

DOI: 10.5846/stxb201411242327

连忠廉, 郑爱榕, 黄楚光. 现场模拟添加磷、铁及胶体对北部湾 2007 年春季生物固氮的影响. 生态学报, 2016, 36(14): - .

Lian Z L, Zheng A R, Huang C G. Factors that affected nitrogen fixation by the addition of phosphorus, iron, and colloids in the surface water of the Beibu Gulf in spring, 2007. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(14): - .

## 现场模拟添加磷、铁及胶体对北部湾 2007 年春季生物固氮的影响

连忠廉<sup>1,2,\*</sup>, 郑爱榕<sup>2</sup>, 黄楚光<sup>1</sup>

1 国家海洋局南海分局南海环境监测中心, 广州 510300

2 厦门大学海洋学系, 厦门 361005

**摘要:** 生物固氮是海洋氮循环的重要过程。固氮作用能够促进海洋初级生产力的提高, 增强海洋吸收 CO<sub>2</sub> 能力, 对于降低大气 CO<sub>2</sub> 浓度, 减缓温室效应具有重要意义。本文于 2007 年春季对北部湾海区进行了现场模拟添加 P, Fe 和胶体实验, 并应用乙炔还原法 (ARA, Acetylene Reducing Activity) 分析其固氮速率, 研究其主要影响因素。结果表明, 温盐与固氮速率相关性不显著 ( $P > 0.05$ )。对固氮速率来说, 外加 P 其变化范围为 -97%—545%, 外加 Fe 其变化范围为 -86%—146%, 外加胶体其变化范围为 -96%—1456%。对叶绿素含量而言, 外加 P 其变化范围为 -24%—50%, 外加 Fe 其变化范围为 -32%—36%, 外加胶体其变化范围为 -53%—41%。总体来说, N 可能是春季北部湾海区浮游植物生长的限制因子, 固氮作用主要受到 P 限制, 而外加胶体对固氮生物和固氮速率表现出较大的促进作用。

**关键词:** 固氮速率; ARA 法; 磷; 铁; 胶体

## Factors that affected nitrogen fixation by the addition of phosphorus, iron, and colloids in the surface water of the Beibu Gulf in spring, 2007

LIAN Zhonglian<sup>1,2,\*</sup>, ZHENG Airong<sup>2</sup>, HUANG Chuguang<sup>1</sup>

1 South China Sea Branch, State Oceanic Administration, Guangzhou 510300, China

2 Department of Oceanography, College of Ocean and Earth Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China

**Abstract:** Nitrogen fixation is an important process in marine nitrogen recycling. It can enhance marine primary productivity and marine carbon fixation capacity and reduce CO<sub>2</sub> concentration in the atmosphere, thus mitigating the greenhouse effect. The Beibu Gulf is a semi-enclosed bay located northwest of the South China Sea. In the Beibu Gulf, P and Fe are influenced by river input and atmospheric deposition, and the water in Beibu Gulf is rich in colloids. In order to study the effects of P, Fe, and colloids on the nitrogen fixation rate and nitrogen fixation in response to the nutritional environment, we conducted a field addition experiment for P, Fe, and colloid simulation in the spring of 2007. Surface water samples were collected from nine study sites between April and May 2007. P, Fe, and colloids were separately added for a scene simulation in the study sites of C02, C05, C07, and C09. Concentration gradients of P (potassium dihydrogen phosphate) were set as C, C+0.08, C+0.16, C+0.32, and C+0.48  $\mu\text{mol/L}$ . Concentration gradients of Fe were set as C, C+0.22, C+0.44, C+0.88, and C+1.32  $\mu\text{mol/L}$  (C is the concentration of nutrients in in situ water samples). Concentration gradients of colloids (particle size, between 0.22  $\mu\text{m}$  and 10 kDa) were set as 0%, 2%, 50%, and 100%. The acetylene-reducing activity method was used to study nitrogen fixation and factors that affect it. The results showed that the contributions of temperature

基金项目: 国家自然科学基金重大研究计划重点项目 (90411016)

