

海洋生物固氮速率与影响因素的研究进展

杨梓阳^{1,3}, 李学刚^{1,2,3,4}, 宋金明^{1,2,3,4}, 马骏^{1,2,4}, 王启栋^{1,2,4}

(1. 中国科学院海洋研究所 海洋生态与环境科学重点实验室, 山东 青岛 266071; 2. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋生态与环境科学功能实验室, 山东 青岛 266237; 3. 中国科学院大学, 北京 100049; 4. 中国科学院海洋大科学研究中心, 山东 青岛 266071)

摘要: 海洋生物固氮是指固氮生物利用固氮酶将氮气转化为生物可利用铵盐的海洋氮元素输入过程, 和反硝化及厌氧氨氧化等氮流失途径一起制约着大洋氮收支平衡。而固氮速率的测定是研究海洋生物固氮的最直接方式。自发现海洋生物固氮作用以来, 固氮速率的测定方法在不断更新改进, 但总体来说仍存在较大不确定性。最近用 $^{15}\text{N}_2$ 同位素示踪法及其他相关数据综合得到全球海洋固氮量为 $196.1 \text{ Tg N}\cdot\text{a}^{-1}$, 最高固氮速率发生在南太平洋热带地区。但分布受到多种因素的影响。其中, 物理因素中的光照和温度是全球范围固氮速率分布的最佳预测因子, 光照为固氮过程提供能量, 温度通过影响固氮酶活性而发挥作用。在化学因素中, 铁元素的缺乏成为固氮的重要限制因子。除此之外, 还有生物因素, 如浮游植物和异养固氮生物等, 对固氮量的贡献影响较大。最近有研究对以往固氮作用区域和反硝化作用空间相互耦合的观点表示质疑, 提出二者分布空间分离的新格局。研究多控制因素对固氮生物的耦合效应、明确不同物种对固氮总量的相对贡献以及进一步建立固氮速率的原位测定方法是未来海洋固氮作用研究的主要工作。

关键词: 海洋生物固氮; 固氮速率; 影响因素; 反硝化作用

中图分类号: P734.2+1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2022)08-0146-09

DOI: 10.11759/hyxx20200820003

氮是构建海洋生命和维持海洋生物生长代谢的决定性元素, 氮循环深刻影响着各种海洋生物地球化学过程。海洋氮收支过程如图 1 所示, 其中氮输入有多种途径, 如生物固氮、地表径流、大气沉降等, 氮的输出则主要有微生物的反硝化、厌氧氨氧化作用以及颗粒有机氮沉降埋藏等过程^[1]。而海洋生物固氮作用在氮元素输入、海洋生态系统稳定以及碳、氮生物地球化学循环中起着至关重要的作用。

海洋生物固氮是指固氮生物利用固氮酶将氮气转化为生物可利用铵盐的过程, 其直接影响着全球海洋氮元素收支, 并间接影响着海洋对大气二氧化碳的吸收和固存。在全球海洋范围内有很大一部分是氮限制寡营养海域, 生物固氮作用是维持这些区域生态系统稳定的重要氮源, 并支持着相当大一部分初级生产。其影响因素主要有物理因素(图 1 黄色部分), 如光照、温度和 pCO_2 等; 化学因素(图 1 蓝色部分), 如 Fe 限制、P 限制和 N:P 比值等; 生物因素(图 1 绿色部分), 如浮游植物和异养固氮生物等。

本文在总结近年来海洋生物固氮作用研究重要进展的基础上, 评价了固氮速率测定方法的改进, 探讨了海洋固氮速率空间分布特征及其主要影响因素。另外概括了相关研究提出的固氮作用及反硝化作用空间相互分离的新分布格局, 并简要分析新分布格局出现的原因, 为今后认识固氮作用区域分布增加了新的思路。最后对有待解决的问题进行展望, 希望使海洋生物固氮的研究工作更加完善。

收稿日期: 2020-08-20; 修回日期: 2020-09-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(91958103; 42176200); 青岛海洋科学与技术试点国家实验室“问海计划”(2021WHZZB0900); 山东省—国家基金委联合基金(U1606404); 烟台“双百计划”资助项目

[Foundation: National Natural Science Foundation of China, No. 91958103, 42176200; Wenhai Program of Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology (2021WHZZB0900); The National Natural Science Foundation of China-Shandong Joint Fund (U1606404); Yantai “Double Hundred Plan” Subsidization Project]

作者简介: 杨梓阳(1996—), 男, 河南周口人, 硕士研究生, 主要从事海洋生物地球化学研究, E-mail: yangziyang19@mails.ucas.ac.cn; 李学刚(1969—), 通信作者, 男, 河南汝南人, 研究员, 博士, 主要从事海洋生物地球化学研究, E-mail: lixuegang@qdio.ac.cn

