

九龙江河-海系统夏季浮游植物磷胁迫研究*

莫 钰 林丽贞 郑丽平 黄邦钦

(福建省海陆界面生态环境重点实验室 厦门大学环境与生态学院 厦门 361005)

提要 采用群落水平和细胞水平碱性磷酸酶活性(APA)相结合的方法,研究了 2010 年夏季(6—7 月)九龙江河-海系统(河流-河口-邻近海域)浮游植物的磷胁迫,结果表明,单位叶绿素 *a* 的 APA 在河流下游区 $[(48.80 \pm 14.69) \text{ nmol}/(\text{h} \cdot \mu\text{g Chl } a)]$ 显著高于河口区 $[(10.60 \pm 15.58) \text{ nmol}/(\text{h} \cdot \mu\text{g Chl } a)]$ 和邻近海域 $[(23.54 \pm 25.41) \text{ nmol}/(\text{h} \cdot \mu\text{g Chl } a)]$,表明河流区的浮游植物磷胁迫显著高于河口区和邻近海域。三个区域高比例的游离态 APA 表明该水域浮游植物已较长时间处于磷胁迫状态。细胞水平的浮游植物荧光标记结果显示,河口区(20%±20%)与邻近海域(38%±20%)无显著差异($P > 0.05$),此结果与群落水平 APA 结果相一致;但河口-邻近海域浮游植物的标记比例显著高于河流下游区(9%±3%)($P < 0.05$)。

关键词 浮游植物,碱性磷酸酶活性(APA),磷胁迫,九龙江河-海系统

中图分类号 Q178.1; Q948.885.3

磷是浮游植物生长的必需元素,磷的生物可利用性对湖泊和海洋生态系统的初级生产力起重要调控作用(Currie *et al*, 1986; Moutin *et al*, 2008)。由于正磷酸盐可能是浮游植物能够直接利用的唯一磷源(Currie *et al*, 1986),这使得表层水体的无机磷常被迅速耗尽(Hecky *et al*, 1988)。在磷胁迫的情况下,浮游植物可通过一系列生物化学过程来利用有机磷从而满足磷的需求(Ruttenberg *et al*, 2005)。诱导产生碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, AP)将有机磷水解为无机磷是浮游植物利用有机磷的主要方式(Cotner *et al*, 1991),该种酶能水解范围较广的、O-P 键的有机磷复合物(Ammerman *et al*, 1985),是生物可利用磷来源的一种重要补偿机制(Rose *et al*, 1998; Labry *et al*, 2005),其表达水平大小常被用来反映水体的磷营养状况(González-Gil *et al*, 1998; Li *et al*, 1998)。

河-海系统是水环境与生态的剧烈变动区,淡水与海水交汇与混合、河流高营养盐输入等导致该区域(尤其是河口区)生态系统产生较大振荡,河口-近岸海域亦是藻华或有害赤潮的高发区。以往研究表明,磷是我国南方河流-河口浮游植物生长的重要调控或限制因子(Yin *et al*, 2000; Ou *et al*, 2006),但磷在河-

海系统对浮游植物的胁迫和限制的空间变动尚不清楚。

九龙江是福建省第二大河流,流域总面积 $1.47 \times 10^4 \text{ km}^2$,多年平均径流量为 $1.24 \times 10^{10} \text{ m}^3$,由南溪、北溪和西溪构成,在龙海市附近汇南溪与海水交汇,主要沿河口南岸入海,河口区的水文较复杂,受九龙江水系影响的同时还受潮汐控制(洪华生等, 2006),九龙江流域养殖业、农业化肥的施用等人类活动使得向河口海域输送营养物质不断增加,导致河口区富营养化问题日趋严重(Chen *et al*, 2008),该河口及厦门湾亦是水华的高发区,已对该水域生态系统产生一定的影响。本文采用浮游植物群落水平和细胞水平碱性磷酸酶活性(Alkaline phosphatase activity, APA)相结合的方法,比较研究河-海系统中不同亚系统(包括河流、河口和邻近海域)的磷胁迫状况及其响应机制,为从磷营养的角度评价该区域生态系统初级生产力和浮游植物群落结构及演替机制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域及采样

于 2010 年 6 月 28 日—7 月 2 日使用福建海洋研

* 国家自然科学基金项目, 40925018 号, 41176112 号。莫钰, E-mail: qycssw@163.com

通讯作者: 黄邦钦, 教授, E-mail: bqhuang@xmu.edu.cn

收稿日期: 2012-04-06, 收修改稿日期: 2012-06-12

究所“延平2号”调查船开展九龙江河口羽流及其邻近海域的调查研究,并在7月5日用厦门大学“海洋2号”调查船进行九龙江河口区调查,具体站位布设见图1。河口邻近海域按5—10m间距设置水层;九龙江河口区共12个调查站位,水深大于4m的站位采集表层(水深1m处)和底层(距底0.5—1m),水深小于4m的站位只采表层水样。

