两小型浅水湖泊水体叶绿素 a 浓度的季节变化及与理化因子和生物因子的关系*

温新利^{1,2}, 冯若楠^{1,2}, 张根¹, 薛颖昊^{1,3}, 席贻龙^{1,2**}

(1: 安徽师范大学生命科学学院, 安徽省高校生物环境与生态安全省级重点实验室, 芜湖 241000)

(2: 皖江城市带退化生态系统的恢复与重建安徽省协同创新中心, 芜湖 241000)

(3: 农业部农业生态与资源保护总站, 北京 100125)

摘要: 为探讨非生物因子和生物因子对水体叶绿素 a (Chl.a) 浓度变动的相对重要性, 对芜湖市内的汀棠湖 (每半月 1 次) 和镜湖 (每 4 天或 7 天 1 次) 进行高频采样, 分析理化因子及浮游动物密度与 Chl.a 浓度间的关系。结果表明, 从全年来看, 2 个湖泊的 Chl.a 浓度均与水温 and 透明度间分别呈现显著的正相关性和负相关性, 与浮游动物密度均无显著相关性; 镜湖 Chl.a 浓度随着总磷浓度和氮磷比的增加分别呈上升和降低趋势。从季节来看, 冬季两湖中的 Chl.a 浓度最低, 轮虫密度与此阶段镜湖中藻类 Chl.a 总浓度和小型藻类的 Chl.a 浓度间均呈显著负相关, 且其对上述两类 Chl.a 浓度变动的影响程度最大, 表明轮虫对藻类的牧食效应降低了冬季镜湖中的 Chl.a 浓度。从各环境因子对 Chl.a 浓度变动影响的相对权重来看, 除了冬季的镜湖外, 2 个湖泊中的两类 Chl.a 浓度均与透明度的关系最密切, 且均随着透明度的上升而降低, 暗示了透明度可作为预测小型封闭性浅水湖泊中 Chl.a 浓度的简便指标。

关键词: 叶绿素 a 浓度; 季节变动; 非生物因子; 生物因子; 相对重要性; 汀棠湖; 镜湖

Temporal variations of chlorophyll-a concentration and their relationships with abiotic and biotic factors in two small shallow lakes

WEN Xinli^{1,2}, FENG Ruonan^{1,2}, ZHANG Gen¹, XUE Yinghao^{1,3} & XI Yilong^{1,2**}

(1: College of Life Sciences, Anhui Normal University, Key Laboratory of Biotic Environment and Ecological Safety in Anhui Province, Wuhu 241000, P.R.China)

(2: Collaborative Innovation Center of Recovery and Reconstruction of Degraded Ecosystem in Wanjiang City Belt, Wuhu 241000, P.R.China)

(3: Rural Energy & Environment Agency, Ministry of Agriculture, Beijing 100125, P.R.China)

Abstract: Identifying the factors affecting the variations of chlorophyll-a concentration is very important in assessment and management of water quality in lakes. Most of previous studies focused on the relationships between chlorophyll-a concentration and abiotic factors, while paid little attention on the effects of biotic ones. To examine the relative importance of the abiotic and biotic factors on seasonal variation of chlorophyll-a in shallow lakes, water samples were collected semimonthly from February 2009 to January 2010 in Lake Tingtang, and four-day or one-week intervals from May 2008 to April 2009 in Lake Jinghu, respectively. Simultaneously, the abiotic factors including water temperature, pH, dissolved oxygen, Secchi depth, total nitrogen (TN) and total phosphorus (TP) as well as the densities of rotifers and cladocerans were analyzed. The chlorophyll-a concentration in each water body was measured in two fractions: one filtered through a 25 μm plankton net (Chl.a<25 μm) and another unfiltered (Chl.a). During the monitoring period, the two fractions of chlorophyll-a in two lakes were both positively correlated with water temperature and negatively associated with secchi depth, and they did not show reverse relationship with the densities of rotifers and cladocerans in both

* 国家自然科学基金项目(31470015)、安徽省高校自然科学研究重点项目(KJ2017A320)和重要生物资源的保护与利用安徽省重点实验室专项基金联合资助。2016-11-08 收稿; 2017-03-12 收修改稿。温新利(1977~), 男, 博士, 副教授; E-mail: wenxinli1977@126.com。

** 通信作者; E-mail: ylx1965@126.com。

lakes. Chl.a and Chl.a<25 μm increased significantly with TP but decreased with TN/TP ratio in Lake Jinghu, while they showed reducing trends with TN and TN/TP ratio in Lake Tingtang. During winter, the rotifer density was negatively associated with Chl.a and Chl.a<25 μm in Lake Jinghu, and the similar relationships between them were found in Lake Tingtang, indicating that the low chlorophyll-a concentration in winter might be partly due to the prey effect of rotifers on phytoplankton. Based on the relative weight of the effect intensity of each correlated factor on the variation of chlorophyll-a concentration, Chl.a and Chl.a<25 μm were both affected mostly by secchi depth. Additionally, the two fractions of chlorophyll-a decreased with an increase in secchi depth. Taken together, the results in this paper implied that Secchi depth might be a simple and convenient index for predicting chlorophyll-a concentration in the small enclosed lakes.

