慢的藻类由于在竞争中处于劣势, 其丰度则可能下降。

在海洋生态系统中, 用瓶子培养实验和化学计量法所得出的营养盐限制结论经常出现差异。溶解营养盐的浓度被最早用来指示营养盐的限制性, 这些主要基于一些负的实验证据, 例如, 当磷酸盐仍然可测时, 溶解硝酸盐已经检测不到(Nixon *et al.*, 1983), 暗示 N 可能比 P 更限制浮游植物的生长。但是在营养盐浓度无法检测得到的情况下, 仍然有许多浮游植物种类对 N、P 有很高的亲和能力, 因此藻的生长并未受到营养盐的限制。本实验应用的是瓶子培养实验, 该方法的优点是现场操作, 光照和温度条件与现场基本一致, 通过生物方法来反应营养盐的限制作用, 结果可信度较高。本论文研究的目的是观察胶州湾浮游植物对营养盐添加的响应效果, 以期对胶州湾营养盐限制研究提供有价值的科学信息。

一、材料与方法

1. 采样时间

于 1999 年 8 月、11 月, 2000 年 2 月、5 月、8 月, 中国科学院胶州湾生态站对胶

^{*} 课题号: KZCX3-SW-214

通信作者: 周毅, E-mail: Yi Zhou@ms.qdio.ac.cn

王勇, 男, 博士, 现在第 29 届奥林匹克委员会组织委员会帆船委员会工作。E-mail: wyong@qetb.jov.cn

收稿日期: 2002 年 3 月 20 日

州湾进行了 5 个航次的季度多学科调查。

2. 采样站点描述

胶州湾位于黄海中部沿岸, 属暖温带季风性气候, 又兼海洋气候特点, 温和湿润, 四季分明, 代表着太平洋西岸北温带海湾生态系统的主要类型。胶州湾自然条件优越, 水域生产力高, 生物繁茂, 具有黄、渤海沿岸水域环境特征和生物区系类型特点, 是一个典型的温带半封闭、中型、浅海湾, 又是一个相对独立的海湾生态系统。

每季度进行的胶州湾生态调查共设 10 个站点, 其中 1 个站点位于湾外, 1 个站点位于湾口, 其余 8 个站点均在湾内。营养盐限制的现场实验研究开展于湾中央的 5 号站 (36°06'N, 120°15'E)。

位于湾中心的 5 号站, 相对于其他站点远离陆地, 因此受到的污染也相对于其他站点轻, 用该站点的实验结果, 可以较真实反映胶州湾的自然状况。根据 1999 年夏季至 2000 年夏季的调查结果, 5 号站平均水深 14.2m, 表层平均的 NH_4^+ -N 浓度为 $7.83\mu\text{mol/L}$, NO_3^- -N 浓度为 $1.93\mu\text{mol/L}$, NO_2^- -N 浓度为 $1.14\mu\text{mol/L}$, PO_4^{3-} -P 浓度 $0.33\mu\text{mol/L}$, 总无机氮(TIN)浓度为 $10.90\mu\text{mol/L}$, TIN/P=33.03(数据来源沈志良)。平均水色为 14.2。平均透明度为 1.9m。表层平均温度为 17.79°C , 平均盐度为 31.99。表层大型浮游植物(20~200 μm)、微型浮游植物(2~20 μm)与超微型浮游植物(<2 μm)的平均叶绿素 a 分别为 $1.58\mu\text{g/L}$ 、 $1.30\mu\text{g/L}$ 与 $0.67\mu\text{g/L}$ (表 1)。

3. 叶绿素 a 的测定

叶绿素 a 分三个粒级(<2 μm 、2~20 μm 、20~200 μm)测定。先用 20 μm 的筛绢, 2 μm 的 Poretics 公司聚碳酸酯膜对水样进行分级, 每粒级取 250mL 水样在小于 100mmHg^① 的压力下过滤(用 25mm Whatman GF/F 玻璃纤维滤膜收集叶绿素 a), 滤膜在 -20°C 黑暗保存。叶绿素 a 含量采用 Welschmeyer(1994)的方法测定。先用 90% 的丙酮在冰箱的黑暗条件下提取色素 24~30h, 然后用岛津公司的 RF-5301 型荧光分光光度计测定, 标准曲线用 Sigma 公司的标准叶绿素 a 样品制作, 在这之前, 该标准样品用三波长法标定。