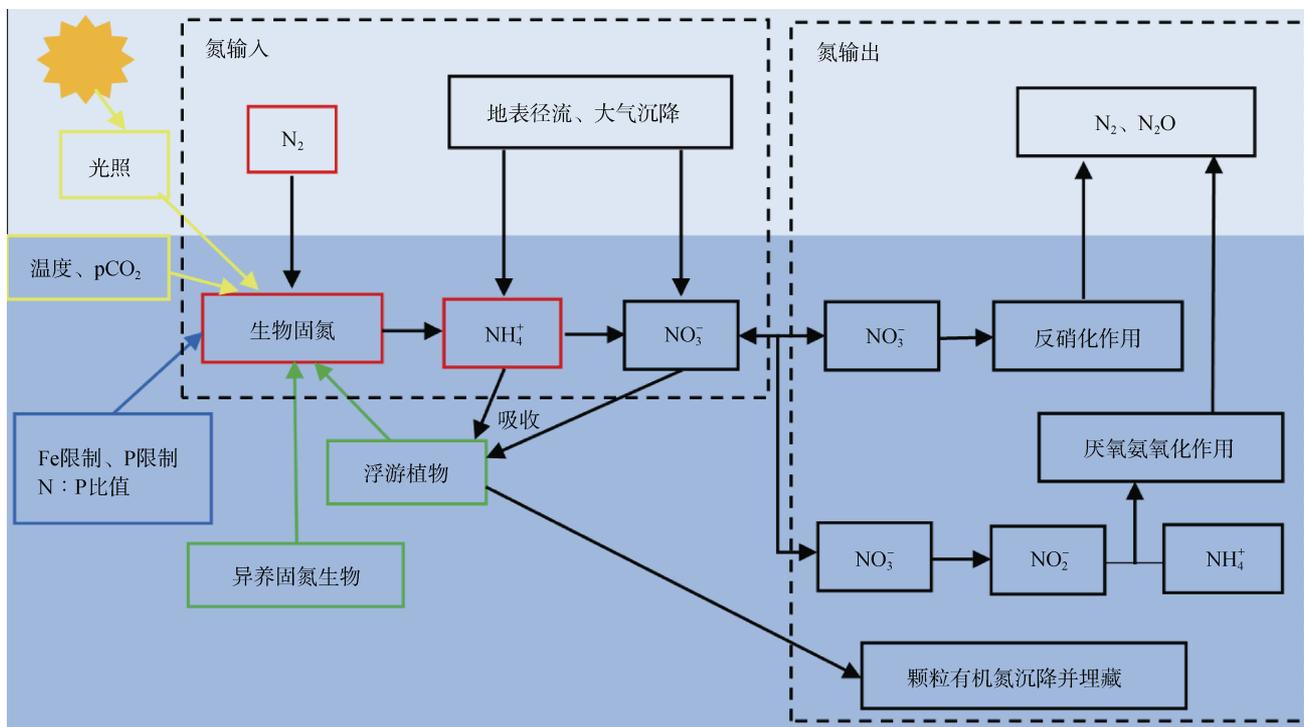


图 1 海洋氮收支过程
Fig. 1 Marine nitrogen budget processes

1 海洋生物固氮速率的获取方法

作为海洋氮元素输入的重要途径，海洋生物固氮作用自提出以来受到科学家重点关注，而测定固氮速率是研究海洋生物固氮最直观的方式，其测定方法在不断改进和更新，从早期对现场培养样品测定的乙炔(C_2H_2)还原法和同位素示踪法，到后来结合地球化学方法的自然丰度测定法，最近又提出测定尺度更大的模型推测法。

1.1 现场培养法

现场培养法通过建立现场海水样品培养体系，使用乙炔还原法或 $^{15}N_2$ 同位素示踪法对样品进行固氮速率研究。最早是 Bhavya 等^[2]用乙炔还原法对固氮速率进行测定，该方法基于固氮酶优先还原乙炔为乙烯的特点，以生成乙烯量的多少来间接表示固氮速率。但 C_2H_2 对微生物代谢的影响、 $C_2H_2 : N_2$ 比值测定的低灵敏度、转化因子的高度可变性以及采样加工对细胞的损伤等因素都会限制该技术的准确性，造成对固氮速率的低估^[3-4]。

而现代海洋固氮速率测定更多地使用 $^{15}N_2$ 同位素示踪法，此方法是已经过改进的一种高精度测定方法，通过测定密闭体系中固氮生物对 $^{15}N_2$ 的吸收

量来测定固氮速率^[5]。但是，如果 $^{15}N_2$ 示踪气体在加入密闭体系前没有达到平衡状态，将导致测定速率低估 40%左右，且低估程度随着培养时间、容器大小等条件差异而改变^[6]。相反，一些 $^{15}NH_4^+$ 和 $^{15}NO_x$ 杂质气体的污染将导致速率被高估^[7-8]。

1.2 地球化学测定法

地球化学测定法主要是通过测定环境中 N 自然丰度与 P 自然丰度比值相对于 Redfield 比值(N : P=16 : 1)的偏离差值而推算固氮速率的 N*自然丰度测定法。但该方法只测定无机氮的相对过剩量，往往忽视海洋内部未按照 Redfield 比值进行再矿化的有机氮部分的过剩量，导致测量误差相对较大^[2, 9]。所以 Zamora 等^[10]对 N*自然丰度测定法进行改进，提出 TN_{xs} 方法，该方法通过测定全氮元素的相对过剩量，以使有机氮部分包括在相对过剩量中。但同时也将大气沉降等外源输入的氮元素计算在内，同样会对固氮速率估计造成影响^[10-11]。