Keywords: Chlorophyll-a concentration; seasonal variation; biotic factor; abiotic factor; relative importance; Lake Tingtang; Lake Jinghu

叶绿素 a(Chl.a)是浮游植物生物体的重要组成成分之一,其浓度高低是衡量浮游植物现存量的重要指标^[1],也是评价水体富营养化程度的重要因素^[2]. 鉴于此,人们非常关注水环境因子(如水温 and 营养盐)对 Chl.a 浓度变动的影响^[3-9].

由于大型浅水湖泊水域面积大,水体常用于水产养殖且与人们的生产生活关系密切,其 Chl.a 浓度的变动受到的关注度很高^[3-5,8-9]. 研究表明,由于具有受风浪搅动强烈、与外部水资源交换程度较高等特点,大型浅水湖泊中的 Chl.a 浓度常表现为较明显的空间异质性. 比如:浮游植物在太湖的深水中央区受光照强度的影响大,在较浅的沿岸带受氮的影响程度更高^[10]. 与此相比,在探讨小型浅水湖泊 Chl.a 浓度的时空变动与水环境间关系的相关研究中,为了阐述水体富营养化产生的原因、后果或者治理途径,水温和营养盐^[3,5-7,11]、水体异味物质^[12]及植物化感物质^[13]等因子备受重视. 自然界中,由于水体中通常都分布有轮虫和枝角类等浮游动物^[14],它们分别以粒径为 1~20 和 1~50 μm 的浮游藻类、微型浮游生物和细菌等作为食物^[15-17],营养生态位间存在着重叠,且它们在富营养化湖泊中往往占有优势^[18],因而水体 Chl.a 浓度可能会受到轮虫和枝角类牧食藻类的影响(即下行效应),这个推测在南京玄武湖中的原位短期(15 d)实验中已经获得了证实^[19]. 但是,随着季节的演替,在更长的时间内,特别是在藻类现存量较低的季节,浮游动物对藻类的牧食会不会对浅水湖泊 Chl.a 浓度产生负面影响? 至今,关于这个问题的研究报道并不多见.

城市景观湖泊由于位于城市内部,多为小型封闭性浅水水体,易受稠密的人口等外界因素的干扰,因此城市浅水湖泊的富营养化问题也受到了人们的关注^[20]. 为探明城市内小型浅水湖泊中 Chl.a 浓度的季节变动及其影响因素,本文以芜湖市内的镜湖和汀棠湖为研究水体,重点分析了非生物因子(如水温、营养盐)和生物因子(浮游动物)对 2 个湖泊 Chl.a 浓度季节动态的影响,为筛选和识别影响浅水湖泊水体 Chl.a 浓度变动的主要环境因子提供科学资料,同时也为 Chl.a 浓度的预测及富营养湖泊的生态治理提供一定的理论依据.

1 材料与方法

1.1 研究水体

镜湖(31.334°N, 118.380°E)和汀棠湖(31.367°N, 118.392°E)分别位于芜湖市(31.20°N, 118.21°E)的中心和近郊区,为城市公园景观水域,其平均水深分别约为 1.3 和 1.5~2.0 m,水域面积约为 7.9 和 13.47 hm^2 ^[21],皆为小型浅水湖泊. 2 个湖泊水体的营养水平接近,均处于富营养化初期阶段^[21-22]. 镜湖水体中常年缺乏浮游甲壳动物(如枝角类和桡足类)^[23].

1.2 水样采集

水样采集时,分别在镜湖东、西 2 个湖区,汀棠湖南、北水体的中心各设置 1 个采样点(图 1).

镜湖水样的采集在 2008 年 5 月—2009 年 4 月期间完成,除 2008 年 11 月份采集 2 次外,其余时间段均采取每 4 天或 7 天 1 次的样品采集频率. 汀棠湖水样采集在 2009 年 2 月—2010 年 1 月期间完成,除 2009 年 10 月份因天气原因只进行 1 次采集外,其他时间段均为每半月采集 1 次样品. 用于水体总氮(TN)和总磷(TP)浓度测定的水样每月采集 1 次,均在每月上旬进行. 所有的样品均在采样日上午 8:00—10:00 之间进行.