表 1 胶州湾出海期间实验站点表层水文状况(1999-08~2000-08)

采水时间	水深 /m	温度 /°C	盐度	水色	透明度 /m	NH_4^+ /($\mu\text{mol/L}$)	NO_2^- /($\mu\text{mol/L}$)	NO_3^- /($\mu\text{mol/L}$)	PO_4^{3-} /($\mu\text{mol/L}$)	SiO_3^{2-} /($\mu\text{mol/L}$)
1999-08	18	24.71	31.86	13	2.0	3.08	0.26	0.49	0.19	1.77
1999-11	15	16.58	31.66	16	1.9	4.97	3.95	4.4	0.55	5.35
2000-02	10	3.20	32.21	14	2.1	4.4	0.26	0.38	0.16	0.25
2000-05	14	17.83	32.27	14	1.5	9.1	0.6	3.1	0.36	0.87
2000-08	14	26.62	31.94	14	1.8	17.6	0.64	1.3	0.41	0.12
平均值	14.2	17.79	31.99	14.2	1.9	7.83	1.14	1.93	0.33	1.67

4. 营养盐样品的采样、保存及分析方法

水样用有机玻璃采水器采集, 取 300~500mL 样, 用直径 25mm 的 GF/F(Whatman) 滤膜过滤, 滤膜使用前在 450°C 下预灼烧 4h。收集约 100mL 滤液于 120mL 乙烯瓶中,

① mmHg 已废用, 1mmHg=133.322Pa

加入 200 μ L 氯置于 -20 $^{\circ}$ C 下冷冻保存,用于 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N、 NO_2^- -N、 PO_4^{3-} -P 的测定。

NH_4^+ -N、 NO_3^- -N、 NO_2^- -N、 PO_4^{3-} -P 用 Skalar San & plus 微量自动分析系统分析。 NH_4^+ -N 采用酚-次氯酸钠法, NO_3^- -N 采用 Cd-Cu 还原后重氮偶氮法, NO_2^- -N 采用重氮偶氮法, PO_4^{3-} -P 采用抗坏血酸-磷钼蓝法测定(赵卫红, 2001)。

5. 生物实验设计

在 1999 年 8 月至 2000 年 8 月的 5 个航次中,每次分别采集表层水 30~40L,先过 200 μ m 筛绢以去除大型浮游动物的明显性影响。采用 5L 的玻璃瓶对 N、P、Fe 的上行效应进行研究,共分为 5 种实验处理:①对照(C);②硝酸盐添加组(添加 20 μ mol/L NaNO_3);③铵盐添加组(添加 20 μ mol/L NH_4Cl);④磷酸盐添加组(添加 2 μ mol/L KH_2PO_4);⑤铁添加组(添加 7nmol/L FeCl_3)。将瓶置于流水控温槽中模拟现场培养 8d,每两天取样测定叶绿素 a。

二、结 果

1. 生物实验站点浮游植物叶绿素 a 生物量与无机 N、P 的季节变化

在调查期间,还同时开展了营养盐与叶绿素 a 的现场调查工作。在 5 次出海调查中,5 号站表层 TIN 的季节变化较大,最低值出现在 1999 年夏季,最高值出现在 2000 年夏季,在 1999 年秋季有一个显著的次高峰值;相对于 TIN,叶绿素 a 与 P 的季节变化较小,尤其是 P,几乎均保持在 0.2~0.4 μ mol/L 之间。相关性分析发现,TIN 与叶绿素 a 的相关性程度较高(0.579),但 P 与叶绿素 a 只有微弱的负相关关系(-0.041)(图 1)。