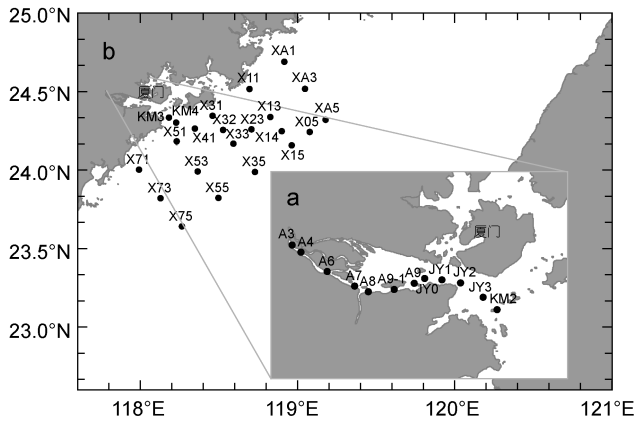


图1 九龙江河-海系统采样站位图

Fig.1 Sampling stations in Jiulongjiang River-Estuary
a. 九龙江下游及河口区; b. 邻近海域

1.2 环境参数的测定

近岸海域站使用直读式CTD(SeaBird-911, Plus)进行水样采集及温度和盐度数据的读取,河口区站位采用8L采水瓶自采水样,YSI(YSI 6600D, YSD)读取温盐数据。溶解活性磷(SRP)的分析根据磷钼蓝分光光度法,检出限为 $0.08\mu\text{mol/L}$,硝酸盐、亚硝酸盐和铵盐的分析分别根据萘乙二胺分光光度法、萘乙二胺分光光度法和靛酚蓝分光光度法,检出限分别为 0.1 、 0.04 和 $0.5\mu\text{mol/L}$,测定采用AA3营养盐自动分析仪Bran+Lubbe (SEAL Analytical GmbH, 德国),营养盐数据由厦门大学翟惟东博士研究小组提供(数据未发表)。

1.3 叶绿素a浓度测定

叶绿素a浓度的测定参照Parsons等(1984)方法,水样使用25mm GF/F滤膜(Whatman)过滤,在过滤结束前加过饱和碱式碳酸镁溶液两滴,取下滤膜于 -20°C 保存,使用荧光分光光度计(Varian Cary Eclipse)进行测定,激发和发射波长分别为 430nm 和 670nm ,狭缝 5nm ,测定荧光值,计算得到叶绿素a浓度。

1.4 群落水平碱性磷酸酶活性的测定

参照Hoppe(1983)的方法,以4-伞基酮磷酸盐MUP (4-Methylumbelliferyl phosphate, Sigma)为反应

底物,加入水样终浓度为 $150\mu\text{mol/L}$,现场温度避光培养3h,用 16mmol/L 的 HgCl_2 溶液终止酶反应;对照水样培养前不加入反应底物,加入 HgCl_2 溶液终止酶反应后再加入等量反应底物。样品采集后于 -20°C 保存,使用荧光分光光度计(Varian Cary Eclipse)进行测定,激发和发射波长分别为 365nm 和 450nm ,狭缝 5nm ,测定荧光值,计算APA。用醋酸纤维膜将碱性磷酸酶划分为 $<0.22\mu\text{m}$ (游离态)、 $0.22\text{—}3\mu\text{m}$ (微微型浮游生物态)和 $>3\mu\text{m}$ (浮游植物态)三种粒级后再分别测定。

1.5 浮游植物细胞水平碱性磷酸酶活性的测定

该方法主要参照González-Gil等(1998)和Dyhrman等(1999)的方法并进行了改进,采集表层1—8L水样,使用 $10\mu\text{m}$ 筛绢收集藻液,加入70%酒精避光培养30min后弃上清液,加入ELF-97TM(Molecular Probes, Inc., OR)作为荧光标记底物,避光培养1h再用无颗粒海水洗去多余底物, 4°C 下避光保存,采用荧光倒置显微镜(Leica, DMIRB)镜检。ELF与酶反应可产生荧光沉淀附着于酶位点上,在紫外波段下可发黄绿色荧光,根据细胞标记黄绿色荧光的有无进行分类,单细胞APA用某一种类浮游植物细胞ELF的标记率来表示。某一种类细胞的ELF标记比率(%)=(某一种类浮游植物标记的细胞数/某一种类浮游植物的细胞总数) $\times 100$ 。

1.6 数据分析处理

在进行数据分析时,采用线性回归分析APA与各环境因子的相关性,拟合分析在Sigmaplot 11.0下完成,表层分布图在Surfer 8.0下完成,所有统计分析均在SPSS 19.0下完成,相关性检验为Pearson系数,两者间检验为T-Test,两者以上为one-way ANOVA。

2 结果

2.1 环境参数的变动特征

温度和盐度:研究区域[九龙江下游-河口(及厦门湾)-邻近水域]盐度变化范围较大($0.06\text{—}34.34$),根据盐度将调查区域分为河流下游(A8及上游站位,盐度 <0.5)、河口区(A9-1及以外站位, $0.5\text{—}31.5$)和邻近海域(盐度 >31.5 ,均值 33.72 ± 0.48)。河流(下游)及河口区的表层与底层温盐差异显著($P<0.01$, $P<0.05$)(图2a,b),邻近海域表层温盐分布见图2c、d。河流(下游)、河口区及邻近海域的温度均值分别为($29.3\pm 0.9^{\circ}\text{C}$)、($28.0\pm 0.8^{\circ}\text{C}$)、($25.5\pm 1.1^{\circ}\text{C}$),三者差异显著($P<0.01$)。