Deutsch 等^[12]又提出了 P_1^* 自然丰度测定法，通过测定磷酸盐的相对过剩量 P_1^* 及其之后的消耗量来对固氮速率进行间接推算，该方法包括了有机磷再矿化后的磷含量，相对 TN_{xs} 方法来说更为准确。Tang 等^[13]将 N*自然丰度测定法和 P_1^* 自然丰度测定法相结合测

定了西北大西洋表层及次表层的固氮速率，以此来探讨固氮速率与叶绿素浓度之间的相关性，证明了以叶绿素浓度为代表的初级生产是影响固氮速率的原因之一。这表明将两种自然丰度测定法相结合对一定深度的固氮速率进行研究，可以获得较为准确的结果。

1.3 模型推测

在更大空间尺度上，固氮速率可从特征式或预测式生物地球化学模型中的固氮参数推测获得^[14]。特征式固氮参数化模型通过海水中 N:P 比值向 Redfield 比值恢复的变化过程来对固氮作用参数化，进而推测固氮速率，这表示该模型测定主要适用于 NO₃:PO₄ 比值较低的海域^[15]。而预测式固氮参数化模型基于固氮生物是生长缓慢的光合有机体的认知，这将导致固氮生物逐渐被生长较快的普通浮游植物所取代而产生过量磷酸盐，在此过程中对过量磷酸盐进行参数化而间接求得固氮速率^[14]。当前，模型测定法已突破传统测定模式，但仍需更深入地了解相关参与者及其生理生态学和相关环境控制因素，以使模型更精确。

1.4 其他方法

除现场培养法、地球化学测定法、模型推测外，

还有聚合酶链式反应(PCR)、遥感等方法和技术也可以用于固氮研究。聚合酶链式反应技术通过提取固氮基因 nifH 序列来研究固氮生物的物种多样性、活性、分布和速率等。但是该技术存在着一些问题，例如一些低丰度固氮种系的 nifH 基因序列能够高度表达，而有些固氮种系中 nifH 基因序列却不参与表达，这些都会导致实验结果与海区实际情况之间存在较大的差异^[16-17]。遥感是一种现代非实验性工具，对某些束毛藻来说，其细胞具有藻红素和高反射率的气泡而可以产生独特的光信号，遥感卫星通过捕捉这些光信号来有效识别束毛藻在水柱中的位置及丰度^[2]。因此，利用电子技术和卫星数据研究海洋固氮生物在更广阔空间尺度上的分布和更长时间尺度上的变化，可以说采用遥感技术来识别监测固氮生物是一个革命性进步。

从各种测定方法的适用范围和优缺点来看(表 1)，尽管取得了一定的进展，但固氮速率的测定仍是未来工作中的一个挑战，我们仍缺乏对固氮生物与相关生态环境间相互作用的全面认知。这就需要突破传统的相关性设定，在现场培养测定和地球化学测定的基础上加以结合生态环境模型，进而建立更准确的新测定方法。

表 1 各种测定方法适用范围与特点

Tab. 1 Application and characteristics of the measurement methods

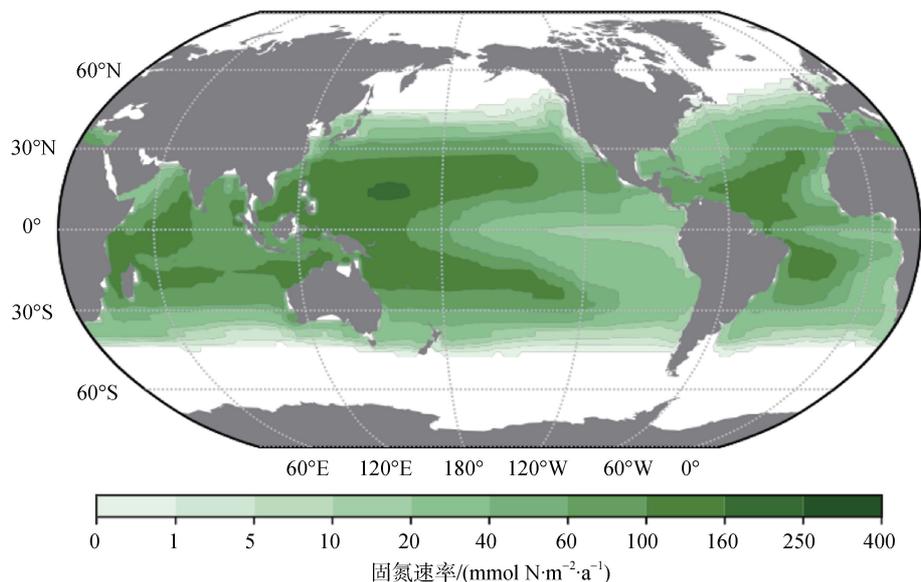
测定方法	适用范围	优点	缺点	
现场培养法	现场培养样品的测定、寡营养海域	精度较高、检出限低	时空尺度限制较大、不能连续测定、存在较大不确定性	
地球化学测定法	N*自然丰度测定法 P ₁ *自然丰度测定法	100~1 000 m 水深 100 m 水深以上	能结合一定时空尺度、克服点空间限制	忽略小尺度变异性、忽略湍流混合影响
模型推测	全球大范围速率预估	模拟动态过程、时空尺度更大	没有考虑非蓝藻固氮生物、模型与实际环境存在差异	