水样采集时,同步用水银温度计测定水温,赛奇氏圆盘(Secchi disc)测定水体透明度(SD);分别用哈纳

图 1 镜湖和汀棠湖采样站的设置
Fig.1 Sampling sites in Lake Jinghu and Lake Tingtang

HI-9143 溶氧仪(意大利)和哈纳 HI-8424 酸度计(意大利)测定溶解氧(DO)和水质 pH 值。TN 和 TP 浓度的测定委托芜湖市水文水资源局完成,其方法分别参照国标 GB 11894—1989 和 GB 11893—1989 进行。为反映水体中粒径大小不同的藻类生物量的多少,在 Chl.a 浓度测定时分为两个程序进行:一是将来源于各水层中的等量水样混合后,经孔径为 $25\ \mu\text{m}$ 的筛绢过滤,测定过滤后水样中的 Chl.a 浓度($\text{Chl.a} < 25\ \mu\text{m}$),以间接反映水体中小型藻类的生物量;二是将来源于各水层的混合水样未经过滤而直接带回实验室用于 Chl.a 的测定,以间接反映水体中藻类总体生物量。两类型 Chl.a 浓度的测定均采用丙酮萃取—分光光度法^[24]。

包括轮虫在内的浮游动物的定性标本采用 25# 浮游生物网大范围拖捞获得;定量标本采用 2.5 L 采水器,于 3 个不同深度各采集 5 L 湖水,混和后经孔径为 $25\ \mu\text{m}$ 的筛绢过滤收集,即刻用 5% 的福尔马林溶液固定,实验室内静置沉淀 48 h 后,收集沉淀物并浓缩至 30 mL。浮游动物计数采用 1 mL 计数框,在 OLYMPUS 显微镜下全片计数,取 3 片计数的平均值作为其密度(桡足类分幼体和成体分别计数)。轮虫的种类鉴定按 Koste 分类系统^[25];枝角类的鉴定参照《中国动物志——淡水枝角类》^[26],枝角类的分类地位鉴定至属。

1.3 数据分析

季节的划分参照气象学上的气温法进行。具体是先按照水温与气温间的关系^[3],将测得的水温换算成气温,将连续 5 天的均温高于 22°C 的时期视为夏季,而低于 10°C 的视为冬季,二者之间为春季和秋季。根据轮虫对不同粒径藻类和其他食物资源的摄食情况^[27-28],将 2 个湖泊中的轮虫划分成三种类型,其一为微型滤食性轮虫,包括臂尾轮虫(*Brachionus*)、龟甲轮虫(*Keratella*)、龟纹轮虫(*Anuraeopsis*)、叶轮虫(*Notholca*)和三肢轮虫(*Filinia*);其二为大型藻类掠食性轮虫,包括异尾轮虫(*Trichocerca*)、多肢轮虫(*Polyarthra*)和疣毛轮虫(*Synchaeta*)等;第三为捕食性轮虫,如肉食性的晶囊轮虫(*Asplanchna*)等。

应用配对 *t* 检验法检测每个湖泊非生物因子和生物因子在 2 个样点间的差异性。先对数据正态性进行分析(对不符合正态分布的数据进行对数转换),然后在 SPSS 16.0 软件中利用 Pearson 相关分析法分析 2 个湖泊中 Chl.a 和 $\text{Chl.a} < 25\ \mu\text{m}$ 与各水环境因子及浮游动物密度间的相关性。在 R 2.13.0 软件中利用 *relweights* 函数来获得具有相关性的被选环境因子对 Chl.a 浓度影响的相对权重^[29],将 Chl.a 和 $\text{Chl.a} < 25\ \mu\text{m}$ 分别与影响其季节变动相对权重最大的水环境因子进行回归分析。另外,考虑到氮、磷浓度对于浮游植物生长的重要性,分别将各湖泊中两类 Chl.a 浓度与水体氮、磷浓度进行回归分析。

2 结果与分析

2.1 镜湖水体 Chl.a 浓度及理化因子的周年动态

镜湖 2 个样点中 Chl.a 和 $\text{Chl.a} < 25\ \mu\text{m}$ 的年均值分别为 27.8 和 $24.0\ \mu\text{g/L}$ 、 25.2 和 $21.4\ \mu\text{g/L}$ 。Chl.a 和

Chl.a<25 μm 在两样点间均无显著差异 ($P>0.05$), 其浓度的季节变动趋势均表现为夏季>秋季>春季>冬季 (图2).

镜湖2个样点的水温、DO、pH、SD均不存在显著性差异 ($P>0.05$). 冬季水温最低, 夏季最高; 而DO浓度的周年变动表现为冬季高、夏季低. 水体pH值在7.0~8.5之间波动; SD的周年动态与Chl.a和水温的周年动态总体变化趋势均相反 (图3).

图2 镜湖中两种类型的 Chl.a 浓度的周年动态

Fig.2 Annual dynamics of two fractions of Chl.a (Chl.a and Chl.a<25 μm) in Lake Jinghu

镜湖TP浓度表现为秋季>夏季, 而春季与冬季的差别并不大. TN浓度表现为冬季最高, 而其余3个季节的差别也不大. TN/TP比的年均值为13.68, 整体上表现为冬季>春季>夏季>秋季 (图4).

