

北黄海浮游植物营养盐限制的初步研究*

王 勇 焦念志

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 于1997年11月,在北黄海采用现场实验的方法,研究营养盐对浮游植物的上行效应。将浮游植物分为3个粒级:网采浮游植物(netphytoplankton,简称net-, 20—200 μ m)、微型浮游植物(nanophytoplankton,简称nano-, 2—20 μ m)和超微型浮游植物(picophytoplankton,简称pico-, < 2 μ m)。实验期间pico-叶绿素 a 的生物量占整个浮游植物群落总叶绿素 a 生物量的50%以上,net-和nano-贡献了总叶绿素 a 生物量的其余部分。结果表明,无论硝酸盐还是磷酸盐的添加,与0时刻相比较,实验组net-叶绿素 a 生物量都增加。实验结束时刻各组叶绿素 a 生物量的结果比较显示,低N组各粒级浮游植物叶绿素 a 的生物量与对照组相比都无显著差异($p < 0.05$);高N组net-叶绿素 a 的生物量与对照组相比有显著差异($p < 0.05$)。低P组net-叶绿素 a 的生物量与对照组相比有显著差异($p < 0.05$);但nano-和pico-叶绿素 a 生物量与对照组相比均无显著差异($p < 0.05$);高P组各粒级浮游植物叶绿素 a 生物量与对照组相比都有显著差异($p < 0.05$)。在这一季节,黄海可能同时存在N、P营养盐的限制作用。

关键词 浮游植物 营养盐 限制性 黄海

学科分类号 Q948.885.3

海水中的N、P营养盐可得性是调控浮游植物生长的重要因子,但海水中的限制性营养盐究竟是N还是P,至今仍有分歧。Redfield(1934)、Redfield等(1963)和Brzezinski(1985)对海洋中颗粒物质的基本组成进行了研究,指出海洋中颗粒物质的组成一般保持Si:N:P = 16:16:1这样一个比值,Goldman等(1979)证实海洋中浮游植物的化学组成也基本保持这一比值。Redfield等(1963)认为,在海洋中,任何N的缺乏都可以由来自于大气的固氮作用所弥补,而P的补充则相对较少而缓慢,因此P是海水中的限制性营养盐。Ryther等(1971)根据实验结果认为,海水中的限制性营养盐是N而不是P。他们首先在一些海区发现,当磷酸盐仍然可测时,溶解无机氮已经无法检测出,这说明N比P更具限制性。Fisher等(1992)认为,N或P营养盐的限制性是有空间变化的,甚至在同一海区,还有季节性N、P营养盐限制的交替变化。

北黄海海区代表了北温带海洋生态环境的一种重要类型,关于这一海区浮游植物生长的营养盐限制因素的研究,尚未见有现场实验的报道,本文在北黄海外海进行添加N、P

* 国家自然科学基金重点资助项目,39630060号;国家自然科学基金资助项目,39625008号。王勇,男,出生于1973年9月,博士,E-mail:yongw@jzw.cem.ac.cn

收稿日期:1998-12-25,收修改稿日期:1999-03-26

营养盐的现场培养实验研究,以期对该海区的季节性营养盐限制有更进一步的了解。

1 材料与方法

1.1 研究海区及现场实验条件

研究工作在“科学一号”科学考察船上进行。选取两个站点分别对 N 和 P 进行研究。

第 1 个站点为 N 添加实验(37°08' N, 123°29' E),于 1997 年 11 月 15 日 9:00—18 日 9:00 进行。实验开始时,表层海水中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的含量分别为 2.760 $\mu\text{mol/L}$ 、0.377 $\mu\text{mol/L}$ 和 0.271 $\mu\text{mol/L}$,溶解无机氮的含量为 3.404 $\mu\text{mol/L}$;无机磷主要以 $\text{PO}_4\text{-P}$ 的形式存在于海水中,表层海水中 $\text{PO}_4\text{-P}$ 的含量为 0.240 $\mu\text{mol/L}$ 。总的来说,各粒级浮游植物平均的叶绿素 *a* 含量都较低。其中,pico-占整个浮游植物群落叶绿素 *a* 含量的 53.8%;而 nano-占了总叶绿素 *a* 含量的 94.2%;net-相对而言,其叶绿素 *a* 生物量仅占很小的一部分(表 1)。现场实验分为 3 种处理组:对照组(不添加营养盐)、低营养组(添加 1 $\mu\text{mol/L}$ $\text{NO}_3\text{-N}$)和高营养组(添加 3 $\mu\text{mol/L}$ $\text{NO}_3\text{-N}$)。