收稿日期: 2014-11-24; 网络出版日期: 2015-00-00

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lianzhonglian@aliyun.com

and salinity to the nitrogen fixation rate were low, while P, Fe, and colloids increased the nitrogen fixation rate. The nitrogen fixation rate was greatly promoted by adding colloids, while the addition of P and Fe did not affect the nitrogen fixation rate to a great extent. However, variations in the nitrogen fixation rate due to the addition of P, Fe, and colloids were -97% to 545%, -86% to 146%, and -96% to 1456%, respectively, and variations in chlorophyll contents were -24% to 50%, -32% to 36%, -53% to 41%, respectively. Differences in the nitrogen fixation rate were due to different nutrient concentrations in the surface water of the study sites in the spring of the Beibu Gulf. The nitrogen fixation rate was strongly related to dissolved nitrogen/dissolved phosphorus (DP), which indicated that a large amount of DP was consumed by organisms that perform nitrogen fixation. The high nutrient content in the Beibu Gulf may be the reason why the nitrogen fixation rate in the Beibu Gulf was lower than that in the oligotrophic sea. Moreover, there was no significant correlation between the rate of phytoplankton growth and nitrogen fixation rate. Phytoplankton growth limited the amount of nitrogen, and nitrogen fixation limited the amount of phosphorus. Effects of nitrogen fixation, which was limited by nutrients in the Beibu Gulf, could have a great influence on nitrogen sources and nitrogen biogeochemical processes. The results suggest that nitrogen may be a limiting factor for marine primary productivity in the spring in the Beibu Gulf, phosphorus is a limiting factor for the nitrogen fixation rate, and the addition of colloids enhances the nitrogen fixation rate.

**Key Words:** N<sub>2</sub> fixation; ARA method; Phosphorus; Iron; Colloids

海洋生物固氮是海洋氮循环的重要过程<sup>[1]</sup>,为海洋生物生长提供新的氮源<sup>[2]</sup>,固氮作用能够影响海洋对大气二氧化碳的收支平衡,在一定程度上能够缓解全球气候变暖<sup>[3]</sup>。较早的研究认为束毛藻(*Trichodesmium*)是海洋中唯一光合自养型固氮生物<sup>[4]</sup>。近年来分子微生物技术的研究表明其它含有固氮基因(*nifH*)的微生物也具有固氮能力<sup>[5]</sup>。因此,固氮生物的固氮能力可能远比此前研究所揭示的大得多<sup>[6]</sup>。

尽管海洋固氮生物有巨大的固氮潜力,其固氮速率却受到各种物理和化学因子的限制,使得固氮生物的固氮总量不可能无限增加。其中,温度与盐度等环境因子可能会影响海洋中固氮生物的生长和固氮速率<sup>[7-8]</sup>。而长期以来,有关海洋环境中生物固氮影响因素的争论主要集中在 P、Fe 等限制性营养盐上<sup>[9-12]</sup>。Tyrrell<sup>[13]</sup>等的研究表明,海洋中贫营养的上层水体 N 被大量消耗,而海水中仍有少量的 P 存在,P 被认为是在地质年代学上对固氮作用起限制作用的元素。而 Walve<sup>[14]</sup>等研究表明在一定条件下 P、N 对生物固氮表现为共同限制作用。铁是一种重要的微量营养元素,限制了高氮低生产力海区浮游植物的生长<sup>[9]</sup>。因其为固氮酶的重要组成成分,少量 Fe 也能够对固氮作用起限制作用<sup>[11]</sup>。与 N、P 类似,Fe、P 对固氮作用也会表现为共同限制作用<sup>[4]</sup>。此外,胶体广泛存在于海洋中,其作为营养盐,痕量金属,营养性有机碳,痕量有机物等物质重要载体,对许多浮游植物生产具有促进作用,同样胶体也会对固氮生物产生影响<sup>[15]</sup>。基于海洋环境的复杂性,目前国内对海洋生物固氮的环境影响因素和海洋生物固氮规律的了解甚少,仅见张燕英<sup>[16]</sup>等在实验室培养条件下研究了盐度、昼夜变化、温度及阿特拉津对 2 种海洋固氮蓝藻固氮活性的影响。关于 P、Fe 对生物固氮的研究较多,但对于其影响的机制仍不清楚,而胶体对生物固氮的影响较少,亟待深入研究<sup>[15]</sup>。因此,探讨 P、Fe 和胶体等物理化学因子对海洋生物固氮的影响,解释海水营养环境变化对生物固氮的影响机制具有重要意义。

本研究选择北部湾海域为研究对象。北部湾湾内的温度、盐度等要素受到陆地和河流因素的影响。此外,P 和 Fe 等营养元素也受到各河流和大气沉降的共同作用,还有湾中水体胶体含量丰富。因此,通过现场模拟添加实验研究 P、Fe 和胶体对春季北部湾生物固氮速率的影响,来探究其固氮作用对各营养环境的响应,为评估物理化学因素对生物固氮的影响提供依据。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 样品采集

2007 年 4—5 月中国科学院南海海洋研究所春季航次(“实验二号”考察船)期间,共采集 9 个表层水样,

由北到南依次为 C01、C02、C03、C04、C05、C06、C07、C08、C09(采样站位见图 1,经纬度见表 1)。

## 1.2 方法

### 1.2.1 温度盐度的测定

采样站位的温度和盐度由 CTD (Conductance Temperature Depth, 型号为 Sea-Bird 911Plus) 现场测量获得,温度、电导率的测量精度分别为  $\pm 0.004^{\circ}\text{C}$  和  $\pm 0.003\text{s/m}$ 。