2.2 汀棠湖水体 Chl.a 浓度及理化因子的周年动态

汀棠湖2个样点的Chl.a和Chl.a<25 μm 的年均值分别为25.7和25.1 $\mu\text{g/L}$ 、25.9和21.0 $\mu\text{g/L}$, 2个样点间均没有显著差异 ($P>0.05$), 均表现为夏季>春季>秋季>冬季 (图5); 水温、DO、pH、SD、N和P浓度在2个样点也均不存在显著差异 ($P>0.05$), 且它们的周年变动趋势与其在镜湖中的变动均非常类似 (图4, 图6).

2.3 镜湖和汀棠湖轮虫和枝角类密度的周年动态

汀棠湖中存在较多的枝角类和桡足类, 其中枝角类主要有象鼻溞 (*Bosmina* spp.) 和秀体溞 (*Diaphanosoma* spp.), 均为小型枝角类. 象鼻溞的密度高峰期出现在2009年2月末至4月初; 秀体溞的密度高峰期出现在夏季 (2009年6、7和8月). 与枝角类和桡足类密度相比, 汀棠湖中轮虫密度相对较高. 汀棠湖2个样点中, 微型滤食性轮虫密度占轮虫总密度比例均较高, 两者均呈极显著正相关 ($r=0.98, P<0.001$). 轮虫总密度和微型滤食性轮虫在冬季 (2009年2月和2010年1月) 密度较高, 而在夏季 (2009年6、7、8月) 较低, 春末和秋末密度最低.

镜湖微型滤食性轮虫的类型与汀棠湖相同. 微型滤食性轮虫密度在2个样点中的变动趋势与轮虫总密度大体相似, 且两者呈极显著相关 ($r=0.82, P<0.001$). 在2008年9月末—10月末和2009年3月末—4月末, 轮虫总密度和微型滤食性轮虫密度间均呈现逐步下降的趋势.

2.4 两种类型的 Chl.a 浓度与非生物因子和生物因子间的关系

从全年整体看, 2个湖泊中的Chl.a和Chl.a<25 μm 间均呈极显著正相关. 两类Chl.a浓度均与水温呈显著正相关, 而与SD均呈显著负相关. 两类Chl.a浓度均与镜湖DO呈显著负相关, 均与镜湖轮虫总密度和滤食性轮虫密度呈显著正相关, 与汀棠湖秀体溞密度呈显著正相关, 但与汀棠湖轮虫的密度均不存在显著的相关性 (表1).

图 3 镜湖水温、水体 pH 值、透明度和溶解氧浓度的周年动态

Fig.3 Annual dynamics of water temperature, pH value and secchi depth and DO concentration in Lake Jinghu

表 1 镜湖和汀棠湖两种类型的 Chl.a 浓度与各环境因子间的相关系数

Tab.1 Pearson correlation coefficients between two fractions of Chl.a (Chl.a and Chl.a<25 μm) and each of the environmental factors in Lake Jinghu and Lake Tingtang

环境因子	缩写	镜湖		汀棠湖	
		Chl.a	Chl.a<25 μm	Chl.a	Chl.a<25 μm
Chl.a/($\mu\text{g/L}$)	Chl.a	—	0.97 **	—	0.97 **
水温/°C	WT	0.74 **	0.75 **	0.54 **	0.56 **
透明度/m	SD	-0.77 **	-0.78 **	-0.69 *	-0.70 **
pH	pH	0.01	0.02	-0.22	-0.18
DO/(mg/L)	DO	-0.62 **	-0.63 **	-0.21	-0.21
TN/(mg/L)	TN	-0.15	-0.05	-0.35	-0.36
TP/(mg/L)	TP	0.50 *	0.63 **	0.05	0.11
TN/TP 比	TN/TP	-0.63 **	-0.66 **	-0.34	-0.40
象鼻蚤密度/(ind./L)	Bos	—	—	-0.04	0
秀体蚤密度/(ind./L)	Dia	—	—	0.43 **	0.41 **
微型滤食轮虫密度/(ind./L)	Filter	0.49 **	0.51 **	-0.14	-0.16
轮虫总密度/(ind./L)	Total	0.44 **	0.46 **	-0.15	-0.16

* 表示 $P<0.05$, ** 表示 $P<0.01$; 汀棠湖中浮游动物密度经过 lg 转化; 下同.

镜湖中,两类 Chl.a 浓度与 TP 浓度均呈显著或极显著正相关,而与 TN/TP 比均呈极显著负相关(表 1).