第 2 个站点为 P 添加实验(37°53' N, 123°29' E),于 1997 年 11 月 20 日 9:00—23 日 9:00 进行。实验开始时,表层海水中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2\text{-N}$ 含量分别为 4.966 $\mu\text{mol/L}$ 、3.160 $\mu\text{mol/L}$ 和 0.355 $\mu\text{mol/L}$,溶解无机氮的含量为 8.481 $\mu\text{mol/L}$; $\text{PO}_4\text{-P}$ 的含量为 0.435 $\mu\text{mol/L}$ 。与 N 添加实验结果相比较,net-和 pico-的平均叶绿素 *a* 含量都略有下降,而 nano-的平均叶绿素 *a* 含量明显增加(表 1)。实验海区地理位置的不同与 N 实验之后的寒潮对 N、P 现场实验开始时理化环境与生物状况的差异产生了重要影响。现场实验也分为 3 种处理组:对照组(不添加营养盐)、低营养组(添加 0.1 $\mu\text{mol/L}$ $\text{PO}_4\text{-P}$)和高营养组(添加 0.3 $\mu\text{mol/L}$ $\text{PO}_4\text{-P}$)。每次实验中,高营养组为 4 组平行样培养,对照组和低营养组均为 2 组平行样。

表 1 实验 0 时刻分级叶绿素 *a* 的含量(mg/L)及各粒级叶绿素 *a* 含量占总叶绿素 *a* 含量的百分比(%)

Tab.1 Percentage (%) of the original size-fractionated chlorophyll-*a* contents (mg/L) and all size-fractionated chlorophyll-*a* contents to bulk chlorophyll-*a* contents at the onset of the incubation

组别	网采浮游植物		微型浮游植物		超微型浮游植物	
	叶绿素 <i>a</i> 含量	占总叶绿素 <i>a</i> 含量的比值	叶绿素 <i>a</i> 含量	占总叶绿素 <i>a</i> 含量的比值	叶绿素 <i>a</i> 含量	占总叶绿素 <i>a</i> 含量的比值
N 实验组	0.032 6	5.8	0.227 4	40.4	0.303 4	53.8
P 实验组	0.003 8	0.6	0.288 6	49.2	0.294 3	50.2

在每站采集表层海水 10L 左右,采集的现场海水立即通过 200 μm 的筛绢,以去除大型浮游动物的活动对实验造成的各种随机影响。镜检结果表明,在实验期间,几乎没有大于 200 μm 的浮游植物存在,所以这一处理对浮游植物群落组成没有什么影响。将通过 200 μm 筛绢的过滤海水加入 8 个容量为 1L 的玻璃瓶中,置于流水控温培养水槽中,在甲板上,现场光照水平下培养 72h。在实验开始和结束时刻采样进行叶绿素 *a* 的测定。在实验开始时刻(即 0 时刻)采样进行营养盐的测定。从 0 时刻起,每隔 24h 采样进行流式细胞仪分析。

1.2 营养盐、叶绿素 *a* 的测定与流式细胞仪计数

用于营养盐分析使用的水样,经先用酸和重蒸水润洗过的 0.45 μm 的微孔膜过滤。

取 60ml 滤液置于聚丙烯塑料瓶中, 冷冻黑暗保存约 2 周, 直至回实验室分析。无机 N、P 营养盐浓度用 Skalar San & plus 微量连续分析系统进行测定。

用于叶绿素 *a* 分析的样品, 先用 200 μ m 的筛绢、20 μ m 的尼龙网、Poretics 2 μ m 的聚碳酸酯膜对水样进行分级, 然后用 Whatman GF/F 玻璃纤维滤膜提取叶绿素 *a*, 约 2 周后回实验室用 Turner II 型荧光光度计测定, 叶绿素 *a* 含量采用 Jensen(1978) 的方法测定。在采集高 N 组一瓶中 net-叶绿素 *a* 样品时有水样的损失, 造成该瓶中 net-叶绿素 *a* 含量明显低于其它高 N 组瓶中 net-叶绿素 *a* 含量, 使高 N 组内差异较大。

