

过量无机氮造成的富营养化对孔石莼存在下海水无机碳体系的影响

张乃星¹, 宋金明^{2*}, 郭明克¹, 曹丛华¹, 任荣珠¹, 吴凤丛¹, 王正文¹

(1. 国家海洋局北海预报中心, 青岛 266033; 2. 中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

摘要:通过室内模拟培养,研究了孔石莼存在下过量无机氮对水体无机碳体系变化的影响及其机制.结果表明,无机氮的添加均会导致水体 DIC、 HCO_3^- 和 $p(\text{CO}_2)$ 的减少, pH 和 CO_3^{2-} 的增加.当 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 浓度分别低于 $71 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $49.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,随着营养盐浓度的增加,水体无机碳体系各组分的变化幅度增大,其中以 NO_3^- -3 和 NH_4^+ -3 组变化最为明显,至实验结束 DIC 分别较空白组下降了 $151 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $232 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 当 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 浓度分别高于 $355 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $248.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,则随着浓度的增加无机碳各组分的变化幅度减小.对无机碳的减少与孔石莼的生长 (Δm) 做相关性分析发现,二者密切相关 ($r = -0.91$, $p < 0.0001$, $n = 11$), 当营养盐浓度促进孔石莼的生长时,水体 DIC 浓度下降,孔石莼干重增加;反之,当营养盐过量时,则会对其产生毒性作用,抑制其对无机碳的吸收. NH_4^+ -N 对海水无机碳体系的影响较 NO_3^- -N 明显.

关键词:模拟实验; 过量无机氮; 无机碳体系; 孔石莼

中图分类号: X55 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)07-1906-08

Marine Inorganic Carbon System Responses to Macro-DIN Supply Coupled with *Ulva pertusa* in Simulated Experiments

ZHANG Nai-xing¹, SONG Jin-ming², GUO Ming-ke¹, CAO Cong-hua¹, REN Rong-zhu¹, WU Feng-cong¹, WANG Jin-wen¹

(1. Marine Forecast Observatory of North Sea, State Oceanic Administration, Qingdao 266033, China; 2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: Effects of macronutrient (NO_3^- -N and NH_4^+ -N) on inorganic carbon system of water with *Ulva pertusa* existed were studied in laboratory simulation experiments. The results demonstrated that nutrient enrichment induced DIC, HCO_3^- and $p(\text{CO}_2)$ decreased while pH and CO_3^{2-} increased. The seawater changed from carbon source to carbon sink. During the experiments, the concentration of DIC, HCO_3^- and $p(\text{CO}_2)$ decreased with increasing concentration of nutrient when the NO_3^- -N and NH_4^+ -N were less than critical concentration. The concentration of DIC changed most at the NO_3^- -3 and NH_4^+ -3 groups, which decreased $151 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ and $232 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ compared with the control groups in the end of experiment. The increased dry weight of *Ulva pertusa* (Δm) of nutrient addition groups showed a significant negative correlation with ΔDIC ($r = -0.91$, $p < 0.0001$, $n = 11$). The main controlling factor to inorganic carbon variation is the adaptation of *Ulva pertusa* to different DIN. When the concentration of DIN facilitates the growth of *Ulva pertusa*, the concentration of DIC decreased and dry weight of *Ulva pertusa* increased. NH_4^+ -N has more influence on inorganic carbon system than NO_3^- -N.

Key words: simulated experiments; macro-nitrogen; inorganic carbon system; *Ulva pertusa*

近几十年来,随着人类影响活动的加剧,大量营养盐的输入导致一些内湾、河口区域营养盐浓度及其比例的变化,改变了局部海域氮和磷的分布格局,使得海区水质发生了本质的变化.调查显示,长江口 NO_3^- -N 含量最高达 $65 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 胶州湾中东部水域 60~90 年代, NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 浓度分别增加了 7.3 和 5.1 倍, TIN 占 TN 的比例从 3.7% 增加到 6.3%; 渤海湾历年的检测结果表明,海水中硝酸盐超过水质标准的 3.6~6.6 倍; 辽东半岛的大连湾无机氮超标 10 倍^[1]. 营养盐浓度及其比例的变化,明显改变了水生植物的群落结构,如大型藻类的大量繁殖和浮游微藻的种群衰退等^[2,3].

大型藻类广泛分布于潮间带及潮下浅水带,其在生长过程中可以吸收氮营养盐同化成自身需要的营养成分,在海洋生态系统氮循环和转化中起着重要的作用,对海洋环境富营养化的调节作用十分明显,被广泛用于近海养殖水体的净化等^[4~6]. 藻类在吸收 N 的同时,还按 $m(\text{N}):m(\text{C}) = 16:106$ 的比例大量吸收水体中的溶解无机碳. 由于大型海藻约占

收稿日期: 2008-08-14; 修订日期: 2008-12-30

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2007CB407305); 国家海洋局海洋生态环境科学与工程重点实验室开放基金项目(MESE-2008-07)

作者简介: 张乃星(1980~),男,博士,主要研究方向为海洋环境化学, E-mail: zhangnaix@mails.gucas.ac.cn

* 通讯联系人, E-mail: jmsong@ms.qdio.ac.cn

海洋初级生产力的 10% 左右, 因此其在 CO_2 回收利用方面潜力巨大, 对海洋碳循环具有重要作用^[7,8].

孔石莼是海岸带大型优势藻种, 目前对孔石莼的研究多集中于在综合养殖系统中的生态作用和对重金属的吸收, 以及 CO_2 浓度对其生长的影响等方面^[9-11], 而对耦合了孔石莼存在下过量无机氮对水体无机碳体系迁移转化的影响研究较少涉及. 本实验以潮间带常见的大型绿藻孔石莼(*Ulva pertusa*)为材料, 通过在水体中添加孔石莼, 来定量放大在生物的光合作用下营养盐对水体无机碳体系的影响, 相关研究有助于深入了解富营养化对无机碳的生物地球化学循环的干扰效应.