图4 镜湖和汀棠湖 TN、TP 浓度及 TN/TP 比的周年变动

Fig.4 Annual dynamics of TN, TP concentrations and TN/TP ratio in Lake Jinghu and Lake Tingtang

图5 汀棠湖两种类型 Chl.a 浓度的周年动态

Fig.5 Annual dynamics of two fractions of Chl.a (Chl.a and Chl.a<25 μm) in Lake Tingtang

$\lg \text{Chl.a}$ (Y_1) 和 $\lg \text{Chl.a}<25 \mu\text{m}$ (Y_2) 均随着 $\lg \text{TP}$ (X_1) 的增加而显著增加, 回归关系分别为 $Y_1 = 1.17 X_1 + 2.78$ ($R^2 = 0.48, P < 0.01$), $Y_2 = 1.38 X_1 + 2.92$ ($R^2 = 0.59, P < 0.01$). Y_1 和 Y_2 均随着 $\lg(\text{TN/TP})$ (X_2) 的增加而显著减小(表1), 回归关系分别为 $Y_1 = -1.01 X_2 + 2.53$ ($R^2 = 0.48, P < 0.01$), $Y_2 = -1.14 X_2 + 2.52$ ($R^2 = 0.50, P < 0.01$) (图7).

汀棠湖中, 两类 Chl.a 浓度与 TN、TP 和 TN/TP 比间均没有显著相关性(表1). 然而, $\lg \text{Chl.a}$ (Y_3)、 $\lg \text{Chl.a}<25 \mu\text{m}$ (Y_4) 均随着 $\lg(\text{TN/TP})$ (X_3) 的增加而减小的趋势, 回归关系分别为 $Y_3 = -0.42 X_3 + 1.82$ ($R^2 = 0.13, P = 0.09$), $Y_4 = -0.59 X_3 + 1.89$ ($R^2 = 0.16, P = 0.056$) (图7).

从季节来看, 2 个湖泊中两类型的 Chl.a 浓度在每个样点间也呈现极显著正相关. 镜湖中, 冬季与非冬季的水体中两种类型的 Chl.a 浓度均与水温呈极显著正相关, 而与 SD 呈极显著负相关. 冬季镜湖中 2 种类型的 Chl.a 浓度均与 TN 浓度呈显著正相关, 而与滤食性轮虫密度和轮虫总密度呈极显著负相关; 其他 3 个季节两种类型的 Chl.a 浓度均与 DO 浓度呈极显著负相关, 而与滤食性轮虫密度和轮虫总密度呈极显著正相

图 6 汀棠湖水温、水体 pH 值、透明度和溶解氧浓度的周年动态

Fig.6 Annual dynamics of water temperature, pH value, secchi depth and DO concentration in Lake Tingtang

图 7 镜湖和汀棠湖两类 Chl.a 浓度与 TP 浓度,TN/TP 比的关系

Fig.7 Regression relationships between two fractions of Chl.a (Chl.a and Chl.a<25 μm) and TP as well as TN/TP ratio in Lake Jinghu and Lake Tingtang

关(表 2).

汀棠湖中,冬季与非冬季的水体中两种类型的 Chl.a 浓度均与 SD 呈极显著负相关. 冬季汀棠湖中两种类型的 Chl.a 浓度均与 DO 浓度呈显著正相关. 非冬季水体中两类 Chl.a 浓度均与 TN 浓度呈负相关趋势 ($r_{\text{Chl.a}} = -0.41, P = 0.08$; $r_{\text{Chl.a} < 25 \mu\text{m}} = -0.44, P = 0.07$). 尽管冬季与非冬季的水体中两种类型的 Chl.a 浓度均与轮虫总密度无显著相关性,但冬季水体中 Chl.a<25 μm 与滤食性轮虫密度间呈负相关($r = -0.49, P = 0.057$) (表 2).

各水环境因子对 2 个湖泊 Chl.a 浓度影响的相对权重见表 3. 从全年整体和非冬季的情况看,镜湖中两种类型的 Chl.a 浓度均与 SD 的关系最为密切(表 3). 但从冬季的情况看,轮虫对藻类的牧食效应(下行效应)对镜湖中两种类型的 Chl.a 浓度,尤其是 Chl.a<25 μm(小型藻类的 Chl.a 浓度)的影响最大(表 3). 汀棠湖中,无论是从全年整体看,还是分季节看,两种类型的 Chl.a 浓度均与 SD 的关系最为密切(表 2,表 3). 但从冬季情况看,轮虫对藻类的牧食效应还是对 Chl.a<25 μm 产生了一定的影响(表 3).