每次现场实验中, 在 3 种处理组中各选择 1 个玻璃瓶, 采样进行流式细胞仪计数分析。每个瓶中每次取样 1ml 于 1.2ml Nalgene 冷冻管中, 加入 10 μ l 戊二醛(终浓度为 1%) 固定 10min, 冷冻黑暗保存直至分析。样品用装备了 Harvard Apparatus PHD 2000 外部定量加样器的 FACSCalibur 流式细胞仪测定, 并采用焦念志等¹⁾的方法进行分析。

2 结果

2.1 分级叶绿素 *a* 对营养盐添加的反应

2.1.1 N 添加实验结果 分级叶绿素 *a* 的结果显示, 经过 72h 的培养, 各瓶中 net-叶绿素 *a* 生物量与 0 时刻相比都有增加, 其中高 N 组增加最显著; 但各瓶中 nano-叶绿素 *a* 生物量与 0 时刻相比都下降, 对照组下降最明显; 与 0 时刻相比较, 对照组中 pico-叶绿素 *a* 生物量略有增加, N 实验组中 pico-叶绿素 *a* 生物量较对照组增加显著, 但低 N 组和高 N 组 pico-叶绿素 *a* 生物量的增加程度差别不大(表 2)。实验结束时刻(第 72 小时)叶绿素 *a* 生物量的统计分析结果显示, 低 N 组 net-、nano-和 pico-叶绿素 *a* 生物量与对照组相比均无显著差异($p < 0.05$); 去除因实验操作造成的 net-叶绿素 *a* 生物量不准确的值, 统计结果显示, 高 N 组与对照组的 net-叶绿素 *a* 生物量有显著差异($p < 0.05$), 但高 N 组 nano-和 pico-的叶绿素 *a* 生物量与对照组相比均无显著差异($p < 0.05$)。

表 2 实验第 72 小时分级叶绿素 *a* 的统计分析结果

Tab.2 The statistical analysis for size-fractionated chlorophyll-*a* 72h after the onset of the incubation

组 别	网采浮游植物		微型浮游植物		超微型浮游植物		
	平均值 (mg/L)	方差	平均值 (mg/L)	方差	平均值 (mg/L)	方差	
对照组	0.064 2	1.89×10^{-4}	0.046 7	7.56×10^{-4}	0.285 9	1.28×10^{-3}	
N 实验	低营养盐组	$0.110 8$	3.70×10^{-4}	0.083 6	6.81×10^{-5}	0.361 7	7.56×10^{-4}
	高营养盐组	0.255 7	9.26×10^{-3}	0.140 0	2.05×10^{-3}	0.386 0	3.45×10^{-3}
对照组	0.057 0	2.61×10^{-4}	0.021 3	8.19×10^{-7}	0.026 3	1.50×10^{-5}	
P 实验	低营养盐组	0.184 5	2.82×10^{-4}	0.105 5	1.16×10^{-3}	0.032 1	2.29×10^{-5}
	高营养盐组	0.189 5	2.58×10^{-3}	0.109 1	4.94×10^{-5}	0.036 5	1.09×10^{-5}

2.1.2 P 添加实验结果 分级叶绿素 *a* 的结果显示, 经过 72h 的培养, 各瓶中 net-叶绿素 *a* 的含量与初始时刻相比都有增加, 高 P 组和低 P 盐组增加的程度差别不大; 各瓶中 nano-叶绿素 *a* 生物量与开始时刻相比都下降, 对照组下降最显著; 各瓶中 pico-叶绿素 *a* 生物量都下降, 对照组下降最显著, 高 P 组和低 P 组下降的程度差别不大(表 2)。实验结束时

1) 焦念志, 杨燕辉, 1999. 表面荧光显微镜观测对东海和南海异养细菌的过高估计. 海洋与湖沼(待刊)

叶绿素 *a* 生物量的统计分析结果显示，低 P 组 net-叶绿素 *a* 生物量与对照组相比有显著差异 ($p < 0.05$)，nano-和 pico-叶绿素 *a* 生物量与对照组相比均无显著差异 ($p < 0.05$)；高 P 组各粒级叶绿素 *a* 生物量与对照组相比都有显著差异 ($p < 0.05$) (图 1)。