### 1.2.2 营养盐的测定

到达指定站位后,用 CTD Niskin 采水器采集一定体积的表层海水,0.45  $\mu\text{m}$  醋酸滤膜过滤水样,然后用船载 7230G 分光光度计分析各营养盐浓度。营养盐和叶绿素的测定方法严格按照《海洋监测规范第 4 部分:海水分析》(GB 17378.4—2007)进行。

### 1.2.3 现场模拟添加实验

设置 P (磷酸二氢钠)的浓度梯度为 C, C+0.08, C+0.16, C+0.32, C+0.48  $\mu\text{mol/L}$ , Fe ( $\text{FeCl}_3$ )的浓度梯度为 C, C+0.22, C+0.44, C+0.88, C+1.32  $\mu\text{mol/L}$ , C 为水样中原有营养盐的浓度,胶体(粒径介于 0.22  $\mu\text{m}$  和 10 kDa)的现场制备过程见陈丁等<sup>[17]</sup>,并设 0, 2%, 50%, 100% 4 个胶体百分比浓度。根据距离湾口的远近,随机选取 C02、C05、C07、和 C09 站位进行模拟添加实验。由于具有操作简便、高灵敏度、较快的分析速度以及较低的耗资等优点,采用乙炔还原法 (ARA, Acetylene Reducing Activity)测定固氮速率<sup>[18]</sup>。分别量取 250 mL, 1 L 混合均匀的表层海水于 300 mL 盐水瓶和 1.5 L 培养瓶中,在两瓶中按照设定的营养盐或胶体百分比浓度分别进行添加实验,同时做平行样。用含硅胶垫的橡皮塞密封盐水瓶口,同时盖上 1.5 L 的培养瓶,用气体进样针从气袋里抽取 5.00 mL 纯乙炔气体,注入密闭盐水瓶的上层空气中(培养瓶中不添加乙炔),并上下摇晃使气液混合达到平衡,将上述盐水瓶和培养瓶放入已准备好的现场流动水培养箱进行培养,培养时间为 12 小时。经培养后的盐水瓶,用 5.00 mL 气体进样针抽取瓶内的气体,转入到气相色谱专用气体顶空瓶内保存,用封口膜密封顶空瓶塞。

顶空瓶倒置放在阴凉避光处保存,带回实验室进行气体分析。往培养后的 1.5 L 培养瓶内加入两滴 1% 碳酸镁溶液,水样经 47 mm Whatman GF/F 玻璃纤维膜过滤后,将所得微孔滤膜用锡箔包好,并冷冻保存,带回实验室测定叶绿素含量。叶绿素含量作为浮游植物的生长指标。

### 1.2.4 固氮速率的测定

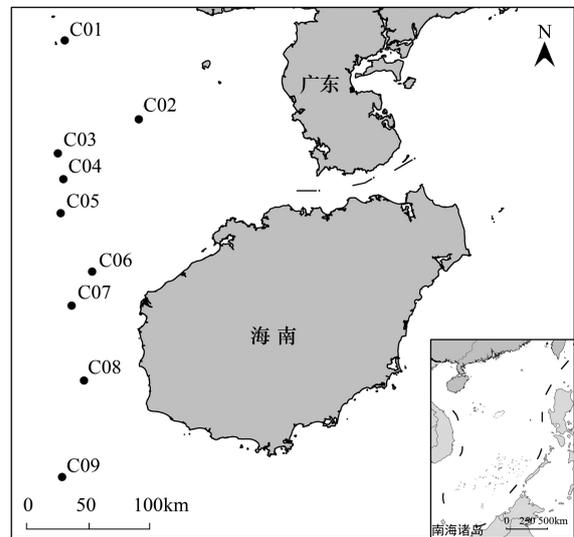
用 GC900 型气相色谱仪(上海科创仪器厂)对顶空气体进行分析,并按下式计算样品的固氮速率:

$$V = \frac{C_{\text{总}} \frac{V_{\text{气}}}{22.4}}{V_{\text{液}} t n} M$$

其中,  $V$  为固氮速率 ( $\mu\text{g N/L/h}$ ),  $C_{\text{总}}$  为乙烯的总含量 ( $\mu\text{mol/mol}$ ),  $V_{\text{气}}$  为现场培养下气相的体积(本实验为 50 mL),  $V_{\text{液}}$  为现场培养下液相的体积(本实验为 250 mL),  $M$  为  $\text{N}_2$  的摩尔质量 (28 g/mol),  $n$  为  $\text{C}_2\text{H}_2:\text{N}_2$  的换算因子(设  $n=4$ )<sup>[7]</sup>,  $t$  为现场培养时间 ( $t=12\text{ h}$ )。