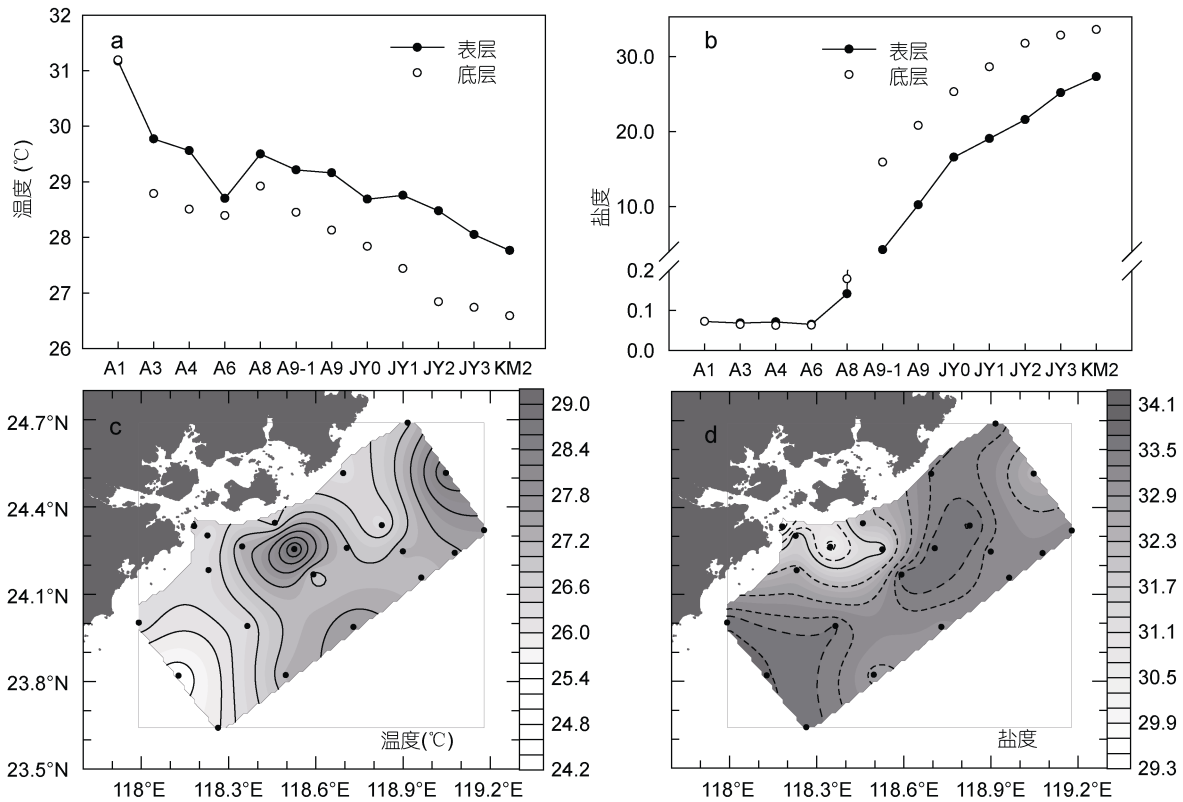


图 2 九龙江河-海系统夏季温度与盐度分布特征

Fig.2 Surface distribution of temperature and salinity of Jiulongjiang River-Estuary and adjacent waters system during summer
注: a、b 为河流-河口系统; c、d 为邻近海域的表层数据; d 中的实线为盐度为 31.5 的等值线

营养盐及叶绿素 *a*: 三个区域的无机氮(DIN)和溶解活性磷(SRP)浓度差异显著($P < 0.01$), 最大值出现在 A1 站, 从河流(下游)、河口区至邻近海域均呈显著下降趋势, 河流(下游)、河口区和邻近海域的 DIN 浓度均值分别为(219.9±66.3)、(70.1±46.5)、(1.0±0.8) $\mu\text{mol/L}$; SRP 分别为(1.85±0.69)、(0.78±0.45)、(0.17±0.07) $\mu\text{mol/L}$; 相对于磷, 淡水对氮的输送过量(河流下游 N/P 比为 122±13, 河口区为 80±32), 仅河口外站位 KM2 底层的 N/P 比接近传统的 Redfield 比值(图 3b); 邻近海域的 N/P 比变化范围为 1—25(平均 5±5), 大部分站位表层营养盐低于检出限。

九龙江河口叶绿素 *a* 浓度随离河口距离的增加有下降的趋势, 表底层无显著差异($P > 0.05$), 河流下游叶绿素 *a* 浓度较高[均值为(6.49±2.31) $\mu\text{g/L}$], 显著高于河口区[均值为(3.23±0.71) $\mu\text{g/L}$] ($P < 0.01$)(图 3a)。邻近海域的叶绿素 *a* 均表现随离岸距离增加而逐渐降低, 高值集中在冲淡水影响区, 均值为(0.92±0.76) $\mu\text{g/L}$ (图 4c)。