1 材料与方法

1.1 样品采集与实验设计

在长、宽、高为 50 cm × 40 cm × 30 cm 的白色半透明塑料箱中, 引入胶州湾天然海水 40 L, 海水背景值见表 1(引入的天然海水经 200 μm 筛绢过滤并避光陈化一周后进入培养水箱, 经测定水中的叶绿素 a 浓度低于检测限, 因此可忽略单细胞浮游生物对无机碳的消耗), 敞口放置 24 h, 以使箱内海水与大

气充分接触达到平衡, 然后以透明塑料薄膜覆盖, 以排除大气碳酸盐颗粒物沉降、气流扰动等因素对实验水体的影响. 实验分空白对照组、加 NaNO_3 组(编号 NO_3 -1、 NO_3 -2、 NO_3 -3、 NO_3 -4、 NO_3 -5 浓度依次增加)、加 NH_4Cl 组(编号 NH_4 -1、 NH_4 -2、 NH_4 -3、 NH_4 -4、 NH_4 -5 浓度依次增加)3 种处理方式, 浓度分别为背景值的 2、5、10、50、100 倍, 无机氮浓度见表 2. 由于海水是一缓冲体系, 具有较高的缓冲容量^[1], 对试验所添加的极少量的 NaNO_3 和 NH_4Cl (水体浓度数量级为 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 经 SPSS 统计分析, 对海水 pH 基本没有影响($p > 0.05$), 所以, 不影响海水无机碳体系的测定. 在 3 组培养箱中分别加入生长外观基本一致的孔石莼(14.5200 ± 0.0045)g(干重 3.5213 g), 平行双样. 将培养箱置于控温实验室内($25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$), 光照为室内的自然光加日光灯, 并保持在约 4 500 lx, 光暗比 L:D = 12:12, 培养周期为 9 d. 以加无机氮为 $t = 0$ 时刻, 每天定时取样.

试验所用材料系采自青岛八大关的孔石莼(*Ulva pertusa*), 材料采回后立即用天然海水洗净, 在室温及 4 500 lx 光照下预培养 3 周.

表 1 模拟实验所用海水的背景值

Table 1 Background values of the sampled seawater

参数	温度/ $^\circ\text{C}$	透明度/m	pH	盐度/‰	$\text{NO}_3^- \text{-N}$ $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{NH}_4^+ \text{-N}$ $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{NO}_2^- \text{-N}$ $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Chl-a $/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
背景值	21.2	1.8	8.012	31.14	7.10	4.97	1.17	2.02

表 2 实验选用的无机氮初始浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

Table 2 Initial concentrations of dissolved inorganic nitrogen (DIN) of the incubation experiments/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

项目	1	2	3	4	5
$\text{NO}_3^- \text{-N}$	14.2	35.5	71	355	710
$\text{NH}_4^+ \text{-N}$	9.94	24.85	49.7	248.5	497

1.2 测定方法与数据处理

Chl-a、 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的测定参照《海洋监测规范》采用分光光度法测定, 盐度采用盐度计测定, pH 采用 Orion 420A Ross 8102BN 酸度计测定, 精密度 ± 0.002 (使用 NBS 标度), 总碱度采用电位滴定并用 Gran 作图法测定^[12], 精度为 1%.

目前, 对海水无机碳的获取主要有实测方法(主要是库仑滴定法和红外 CO_2 分析法)和通过实际测定 pH 和总碱度(TA), 通过 CO_2 平衡体系计算获得海水无机碳的间接测定直接计算的方法, 实测方法不太适合外海大密度的采样, 大量的研究表明, 在实际的外海特别是表层海水, 由于海水与大气的充分

接触, 大气 CO_2 与水体无机碳基本处于平衡状态, 2 种方法获得的无机碳浓度没有显著的差异^[1], 针对本试验的室内模拟, 由于水体与大气不受扰动而处于平衡状态, 所以, 采用了测定 pH 和总碱度(TA)来计算获得海水无机碳浓度的方法^[13].

$$\text{DIC} = \text{CA} \frac{a_{\text{H}^+} + K'_2 + a_{\text{H}^+}^2 / K'_1}{a_{\text{H}^+} + 2K'_2}$$

$$p(\text{CO}_2) = [\text{CO}_{2(\text{T})}] / \alpha = \text{CA} \frac{a_{\text{H}^+}^2}{K'_1 \alpha (a_{\text{H}^+} + 2K'_2)}$$

$$\text{CA} = [\text{HCO}_3^-] + 2[\text{CO}_3^{2-}] = \text{TA} - c_{\text{TB}} \frac{K'_\text{B}}{a_{\text{H}^+} + K'_\text{B}}$$

$$[\text{HCO}_3^-] = \text{CA} \frac{a_{\text{H}^+}}{a_{\text{H}^+} + 2K'_2}$$

式中, CA 为碳酸盐碱度, K'_1 、 K'_2 为碳酸的第一、二级解离常数, K'_B 为硼酸的解离常数, α 为海水中 CO_2 的溶解度系数, c_{TB} 为海水中的总硼酸浓度, 与盐度有如下关系 $c_{\text{TB}} = 0.000427(S/35) \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[14], S 为盐度, a_{H^+} 近似为海水中 H^+ 浓度. 无机碳体系

各参数的计算结果精度分别为 DIC 、 HCO_3^- ($\pm 4 \mu\text{mol/L}$)、 CO_3^{2-} ($\pm 2 \mu\text{mol/L}$)及 $p(\text{CO}_2)$ ($\pm 0.4 \text{ Pa}$)。实验测定 TA 数值如表 3。