## 1.3 数据处理

本研究采用相对固氮速率和相对叶绿素含量来说明加富对生物固氮速率以及叶绿素含量的影响。其中,相对固氮速率 = (实验组的乙烯含量 - 对照组乙烯含量) / 对照组乙烯含量  $\times 100\%$ , 相对叶绿素含量 = (实验组的叶绿素含量 - 对照组叶绿素含量) / 对照组叶绿素含量  $\times 100\%$ 。实验所有数据都通过软件 SPSS 17.0 处理。



审图号: GS (2015) 1635号

图 1 中国北部湾采样站位

Fig.1 Sampling sites in Beibu Gulf of China

## 2 结果与讨论

### 2.1 春季北部湾表层水体固氮速率的影响因素分析

9 个调查站位的固氮速率见表 1。由表 1 可知,不同站位有不同的固氮速率,温度、盐度与其相关性不显著( $R < 0.3, P > 0.05$ )。固氮速率平均值为 2202.24 pmolN/L/h,最高值出现在 C06 站位,最低值出现在 C04 站位,最高值是最低值的 28.7 倍。调查过程中我们观察到 C06 站位海面风平浪静,水体呈现微红色,而该站位溶解态无机磷(DIP, Dissolved inorganic phosphorus)的浓度极低(表 2),将表层水样生物固定以后,带回实验室显微观察发现有大量的束毛藻存在。束毛藻是贫营养热带和亚热带海区最主要的固氮生物,是一种重要的赤潮生物<sup>[19]</sup>。我们推断,C06 站位发生“水华”,束毛藻大量繁殖,因而有极高的固氮速率。同时,由表 1 和表 3 可以看出,因北部湾营养盐含量相对较高,其固氮速率小于北太平洋等寡营养盐海域,这与 C06 的观测结果相一致。

表 1 春季北部湾表层水体固氮速率的积分值

Table 1 Surface distribution of nitrogen fixation rates in the Beibu Bay in spring

站位 Stations	经度/(°E) Longitude	纬度/(°N) Latitude	温度/(°C) Temperature	盐度 Salinity	固氮速率/(pmolN/L/h) Nitrogen fixation rate
C01	108.08	21.22	20.53	32.74	1704.42
C02	108.62	20.64	22.67	33.46	347.32
C03	108.03	20.39	22.86	33.50	2591.08
C04	108.07	20.20	22.65	33.30	258.88
C05	108.05	19.95	23.87	33.79	1131.13
C06	108.28	19.52	24.87	33.83	7423.50
C07	108.13	19.27	26.80	34.12	4707.34
C08	108.22	18.72	26.05	34.30	897.53
C09	108.06	18.01	26.71	33.94	758.94
平均值 The average value	24.11	33.66	2202.24		

表 2 北部湾春季表层水体营养盐相关数据

Table 2 Parameters of nutrient in the spring Beibu Bay surface water

站位 Stations	DIN/ (mg/L)	DN/ (mg/L)	TN/ (mg/L)	DIP/ (mg/L)	DP/ (mg/L)	TP/ (mg/L)	固氮速率/(pmolN/L/h) Nitrogen fixation rate
C01	0.0067	/	/	0.0006	/	/	1704.42
C02	0.3228	0.0161	0.1133	0.0010	0.0105	0.0851	347.32
C03	0.0154	/	/	0.0002	/	/	2591.08
C04	0.0055	0.2263	0.2419	0.0007	-	0.0128	258.88
C05	0.0166	0.2152	0.2337	0.0002	0.0082	0.0288	1131.13
C06	0.0090	/	/	-	/	/	7423.50
C07	0.0816	0.2728	0.4807	-	0.0032	0.0458	4707.34
C08	0.0005	0.2748	0.2929	-	0.0076	0.0164	897.53
C09	0.0061	0.0939	0.1970	-	0.0105	0.0126	758.94

“-”:未检出;“/”表示未测定;DIN:溶解态无机氮 Dissolved inorganic nitrogen;DN:溶解态氮 Dissolved nitrogen;TN:总氮 Total nitrogen;DIP:溶解态无机磷 Dissolved inorganic phosphorus;DP:溶解态磷 Dissolved phosphorus;TP:总磷 Total phosphorus

此外,由表 2 观测数据对固氮速率与营养盐相关性进行统计分析,固氮速率与溶解态无机氮(DIN, Dissolved inorganic nitrogen)与 DIP 比值的相关关系非常弱( $R = 0.219, P = 0.677$ ),与总氮(TN, Total nitrogen)与总磷(TP, Total phosphorus)比值表现出弱的负相关( $R = -0.103, P = 0.846$ ),而与溶解态氮(DN, Dissolved nitrogen)与溶解态磷(DP, Dissolved phosphorus)的相关关系最强( $R = 0.950, P = 0.013$ ),且氮磷比越高,固氮速