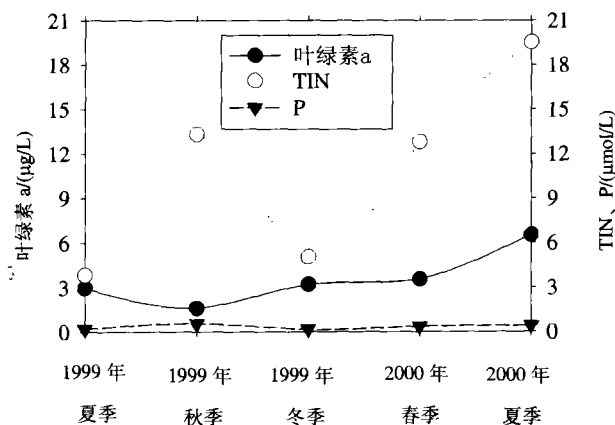


图 1 胶州湾生物实验站点表层叶绿素 a 生物量及 TIN 与 P 的季节性变化

2. 生物实验站点各粒级叶绿素 a 占总叶绿素 a 比例的季节变化

在 5 号站表层,除 1999 年夏季是超微型浮游植物占叶绿素 a 生物量的比例最大外,其余 4 次出海航次都是大型浮游植物与微型浮游植物贡献了叶绿素 a 生物量的主要部分。1999 年秋季总叶绿素 a 生物量最小,仅为 1.61 μ g/L;最高值出现在 2000 年夏季,达到了 6.5 μ g/L(表 2)。

表 2 胶州湾出海期间实验战点表层水文状况(1999-08~2000-08)

采水时间	大型浮游植物 叶绿素 a 生物 量 /($\mu\text{g/L}$)	微型浮游植物 叶绿素 a 生物 量 /($\mu\text{g/L}$)	超微型浮游植 物叶绿素 a 生 物量 /($\mu\text{g/L}$)	大型浮游植物 占总叶绿素 a 的比例/%	微型浮游植物 占总叶绿素 a 的比例/%	超微型浮游植 物占总叶绿素 a 的比例/%
1999-08	1.01	0.23	1.72	34.1	7.8	58.1
1999-11	0.75	0.53	0.33	46.6	32.9	20.5
2000-02	1.87	1.07	0.25	58.6	33.5	7.9
2000-05	1.42	1.78	0.34	40.1	50.3	9.6
2000-08	2.86	2.91	0.73	44.0	44.8	11.2
平均值	1.58	1.30	0.67	34.1	7.8	58.1

3. 浮游植物对营养盐添加的响应效果

1999 年夏季的实验结果显示, 2d 内各组大型浮游植物叶绿素 a 均下降, 第 2~8 天各组叶绿素 a 均增加, NO_3^- 与 NH_4^+ 实验组增加最明显, 第 8 天与初始时刻比较分别增加 2.73 与 2.37 倍; 2d 内 C 与 Fe 实验组微型浮游植物叶绿素 a 下降, 其他各组均增加, 在第 2~6 天内各组均增加, Fe 实验组在第 6~8 天内略有下降, 其他各组均增加, NH_4^+ 实验组增加最明显, 第 8 天与初始时刻比较增加 4.03 倍; 2d 内各组超微型浮游植物叶绿素 a 均下降, 第 2~8 天内均增加, 超微型浮游植物对营养盐添加无明显响应, 因为对照组与实验组的增加程度几乎一致(图 2)。

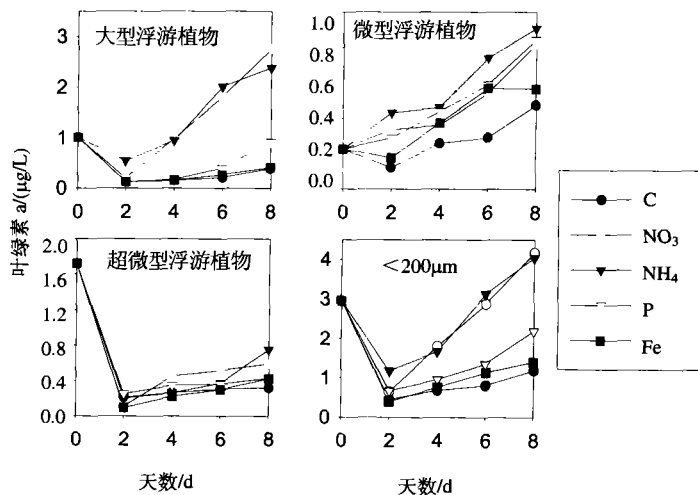


图 2 1999 年夏季胶州湾大型浮游植物、微型浮游植物、超微型浮游植物
与浮游植物群落对现场营养盐添加的响应

C: 对照; NO_3^- : NO_3^- 实验组; NH_4^+ : NH_4^+ 实验组; P: P 实验组; Fe: Fe 实验组

1999 年秋季, 2d 内各组大型浮游植物叶绿素 a 均有增加, 除 NO_3^- 实验组在第 2~4

天之间略有下降外,第2~6天,各组均增加,最后两天各组均下降, NH_4 实验组增加最明显,第8天与初始时刻比较增加2.45倍;2d内C组与Fe实验组微型浮游植物叶绿素a下降,其他各组均增加,第2~8天各组均增加,P与 NO_3 实验组增加最明显,第8天与初始时刻比较分别增加4.16倍与3.40倍;6d内各组超微型浮游植物叶绿素a均增加,最后两天 NO_3 与P实验组下降,其他各组增加(图3)。