表 2 冬季与非冬季镜湖和汀棠湖水体中两种类型的 Chl.a 浓度与各环境因子间的相关系数
Tab.2 Pearson correlation coefficients between two fractions of Chl.a (Chl.a and Chl.a<25 μm) and each of the environmental factors in winter and the other three seasons in Lake Jinghu and Lake Tingtang

环境因子	镜湖				汀棠湖			
	冬季		非冬季		冬季		非冬季	
	Chl.a	Chl.a<25 μm	Chl.a	Chl.a<25 μm	Chl.a	Chl.a<25 μm	Chl.a	Chl.a<25 μm
Chl.a	—	0.93 **	—	0.95 **	—	0.96 **	—	0.96 **
WT	0.56 **	0.61 **	0.53 **	0.57 **	-0.15	-0.20	0.29	0.27
SD	-0.78 **	-0.82 **	-0.63 **	-0.69 **	-0.83 **	-0.80 **	-0.56 **	-0.58 **
pH	0.18	0.27	-0.17	-0.16	-0.47	-0.48	-0.22	-0.16
DO	-0.09	0.05	-0.30 **	-0.36 **	0.59 *	0.59 *	0.03	0.09
TN	0.69 *	0.70 *	-0.06	0.15	-0.07	-0.05	-0.41	-0.44
TP	0.45	0.42	0.28	0.53	-0.03	0.00	-0.13	-0.08
TN/TP 比	-0.05	-0.04	-0.50	-0.59 *	0.11	0.10	-0.19	-0.25
Bos	—	—	—	—	-0.18	-0.16	-0.11	-0.07
Dia	—	—	—	—	—	—	0.23	0.20
Filter	-0.57 **	-0.60 **	0.52 **	0.55 **	-0.40	-0.49	-0.06	-0.06
Total	-0.35 *	-0.39 **	0.47 **	0.50 **	-0.36	-0.44	-0.13	-0.12

各环境因子的缩写见表 1. 下同.

鉴于透明度与 2 个湖泊 Chl.a 浓度间的关系均最为密切,故对它们之间的关系进行回归分析. 2 个湖泊两种类型的 Chl.a 浓度(Chl.a: Y_1 ; Chl.a<25 μm: Y_2) 均与透明度(X)呈极显著相关(图 8).

表 3 各环境因子对镜湖和汀棠湖两种类型 Chl.a 浓度变动影响的相对权重(%)
Tab.3 Relative weight of the effect of each predictor variable on two fractions of Chl.a (Chl.a and Chl.a<25 μm) in Lake Jinghu and Lake Tingtang

湖泊	环境因子	全年		冬季		非冬季	
		Chl.a	Chl.a<25 μm	Chl.a	Chl.a<25 μm	Chl.a	Chl.a<25 μm
镜湖	WT	27.27	23.15	18.65	8.73	32.45	10.50
	SD	27.46	28.57	21.63	9.44	56.36	51.41
	DO	18.17	14.80	—	14.39	11.17	3.52
	TN	—	—	15.54	—	—	—
	TP	10.30	17.94	—	—	—	—
	TN/TP 比	16.78	15.53	—	—	—	34.56
	Filter	—	—	15.80	7.71	—	—
	Total	—	—	28.34	59.71	—	—
汀棠湖	WT	30.82	32.55	—	—	—	—
	SD	69.17	67.45	67.11	60.85	—	—
	DO	—	—	22.90	21.52	—	—
	Filter	—	—	9.99	17.63	—	—

3 讨论

3.1 水环境因子对镜湖和汀棠湖 Chl.a 浓度影响的探讨

3.1.1 水体理化因子对 Chl.a 浓度的影响 众多研究表明,水温与 Chl.a 浓度呈正相关^[6,11,23,30]. 与上述结论一致,本研究中,镜湖和汀棠湖 Chl.a 浓度均与水温呈显著正相关,说明水温对浮游植物的生长和发育具有促进作用. 在当前全球气候变暖的背景下,这种现象可引起环保工作者对水体富营养化成因的重视,因为水

图8 镜湖和汀棠湖两种类型的 Chl.a 浓度与透明度间的回归关系

Fig.8 Regression relationships between two fractions of Chl.a (Chl.a and Chl.a<25 μm) and secchi depth in Lake Jinghu and Lake Tingtang

温的升高既促进了 Chl.a 浓度的上升,也有利于蓝藻形成优势^[31]。

有研究表明,水体 Chl.a 浓度与其 pH 值间呈显著正相关^[32]。在浮游植物生长茂盛的水域,水体 pH 值较高,主要与浮游植物的光合作用吸收水体中的 CO_2 、放出 O_2 有关。本研究中,2 个湖泊水体 pH 值均在 7.0~8.5 之间波动,整体变化幅度很小,且无论从全年整体还是分季节看,Chl.a 浓度与 pH 值间均没有显著相关性,这与阮晓红等的结论^[32]并不一致,而与范廷玉等^[33]的研究一致。究其原因,可能是阮晓红等^[32]的研究只在冬、夏季各采集 1 次样品,且 60 个湖泊间营养水平相差较大有关。实际上,就单个水体 pH 的季节变动不大的湖泊来说,pH 与水体藻类繁殖之间的关系可能不太大。