所得数据用 SPSS10.0 处理;不同处理组间使用 LSD 法进行差异显著性分析,以 $p < 0.05$ 作为差异显著性水平.文中所给结果均为平均数。

表 3 模拟实验过程中 TA 的测定结果/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
Table 3 Results of TA in the incubation experiment processes/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

编号	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d
NO_3^- -1	2 327	2 355	2 361	2 356	2 375	2 362	2 326	2 343	2 333
NO_3^- -2	2 327	2 371	2 357	2 370	2 365	2 377	2 364	2 344	2 350
NO_3^- -3	2 327	2 362	2 362	2 371	2 376	2 375	2 358	2 368	2 354
NO_3^- -4	2 327	2 323	2 318	2 328	2 341	2 328	2 336	2 330	2 330
NO_3^- -5	2 327	2 358	2 365	2 354	2 377	2 371	2 364	2 372	2 347
NH_4^+ -1	2 327	2 348	2 378	2 353	2 368	2 367	2 357	2 356	2 349
NH_4^+ -2	2 327	2 373	2 352	2 356	2 364	2 366	2 349	2 359	2 352
NH_4^+ -3	2 327	2 349	2 346	2 339	2 337	2 318	2 333	2 320	2 334
NH_4^+ -4	2 327	2 348	2 336	2 338	2 334	2 334	2 334	2 320	2 320
NH_4^+ -5	2 327	2 324	2 351	2 320	2 341	2 331	2 316	2 307	2 287
对照组	2 327	2 350	2 366	2 358	2 373	2 342	2 353	2 362	2 362

2 结果与讨论

由于人类生产和生活向海洋排放的 N、P 等营养盐大量增加而导致的近海水域富营养化已成为沿海国家的一个重要的水环境问题.水体的富营养化,必将导致一系列水体生态环境的变化,所有这些变化的发生都离不开碳的参与,因此这些过程的发生也会对碳的生物地球化学循环产生影响.本研究模拟了在过量 N 及藻类存在下水体中溶解无机碳及 pH 的变化过程,来了解水体富营养化对海洋无机碳体系及碳源汇格局的影响。

2.1 水体 pH 的变化

随着培养时间的延长,加 NO_3^- -N组和 NH_4^+ -N组各培养箱中 pH 值逐渐上升,且均明显高于空白组($p < 0.05$)(图 1)。加 NO_3^- -N组中,以 NO_3^- -3(71

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的上升幅度最大,至实验结束时($t = 9 \text{ d}$),pH 达到 8.684,较初始增加了 0.639 个 pH 单位,其它浓度组增加范围在 0.371 ~ 0.498 个 pH 单位。当 NO_3^- -N浓度低于 $71 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,随着 NO_3^- -N浓度的增加,水体 pH 值的增长速率逐渐增大,而当 NO_3^- -N浓度 $\geq 355 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,水体 pH 的增长速率则明显下降。加 NH_4^+ -N组中,以 NH_4^+ -3(49.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)上升最为明显,至实验结束 pH 达到 8.832,较初始增加 0.787 个 pH 单位,其它各浓度组则增加了 0.371 ~ 0.591 个 pH 单位。对比 NO_3^- -N组和 NH_4^+ -N组可以看出,实验末期($t = 9 \text{ d}$),加 NH_4^+ -N组中 pH 增加幅度均明显高于加 NO_3^- -N组,而空白组至实验末仅增加了 0.253 个 pH 单位,增幅明显低于营养盐组($p < 0.05$)。

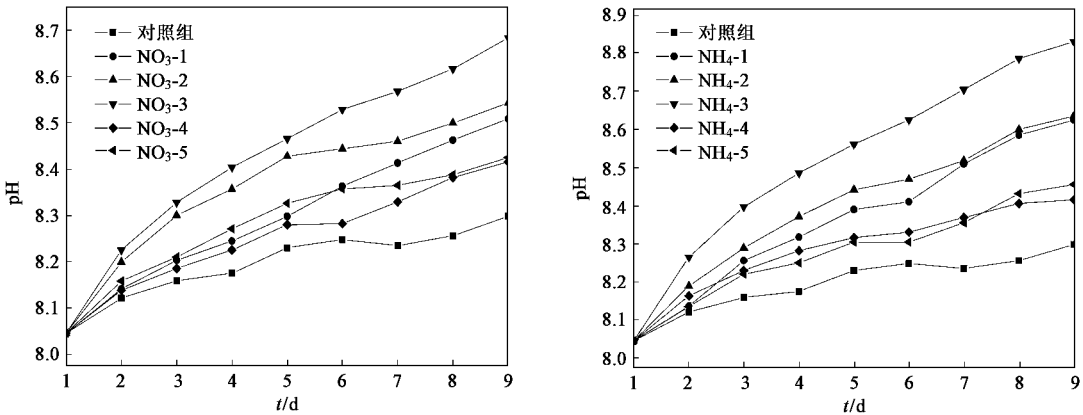


图 1 不同形态无机氮添加后 pH 随时间的变化

Fig.1 Changes of pH-time in different DIN addition groups

2.2 水体无机碳体系的变化

随着培养时间的延长, 水体中无机碳体系各组分均发生不同程度的变化. 从图 2 中可以看出, 各培养组中的 HCO_3^- 均呈下降趋势, 其中营养盐添加组的下降趋势均明显高于空白组. 在 NO_3^- -N 组中, 以 NO_3^- -3 的下降幅度最大, 其 HCO_3^- 从实验初始的 $2\,035\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 减少到实验结束的 $1\,444\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 整个实验过程中下降了 $591\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 降幅达 29%, 其次为 NO_3^- -2 和 NO_3^- -1 组, 分别下降了 $423\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $395\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 高浓度的 NO_3^- -4、 NO_3^- -5 组下降幅度最小, 至实验结束分别下降了 $301\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $295\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. 在 NH_4^+ -N 组中, 各浓度组的下降幅度差别

明显, 其中以 NH_4^+ -3 下降幅度最大, 其 HCO_3^- 从实验初始的 $2\,035\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 减少至实验结束的 $1\,242\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 下降了 $793\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 降幅达 36%, 其次为 NH_4^+ -2 和 NH_4^+ -1 组, 分别下降了 $531\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $520\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 高浓度的 NH_4^+ -4 下降最小, 为 $302\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. 空白组在实验期间 HCO_3^- 仅下降了 $162\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 与其它各组区别明显 ($p < 0.05$).