2 海洋生物固氮速率分布及其影响因素

2.1 海洋固氮速率的分布

大多数固氮速率的数据是从测定大量海洋上层未过滤的现场样品中获得的。Tang 等^[13]将 ¹⁵N₂ 同位素示踪法测得的固氮速率与文献中汇编的离散数据相结合并利用相应的统计公式进行再一次的统计分析，即元分析，从而产生经过权重处理的与总体相关的平均估计值。这使沿海区域和开阔大洋的固氮数据

得以深度综合，得到全球海洋固氮量的平均值为 196.1 Tg N·a⁻¹。Landolfi 等^[14]发现最高的固氮速率发生在西热带太平洋地区(384~849 mmol N·m⁻²·a⁻¹)，明显高于北大西洋亚热带地区(108~241 mmol N·m⁻²·a⁻¹)。而最低的固氮速率发生在印度洋南部海域(< 7.3 mmol N·m⁻²·a⁻¹)和白令海区域(3.6 mmol N·m⁻²·a⁻¹)。从生态系统模型(CESM 模型)得到的全球固氮速率分布图来看(图 2)^[18]，热带太平洋西部、印度洋西部及大西洋中西部固氮速率相对较高，而南太平洋和北太平洋由于其广阔的海洋表面积对全球固氮总量贡献较大。

图2 CESM模型推测的固氮速率分布图^[18]Fig. 2 Distribution of N₂ fixation simulated by the CESM model^[18]

开阔大洋通常相对缺乏无机氮元素,生物固氮作用是开阔大洋氮元素输入的重要途径。而近岸水体营养盐相对丰富,因此固氮作用往往被忽视。但有研究发现,沿海区域也为全球固氮量贡献了 $6.6 \text{ Tg N}\cdot\text{a}^{-1}$ ^[13],并且有明显的季节变化。如:胶州湾的固氮速率在一年四季内会随着温度、盐度及太阳辐射的变化而出现差异。湾内和湾外的整体变化趋势为:夏季($13.1 \text{ mmol N}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$)>冬季($9.2 \text{ mmol N}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$)>春季($6.3 \text{ mmol N}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$)>秋季($2.7 \text{ mmol N}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$)。在春、夏和秋季,湾内固氮速率高于湾外,而冬季恰好相反,推测是与冬季湾外温度相对高于湾内而导致固氮速率的上升有关^[19]。近海区域由于受到地表径流及地下水的影响,固氮速率分布特点与开阔大洋区域存在明显差异。如:胶州湾水体中铁元素相对充足,固氮生物受到铁限制的可能性相对较小,并且无机氮及其他营养盐浓度也相对较高,固氮速率与初级生产力有很好的相关性,表明近海水域生物固氮活性受到可利用溶解有机碳的影响,固氮生物可能以异养固氮生物为主,这就与开阔大洋中自养固氮生物占主体地位的情况有所差异。另外,胶州湾位于季风气候区域,固氮活性受温度变化的差异很大,这也与开阔大洋相对稳定的温度条件明显不同。

2.2 影响海洋生物固氮速率的因素

2.2.1 物理因素

物理因素主要是一些地理和水文环境因素,如太阳辐射、温度及 pCO_2 等,其中太阳辐射和海表

面温度被认为是全球范围固氮速率分布的最佳预测因子^[20]。

太阳辐射——光照是自养固氮生物进行光合作用的必要条件,能促进固氮生物生长,还能为固氮过程提供能量,因此成为影响固氮的重要因素。同时不同种系固氮生物各自具有相应的生理机制对光照进行适应,如束毛藻将固氮作用和光合作用空间相互分隔,使其进行光合作用的同时还能固定氮气;单细胞蓝细菌(UCYN)物种在白天进行碳固定,在夜间以分解白天固定的有机物为能量来源进行固氮;异养固氮菌和古细菌并不受光照的影响。据全球海洋固氮量数据统计分析表明,太阳辐射是决定固氮生物活性的主要控制因素,这也解释了为什么固氮生物丰度和固氮速率在低纬度区域最高。

温度是除太阳辐射外另一个主要控制因素,其影响着固氮酶活性和相关反应过程的速率。随着全球温室效应加剧,海洋表面温度升高,低纬度海域温度超过了束毛藻的最佳温度范围,使其分布范围逐渐向高纬度区域扩展,导致其分布区域较原来增加了 11%^[21]。另外, Jiang 等^[22]研究了海洋变暖和化学控制因素如铁限制条件之间的关系,研究发现温度升高会相对缓解铁元素对束毛藻的限制作用并提高铁元素的利用率。相关模型也预测在未来一个世纪内,温度升高可使未来海洋固氮量增加 22%左右,从而深刻改变开阔海洋生态系统的生物固氮作用。

随着温室气体的增加,海洋中 $p\text{CO}_2$ 也在不断增加。蓝细菌光合作用固碳可通过 CO_2 浓缩机制(CCM)来缓解 $p\text{CO}_2$ 较低时的限制作用。因此 $p\text{CO}_2$ 的增加通过 CO_2 浓缩机制下调及节省能量再分配来刺激碳和氮的固定,支持固氮生物更高的生长速率和生产力。但 Shi 等^[23]发现,在多种因素影响下,一些化学因素会相对抵消 $p\text{CO}_2$ 升高对固氮生物活性的刺激作用,例如酸化引起的 pH 下降对固氮的负效应会强于 $p\text{CO}_2$ 的正效应,最终抑制固氮生物活性及其生长^[24]。