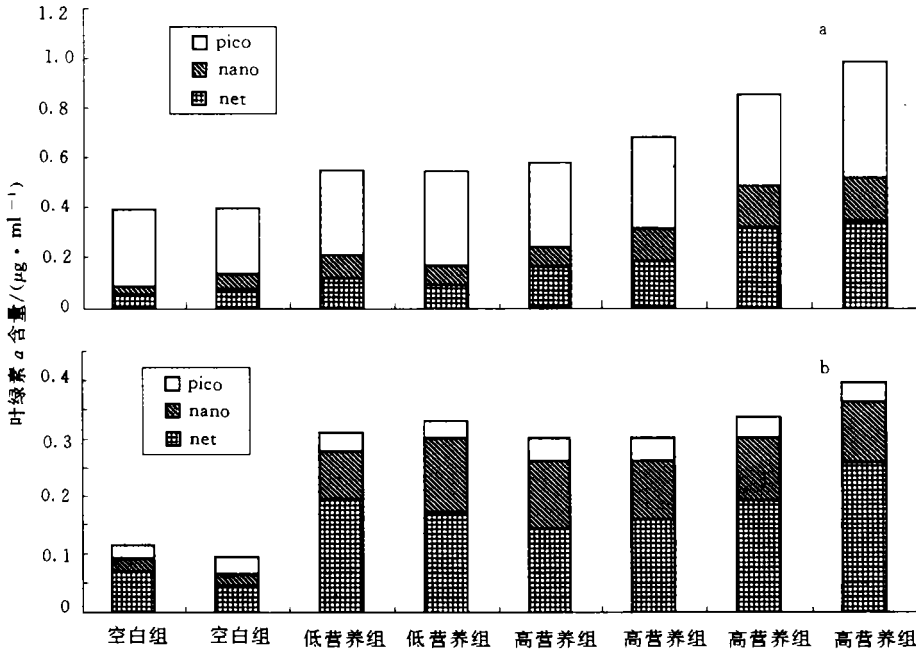


图1 北黄海N(a)和P(b)现场实验3天后分级叶绿素*a*对营养盐添加的响应结果(1997年11月)

Fig.1 Response of size-fractionated chlorophyll-*a* to the addition of N (a) and P (b) after 3 days in-situ incubation of the northern Yellow Sea (Nov., 1997)

2.2 超微型生物细胞丰度在实验过程中的变化

2.2.1 N添加实验结果 对照组聚球藻 (*Synechococcus*) 的细胞丰度在第 24 小时至第 72 小时内基本无变化，低 N 组与高 N 组中聚球藻的细胞丰度在第 24 小时至第 48 小时内略有下降，然后在第 48 小时至第 72 小时内有少量增加。3 组中真核类超微型浮游植物 (Picoeukaryotes) 的细胞丰度在第 24 小时至第 48 小时内都增加，然后在第 48 小时至第 72

表3 营养盐添加实验中超微型浮游植物细胞丰度 (cells/ml) 的变化

Tab.3 The change of cell concentration (cells/ml) of picophytoplankton during nutrient addition biomass

组 别	聚球藻			真核类超微型浮游植物			
	24h	48h	72h	24h	48h	72h	
对照组	18 571	18 690	19 010	6 429	15 241	15 583	
N实验	低营养盐组	18 461	17 996	19 148	8 676	16 459	16 519
	高营养盐组	16 235	15 897	20 160	9 097	16 017	17 177
对照组	13 389	14 558	15 361	1 116	1 211	1 276	
P实验	低营养盐组	12 348	14 474	16 240	1 217	1 247	1 343
	高营养盐组	14 688	16 150	17 551	1 438	1 512	1 611