对于 CO_3^{2-} , 在培养期间 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N 及空白组随培养时间的延长均表现出不断增加的趋势, 其中营养盐组的增加幅度明显高于空白组 ($p < 0.05$). 在 NO_3^- -N 组中, 以 NO_3^- -3 的增加幅度最大, 明显高于其它浓度组, 实验期间其 CO_3^{2-} 平均值为 $261\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,

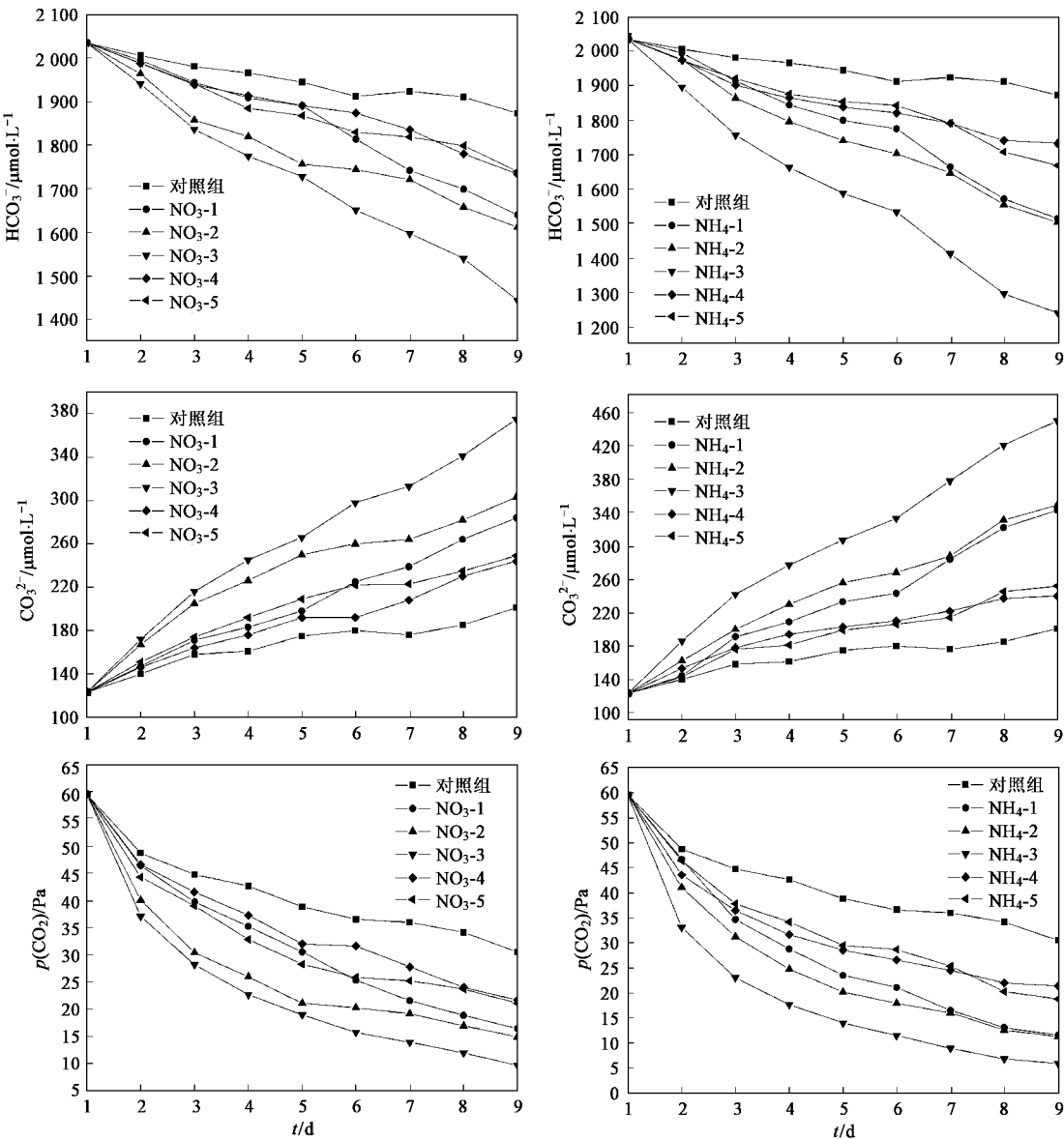


图 2 不同形态无机氮添加后无机碳体系参数随时间的变化
Fig.2 Components change of inorganic carbon system with time in DIN addition groups

至实验结束,其 CO_3^{2-} 浓度增加了 $252 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,较初始增长了 2 倍,其它浓度组则分别增加了 $121 \sim 180 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. NH_4^+ -N 组中, NH_4 -3 增长幅度明显高于其它各组,实验过程中平均值为 $302 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,至实验结束 CO_3^{2-} 为 $450 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,增长了 $327 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. 低浓度的 NH_4 -1 和 NH_4 -2 增长幅度较相似,在 $t = 9 \text{ d}$ 时分别增长了 $220 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $226 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;高浓度的 NH_4 -4 和 NH_4 -5 增长趋势与幅度较相似,在 $t = 9 \text{ d}$ 时分别增长了 $117 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $129 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,均明显低于低浓度的 NH_4 -1 和 NH_4 -2. 空白组 CO_3^{2-} 的增长幅度最小,实验过程中其平均值为 $167 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,至实验结束仅增长了 $78 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