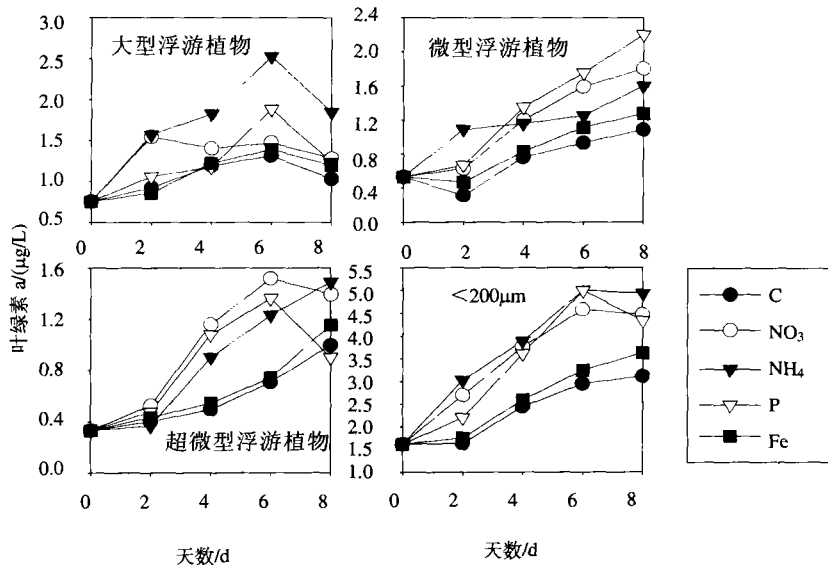


图3 1999年秋季胶州湾大型浮游植物、微型浮游植物、超微型浮游植物
与浮游植物群落对现场营养盐添加的响应

C: 对照; NO_3 : NO_3 实验组; NH_4 : NH_4 实验组; P: P实验组; Fe: Fe实验组

2000年冬季,各组大型浮游植物叶绿素a在2d内均下降,Fe实验组在第2~4天继续下降,然后一直增加直至培养结束,除C组大型浮游植物叶绿素a在第6~8天下降外,其他各组在第2~8天一直增加;各组微型浮游植物叶绿素a在2d内均呈下降趋势,在第2~8天均增加,P实验组增加最明显,第8天与初始时刻比较增加1.84倍;P与 NH_4 实验组超微型浮游植物叶绿素a在2d内均增加,其他各组下降,各组在第2~4天均增加,C组与Fe实验组在第4~6天下降,其他各组增加,各组在第6~8天均下降(图4)。

2000年春季, NO_3 与 NH_4 实验组大型浮游植物叶绿素a在2d内增加,其他各组下降,各组在第2~6天各组均增加,在第6~8天均下降,P、 NH_4 与 NO_3 实验组增加明显,第8天与初始时刻比较分别增加1.54倍、1.41倍与1.35倍;各组微型浮游植物叶绿素a在6d内都增加,在第6~8天都下降,P与 NH_4 实验组增加明显,第8天与初始时刻比较分别增加1.16倍与1.05倍;各组超微型浮游植物叶绿素a在4d内均增加,在第4~8天均下降(图5)。