Chl.a 浓度与 DO 浓度可能存在着正相关性,因为 Chl.a 浓度越高,浮游植物数量越多,其通过光合作用释放 O_2 ,会使 DO 浓度增加^[30,33]。但也有研究表明,Chl.a 浓度与 DO 浓度却呈负相关^[4]。本研究中,Chl.a 浓度与 DO 浓度间的关系在镜湖呈负相关,而在冬季汀棠湖呈正相关。由于 DO 除了与浮游植物的光合作用放氧有关外,与水温、氧分压和有机体的呼吸消耗等密切相关;一定范围内,温度越高,DO 浓度越低^[34]。从本研究来看,汀棠湖和镜湖均属小型浅水湖泊,水体中的 DO 浓度受温度的影响从而成为影响 Chl.a 浓度变动的被动因子的可能性更大。

Chl.a 浓度与营养盐间存在着复杂的关系^[35]。OECD 认为,氮、磷浓度均有可能影响 Chl.a 浓度^[2]。从国内学者对我国湖泊和水库等的研究发现,Chl.a 浓度与氮、磷浓度的关系也比较复杂,如对洞庭湖^[4]、太湖^[8]、苏州平原河网区浅水湖泊^[32]和珠江流域东江干流^[36]的研究中均认为 P 是影响 Chl.a 浓度变化的主导因子,而对三峡水库香溪河库湾的研究中却发现 Chl.a 浓度受 N 的影响更大^[5]。有学者认为,TN/TP 比与藻类的生长有更直接的关系。当 TN/TP 比>7 或<7 时,P 和 N 分别是可能的限制性营养盐^[37]。本研究中,镜湖中两类 Chl.a 浓度与 TP 浓度均呈显著正相关,而与 TN/TP 比均呈显著负相关,且 TN/TP 比年均值为 13.68,这表明镜湖属于 P 限制性水体,P 对于 Chl.a 浓度的影响较大。而在汀棠湖中,两类 Chl.a 浓度均分别与 TN/TP 比和 TN 浓度呈负相关,且 TN/TP 比的年均值为 12.09,这表明汀棠湖可能偏向 P 限制性水体。但汀棠湖中 Chl.a 浓度与 TP 浓度并没有呈现正相关性,可能与汀棠湖在采样期地处芜湖市郊,周边居民在水体放养较多的鲢鳙鱼有关,因为这些滤食性鱼类对于藻类的滤食可能改变了 Chl.a 浓度与 TP 浓度的关系^[38]。当然,这种推测还需要更进一步的研究予以证实。

3.1.2 浮游动物对 Chl.a 浓度的影响 轮虫、枝角类等浮游动物均摄食浮游藻类,从而有可能会影响到水体中的 Chl.a 浓度。本研究中,藻类的 Chl.a 总浓度与小型藻类的 Chl.a 浓度间呈极显著相关,且它们的均值差异都不大,这说明 2 个湖泊中大型藻类所占比例较小。从全年整体来看,镜湖的两类 Chl.a 浓度与轮虫密度均呈极显著正相关,一方面说明了浮游动物对于镜湖 Chl.a 浓度的影响不大,另一方面也暗示了水体中可供轮虫利用的食物资源是充足的。汀棠湖中,两类 Chl.a 浓度与轮虫密度并未呈显著相关,这说明汀棠湖浮游

动物的牧食对于水体 Chl.a 浓度的影响很小。

但是从季节变化的特点看,在水温最低、光照时间最短的冬季,水体透明度均最高,2个湖泊中微型滤食性轮虫总密度和轮虫总密度均较高,而 Chl.a 浓度却最低。此阶段,轮虫密度与 Chl.a 浓度呈显著负相关性(镜湖)或负相关趋势(汀棠湖),且相比其他水环境因子而言,轮虫密度对于镜湖中藻类 Chl.a 总浓度,尤其对小型藻类的 Chl.a 浓度影响最大;而这些现象在温度较高、光照时间较长的非冬季中并没有显现,这说明在低温、短光照下的冬季水体中,藻类光合作用较弱,浮游轮虫摄食藻类降低了 Chl.a 浓度。但是,轮虫密度对于汀棠湖 Chl.a 浓度的影响却有限,一方面可能与汀棠湖样品采集的频率相对较低有关,因为较长的采样周期难以反映出对环境变化敏感的轮虫等浮游动物对藻类摄食的影响力;另一方面也说明了浮游动物摄食藻类在影响小型浅水湖泊中 Chl.a 浓度变动的重要性方面需要更多的调查予以确认。结合本实验和张镇等^[19]的实验结果,有理由相信,通过一定的措施增加浮游动物密度,将有可能有效地降低浮游植物的生物量和水华产生的可能性。