2.2.2 化学因素

海洋中化学因素各种各样,而与海洋固氮过程息息相关并对其产生控制作用的主要有铁元素、磷元素和 N:P 比值等。

铁元素是海洋固氮的关键化学控制因子,固氮酶对铁需求量很高,但表层海水中铁的浓度很低,因此铁元素的缺乏限制了固氮生物的生长和活性^[25]。而风尘是海洋铁的重要输入途径,可相对缓解铁元素的限制作用。Li 等^[26]通过实验也证实了风尘能促进束毛藻生长并能刺激其固氮活性。但铁元素需要从风尘中释放出来才能被固氮生物所吸收,此过程会受到风尘的自身性质,如颗粒大小、结构、风化程度等影响^[27],而目前对于束毛藻是否能直接吸收风尘中的铁还知之甚少。Kessler 等^[28]研究发现束毛藻能通过感知风尘颗粒中铁的存在并选择性富集铁元素含量较多的颗粒进行储存加工,以此来最大限度地增加铁的可利用性。

除铁元素限制外,磷的缺乏同样也会限制 N_2 固定。Garcia 等^[29]研究发现在缺磷条件下的束毛藻生长和固氮速率要比缺铁条件下更慢,这就证实了磷是除铁之外又一个重要限制性营养元素。而最近科学家将元素限制的研究重点转移到多元素共同限制条件上。固氮生物在实验室里经过 Fe 和 P 的共同限制压力条件下长期选择培养之后,其生长速率和固氮速率要比仅受一种元素限制条件时更快,这表明寡营养海域的固氮生物在未来可能会对持续性压力做出特殊适应,如蛋白质重组、细胞体积减小以及增加参与调节细胞大小的保守结构域的蛋白质等,进而使寡营养海域固氮速率得以提升^[30-31]。

固氮生物在固氮过程中会始终吸收氮元素和磷元素,而 N:P 比值在海洋环境中处于不断变化状态,这种变化会对固氮生物产生控制作用。一般情况下,海洋固氮生物在 N:P 比值低于 Redfield 比值时具有竞争优势。但是在北大西洋区域出现异常情况,此区

域 N:P 比值相对较高,而固氮生物却表现出高固氮量。Landolfi 等^[32]据此通过模型研究提出了固氮生物利用氮磷元素的一种新机制。固氮生物能通过胞外酶将溶解有机磷(DOP)分解为无机磷,此过程需消耗额外的氮元素,这使固氮生物在磷元素相对缺乏的区域具有应对措施,其生态位得以扩大。

2.2.3 生物因素

当前关于大洋氮收支是否平衡存在广泛的争议,而造成这一争议的关键因素就是对固氮生物及其固氮作用的生物影响因素,如浮游植物和异养固氮生物等没有明确认识,导致固氮量估算产生误差。

生物固氮作用通常被认为发生在生物量较低的氮限制海域,但 Tang 等^[13]对北大西洋西部海域的研究发现,浮游植物活动与固氮生物密切相关。浮游植物在新泽西州海岸丰度很高,而固氮速率在此区域也很高,并且比较固氮速率和遥感观测的浮游植物叶绿素 *a* 浓度时发现二者之间具有很强相关性,推断是与上升流海域的营养盐相关,浮游植物大量吸收营养盐后制造有机物并刺激异养固氮生物进行固氮,进而使整体固氮速率得以提高。在其他上升流海域也发现类似现象,如大西洋赤道海域、非洲西北部沿岸上升流海域以及本格拉上升流海域等^[13, 33]。

异养固氮生物往往由于自养固氮生物在固氮作用中占主体地位而被忽视,这也是海洋固氮量被低估的原因之一。异养固氮生物主要是一些适宜生存于无光甚至深海水域的异养细菌和古细菌,虽然其固氮速率相对较低,但因其生存海域空间巨大而导致无光海域固氮速率可占整个水柱固氮速率的 40%~95%^[16, 34]。相比于自养固氮生物基因 *nifH* 序列测定, γ 蛋白细菌中的 γ -A 基因序列是研究异养固氮生物最好的基因序列之一,通过测定发现其与蓝细菌的生态位具有一定重合,并且异养固氮生物还能生存在一些氮元素充足的富氧水域以及一些超低营养水域等^[34-35]。关于异养固氮生物生态学研究 and 不同种类固氮生物对总固氮贡献量占比多少等一些问题仍未得到完全解决,但总的来说异养固氮部分是不可忽视的一部分海洋氮源。

3 海洋生物固氮作用与反硝化作用的关系

与固氮作用效果相反的反硝化作用通过将硝酸盐等较复杂的含氮化合物转化为 N_2 和 N_2O 逸散出去,减少海洋中氮元素含量^[36]。早期的研究认为海洋固

氮作用与反硝化作用密切相关。热带太平洋东南部是著名的热带上升流区域和最小含氧带，此区域海面亚表层氧气的强烈消耗刺激反硝化作用增强并使上升至表面的硝酸盐含量减少，导致表面 N:P 比值相对较低，营养盐条件相对有利于固氮作用，因此二者作用空间出现相互耦合现象^[37]，从而能使反硝化作用失去的氮元素能够被固氮作用输入的氮元素所补充，保持氮收支的相对平衡状态^[12]。