对于 $p(\text{CO}_2)$ 的变化,实验前期其 $p(\text{CO}_2)$ 下降速率较快,到后期随着时间的延长其下降速率逐渐变缓,在 NH_4^+ -N 组中这种变化最为明显. 在 NO_3^- -N 组中,以 NO_3 -3 下降幅度最大,至实验结束 ($t = 9 \text{ d}$), $p(\text{CO}_2)$ 由实验初始的 60 Pa 减少到 10 Pa ,较初始降幅达 83% ,其它浓度组下降范围在 $64\% \sim 75\%$;在 NH_4^+ -N 组中,以 NH_4 -3 组下降最为明显,至实验结束 ($t = 9 \text{ d}$) $p(\text{CO}_2)$ 下降为 6 Pa ,下降了 90% ,其它浓度组下降范围在 $64\% \sim 81\%$. 空白组在实验过程中也一直处于下降趋势,但下降幅度明显低于各营养盐添加组 ($p < 0.05$),在整个培养期间中从 60 Pa 下降到 30 Pa ,下降了 50% .

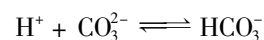
3 无机碳体系的变化分析

海水 pH 是海洋化学研究的重要参数之一,其对海洋中各种元素的存在形态及其反应过程具有直接影响,测定并分析海水 pH 值的变化对研究海水无机碳的迁移转化以及海水理化性质的影响具有重要意义^[15]. 海水 pH 值受多种因素的控制和影响,如海水的温度、压力、盐度以及无机碳平衡体系等^[16],本实验由于在室内恒温中进行,因此 pH 主要与水体中的无机碳平衡体系 CO_2 - HCO_3^- - CO_3^{2-} 相关,而水体中无机碳平衡体系又与孔石莼的新陈代谢密切相关. 当孔石莼的光合作用强度大于呼吸及溶解有机质(DOC)氧化分解强度时,海水中出现 CO_2 的净消耗,则 pH 值上升;反之,当光合作用受外界因素影响而下降或停止时,此时呼吸作用和 DOC 降解作用较强,产生的 CO_2 逐渐积累,则海水 pH 值逐渐下降^[15]. 此次实验中,各实验组的 pH 均呈不同程度的增长且一直保持较高的增长速率,而 $p(\text{CO}_2)$ 在实验

过程中下降速率则逐渐减缓,可见水体 pH 的升高并不仅仅由游离 CO_2 的减少引起. 邹定辉等^[17]研究发现,大型绿藻在通过胞外碳酸酐酶吸收 HCO_3^- 的同时,会产生等量的 OH^- ,从而保持水体的电荷平衡,结果导致水体 pH 的上升. 因此本实验中水体 pH 的上升可能是由 CO_2 和 HCO_3^- 的消耗共同引起的.

水体中 DIC 主要以 HCO_3^- 的形式存在,其约占 DIC 的 85% 以上^[18]. HCO_3^- 不仅是水体中 CO_2 的储存库,经自发脱水保证了游离 CO_2 源源不断的供应,而且还可以直接作为藻类外源无机碳的吸收形式. HCO_3^- 的利用可以为 Rubisco (磷酸核酮糖羧化酶)维持一个稳定的 CO_2 流量环境,以维持最大速率的光合作用^[19]. Gao 等^[8]和 Björk 等^[20]研究认为大型绿藻具有很强的 HCO_3^- 利用能力,能直接吸收 HCO_3^- 作为外在光合作用的无机碳源. 本实验中 HCO_3^- 浓度一直处于明显的下降趋势, $p(\text{CO}_2)$ 则由初期的迅速下降转变为后期的缓慢下降(图 2),说明 CO_2 并不是孔石莼光合作用的唯一碳源,本实验中孔石莼的光合作用在吸收 CO_2 的同时还吸收 HCO_3^- . 在水体中,藻类以优先吸收游离 CO_2 为主,由于 CO_2 在水体中占溶解无机碳很小的比例 ($< 1\%$),且在海水中的扩散速度很慢(CO_2 在水中的扩散速度比在空气中要慢 1 万倍),因此海藻极易处于 CO_2 太少的环境中,这时就可能会发生光抑制,甚至永久性损伤光合器官,为了克服这种 CO_2 抑制状态,海藻便转而吸收利用海水中的 HCO_3^- ^[21,22]. 实验中各 N 添加组的 $p(\text{CO}_2)$ 在前期浓度迅速下降,后期下降速率逐渐减缓,说明在实验初期,水体游离 CO_2 充足,孔石莼光合作用大量吸收,到后期,由于 CO_2 浓度降低,接近孔石莼吸收阈值,此时孔石莼转而以吸收 HCO_3^- 为主,因此 CO_2 浓度下降减缓.

对于海水中的 CO_3^{2-} ,一般认为它不能作为水生藻类光合作用的直接碳源,既不抑制,也不促进光合作用^[23]. 在水体中, CO_3^{2-} 存在以下热力学平衡:

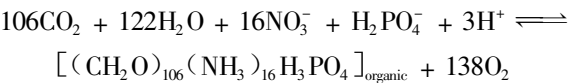


因此其浓度的变化与水体 H^+ 及 HCO_3^- 浓度密切相关. 本实验中, CO_3^{2-} 一直处于明显的上升趋势,说明以上平衡一直向左移动. 这主要是由于实验水体 pH 一直处于明显的上升趋势, OH^- 浓度上升, H^+ 浓度下降,虽然 HCO_3^- 浓度也一直在下降,但由于其在无机碳体系中占主要部分^[18] (本实验中其占到了 DIC 的 90% 以上),其下降幅度远低于 H^+ ,因此以上

平衡向左移动, CO_3^{2-} 浓度增加. 可以看出, 本实验水体中 HCO_3^- 的减少分成了两部分, 一部分作为无机碳源被孔石莼直接吸收参与了光合作用, 另一部分则通过以上平衡转化为 CO_3^{2-} .