2.2 群落水平碱性磷酸酶活性

Chl *a* 生物量对总 AP 活性的分布影响显著(图 4a,

b), 本文将总 APA(Bulk APA)归一化为单位叶绿素 *a* APA($\text{APA}_{\text{Chl.}a}$)进行比较分析, 以消除生物量的影响。河流(下游) $\text{APA}_{\text{Chl.}a}$ 均值为(48.80±14.69) $\text{nmol}/(\text{h} \cdot \mu\text{gChl.}a)$, 随离河口距离无明显变化, 在 A6 表层达到最高值; 河口区变化范围为 0.00—58.29 $\text{nmol}/(\text{h} \cdot \mu\text{gChl.}a)$, 均值为(10.60±15.58) $\text{nmol}/(\text{h} \cdot \mu\text{gChl.}a)$, 随离河口距离呈下降趋势, 表层和底层差异显著($P < 0.05$)(图 3c); 邻近海域 $\text{APA}_{\text{Chl.}a}$ 呈块状分布, 在调查区域北部出现高值, 均值为(23.54±25.41) $\text{nmol}/(\text{h} \cdot \mu\text{gChl.}a)$ (图 4c)。河流(下游) $\text{APA}_{\text{Chl.}a}$ 显著高于河口区和邻近海域($P < 0.01$)。

分粒级结果表明三区域的总 APA 主要为游离态($< 0.22 \mu\text{m}$)贡献(图 3d; 图 4d, e, f), 贡献率在 50%左右; $> 3 \mu\text{m}$ 和 $0.22—3 \mu\text{m}$ 两个粒级的贡献率无差异($P > 0.05$)。河流(下游)叶绿素 *a* 最高的站位 A1, 总 APA 70.7%由 $< 0.22 \mu\text{m}$ 粒级贡献(图 3d); 邻近海域叶绿素 *a* 最高的站位 X31, 总 APA 100%由 $> 3 \mu\text{m}$ 粒级贡献(图 4d)。

2.3 浮游植物单细胞碱性磷酸酶活性

河流(下游)以栅藻(*Scenedesmus*)和盘星藻(*Pedia-*

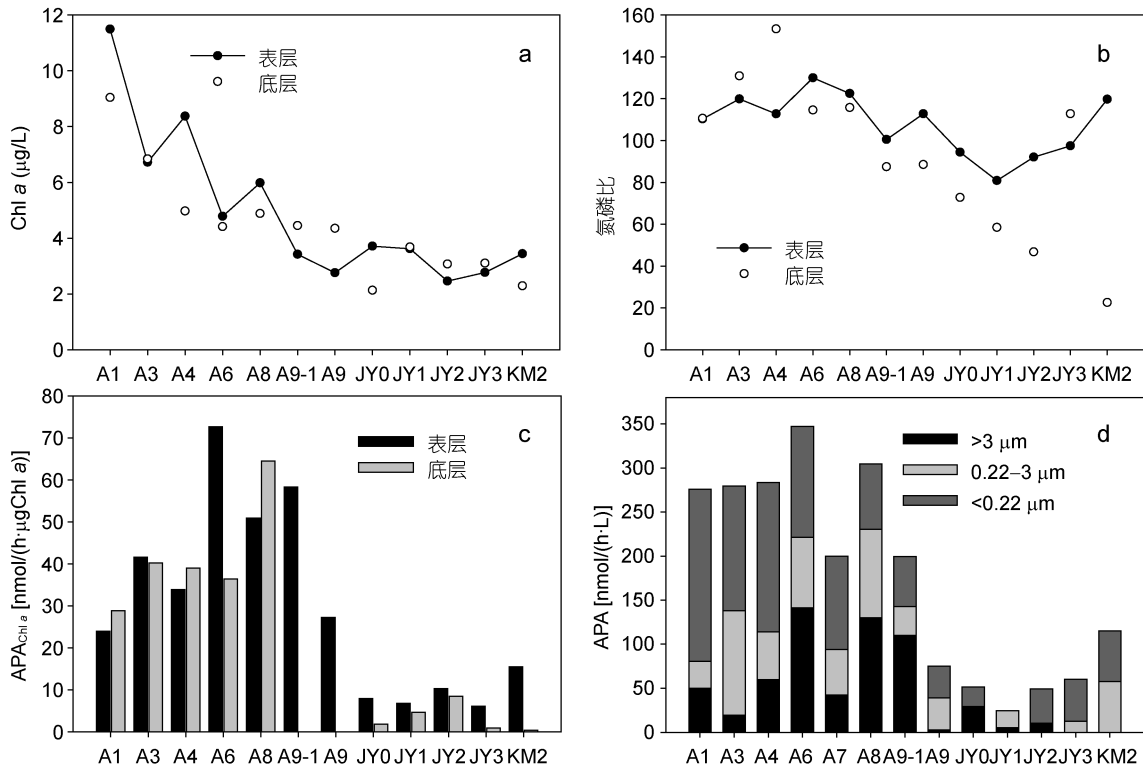


图3 九龙江下游和河口区营养盐、浮游植物生物量与碱性磷酸酶活性变化

Fig.3 Nutrient concentrations, phytoplankton biomass and alkaline phosphatase activity in lower Jiulongjiang River and estuary
a. 叶绿素 a; b. N/P 比; c. 单位叶绿素 APA; d. 表层分粒级数据