但在近年来 Gruber^[38]结合 Knapp 等^[39]研究的数据对耦合关系提出质疑。Knapp 等^[39]在热带西太平洋南部发现高固氮速率，与热带太平洋东部的强反硝化作用区域相互分离，因此形成一种固氮作用与反硝化作用空间脱节的新分布格局。Wang 等^[18]将生物地球化学反演模型与海洋年平均环流模型相结合，并考虑输出有机物中非恒定的 N:P 比值变化因素，探索了海洋固氮作用与反硝化作用空间脱节的原因^[40]。

导致两种氮循环过程空间脱节的其中一个原因是不同区域输出有机物中的 N:P 比值变化差异较大，亚热带环流的寡营养区域比值可高达 26，而营养充足的热带上升流区域低至 12。相对过量的磷的消耗与氮气的固定相关，这就使较高的固氮速率发生在输出有机物 N:P 比值相对较高的西太平洋亚热带环流区域中，但这也只能解释部分区域二者空间分离的原因^[41]。另外一个因素是浮游动物对固氮生物的捕食作用，在反演模型中最低的固氮生物丰度出现在沿海上升流区域，这些区域中浮游动物的生物量随着浮游植物生物量的增加而增加，自上而下的捕食压力使固氮生物的生物量保持在较低水平，这也是导致上升流海域反硝化作用较强而固氮作用较弱的原因，在固氮作用和反硝化作用空间的分离上起着关键作用^[42]。

固氮作用通常发生在硝酸盐、铵盐等氮含量相对缺乏的区域，而反硝化作用导致的氮流失可以为固氮生物提供这种适宜的环境，两种过程由此形成一种负反馈机制使生态系统保持相对稳定。但在固氮作用与反硝化作用空间相互分离的新格局下，这种负反馈机制在较远距离上如何实现，或者是以其他何种方式来使生态系统保持相对稳定？这些问题仍需进一步探索。

4 总结与展望

随着全球气候不断变化，海洋生物固氮对各种

环境造成的影响也越来越受到海洋科学家的关注。本文归纳总结了海洋固氮速率测定的研究方法，探讨了海洋固氮速率分布情况及其调控因素，提出了固氮作用和反硝化作用二者空间分离分布新格局，但大洋固氮作用在以下几个方面仍需进行更加深入的研究：

1) 尽管固氮速率测定方法有了一定改进，并且为测定全球海洋固氮速率提供了可行性，但是这些方法在海洋同一区域不同时间测定的数据由于受到海洋周日性变化的影响仍存在较大差异，需要对方法进一步完善与改进，而且需要弄清固氮作用与复杂的环境之间的相互作用，尽快建立原位测量方法，提出真实可靠的数据。

2) 在实际海洋中往往是物理、化学、生物等多个控制因素相组合的交互效应，而实验中大多考虑的是单因素变量，因此实验室模拟实验需以实际环境条件为依据，尽量走到海上现场去进行切合实际环境的模拟实验，分析多因素间的协同或拮抗效应对海洋固氮生物群落生态结构的影响。

3) 目前还难以分辨出固氮活性和物种多样性之间的关系，不能准确区分蓝细菌和异养固氮生物对总固氮量的贡献分别是多少。虽然异养固氮细菌的活性不如蓝细菌，但其固氮量不可忽略，这就需要研制新的技术手段对其进行研究。

4) 在固氮作用与反硝化作用空间出现脱节及异养固氮生物对海洋氮输入有显著影响的情况下，需要对固氮生物固定的氮进行同位素示踪，并综合反硝化及厌氧氨氧化等氮流失途径来重新考虑海洋整体氮收支平衡问题，海洋最终又是以何种方式在上千年期间保持氮元素含量的相对稳定，这些都值得进一步研究。

参考文献：

- [1] 田东凡, 李学刚, 宋金明, 等. 海洋最小含氧带氮流失过程与机制[J]. 应用生态学报, 2019, 30(3): 1047-1056.
TIAN Dongfan, LI Xuegang, SONG Jinming, et al. Process and mechanism of nitrogen loss in the ocean oxygen minimum zone[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(3): 1047-1056.
- [2] BHAVYA P S, MIN J O, KIM M S, et al. A review on marine N₂ fixation: mechanism, evolution of methodologies, rates, and future concerns[J]. Ocean Science Journal, 2019, 54(4): 515-528.
- [3] FULWEILER R W, HEISS E M, ROGENER M K, et al.