4 营养盐、孔石莼及无机碳之间的耦合关系

Redfield 等^[24]研究认为在水体中藻类进行光合作用时以下列方程式吸收水体中的营养盐及无机碳:



通常情况下, 水生藻类对海水中无机碳、无机 N 和无机 P 的摄取是以恒定比例进行的. 彭云辉等^[25]对大亚湾海水中营养盐与浮游植物关系的研究表明, 营养盐 N 和 P 均与浮游植物中的 Chl-a 增加量有一定的负相关关系. 对本实验中孔石莼干重增加量(Δm)与溶解无机碳的减少量(ΔDIC)作相关性分析发现, 二者也具有很好的线性相关关系($r = -0.91$, $p < 0.0001$, $n = 11$)(图 3), 无机碳的减少最终参与了孔石莼机体的组成. 该现象也可从表 4 在实验结束时孔石莼干重均不同程度的有所增长看出.

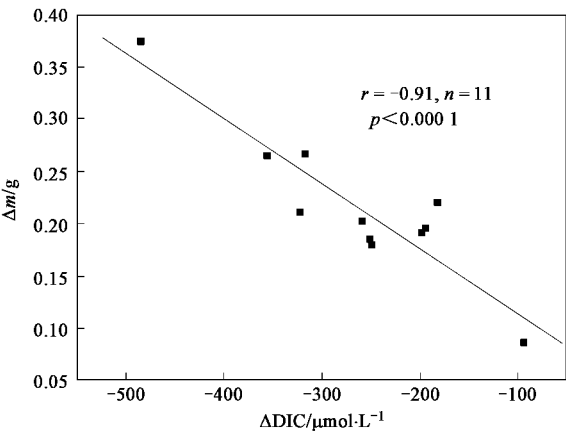


图 3 DIC 吸收量与孔石莼干重增长量之间的相关性
Fig.3 Correlation between ΔDIC and dry weight (Δm) of *Ulva pertusa*

此次培养实验所加 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 浓度分别为背景值的 2、5、10、50、100 倍, 整个培养实验过程中, 对于在同一倍数水平上的 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 组, DIC 的下降幅度 NO_3^- -N 组均明显低于 NH_4^+ -N 组(图 4). 在 NO_3^- -N 组中以 NO_3^- -3 下降最为明显, 为 $151 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 其余浓度组的下降范围在 $74 \sim 124 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 在 NH_4^+ -N 组中以 NH_4^+ -3 下降最为明显, 为 $232 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 其余浓度组的下降范围在 $109 \sim 144$

表 4 实验结束后孔石莼的生长情况
Table 4 Condition of the growth of *Ulva pertusa* when the experiments were over

编号	藻干重 m/g	藻干重变化 Δ/g	$\pm \text{Sd.}$
对照	3.603 2	0.081 9	0.023 4
NO_3^- -1	3.696 5	0.165 2	0.016 3
NO_3^- -2	3.719 2	0.187 9	0.009 4
NO_3^- -3	3.781 9	0.250 6	0.023 0
NO_3^- -4	3.712 5	0.181 2	0.006 7
NO_3^- -5	3.737 2	0.205 9	0.031 4
NH_4^+ -1	3.783 4	0.252 1	0.017 3
NH_4^+ -2	3.728 1	0.196 8	0.047 1
NH_4^+ -3	3.891 2	0.359 9	0.023 6
NH_4^+ -4	3.708	0.176 7	0.015 8
NH_4^+ -5	3.701 9	0.170 6	0.045 5

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 可见 NH_4^+ -N 比 NO_3^- -N 更有利于促进孔石莼对水体中 DIC 的吸收. 在水体中, 藻类对不同形式的 N 都可以利用, N 的吸收和代谢与藻类光合作用是 2 个紧密相连的过程, 同时藻类光合作用也为无机碳的转运过程提供能量. 海藻主要以 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 的形式吸收环境中的 N, 其中 NO_3^- -N 需还原为 NH_4^+ -N 才能为藻体所同化. 由于硝态氮同化需要较高的能量, 所以在调节细胞无机碳获取上, 藻类常常优先吸收氨氮^[26]. 李大鹏等^[27]对大型藻类龙须菜的营养动力学研究发现, 尽管 NO_3^- -N 的浓度是 NH_4^+ -N 浓度的 2.8 倍, 但龙须菜优先选择吸收 NH_4^+ -N, 当环境中 NH_4^+ -N 的浓度降低到一定程度时才吸收 NO_3^- -N, 这可能与藻类细胞缺少硝酸还原酶(NR)有关. Dong 等^[28]比较了生长在含 NH_4^+ -N 培养液和 NO_3^- -N 培养液中藻细胞对无机碳的亲和力发现, 前者是后者的 6 倍, 生长在以 NO_3^- -N 作为 N 源的