小时内基本都无变化(表 3)。

2.2.2 P 添加实验结果 3 组中聚球藻的细胞丰度在第 24 小时至第 72 小时内都略有增加,真核类超微型浮游植物的细胞丰度在第 24 小时至第 72 小时内也都略有增加(表 3)。

3 讨论与结论

3.1 不同粒级浮游植物对 N、P 添加的反应

分级叶绿素 *a* 的结果表明,北黄海海区浮游植物以 nano-和 pico-为主,与大洋以及胶州湾相比,该海区有更高比例的 nano-;该海区 pico-叶绿素 *a* 生物量占总叶绿素 *a* 生物量的比例较高,生物组成主要是聚球藻和真核类超微型藻。虽然 net-叶绿素 *a* 生物量只占现场总叶绿素 *a* 生物量的比例很小,但对 N、P 营养盐的添加却有最显著的反应。相对于 0 时刻,添加高浓度 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的瓶中,net-的平均叶绿素 *a* 生物量占总叶绿素 *a* 的比值增加了近 5 倍,占 32.0%;而 pico-的平均叶绿素 *a* 生物量占总叶绿素 *a* 生物量的比值为 50.4%,仍在 50% 左右;但 nano-的平均叶绿素 *a* 生物量占总叶绿素 *a* 生物量的比值则急剧下降至 17.6%。P 实验结束时,高 P 组 net-的平均叶绿素 *a* 生物量占总叶绿素 *a* 生物量的 55.9%,比 0 时刻增加了 55.3%,充分说明 P 的添加确实对 net-的生长有促进作用,nano-占总叶绿素 *a* 生物量的 33.0%,而 pico-占总叶绿素 *a* 生物量的比值急剧下降至 11.1%。N 实验和 P 实验结束时,net-的平均叶绿素 *a* 生物量占总叶绿素 *a* 生物量的比值均出现了显著的增加,说明添加 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4\text{-P}$ 相对更有利于 net-的生长(表 4)。

表 4 实验第 72 小时各组中分级叶绿素 *a* 含量占总叶绿素 *a* 含量的百分比 (%)

Tab.4 Percentage (%) of the size-fractionated chlorophyll-*a* contents to bulk chlorophyll-*a* contents 72h after the onset of the incubation

组 别	网采浮游植物		微型浮游植物		超微型浮游植物	
	平均值	方差	平均值	方差	平均值	方差
对照组	16.2	1.051×10^{-3}	11.7	4.583×10^{-3}	72.1	1002×10^{-2}
N 实验组	低营养盐组	1.198×10^{-3}	15.1	2.201×10^{-4}	65.0	2.445×10^{-3}
	高营养盐组	2.866×10^{-3}	17.6	8.213×10^{-4}	50.4	4.634×10^{-3}
P 实验组	对照组	7.470×10^{-3}	20.4	2.939×10^{-4}	25.6	4.800×10^{-3}
	低营养盐组	5.517×10^{-3}	32.6	8.648×10^{-3}	10.0	3.504×10^{-4}
	高营养盐组	5.317×10^{-3}	33.0	2.629×10^{-3}	11.1	5.164×10^{-4}

3.2 本次实验的环境条件及实验条件

N 添加实验 0 时刻的氮磷比为 $\text{N:P} = 14.2$, 低于 16:1 的 Redfield 比值,说明 N 相对缺乏。而 P 添加实验 0 时刻的氮磷比为 $\text{N:P} = 19.4$, 高于 16:1 的 Redfield 比值,说明 P 在比值上处于相对缺乏状态。N、P 现场实验的结果显示,北黄海该季节,N、P 均表现出一定的限制性,但 P 的限制作用较 N 更突出。N、P 之所以均表现出限制性作用,可能是因为环境条件的原因,N、P 实验的地域和时间不同,时空的变化使 N、P 现场实验开始时刻的营养盐本底与生物组成不尽相同;另外 N 实验后的寒潮也对北黄海营养盐本底值与浮游植物群落的组成产生较大影响。

实验中 pico-对 N 的添加反应并不显著,这可能与添加的 N 营养盐种类有关。在本次实验中,之所以选择 $\text{NO}_3\text{-N}$ 而不是 $\text{NH}_4\text{-N}$ 作为氮源,主要是因为 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的污染源太多,实