率越高。这与 Karuk<sup>[20]</sup> 等研究结果具有较高固氮速率的海域也具有较高氮磷比相一致,说明固氮生物可以利用溶解态氮磷(有机氮磷和无机氮磷)。同样的,我们在 C06 和 C07 站检测的固氮速率远高于其他站位,相应的 DIP 含量为未检出,而 DP 的含量也相对较低,由此我们可以推断出生物固氮过程中需要消耗大量的 DP, DP 是其固氮速率的限制因子<sup>[1]</sup>。而已有现场测定束毛藻的溶解态有机磷(DOP, Dissolved organic phosphorus)吸收值相当高,为(170~300) nmol/Chl-a·h,也说明 DOP 是束毛藻磷的主要供应者<sup>[21]</sup>。

表 3 各海域固氮速率的概述

Table 3 Summary of N<sub>2</sub> fixation estimates for oligotrophic waters

海域 Sea area	时间 Monitoring time	固氮速率 Nitrogen fixation rate/ ( $\mu\text{molN}/\text{m}^2/\text{d}$ )	站位数/(N) Station numbers	测定方法 Assay method	文献 Literature
北太平洋(21°N, 159°W) North Pacific	1972	134	2	ARA <sup>1</sup>	Hanson <sup>[22]</sup> 等
加勒比海 Caribbean Sea	—	161	12	ARA	Carpenter <sup>[23]</sup> 等
中国东海(10—25°N) East China Sea	—	126	32	ARA	Saino <sup>[24]</sup> 等
阿拉伯海(7—10°N) Arabia Sea	1995.5	35	9	ARA	Capone <sup>[19]</sup> 等
大西洋百慕大 The Atlantic Bermuda	1995—1997	41	14	<sup>15</sup> N	Orcutt <sup>[25]</sup> 等
北太平洋: ALOHA North Pacific	2000—2001	66	7	<sup>15</sup> N	Montoya <sup>[1]</sup> 等
北部湾 Beibu Bay	2007 4-5	32	26	ARA	本研究

1 ARA 为乙炔还原法,除本研究的 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> 分配比为 4:1,其他 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> 分配比为 3:1; <sup>15</sup>N 为 <sup>15</sup>N 同位素测定法

## 2.2 对叶绿素含量和固氮速率的影响分析

### 2.2.1 外加 P 对叶绿素含量和固氮速率的影响

由图 2 可知,外加不同浓度的 P 对固氮速率的影响不同,表现为抑制或促进作用。外加 0.08  $\mu\text{mol/L}$  的磷酸二氢钠,除了 C09 站位以外,其它三个站位都起到促进固氮速率的作用,相对固氮速率变化范围为 -92%—242% ( $P < 0.05$ )。外加其它浓度的磷酸二氢钠对固氮速率的影响则较为复杂。不同站位受到 P 添加的影响也不同;外加 P 对 C02, C09 站位表现为较明显的促进作用 ( $P < 0.05$ ),最大促进作用为 545%。而 C05 站位除了低浓度促进固氮速率之外,较高浓度的 P 对固氮速率都表现为明显的抑制作用 ( $P < 0.05$ ),最大抑制作用为 -97%。外加 P 对固氮速率的抑制作用不明显 ( $P > 0.05$ ),能够较多地促进固氮生物的固氮作用,进一步证明了春季北部湾海区固氮作用受到 P 限制。

与外加 P 对固氮速率的影响不同, P 添加对叶绿素含量的影响程度相对较低。高浓度的 P 对叶绿素含量表现为明显的抑制作用,最大抑制作用为 -12%。但在 C05 站位,外加 P 对叶绿素含量表现出较高的生长情况,尤其是添加高浓度的 P,相对叶绿素含量上升了近 50%,另外,在 C05 站位添加 P 对固氮速率更多地表现为抑制作用。可见,外加磷对叶绿素含量和固氮速率变化不存在一致性,这可能说明浮游植物的生长有时并不伴随着固氮生物的增加,或者说其他浮游植物的增加大于固氮类生物的增加以及浮游动物的摄食等因素影响,从而降低了其固氮速率。

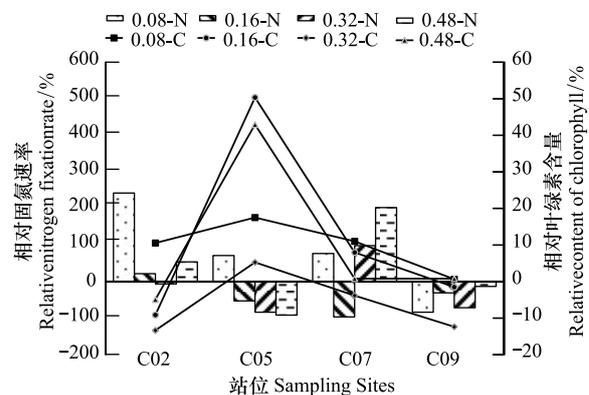


图 2 春季外加 P 对生物固氮速率和叶绿素含量的影响

Fig.2 Effect of N<sub>2</sub> fixation rates and chlorophyll by P addition in spring