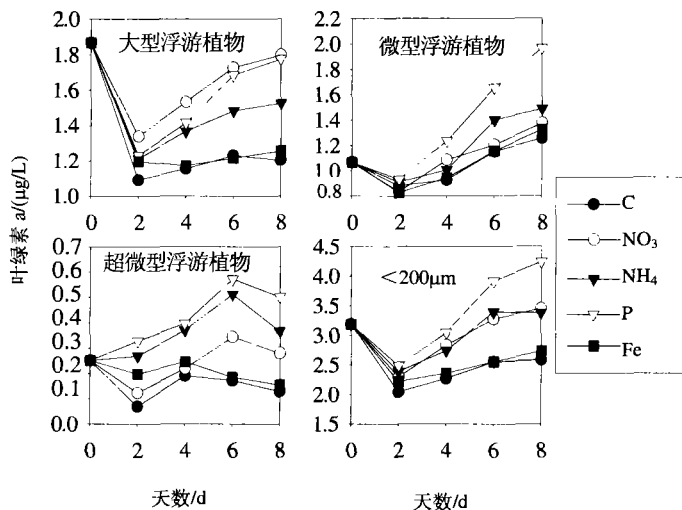


图4 2000年冬季胶州湾大型浮游植物、微型浮游植物、超微型浮游植物
与浮游植物群落对现场营养盐添加的响应

C: 对照; NO_3^- : NO_3^- 实验组; NH_4^+ : NH_4^+ 实验组; P: P 实验组; Fe: Fe 实验组

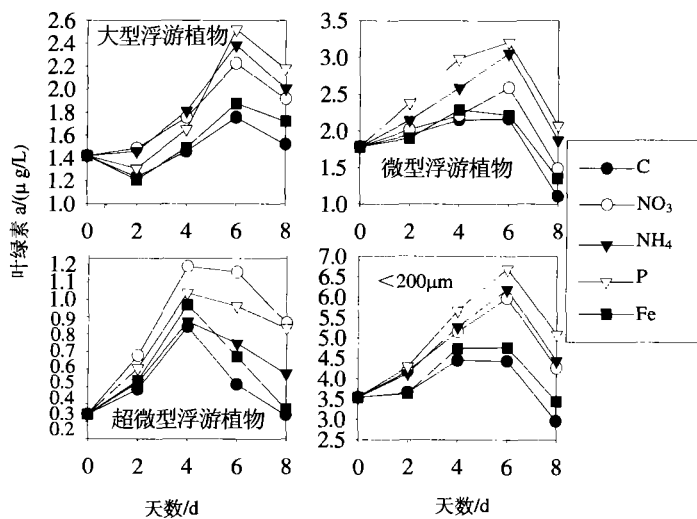


图5 2000年春季胶州湾大型浮游植物、微型浮游植物、超微型浮游植物
与浮游植物群落对现场营养盐添加的响应

C: 对照; NO_3^- : NO_3^- 实验组; NH_4^+ : NH_4^+ 实验组; P: P 实验组; Fe: Fe 实验组

2000年夏季, 各组大型浮游植物叶绿素 a 在 2d 内均呈下降趋势, 在第 2~6 天均增加, 除 C 与 Fe 实验组外, 其他各组在第 6~8 天继续增加, NH_4^+ 与 NO_3^- 实验组增加明显, 第 8 天与初始时刻比较分别增加 1.79 倍与 1.60 倍; 各组微型浮游植物

叶绿素 a 在 2d 内均下降, 在第 2~6 天各组均增加, 除 C 与 Fe 实验组外, 其他各组在第 6~8 天继续增加, NH_4 实验组增加明显, 第 8 天与初始时刻比较增加 1.79 倍; NH_4 实验组超微型浮游植物在 2d 内均为下降, 在第 2~8 天一直增加, 其他各组超微型浮游植物叶绿素 a 在 4d 内均下降, 在第 4~6 天均增加, 然后一直下降直至培养结束(图 6)。