- Examining the impact of acetylene on N-fixation and the active sediment microbial community[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 418.
- [4] WILSON S T, BOTTJER D, CHURCH M J, et al. Comparative assessment of nitrogen fixation methodologies, conducted in the oligotrophic North Pacific Ocean[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(18): 6516-6523.
- [5] 陈盛保, 张润, 陈能汪, 等. 生物固氮速率测定中 $^{15}\text{N}_2$ 同位素示踪剂的引入[J]. *海洋学报*, 2018, 40(10): 42-50. CHEN Shengbao, ZHANG Run, CHEN Nengwang, et al. On the introduction of $^{15}\text{N}_2$ tracer in marine N_2 fixation rate assay[J]. *Haiyang Xuebao*, 2018, 40(10): 42-50.
- [6] MOHR W, GROSSKOPF T, WALLACE D W, et al. Methodological underestimation of oceanic nitrogen fixation rates[J]. *PLoS One*, 2010, 5(9): e12583.
- [7] DABUNDO R, LEHMANN M F, TREIBERGS L, et al. The contamination of commercial $^{15}\text{N}_2$ gas stocks with ^{15}N -labeled nitrate and ammonium and consequences for nitrogen fixation measurements[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e110335.
- [8] GROSSKOPF T, LAROCHE J. Direct and Indirect costs of dinitrogen fixation in *Crocospaera watsonii* WH8501 and possible implications for the nitrogen cycle[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3: 236.
- [9] CHANG B X, JAYAKUMAR A, WIDNER B, et al. Low rates of dinitrogen fixation in the eastern tropical South Pacific[J]. *Limnology and Oceanography*, 2019, 64(5): 1913-1923.
- [10] ZAMORA L M, LANDOLFI A, OSCHLIES A, et al. Atmospheric deposition of nutrients and excess N formation in the North Atlantic[J]. *Biogeosciences*, 2010, 7(2): 777-793.
- [11] MILLS M M, ARRIGO K R. Magnitude of oceanic nitrogen fixation influenced by the nutrient uptake ratio of phytoplankton[J]. *Nature Geoscience*, 2010, 3(6): 412-416.
- [12] DEUTSCH C, SARMIENTO J L, SIGMAN D M, et al. Spatial coupling of nitrogen inputs and losses in the ocean[J]. *Nature*, 2007, 445(7124): 163-167.
- [13] TANG W Y, WANG S, FONSECA B D, et al. Revisiting the distribution of oceanic N_2 fixation and estimating diazotrophic contribution to marine production[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 831.
- [14] LANDOLFI A, KAHLER P, KOEVE W, et al. Global marine N_2 fixation estimates: from observations to models[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2112.
- [15] ILYINA T, SIX K D, SEGSCHEIDER J, et al. Global ocean biogeochemistry model HAMOCC: Model architecture and performance as component of the MPI-Earth system model in different CMIP5 experimental realizations[J]. *Journal of Advances in Modeling Earth Systems*, 2013, 5(2): 287-315.
- [16] MOISANDER P H, BENAVIDES M, BONNET S, et al. Chasing after non-cyanobacterial nitrogen fixation in marine pelagic environments[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1736.
- [17] BENAVIDES M, VOSS M. Five decades of N_2 fixation research in the North Atlantic Ocean[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2015, 2: 40.
- [18] WANG W L, MOORE J K, MARTINY A C, et al. Convergent estimates of marine nitrogen fixation[J]. *Nature*, 2019, 566(7743): 205-211.
- [19] 陈盛保. 胶州湾生物固氮作用研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2019. CHEN Shengbao. Biological nitrogen fixation research in Jiaozhou Bay[D]. Xiamen: Xiamen University, 2019.
- [20] LUO Y W, LIMA I D, KARL D M, et al. Data-based assessment of environmental controls on global marine nitrogen fixation[J]. *Biogeosciences*, 2014, 11(3): 691-708.
- [21] FU F X, YU E, GARCIA N S, et al. Differing responses of marine N_2 fixers to warming and consequences for future diazotroph community structure[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2014, 72(1): 33-46.
- [22] JIANG H B, FU F X, RIVERO C S, et al. Ocean warming alleviates iron limitation of marine nitrogen fixation[J]. *Nature Climate Change*, 2018, 8(8): 709-712.
- [23] SHI D L, KRANZ S A, KIM J M, et al. Ocean acidification slows nitrogen fixation and growth in the dominant diazotroph *Trichodesmium* under low-iron conditions[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States America*, 2012, 109(45): E3094-E3100.
- [24] EICHNER M, ROST B, KRANZ S A. Diversity of ocean acidification effects on marine N_2 fixers[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2014, 457: 199-207.
- [25] 李丹阳, 张润. 南海水域生物固氮作用研究进展[J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2018, 57(6): 760-767. LI Danyang, ZHANG Run. Research progresses in biological nitrogen fixation in the south China sea[J]. *Journal of Xiamen University*, 2018, 57(6): 760-767.
- [26] LI X F, FONSECA B D, ROEVROS N, et al. Environmental and nutrient controls of marine nitrogen fixation[J]. *Progress in Oceanography*, 2018, 167: 125-137.
- [27] RUBIN M, BERMAN F I, SHAKED Y. Dust- and mineral-iron utilization by the marine dinitrogen-fixer *Trichodesmium*[J]. *Nature Geoscience*, 2011, 4(8): 529-534.
- [28] KESSLER N, ARMOZA Z R, Wang S Y, et al. Selective collection of iron-rich dust particles by natural *Trichodesmium* colonies[J]. *ISME Journal*, 2020, 14(1): 91-103.