0.08-N, 0.08-C 分别表示添加浓度为 0.08  $\mu\text{mol/L}$  条件下的相对固氮速率和相对叶绿素含量

### 2.2.2 外加 Fe 对叶绿素含量和固氮速率的影响

由见图 3 可知,外加 Fe 对固氮速率的影响不明显( $P>0.05$ ),且较多表现为抑制作用,这与外加 P 的影响相反,最大抑制作用为-86%,最大促进作用为 146%。这可能与北部湾大气沉降输入较高的 Fe 有关,使外加 Fe 并不能较大地促进固氮生物生产,从而表现出部分抑制作用。

与外加 P 作用相比,外加 Fe 对叶绿素的含量有一定的促进作用,上升的相对叶绿素含量都在 40% 以下,变化范围为-32%—36%。Fe 是一种固氮微生物的速率限制性营养盐,可能会限制贫营养海区固氮生物的固氮速率<sup>[26]</sup>。北部湾有高的大气沉降作用,能够向表层海水提供较多的 Fe。因此,水体中的 Fe 并不是浮游植物生长限制因素,外添加的 Fe 导致水体中含量过高抑制了浮游植物的固氮能力,降低其固氮速率。

### 2.2.3 外加胶体对叶绿素含量和固氮速率的影响

由图 4 可知,外加胶体对固氮速率的促进作用明显( $P<0.05$ ),除了 C09 站位,其余 3 个站位都显示出较高的固氮速率上升,尤其是在 C07 站位,当添加胶体浓度百分比为 2% 时,相对固氮速率达 1459.3%;C09 站位的固氮速率仅表现出轻微的下降。胶体具有极强的络和能力,是营养盐,痕量金属,营养性有机碳,痕量有机物等物质的重要载体<sup>[27]</sup>。固氮作用需要各种营养要素的综合作用,适当的胶体浓度能够极大地提高固氮速率。

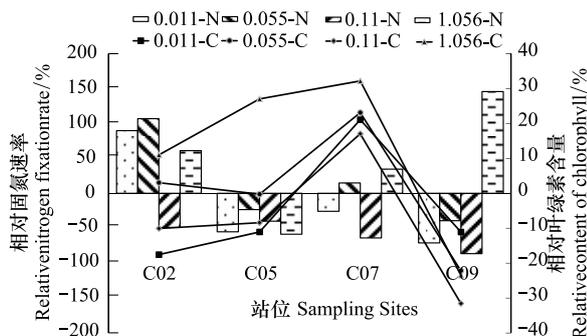


图 3 春季外加铁对生物固氮速率的影响

Fig.3 Effect of  $N_2$  fixation rates by iron addition in spring

0.08-N, 0.08-C 分别表示添加浓度为 0.08  $\mu\text{mol/L}$  条件下的相对固氮速率和相对叶绿素含量

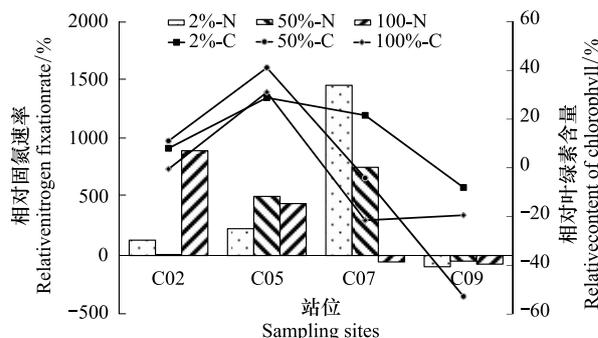


图 4 春季外加胶体对生物固氮速率的影响

Fig.4 Effect of  $N_2$  fixation rates by colloid addition in spring

2%-N, 2%-C 分别表示在添加胶体比例为 2% 条件下的相对固氮速率和相对叶绿素含量

几乎所有添加胶体的实验组叶绿素含量都增加,仅 C09 站表现出抑制作用,叶绿素含量变化范围为-53%—41%,而且不同浓度的胶体之间差异不显著( $P>0.05$ ),可能是因为胶体在不同的浓度下所产生的效应是一致的,能为水体提供一种动态平衡作用。

### 2.3 不同现场添加实验对叶绿素含量和固氮速率的影响比较

本研究表明,外加 P 对固氮速率的促进作用高于外加 Fe 的促进作用,外加 P 的最大相对固氮速率是添加 Fe 的最大相对固氮速率的 3.7 倍。已有研究表明固氮生物对 P 的需求是 Fe 的 30—300 倍<sup>[4]</sup>,而北部湾海区又处于较明显的 P 限制状态,因此,外加 P 能够较明显地促进固氮速率。MILLS<sup>[4]</sup>等对北大西洋东部海区的研究表明,P、Fe 是固氮生物固氮作用了共同限制因子。而本研究得出 P 可能是北部湾海区固氮作用的限制因子,北部湾海区的生物固氮主要受 P 的限制作用。