验控制难度较大。但由于许多浮游植物,特别是 pico-,对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 添加的反应更为显著,不用 $\text{NH}_4\text{-N}$ 作为氮源,可能影响到 N 限制的显著性。实验期间未跟踪营养盐水平的变化,因此营养盐浓度在培养期间的变化情况不明。实验用的玻璃瓶较小,不能反应营养盐添加的长期结果,结果是用小样本反映总体的状况,所以有一定的局限性。无论是 N 或 P 实验,结束时刻 net-叶绿素 *a* 生物量都比 0 时刻增加,说明 net-在培养期间的生长状况较好;但结束时刻 nano-叶绿素 *a* 含量较 0 时刻都有所下降,这主要是由于“瓶子效应”(“bottle effect”)影响,实验于冬季进行,低温限制了藻的新陈代谢作用。pico-的生理状况不佳,但流式细胞仪计数的结果显示,这次现场实验的条件还是适合培养的,因为在该海区浮游植物群落中的优势生态类群——聚球藻和真核类超微型藻,其细胞数目在培养期间基本都呈现出了上升的趋势,这说明实验条件是合适的。

北黄海在该季节, N、P 营养盐的限制作用同时存在,可能随具体情况不同,该海区有 N、P 营养盐的交替限制。本文是对该海区营养盐限制性的初步研究结果,今后有待进一步研究。

参 考 文 献

- Brzezinski M A, 1985. The Si:C:N ratio of marine diatoms: interspecific variability and the effect of some environmental variables. *J Phycol*, 21:347--357
- Fisher T R, Peele E R, Ammerman J W *et al*, 1992. Nutrient limitation of in Chesapeake Bay. *Mar Ecol Prog Ser*, 82:51—63
- Goldman J C, McCarthy J J, Peavy D G, 1979. Growth rate influence on the chemical composition of phytoplankton in oceanic waters. *Nature*, 279:210—215
- Jensen A, 1978. *Handbook of Phycological Methods*. Cambridge: Cambridge University Press, 95—98
- Redfield A C, 1934. On the Proportions of Organic Derivatives in Seawater and Their Relation to the Composition of Plankton. In: James Johnstone Memorial Volume. Univ. Liverpool, 176—192
- Redfield A C, Ketchum B H, Richards F A, 1963. The Influence of Organisms on Composition of Seawater. In: Hill M N ed. *The Sea*, Vol II. J Wiley, New York, 26—77
- Ryther J H, Dunstan W M, 1971. Nitrogen, phosphorus, and eutrophication in the coastal marine environment. *Science*, 171:1 068—1 013

THE PRIMARY RESEARCH OF NUTRIENT LIMITATION OF PHYTOPLANKTON IN NORTHERN YELLOW SEA

WANG Yong, JIAO Nian-zhi

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

Abstract During a cruise to the northern Yellow Sea on board the R/V “Science 1” in November, 1997, surface seawater was sampled and incubated in-situ in order to study nutrient limitation of phytoplankton growth. Two experiments were performed at different stations, one with addition of nitrate, and the other with addition of phosphate. Phytoplankton was divided into three

size fractions: netphytoplankton (20—200 μm), nanophytoplankton (2—20 μm) and picophytoplankton (< 2 μm). Picophytoplankton contributed more than 50% chlorophyll-*a* biomass to total phytoplankton community chlorophyll-*a* biomass during the experimental period, netphytoplankton and nanophytoplankton contributed others. The concentration of dissolved inorganic nitrogen and dissolved inorganic phosphorus in surface seawater were low in the first experiment but high in the second experiment. The ratios of N:P were changed from 14.2 in the first experiment to 19.4 in the second experiment. Two in-situ incubation results indicated that phytoplankton experienced nutrient limitation during this season. The chlorophyll-*a* results of bioassays showed significant stimulation of netphytoplankton with the addition of phosphate or nitrate comparing to onset of each experiment. The results of chlorophyll-*a* of nanophytoplankton and picophytoplankton at 72h showed there was no significant difference between control carboys and nitrate addition carboys ($p > 0.05$), but netphytoplankton showed significant difference between control carboys and high concentration nitrate addition carboys ($p < 0.05$). Netphytoplankton chlorophyll-*a* were significantly different between control carboys and phosphate addition carboys; nanophytoplankton and picophytoplankton chlorophyll-*a* were not significantly different between control carboys and low concentration phosphate addition carboys, but significant different between control carboys and high concentration phosphate addition carboys ($p < 0.05$).

Key words Phytoplankton Nutrient Limitation Yellow Sea

Subject classification number Q948.885.3