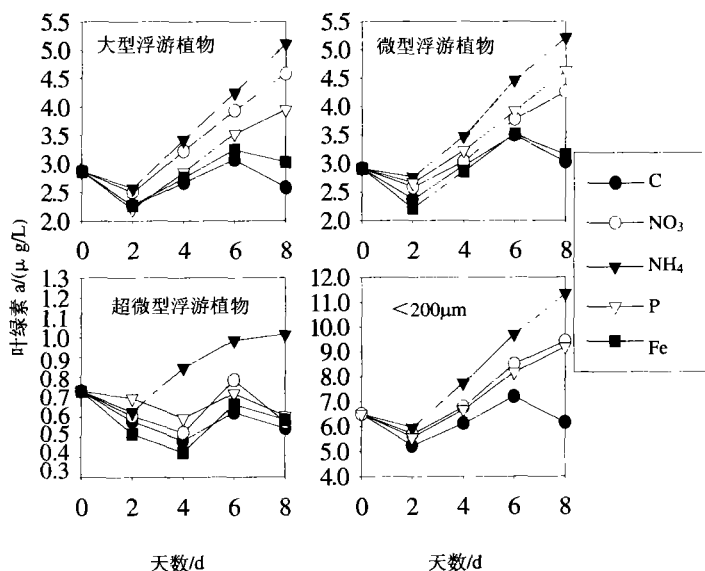


图 6 2000 年夏季胶州湾大型浮游植物、微型浮游植物、超微型浮游植物与浮游植物群落对现场营养盐添加的响应

C: 对照; NO_3^- : NO_3^- 实验组; NH_4^+ : NH_4^+ 实验组; P: P 实验组; Fe: Fe 实验组

三、讨 论

1. 实验结果分析

1999 年夏季, 本航次 NH_4^+ -N 含量较高, 但 NO_3^- -N 含量较低, 但由于夏季温度较高, 大型浮游植物与微型浮游植物对 NH_4^+ -N 与 NO_3^- -N 的需要都较大。1999 年秋季, 大型浮游植物对 NH_4^+ -N 有最明显的响应, P 与 NO_3^- -N 的添加对超微型浮游植物与微型浮游植物的促进作用最大。是什么原因造成这一结果还有待分析。2000 年冬季, NO_3^- 与 P 实验组大型浮游植物增加最明显, Fe 实验组几乎无增加, 这与营养盐本底状况一致。P 对微型浮游植物也有明显的促进作用, 超微型浮游植物的生长明显受到 P 或 NH_4^+ 添加的促进。P 添加对微型浮游植物与超微型浮游植物的促进作用与营养盐的本底状况一致, 超微型浮游植物对 NH_4^+ 添加的响应可能是因为小型藻更喜欢利用铵盐作为营养盐来源 (Boyd *et al.*, 1996)。2000 年春季, P 对大型浮游植物与微型浮游植物的促进作用最大, 对照组在培养 6d 内也一直增加, 这说明营养盐的本底状况还是可以满足大型浮游植物

与微型浮游植物的生长。无明显的营养盐限制超微型浮游植物生长,这与营养盐本底状况较一致。2000年夏季的结果显示,无营养盐限制大型浮游植物与微型浮游植物的生长,但 NH_4^+ 对超微型浮游植物有比较明显的促进作用。本航次 NH_4^+-N 含量很高,似乎不应该出现 NH_4^+ 的限制作用,具体原因不明,可能与小型藻对 NH_4^+-N 较高的需求有关,也可能与浮游植物的种类组成有关。

2. 各粒级浮游植物对营养盐添加的响应效果

大型浮游植物对N添加有最明显的响应,对P添加也有一次比较明显的响应;微型浮游植物对P的添加响应效果最明显,同时对N添加也有比较明显的响应,可能存在N与P共同限制微型浮游植物生长的情况发生;超微型浮游植物对N、P添加都有响应,但趋势不如大型浮游植物与微型浮游植物明显;小于 $200\mu\text{m}$ 整个浮游植物群落对N、P添加都有比较明显的响应,结果更可能反应了N与P的共同限制作用。结果显示,N或P的添加都促进了浮游植物叶绿素生物量的增加,Fe添加也促进了浮游植物的生长,但结果不如N、P营养盐添加明显,实验中Fe实验组的生长状况都与对照组相似。

3. 营养盐限制的季节变化

总的来看,在夏季胶州湾有比较明显的N限制作用,在其他季节有P或N+P的共同限制作用,结合其他实验结果来看(王勇,2001),在冬春季,胶州湾发生硅(Si)限制的可能比较大,在胶州湾可能存在夏季N限制与冬春季Si限制的季节变化。与胶州湾营养盐限制季节变化比较相似的是美国的切萨皮克湾。在该海湾的Mesohaline Bay,富营养实验的结果证实春季浮游植物的生长受到P限制,在夏季则受到N控制,即有从P限制向N限制的交替性变化,这与夏末浮游植物爆发的结束相当一致(Malone *et al.*, 1996)。Fisher等(1992)在现场实验中证实,沿切萨皮克湾的主轴方向,春季主要是P或Si限制着藻的生物量,在夏季则是N控制着浮游植物的生长。更早的现场实验结果显示,切萨皮克湾的Patuxent河口,在低流量的夏末(DIN/P通常低于5),随着N(NO_3^--N 或 NH_4^+-N)的添加,藻的生长非常迅速。在冬末高流量的季节(DIN/P通常高于90),P的添加显著的促进了浮游植物的生长(D'Elia *et al.*, 1986)。这些结果均显示在整个湾水平上,切萨皮克湾可能都有春季P限制与夏季N限制的季节交替。