strum)为优势属,河口区在A9与A9-1站出现的优势属较多,如角毛藻(*Chaetoceros*)、拟菱形藻(*Pseudonitzschia*)、海线藻(*Thalassionema*)和骨条藻(*Skeletonema*)。三个研究区甲藻丰度不高,出现较多的为反曲原甲藻(*Prorocentrum sigmoides*)。河流下游区淡水藻的标记比例低(均低于20%),且以小面积标记为主,种间荧光标记比例无显著差异($P>0.05$),该区浮游植物平均标记比例($9\% \pm 3\%$)显著低于河口($20\% \pm 20\%$)-邻近海域($38\% \pm 20\%$) ($P<0.05$)。河口区中,冰河拟星杆藻(*Asterionellopsis glacialis*) ($37\% \pm 26\%$)和海线藻($37\% \pm 10\%$)的标记比例显著高于淡水藻($P<0.05$),该区淡水藻标记比例依然较低(小于20%);邻近海域的根管藻(*Rhizosolenia* spp.)和反曲原甲藻具有较高标记比例,分别为 $69\% \pm 11\%$ 和 61% ,其它优势属如角毛藻、拟菱形藻、海线藻和骨条藻的标记比例与河口区无显著差异($P>0.05$)(图5),河口区浮游植物标记比例($20\% \pm 20\%$)与邻近海域($38\% \pm 20\%$)无显著差异($P>0.05$),此结果与群落水平APA结果相一致。

3 讨论

3.1 九龙江河-海系统浮游植物的磷胁迫

河流(下游)的 $APA_{Chl.a}$ 显著高于河口区和邻近海域($P<0.01$),表明河流(下游)浮游植物受到的磷胁迫程度高于后两者,九龙江流域内常年监测的 $APA_{Chl.a}$ 也显著高于本研究(段宇,2011)¹⁾。研究表明,淡水湖泊和近岸海域高生物量区的APA值较高,而陆架或外海环境中APA相对较低(Kwon *et al*, 2011),冲淡水的大小对APA亦有显著影响(Xu *et al*, 2008; Rees *et al*, 2009),由此可推测,九龙江河-海系统中浮游植物磷胁迫随着离海端距离的减少(或盐度增加)而得到逐步缓解。

浮游植物可诱导产生AP,而AP通过细胞自溶或排泄释放到水体中,水体的AP能较长时间保持其活性,其存活时间甚至超过大多数浮游植物的生命周期(Li *et al*, 1998; Dyhrman *et al*, 1999)。因此高APA(尤其是高比例的游离态APA,粒级 $<0.22\mu m$)能反映过去一段时间浮游植物群落的磷胁迫或限制状