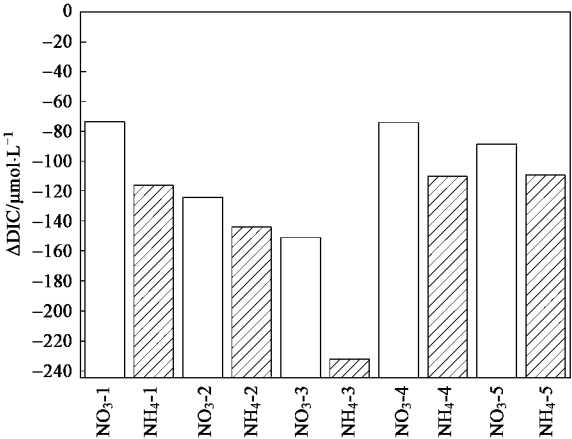
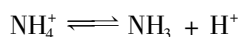


图 4 实验结束各营养盐添加组相对于空白组 DIC 的变化
Fig.4 Final DIC concentrations in the boxes, expressed as decrease of DIC concentration in the control

培养液中,细胞需要 6 个铁氧蛋白还原亚硝酸盐,其能量消耗比 NH_4^+ -N 的同化高 4 倍。

本实验中,当 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 浓度分别小于 $71 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $49.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,水体中 DIC 的浓度随着介质中 N 浓度的增加而下降(图 4),这是因为环境中营养盐浓度的上升使得孔石莼利用营养生长的一系列生理过程的底物浓度升高了,因而在一定的范围内藻体的光合作用增加,促进了对水体无机碳的吸收。可见,适量 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 的添加对孔石莼的生长有明显的促进作用;当 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 的浓度继续增加超过某一限度时,水体中 DIC 的浓度反而随之上升,此时营养盐对孔石莼的促进效应下降,抑制作用增强。徐永健等^[29]通过对不同营养盐条件下龙须菜生长的变化研究发现,当 NO_3^- -N 为 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, NH_4^+ -N 为 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时为龙须菜生长的饱和浓度,低于和高于此浓度时,均未达到其最大光合速率,龙须菜的生长受到限制。Turpin 等^[30]认为 N 限制或过量均将明显导致水生藻类光合速率的下降,降低其对水体 DIC 的吸收能力。在 NH_4^+ -N 添加组中,DIC 随浓度的变化幅度最为明显,这是由于在 NH_4^+ -N 添加组的水体中,存在下列反应:



随着 NH_4^+ -N 浓度的增加,电离出的 NH_3 增多,因为非电离的 NH_3 不带电荷,脂溶性较高,容易透过细胞膜,进入细胞内部从而抑制细胞的生长,因而高浓度的铵盐反而能够抑制藻类的生长^[31]。有报道表明^[32,33],在不同的环境因素,如温度、盐度、 CO_2 浓度、光照和 pH 下,孔石莼光合作用和营养盐吸收差异较大。研究认为, NH_4^+ -N 吸收的最佳温度为 25°C ,吸收速率的光饱和点为 5000 lx ,吸收 NH_4^+ -N 的 pH 范围为 $8.0 \sim 8.3$,而孔石莼的适宜生长温度范围为 $15 \sim 25^\circ\text{C}$,盐度范围为 $15\text{‰} \sim 40\text{‰}$,在高 CO_2 浓度时,促进孔石莼对营养盐的吸收。刘长发等^[34]研究发现,在低光强下 106 lx , NH_4^+ -N 超过 $70 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时即可抑制孔石莼的光合作用。本实验条件下,当 NH_4^+ -N 浓度在低于 $49.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,可以明显促进孔石莼的生长,增加其对水体 DIC 的吸收;而当 NH_4^+ -N 浓度 $\geq 248.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,孔石莼的生长受到限制(表 4),对水体 DIC 的吸收下降。

5 结论

(1)富营养化条件下藻类的无机碳利用机制是

影响水体无机碳体系变化的重要因素。当无机氮浓度促进孔石莼的光合作用时,水体 DIC 浓度下降,孔石莼干重增加。

(2)当无机氮浓度低于转折浓度时,随着浓度的增加水体 DIC 的减少幅度增加;反之,当无机氮浓度高于转折浓度时,则随浓度的增加 DIC 的减少幅度下降,其中, NH_4^+ -N 对水体 DIC 的影响程度较 NO_3^- -N 明显。

(3)过量 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 均能在一定程度上促进水体 DIC 的减少,pH 的上升,其中无机碳参数 HCO_3^- 和 $p(\text{CO}_2)$ 均明显下降, CO_3^{2-} 浓度上升。 HCO_3^- 的减少分为两部分,一部分被孔石莼吸收参与了光合作用,一部分转化为 CO_3^{2-} ,导致了 CO_3^{2-} 的增加。

参考文献:

- [1] 宋金明. 中国近海生物地球化学[M]. 济南: 山东科技出版社, 2004. 1-591.
- [2] 王悠,俞志明,宋秀贤,等. 大型海藻与赤潮微藻以及赤潮微藻之间的相互作用研究[J]. 环境科学, 2006, 27(2): 274-280.
- [3] 沈志良. 胶州湾营养盐结构的长期变化及其对海湾生态系统的影响[J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(3): 322-331.
- [4] Chung I K, Kang Y H, Yarish C, et al. Application of seaweed cultivation to the bioremediation of nutrient-rich effluent[J]. Algae, 2002, 17(3): 187-194.
- [5] Mcvey J P, Stickney R R, Yarish C, et al. Aquatic polyculture and balanced ecosystem management: New paradigms for seaweed production[A]. In: Responsible marine aquaculture[C]. New York: CABI Publishing, 2002. 91-104.
- [6] 葛长宇. 大型海藻在海水养殖系统中的生物净化作用[J]. 渔业现代化, 2006, 4: 11-13.
- [7] 杨宇峰,宋金明,林小涛,等. 大型海藻栽培及其在近海环境的生态作用[J]. 海洋环境科学, 2005, 24(2): 77-80.
- [8] Gao K, McKinley K R. Use of macroalgae for marine biomass production and CO_2 remediation: a review[J]. J Appl Phycol, 1994, 6: 45-60.
- [9] 张培玉,蔡恒江,肖慧,等. 孔石莼与 2 种海洋微藻的胞外滤液交叉培养研究[J]. 海洋科学, 2006, 30(5): 1-4.
- [10] Han T, Chio G W. A novel marine algal toxicity bioassay based on sporulation inhibition in the green macroalga *Ulva pertusa* (Chlorophyta)[J]. Aquat Toxicol, 2005, 75: 202-212.
- [11] 郭赣林,董双林,董云伟. 温度及其波动对孔石莼生长及光合作用的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2006, 36(6): 941-945.
- [12] Louanchi F, Ruiz-Pino D P, Jeandel C, et al. Dissolved inorganic carbon, alkalinity, nutrient and oxygen seasonal and interannual variations at the Antarctic Ocean JGOFS-KERFIX site[J]. Deep-Sea Res Pt I, 2001, 48: 1581-1603.
- [13] Mehrbach C, Culbertson C H, Hawley J E, et al. Measurement of the apparent dissociation constants of carbonic acid in seawater at atmospheric pressure[J]. Limnol Oceanogr, 1973, 18(6): 897-907.