此外,P、Fe 对叶绿素的促进作用不明显,相关性分析表明,浮游植物的生产力与固氮生物的固氮速率没有显著的相关关系。群落的初级生产力受到 N 限制,而固氮作用则受到 Fe-P 的共同限制<sup>[4]</sup>。Wu<sup>[10]</sup>等的研究结果也表明,N 限制了浮游植物的生长,而固氮作用可能受到 Fe 的限制。因此,北部湾海区浮游植物的生长可能受到 N 限制的作用,固氮作用主要受到 P 的限制作用。

胶体能够将水体中营养物质和痕量金属物质进行络合,促进浮游植物的固氮作用。所以,外加胶体后固

氮作用上升显著。另外, Bauer<sup>[28]</sup> 等对几个大洋的 C、N 成分的研究表明, 胶体有机部分的 N 比较缺乏, C/N 比值为 20—22, 而低分子有机物的 N 含量较高, 然而 C/N 比值为也只有 2—5。在外加胶体后, 浮游植物有一定的生长但生长不显著, 这也进一步证明了北部湾海水胶体中 N 可能是浮游植物生长的限制因素。对比最大促进作用是胶体, 其次为 P, Fe 最小, 在北部湾表层水体中对浮游植物, 这可能和胶体本身含有大量的营养盐和天然络合物有关。

### 3 结论

北部湾春季表层海水不同站位因营养盐含量不同其固氮速率而存在差异, 温盐对固氮速率的影响较小。春季北部湾水体中高的固氮速率对应着较高的 DN/DP, 说明固氮生物在固氮过程中需要消耗大量溶解态磷。北部湾春季固氮速率较寡营养盐海域低, 可能同北部湾具有较高的营养盐含量有关。

同时外加 P、Fe 和胶体现场模拟实验结果表明, 单独进行的 Fe 或 P 的添加对固氮生物固氮速率的促进作用远小于胶体的促进作用。此外, 浮游植物生长与固氮速率之间没有显著的相关关系, 北部湾春季浮游植物的生长可能受 N 限制, 固氮作用则主要受 P 的限制。可以看出, 受到营养盐限制的北部湾固氮作用, 将影响到北部湾氮源以及氮的生物地球化学过程。

### 参考文献 (References):

- [ 1 ] Joseph P Montoya, Carolyn M Holl, Jonathan P Zehr, Andrew Hansen, Tracy A Villareal, Douglas G Capone. High rates of N<sub>2</sub> fixation by unicellular diazotrophs in the oligotrophic Pacific Ocean. *Nature*, 2004, 430(7003): 1027-1032.
- [ 2 ] G F Steward, J P Zehr, R Jellison, J P Montoya, J T Hollibaugh. Vertical distribution of nitrogen-fixing phylotypes in a meromictic, hypersaline lake. *Microbial Ecology*, 2004, 47(1): 30-40.
- [ 3 ] D A Hutchins, Fu F X, Zhang Y, M E Warner, Feng Y, K Portune, P W Bernhardt, M R Mulholland. CO<sub>2</sub> control of *Trichodesmium* N<sub>2</sub> fixation, photosynthesis, growth rates, and elemental ratios: implications for past, present, and future ocean biogeochemistry. *Limnology and Oceanography*, 2007, 52(4): 1293-1304.
- [ 4 ] Matthew M Mills, Celine Ridame, Margaret Davey, Julie La Roche, Richard J Geider. Iron and phosphorus co-limit nitrogen fixation in the eastern tropical North Atlantic. *Nature*, 2005, 429(6989): 292-295.
- [ 5 ] Jonathan P Zehr, John B Waterbury, Patricia J Turner, Joseph P Montoya, Enoma Omoregie, Grieg F Steward, Andrew Hansen, David M Karl. Unicellular cyanobacteria fix N<sub>2</sub> in the subtropical North Pacific Ocean. *Nature*, 2001, 412(6847): 635-638.
- [ 6 ] Lou Y W, I D Lima, D M Karl, S C Doney. Data-based assessment of environmental controls on global marine nitrogen fixation. *Biogeosciences Discussions*, 2013, 10(4): 7367-7412.
- [ 7 ] Fu F X, P R F Bell. Factors affecting N<sub>2</sub> fixation by the cyanobacterium *Trichodesmium* sp. GBRTRL101. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 45(2): 203-209.
- [ 8 ] Takuhei Shiozaki, Taketoshi Kodama, Satoshi Kitajima, Mitsuhide Sato, Ken Furuya. Advective transport of diazotrophs and importance of their nitrogen fixation on new and primary production in the western Pacific warm pool. *Limnology and Oceanography*, 2013, 58(1): 49-60.
- [ 9 ] John H Martin, Steve E Fitzwater. Iron deficiency limits phytoplankton growth in the north-east Pacific subarctic. *Nature*, 1988, 331(6154): 341-343.
- [ 10 ] Wu J F, William Sunda, Edward A Boyle, David M Karl. Phosphate depletion in the western North Atlantic Ocean. *Science*, 2000, 289(5480): 759-762.
- [ 11 ] J Keith Moore, Scott C Doney. Iron availability limits the ocean nitrogen inventory stabilizing feedbacks between marine denitrification and nitrogen fixation. *Global Biogeochemical Cycles*, 2007, 21(2): GB2001.
- [ 12 ] Elizabeth D Orchard, James W Ammerman, Michael W Lomas, Sonya T Dyhrman. Dissolved inorganic and organic phosphorus uptake in *Trichodesmium* and the microbial community: the importance of phosphorus ester in the Sargasso Sea. *Limnology and Oceanography*, 2010, 55(3): 1390-1399.
- [ 13 ] Toby Tyrrell. The relative influences of nitrogen and phosphorus on oceanic primary production. *Nature*, 1999, 400(6744): 525-531.
- [ 14 ] Jakob Walve, Ulf Larsson. Seasonal changes in Baltic Sea seston stoichiometry: the influence of diazotrophic cyanobacteria. *Marine Ecology Progress Series*, 2010, 407: 13-25.
- [ 15 ] Zheng A R, Chen D, Lian Z L. Effects of colloids on the nitrogen fixation rates in surface water in Beibu Gulf of China. *Advanced Materials*