1) 段宇,2011. 九龙江北溪江东库区浮游植物碱性磷酸酶活性研究. 厦门大学硕士学位论文,16—30

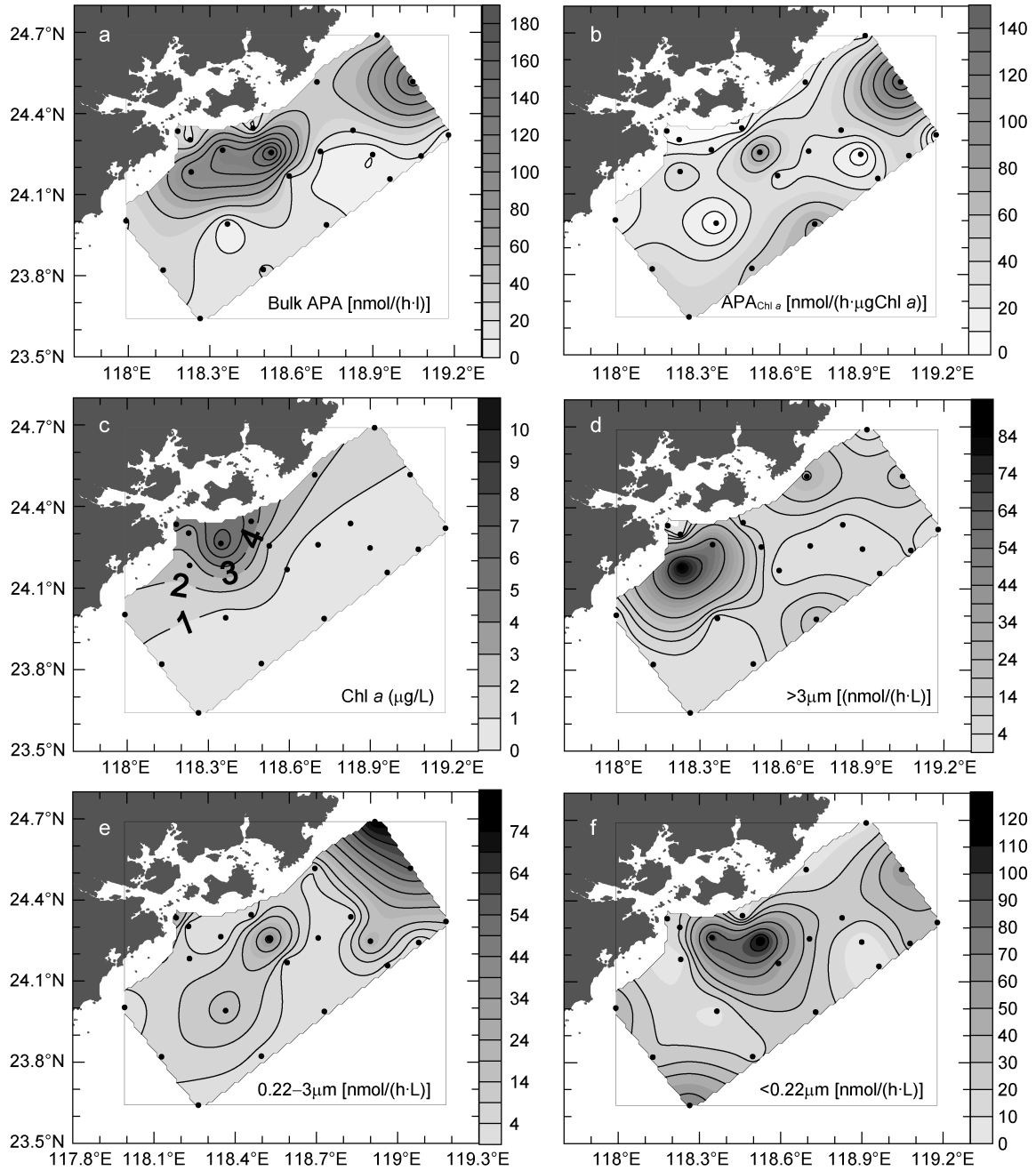


图 4 九龙江口-邻近海域碱性磷酸酶活性及叶绿素 a 分布

Fig.4 Distribution of bulk APA, Chl.a-normalized APA, size-fractionated APA and Chl.a in adjacent waters of Jiulongjiang River

态(Ou *et al*, 2010)。本研究三个区域的游离态 APA 与叶绿素 a 呈显著正相关($P < 0.01$), 表明游离态 APA 主要由浮游植物产生, 游离态 APA 所占比例从河口内至河口外呈下降趋势, 在河口最外侧站位(JY2, JY3 和 KM2)上升(图 3d), 邻近海域游离态 APA 在河口一侧较高, 大部分站位比例高达 36%—100%, 表明三个区域浮游植物较长时间地受到磷胁迫。

单细胞 APA 的结果表明, 淡水藻和海水藻的荧光标记比例差别较大, 淡水藻标记比例较低($< 20\%$),

种间荧光标记比例无显著差异($P > 0.05$), 绿藻门的栅藻和盘星藻在河流(下游)和河口区的荧光标记比例变化范围不大(9%—12%), 即使在磷胁迫较为严峻的九龙江流域下游区内, 该两属的最高标记比例也仅达 40%左右, 平均在 15%左右(段宇, 2011)¹。河流(下游)与邻近海域叶绿素 a 浓度最高站位 APA 粒级组成不同(图 3d, 图 4d), 表明三个区域的优势种属的磷生理状态和磷利用方式存在显著差异。在不同环境中都表现出低荧光标记比例的种属不能单从标记比例来判

断磷胁迫状态, 研究表明在磷胁迫下不同藻种的 AP 位点和粒径特性存在显著差异。东海原甲藻和中肋骨条藻的酶位点大部分存在于细胞表面, 而亚历山大藻的酶位点大部分存在于细胞内部, 少部分位于细胞表面。中肋骨条藻在磷胁迫下会大量表达 AP, 但其合成 AP 会被迅速释放到水中, 故表现出低荧光标记比例(Rees *et al.*, 2009; Ou *et al.*, 2010)。淡水湖泊的培养实验表明, 大部分淡水藻在无营养添加的培养中 APA 升高, 但荧光标记比例仍较低(Štrojsová *et al.*, 2008); 因此, 九龙江下游虽具高 $APA_{Chl.a}$, 但单细胞荧光标记比例较低。河口区和邻近海域共有优势种(角毛藻、拟菱形藻、海线藻和骨条藻)的荧光标记比例无显著差异($P>0.05$)(图 5), 这与 $APA_{Chl.a}$ 的结果相符, 表明两区域的磷胁迫程度相近。

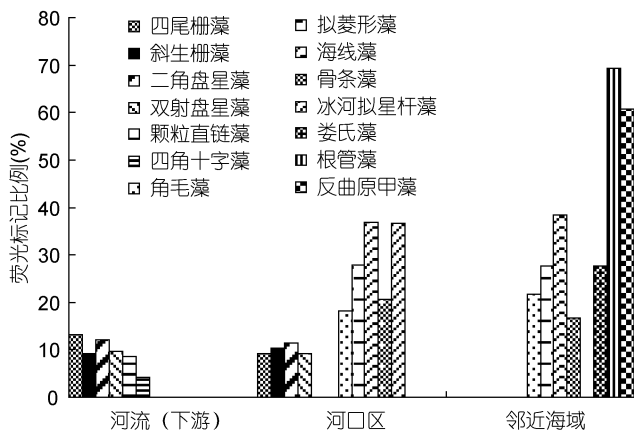


图 5 九龙江河-海系统优势浮游植物种属荧光标记比例
Fig.5 Single-cell ELF labeling of dominant phytoplankton taxa in lower Jiulongjiang River-Estuary and adjacent waters system

3.2 环境因子对碱性磷酸酶活性的影响

研究表明, 三个区域 $APA_{Chl.a}$ 的环境调控存在差异(表 1), 在河流(下游)区, $APA_{Chl.a}$ 与盐度呈显著正相关, 与 DIN、SRP 和 N/P 比值呈显著负相关; 在河口区, $APA_{Chl.a}$ 与温度、DIN 和 N/P 比值呈显著正相关, 与盐度呈显著负相关; 邻近海域, $APA_{Chl.a}$ 与温度、DIN 和 SRP 呈显著正相关, 与盐度呈显著负相关。河口区和邻近海域 APA 与盐度负相关表明, 该河-海系统浮游植物磷胁迫随着盐度升高而逐渐缓解。