- [14] Millero F J, Degler E A, O'Sullivan D W, *et al.* The carbon dioxide system in the Arabian Sea[J]. Deep-Sea Res Pt II, 1998, **45**: 2225-2252.
- [15] Menéndez M, Martínez M, Comín F A. A comparative study of the effect of pH and inorganic carbon resources on the photosynthesis of three floating macroalgae species of a Mediterranean coastal lagoon [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2001, **256**: 123-136.
- [16] Ríos A F, Pérez F F, Álvarez M. Seasonal sea-surface carbon dioxide in the Azores area[J]. Mar Chem, 2005, **96**: 35-51.
- [17] 邹定辉, 高坤山. 大型海藻类光合无机碳利用研究进展[J]. 海洋通报, 2001, **20**(5): 83-90.
- [18] 宋金明, 李学刚, 李宁, 等. 一种海水中溶解无机碳的准确简易测定方法[J]. 分析化学, 2004, **32**(12): 1689-1692.
- [19] Falk S, Palmqvist K. Photosynthetic light utilization efficiency: photosystem heterogeneity and fluorescence quenching in *Chlamydomonas reinhardtii* during the induction of the CO₂ concentrating mechanism[J]. Plant Physiol Bioch, 1992, **100**: 685-691.
- [20] Björk M, Haglund K, Ramazanov Z, *et al.* Inducible mechanisms for HCO₃⁻ utilization and repression of photorespiration in protoplasts and that of three of *Ulva* (Chlorophyta)[J]. J Phycol, 1993, **29**: 166-173.
- [21] Zou D H, Gao K S. Photosynthetic responses to inorganic carbon in *Ulva lactuca* under aquatic and aerial states[J]. Acta Bot Sin, 2002, **44**(11): 1291-1296.
- [22] Tortell P D, Reinfelder J R, Morel F M M. Active uptake of bicarbonate by diatoms[J]. Nature, 1997, **390**: 243-244.
- [23] Maberly S C. Carbonate ions appear to neither inhibit nor stimulate use of bicarbonate ions in photosynthesis by *Ulva lactuca*[J]. Plant Cell Environ, 1992, **15**: 255-260.
- [24] Redfield A C, Ketchum B H, Richards F A. The influence of organisms on the composition of sea-water[A]. In: Hill M N. The Sea Vol. 2[C]. New York: Interscience, 1963. 26-77.
- [25] 彭云辉, 王肇鼎, 孙丽华, 等. 大亚湾微表层和次表层海水营养盐的研究[J]. 台湾海峡, 2002, **21**(3): 310-316.
- [26] Buyukates Y, Roelke D. Influence of pulsed inflows and nutrient loading on zooplankton and phytoplankton community structure and biomass in microcosm experiments using estuarine assemblages[J]. Hydrobiologia, 2005, **548**: 233-249.
- [27] 李大鹏, 林贞贤. 龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*) 在营养限制胁迫后对 NH₄⁺-N 的超补偿研究[J]. 海洋与湖沼, 2005, **36**(4): 307-312.
- [28] Dong Q L, Zhao X M. Mechanism of Nitrogen Metabolism in the Mixed Culture of *Haematococcus Pluvialis* and *Phaffia Phodozyma* [J]. J Tianjin Univ, 2006, **39**: 31-34.
- [29] 徐永健, 陆开宏, 管保军. 不同氮磷浓度及氮磷比对龙须菜生长和琼胶含量的影响[J]. 农业工程学报, 2006, **22**(8): 209-213.
- [30] Turpin D H, Weger H G. Steady-state chlorophyll a fluorescence transient during ammonium assimilation by the N-limited green alga *Selenastrum minutum*[J]. Plant Physiol Bioch, 1988, **88**: 97-101.
- [31] Borowitzka M A. Culture of the astaxanthin production by green algal *Haematococcus pluvialis* (I): Effect of nutrients on growth and cell type[J]. J Appl Phycol, 1991, **3**(4): 295-304.
- [32] 黄新苹, 朱校斌, 刘建国, 等. 几种海藻富集 N, P 净化水质的研究[J]. 海洋科学, 2004, **28**(12): 39-42.
- [33] 刘静雯, 董双林, 马牲. 温度和盐度对几种大型海藻生长率和 NH₄⁺-N 吸收的影响[J]. 海洋学报, 2001, **23**(2): 109-116.
- [34] 刘长发, 张泽宇, 雷衍之. 盐度、光照和营养盐对孔石莼(*Ulva pertusa*) 光合作用的影响[J]. 生态学报, 2001, **21**(5): 795-798.