- Research, 2013, 610-613: 15-19.
- [16] 张燕英, 董俊德, 张偲, 王友绍, 王汉奎, 黄良民. 海洋固氮蓝藻 *Calothrix* sp. 与 *Lyngbya* sp. 固氮生理的研究. 热带海洋学报, 2006, 25(4): 46-50.
- [17] 陈丁, 郑爱榕, 刘春兰, 陈敏. 天然胶体中磷的含量及分布. 海洋学报(中文版), 2006, 28(3): 144-150.
- [18] M J Dilworth. Acetylene reduction by nitrogen-fixing preparations from *Clostridium pasteurianum*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1966, 127(2): 285-294.
- [19] Douglas G Capone, Jonathan P Zehr, Hans W Paerl, Birgitta Bergman, Edward J Carpenter. *Trichodesmium*, a globally significant marine cyanobacterium. *Science*, 1997, 276(5316): 1221-1229.
- [20] Jamie M Krauk, Tracy A Villareal, Jill A Sohm, Joseph P Montoya, Douglas G Capone. Plasticity of N:P ratios in laboratory and field populations of *Trichodesmium* spp. *Aquatic Microbial Ecology*, 2006, 42(3): 243-253.
- [21] James J McCarthy, Edward J Carpenter. *Oscillatoria* (*Trichodesmium*) *Thiebautii* (Cyanophyta) in the central north Atlantic Ocean. *Journal of Phycology*, 1979, 15(1): 75-82.
- [22] R B Hanson, K R Gundersen. Bacterial nitrogen-fixation in a polluted coral-reef flat ecosystem, Kaneohe Bay, Oahu, Hawaiian islands. *Pacific Science*, 1976, 30(4): 385-393.
- [23] Edward J Carpenter, Charles C Price. Nitrogen fixation, distribution, and production of *Oscillatoria* (*Trichodesmium*) spp. in the western Sargasso and Caribbean Seas. *Limnology and Oceanography*, 1977, 22(1): 60-72.
- [24] T Saino, A Hattori. Estimate of growth rate of phytoplankton in surface waters of Bering Sea and northern North Pacific. *Marine Science Communication*, 1977, 3(1): 1-19.
- [25] Karen M Orcutt, Fredric Lipschultz, Kjell Gundersen, Richard Arimoto, Anthony F Michaels, Anthony H Knap, John R Gallon. A seasonal study of the significance of  $N_2$  fixation by *Trichodesmium* spp. at the Bermuda Atlantic Time-series Study (BATS) site. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2001, 48(8/9): 1583-1608.
- [26] Hans W Paerl, Leslie E Prufert-Bebout, Guo C Z. Iron-stimulated  $N_2$  fixation and growth in natural and cultured populations of the planktonic marine cyanobacteria *Trichodesmium* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60(3): 1044-1047.
- [27] 郑爱榕, 陈敏, 吕娥, 杨俊鸿, 程远月. 海洋胶体中的氮、磷和铁对微藻生长的效应. 自然科学进展, 2004, 14(3): 339-343.
- [28] James E Bauer, Kathleen C Ruttenberg, David M Wolgast, Eileen Monaghan, Mark K Schrope. Cross-flow filtration of dissolved and colloidal nitrogen and phosphorus in seawater: results from an intercomparison study. *Marine Chemistry*, 1996, 55(1/2): 33-52.