DIN 与 $APA_{Chl.a}$ 在河流(下游)区呈负相关, 在河口区和邻近海域呈正相关, Huang 等(2007)通过室内

表 1 九龙江河-海系统单位叶绿素碱性磷酸酶活性与环境因子的皮尔逊相关系数

Tab.1 Pearson's correlation coefficient of environmental parameters and $APA_{Chl.a}$ in Jiulongjiang River-Estuary and adjacent waters system

区域	温度	盐度	DIN	SRP	N/P
河流下游	-0.143	0.742*	-0.780**	-0.736**	-0.816*
河口区	0.640*	-0.821**	0.635*	0.545	0.388*
邻近海域	0.489**	-0.636**	0.471*	0.534**	-0.496

注: *表示 $P<0.05$, **表示 $P<0.01$

研究发现, 在环境磷充足的条件下, DIN 饱和或缺乏对浮游植物 AP 诱导表达及其活性大小并不产生明显影响; APA 与 SRP 的负相关关系已多见报道(Annis *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2007), 正相关关系也多见报道(Taga *et al.*, 1978; He *et al.*, 2009), 本研究中在河流(下游)出现负相关, 而邻近海域中出现正相关。磷的胁迫或限制与否不仅取决于磷的量, 还取决于浮游植物对磷的需求量(Kwon *et al.*, 2011), 河流(下游) $APA_{Chl.a}$ 与 N/P 比值的负相关表明当氮的输入相对于磷过量时, 也会导致磷的相对缺乏, 过高的 N/P 比值会导致浮游植物的潜在磷胁迫与限制; 而在河口区中, N/P 比值有所降低, $APA_{Chl.a}$ 与 N/P 比值呈正相关, 表明 AP 受一定范围内的 N/P 比值控制; 邻近海域 $APA_{Chl.a}$ 与 N/P 比值没有表现出显著相关, 大部分站位表层营养盐因浮游植物的生长和夏季层化作用而被耗尽, 该区中下层水体中 N/P 比平均值仅为 5 ± 5 , 故以现有数据无法获得该区 $APA_{Chl.a}$ 与 N/P 比值的相关性。

4 结论

分粒径 APA 表明该河-海系统(河流-河口-邻近海域)存在不同程度的磷胁迫, 河流(下游)受胁迫程度最高, 河口区与邻近海域较低。群落水平和单细胞水平的 APA 结果均表明, 河口区与邻近海域的磷胁迫不存在显著差异。九龙江下游河水中浮游植物磷胁迫随进入河口及河口盐度升高而逐渐缓解, 河流(下游)营养盐较为丰富, 但高 N/P 比值导致该区潜在的磷胁迫与限制; 河口区与邻近海域由于营养盐的消耗导致浮游植物的磷胁迫。河口区中淡水藻和海水藻对 ELF 的标记响应差异显著($P<0.05$), 在磷胁迫程度不同的河流(下游)和河口区, 淡水藻标记比例不存在显著差异($P>0.05$)。