- [29] GARCIA N S, FU F X, SEDWICK P N, et al. Iron deficiency increases growth and nitrogen-fixation rates of phosphorus-deficient marine cyanobacteria[J]. *ISME Journal*, 2015, 9(1): 238-245.
- [30] 张润, 陈敏. 海洋生物固氮作用研究进展[J]. *台湾海峡*, 2010, 29(3): 428-433.
ZHANG Run, CHEN Min. Advances in marine biological nitrogen fixation studies[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2010, 29(3): 428-433.
- [31] WALWORTH N G, FU F X, WEBB E A, et al. Mechanisms of increased *Trichodesmium* fitness under iron and phosphorus co-limitation in the present and future ocean[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 12081.
- [32] LANDOLFI A, KOEVE W, DIETZE H, et al. A new perspective on environmental controls of marine nitrogen fixation[J]. *Geophysical Research Letters*, 2015, 42(11): 4482-4489.
- [33] FONSECA B D, DEHAIRS F, RIOU V, et al. Nitrogen fixation in the eastern Atlantic reaches similar levels in the Southern and Northern Hemisphere[J]. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 2017, 122(1): 587-601.
- [34] BOMBAR D, PAERL R W, RIEMANN L. Marine non-cyanobacterial diazotrophs: moving beyond molecular detection[J]. *Trends in Microbiology*, 2016, 24(11): 916-927.
- [35] LANGLOIS R, GROSSKOPF T, MILLS M, et al. Widespread distribution and expression of Gamma A (UMB), an uncultured, diazotrophic, gamma-Proteobacterial *nifH* phylotype[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0128912.
- [36] 李学刚, 宋金明, 袁华茂, 等. 深海大洋最小含氧带 (OMZ)及其生态环境效应[J]. *海洋科学*, 2017, 41(12): 127-138.
- LI Xuegang, SONG Jinming, YUAN Huamao, et al. The oxygen minimum zones (OMZs) and its eco-environmental effects in ocean[J]. *Marine Sciences*, 2017, 41(12): 127-138.
- [37] BUCHANAN P J, CHASE Z, MATEAR R J, et al. Marine nitrogen fixers mediate a low latitude pathway for atmospheric CO₂ drawdown[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 4611.
- [38] GRUBER N. Elusive marine nitrogen fixation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States America*, 2016, 113(16): 4246-4248.
- [39] KNAPPA N, CASCIOTTI K L, BERELSON W M, et al. Low rates of nitrogen fixation in eastern tropical South Pacific surface waters[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States America*, 2016, 113(16): 4398-4403.
- [40] DEVRIES T, PRIMEAU F. Dynamically and observationally constrained estimates of water-mass distributions and ages in the global ocean[J]. *Journal of Physical Oceanography*, 2011, 41(12): 2381-2401.
- [41] LETSCHER R T, MOORE J K. Preferential remineralization of dissolved organic phosphorus and non-Redfield DOM dynamics in the global ocean: Impacts on marine productivity, nitrogen fixation, and carbon export[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2015, 29(3): 325-340.
- [42] LANDOLFI A, DIETZE H, KOEVE W, et al. Overlooked runaway feedback in the marine nitrogen cycle: the vicious cycle[J]. *Biogeosciences*, 2013, 10(3): 1351-1363.

Research progresses in marine biological nitrogen fixation rate and affecting factors

YANG Zi-yang^{1, 3}, LI Xue-gang^{1, 2, 3, 4}, SONG Jin-ming^{1, 2, 3, 4}, MA Jun^{1, 2, 4},
WANG Qi-dong^{1, 2, 4}

(1. CAS Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Marine Ecology and Environmental Science Laboratory, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266237, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 4. Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Received: Aug. 20, 2020

Key words: marine biological nitrogen fixation; nitrogen fixation rate; influencing factors; denitrification

Abstract: Marine biological nitrogen fixation is a nitrogen input process in which diazotrophs use nitrogenase to convert N_2 to bioavailable ammonium. Nitrogen fixation maintains the balance between the marine nitrogen budget and denitrification, as well as anammox and other nitrogen output processes. The most direct way to study marine nitrogen fixation is to measure the nitrogen fixation rate. Since the discovery of marine nitrogen fixation, various methodologies have been used to measure the nitrogen fixation rate, but some limitations still exist. The global marine nitrogen fixation rate was estimated to be $196.1 \text{ Tg N} \cdot \text{y}^{-1}$ using a $^{15}\text{N}_2$ tracer assay combined with related data, and the highest nitrogen fixation rate is found in the southern tropics of the Pacific. The distribution of nitrogen fixation is affected by many factors. Among them, sunlight and temperature are the best predictors of the global marine nitrogen fixation distribution. Sunlight provides energy for the nitrogen fixation process, and temperature plays an important role in affecting nitrogenase activity. Iron deficiency, one of the controlling chemical factors, is an important factor limiting nitrogen fixation. In addition, biological factors such as phytoplankton and heterotrophic diazotrophs affect nitrogen fixation estimates. Recent studies have questioned whether the nitrogen fixation zones are near the denitrification zones and proposed a new view of spatial decoupling of nitrogen fixation and denitrification. Studying the coupling effects of multiple factors affecting diazotrophs, disentangling the relative contribution of different species to the total nitrogen estimate, and establishing an in-situ rate measurement method are required in future research on nitrogen fixation.

(本文编辑: 杨 悦)