一些实验中叶绿素a的结果显示,可能在培养过程中有“瓶子效应”的影响,这一点在一些实验中比较明显。Rudek等(1991)指出,“瓶子效应”包括生物在瓶壁上的生长、自然食物网的变化,以及封闭的生物群落与纵向或纵向营养盐流通的隔离。这些情况都有可能发生在本实验中。当然其他的一些实验缺陷,如光照与温度条件与现场的不尽相同,一些处理中较小的培养体积可能都对实验产生了不利影响(Hecky *et al.*, 1988; Howarth, 1988)。

参 考 文 献

- 王勇, 2001. 中国典型海域作用于浮游植物上、下行响应的现场实验研究[博士论文]. 青岛: 中国科学院海洋研究所
赵卫红, 2001. 海湾生态过程和可持续发展. 北京: 科学出版社. 12~13
Boyd P W, Muggli D E, Varela D E *et al.* 1996. In vitro iron enrichment experiments in the NE subarctic Pacific. *Mar. Ecol. Prog.*

- Ser., **136**: 179~193
- D'Elia C F, Sanders J G, Boynton W R, 1986. Nutrient enrichment studies in a coastal plain estuary: Phytoplankton growth in large-scale, continuous culture. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **43**: 397~406
- Durate C M, 1995. Submerged aquatic vegetation in relation to different nutrient regimes. *Ophelia* **41**: 87~112
- Fisher T R, Peele E R, Ammeman J W *et al.*, 1992. Nutrient limitation of phytoplankton in Chesapeake Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **82**: 51~63
- Hecky R E, Kilham P, 1988. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: a review of recent evidence of the effects of enrichment. *Limnol. Oceanogr.*, **33**: 776~795
- Howarth R W, 1988. Nutrient limitation of net primary productivity in marine system. *Annual Rev. Ecol.*, **19**: 89~110
- Malone T C, Conley D J, Fisher T R *et al.*, 1996. Scales of nutrient-limited phytoplankton productivity in Chesapeake Bay. *Estuary*, **19**: 371~385
- Nixon S W, Q Pilson M E, 1983. Nitrogen in estuarine and coastal marine ecosystems. In: Carpenter E J, Capone D G, eds. Nitrogen in the marine environment. *Academic*, 565~648
- Pedersen F M, Borum J, 1996. Nutrient control of algal growth in estuarine waters, nutrient limitation and the importance of nitrogen requirements and nitrogen storage among phytoplankton and species of macroalgae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **142**: 261~272
- Rudek J, Paerl H W, Mallin M A *et al.*, 1991. Seasonal and hydrological control of phytoplankton nutrient limitation in the Lower Neuse River Estuary, North Carolina. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **73**: 133~142
- Welschmeyer N A, 1994. Fluorometric analysis of chlorophyll a in the presence of chl-b and phaeopigments. *Limnol. Oceanogr.*, **39**: 1985~1992

Bottom-up Effect Studies of Nutrient Limitation of Phytoplankton in Jiaozhou Bay

WANG Yong ZHOU Yi

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

SUN Hekun

(2 Environmental Protection Bureau of Qingdao, Qingdao 266071)

Abstract

In order to investigate nutrient limitation of phytoplankton in natural marine ecosystems, in-situ nutrient enrichment experiments with nitrate, ammonium, phosphate and iron addition were conducted in Jiaozhou Bay in August November, 1999 and February May and August, 2000. Jiaozhou Bay, surrounded by Qingdao city and with area of 390 km² and mean depth of 7m is an eutrophic coastal bay. The concentrations of nitrate, ammonium and phosphate were 1.98, 8.01 and 1.38 μmol/L in the 1999s. DIN: P molar ratio was almost always over 16 (the Redfield ratio, also called "geochemically balanced") in all seasons.

Five nutrient enrichment experiments were conducted to investigate nutrient limitation on phytoplankton. Size-fractionated chlorophyll-a results showed that net phytoplankton (20~200 μmol/L) showed most significant response to N addition; nanophytoplankton (2~200 μmol/L)

showed significant response to P addition, but N addition also stimulated their growth; picophytoplankton($<2\mu\text{mol/L}$) showed positive response to N or P addition, but this response was not more significant than that of netplankton or nanoplankton. N probably Limited phytoplankton growth in summer, but P and N nutrient could phytoplankton growth in other seasons in Jiaozhou Bay.