1) 段 宇, 2011. 九龙江北溪江东库区浮游植物碱性磷酸酶活性研究. 厦门大学硕士学位论文, 16—30

参 考 文 献

- 洪华生, 王卫平, 张玉珍, 2006. 九龙江流域生态环境需水量初步研究. 厦门大学学报(自然科学版), 45(6): 819—823
- Ammerman J W, Azam F, 1985. Bacterial 5'-nucleotidase in aquatic ecosystems: a novel mechanism of phosphorus regeneration. *Science*, 227: 1338—1340
- Annis E R, Cook C B, 2002. Alkaline phosphatase activity in symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae) as a biological indicator of environmental phosphate exposure. *Marine Ecology Progress Series*, 245: 11—20
- Chen N W, Hong H S, Zhang L P *et al*, 2008. Nitrogen sources and exports in an agricultural watershed in Southeast China. *Biogeochemistry*, 87(2): 169—179
- Cotner J B, Wetzel R, 1991. 5'-Nucleotidase activity in a eutrophic lake and an oligotrophic lake. *Applied and Environmental Microbiology*, 57: 1306—1312
- Currie D J, Bentzen E, Kalff J, 1986. Does algal-bacterial phosphorus partitioning vary among lakes? A comparative study of orthophosphate uptake and alkaline phosphatase activity in freshwater. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 43: 311—318
- Dyhrman S T, Palenik B, 1999. Phosphate stress in Cultures and field populations of dinoflagellate *Prorocentrum minimum* detected by a single-cell alkaline phosphatase assay. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7): 3205—3212
- González-Gil S, Keafer B A, Jovine R V M *et al*, 1998. Detection and quantification of alkaline phosphatase in single cells of phosphorus-starved marine phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, 164: 21—35
- He X B, Ren L L, Lin Y H *et al*, 2009. Dynamics of water-extractable phosphorus during the degradation of *Microcystis aeruginosa* by four bacteria species. *Ecological Engineering*, 35(4): 570—575
- Hecky R E, Kilham P, 1988. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: A review of recent evidence on the effects of enrichment. *Limnology Oceanography*, 33(4, part2): 796—822
- Hoppe H G, 1983. Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water: measurements by means of methylumbelliferyl-substrates. *Marine Ecology Progress Series*, 11: 299—308
- Huang B Q, Ou L J, Wang X L *et al*, 2007. Alkaline phosphatase activity of phytoplankton in East China Sea coastal waters with frequent harmful algal bloom occurrences. *Aquatic Microbial Ecology*, 49: 195—206
- Kwon H K, Oh S J, Yang H S, 2011. Ecological significance of alkaline phosphatase activity and phosphatase-hydrolyzed phosphorus in the northern part of Gamak Bay, Korea. *Marine Pollution Bulletin*, 62: 2476—2482
- Labry C, Delmas D, Herbland A, 2005. Phytoplankton and bacterial alkaline phosphatase activities in relation to phosphate and DOP availability within the Gironde plume waters (Bay of Biscay). *Journal of Experimental Marine Biology Ecology*, 318: 213—225
- Li H, Veldhuis M J W, Post A F, 1998. Alkaline phosphatase activities among planktonic communities in the northern Red Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 173: 107—115
- Moutin T, Karl D M, Duhamel S *et al*, 2008. Phosphate availability and the ultimate control of new nitrogen input by nitrogen fixation in the tropical Pacific Ocean. *Biogeosciences*, 5: 95—109
- Ou L J, Huang B Q, Hong H S *et al*, 2010. Comparative alkaline phosphatase characteristics of the algal bloom dinoflagellates *Prorocentrum donghaiense* and *Alexandrium catenella*, and the diatom *Skeletonema costatum*. *Journal of Phycology*, 46: 260—265
- Ou L J, Huang B Q, Lin L Z *et al*, 2006. Phosphorus stress of phytoplankton in the Taiwan Strait determined using bulk and single-cell alkaline phosphatase activity assay. *Marine Ecology Progress Series*, 327: 95—106
- Parsons T R, Maita Y, Lalli C M, 1984. *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. England: Pergamon Press, 78—83
- Rees A P, Hope S B, Widdicombe C E *et al*, 2009. Alkaline phosphatase activity in the western English Channel: Elevations induced by high summertime rainfall. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 81: 569—574
- Rose C, Aaler R P, 1998. Uses of alkaline phosphatase activity in evaluating phytoplankton community phosphorus deficiency. *Hydrobiologia*, 361: 145—156
- Ruttenberg K C, Dyhrman S T, 2005. Temporal and spatial variability of dissolved organic and inorganic phosphorus, and metrics of phosphorus bioavailability in an upwelling dominated coastal system. *Journal of Geophysical Research*, 110(C10S13): 1—22
- Štrojsová A, Nedoma J, Štrojsová M *et al*, 2008. The role of cell-surface-bound phosphatases in species competition within natural phytoplankton assemblage: an *in situ* experiment. *Journal of Limnology*, 67(2): 128—138
- Taga N, Kobori H, 1978. Phosphatase activity in eutrophic Tokyo Bay. *Marine Biology*, 49(3): 223—229
- Xu J, Yin K, He L *et al*, 2008. Phosphorus limitation in the northern South China Sea during late summer: Influence of the Pearl River. *Deep-Sea Research Part 2*, 55: 1330—1342
- Yin K, Qian P Y, Chen J C *et al*, 2000. Dynamics of nutrients and phytoplankton biomass in the Pearl River estuary and adjacent waters of Hong Kong during summer: preliminary evidence for phosphorus and silicon limitation. *Marine Ecology Progress Series*, 194: 295—305

PHYTOPLANKTON PHOSPHORUS STRESS OF JIULONGJIANG RIVER-ESTUARY AND ADJACENT WATERS SYSTEM IN SUMMER

MO Yu, LIN Li-Zhen, ZHENG Li-Ping, HUANG Bang-Qin

(Fujian Provincial Key Laboratory of Coastal Ecology and Environmental Studies, College of the Environment and Ecology, Xiamen University, Xiamen, 361005)

Abstract Phosphorus stress of phytoplankton was determined by using bulk and single-cell alkaline phosphatase activity (APA) assays during summer (June—July 2010) in Jiulongjiang River-Estuary and adjacent waters system. Results showed that Chl.*a*-normalized APA was significantly higher in the lower Jiulongjiang River [(48.80±14.69)nmol/(h·μgChl.*a*)] than the estuary and adjacent coastal waters [(10.60±15.58)nmol/(h·μgChl.*a*) and (23.54±25.41)nmol/(h·μgChl.*a*), respectively], indicating that phytoplankton phosphorus stress was more serious in the lower Jiulongjiang River than that in the estuary and coastal waters. High soluble APA contribution indicated that phytoplankton suffered long-term phosphorus (P) stress in the river-estuary-coastal water system. Single-cell ELF labeling of phytoplankton showed that there was no significant difference between the estuary (20%±20%) and adjacent coastal waters (38%±20%), which was coincided with the results of bulk APA. However ELF labeling of phytoplankton in estuary-coastal waters was significantly higher than that in the lower Jiulongjiang River (9%±3%) ($P<0.05$).

Key words Phytoplankton, Alkaline phosphatase activity(APA), Phosphorus stress, Jiulongjiang River-Estuary and adjacent waters system