3.2 小型封闭性水体与大型浅水湖泊、水库和河流 Chl.a 浓度及其变动因素的比较

大型浅水湖泊由于受风浪的搅动强烈,其 Chl.a 浓度的变动除了与水温及营养盐等相关外,还与沉积物悬浮导致的浊度上升有关,湖水浑浊使得水下光照成为影响水体 Chl.a 浓度变动的限制性因子^[10]。有些大型浅水湖泊(如鄱阳湖)并非封闭性水体,与外界的交流程度高,高水位的丰水期会稀释营养盐浓度,从而改变了其对水体 Chl.a 浓度的影响^[9]。对水库的研究发现,其中的 Chl.a 浓度除了受营养盐的影响程度较大外,还与水库的水文条件相关,调水会影响 Chl.a 浓度与营养盐间的关系^[39]。就河流而言,不同河段的 Chl.a 浓度往往不同,与水体的流动性也具有紧密的关系^[36,40]。这些现象说明沉积物的悬浮、水文条件和水体流动性是影响大型浅水湖泊、水库或者河流中 Chl.a 浓度变动的不容忽视的因素,同时水体的不同区域受这些因素影响程度可能不同,导致了 Chl.a 浓度的分布具有空间异质性。至于小型浅水水体,其 Chl.a 浓度的分布是否具有空间异质性与水体周围的环境条件相关。就本研究而言,镜湖和汀棠湖两个样点的 Chl.a 浓度间均没有显著差异,这可能是因为它们均属城市内湖,且与周边的水交换程度均不高。但是,小型浅水水体即使是封闭的,如果不同水域受风的影响程度不同,也会影响到 Chl.a 浓度的空间分布特征^[41]。

3.3 透明度与 Chl.a 浓度间关系的探讨

一般而言,透明度与该水体中悬浮物质和 Chl.a 浓度均呈负相关^[5,6,30,42]。且有学者认为,Chl.a 浓度与透明度间呈现曲线关系^[5,34]。本研究中,无论从全年整体上看还是分季节看,除了冬季的镜湖外,2个湖泊的 Chl.a 浓度均与透明度间的关系最为密切(图8)。然而,有不少学者认为,透明度可能是引起 Chl.a 浓度变动的被动因子^[33],但作者认为也有可能是诱导因素。本研究的2个湖泊均在城市内部,易受周边人群的影响;且它们均属于小型浅水湖泊,其透明度易受地表水冲洗、雨水淋刷和人为活动等外源性因素的影响,这些因素可能会主动影响到水体中的浮游藻类的光合作用。但从本研究并结合相关文献看^[5,34],不管透明度是作为 Chl.a 浓度变动的诱导因子还是被动因子,由于测定过程非常简便,其可能是预测封闭性较好、与外界水交换程度低的水体 Chl.a 浓度变动的较为简便的指标。不过,由于透明度测定的过程受人为影响程度较大,因此就需要尽可能地提高测定的准确性,比如:选用黑白对照清晰的透明度盘、尽量选择同一个人完成全部样品的测定工作、保持透明度盘在水中的垂直状态等减小测定误差的措施。当然,在大型湖泊、水库、河流及受风影响较大的小型水体中,由于水体的流动性或者水位的变化较大,是否能够利用透明度来预测 Chl.a 浓度的变动需要更多、更细致的研究加以证实。

4 参考文献

- [1] Reynolds CS ed. The ecology of freshwater phytoplankton. London: Cambridge University Press, 1984.
- [2] Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Eutrophication of waters: Monitoring, assessment and control. Paris: OECD, 1982.
- [3] Xun Shangpei, Yang Yuanjian, He Binfang *et al.* Analysis of relationship between spring water temperature and chlorophyll-a in Lake Chaohu. *J Lake Sci*, 2011, **23**(5): 767-772. DOI:10.18307/2011.0515. [荀尚培, 杨元建, 何彬方等. 春季巢湖水温和水体叶绿素 a 浓度的变化关系. 湖泊科学, 2011, **23**(5): 767-772.]
- [4] Zhang Guanggui. Spatial-temporal distribution of chlorophyll-a and its correlation with environment factors in Dongting

- Lake. *Environmental Monitoring in China*, 2016, **32**(4): 84-90. [张光贵. 洞庭湖水体叶绿素 a 时空分布及与环境因子的相关性. 中国环境监测, 2016, **32**(4): 84-90.]
- [5] Han Xinqin, Ye Lin, Xu Yaoyang *et al.* Analysis of the spatial and temporal changes of chlorophyll-a concentration in Xiangxi Bay in spring and its impact factors. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, **30**(1): 89-94. [韩新芹, 叶麟, 徐耀阳等. 香溪河库湾春季 Chl.a 浓度动态及其影响因子分析. 水生生物学报, 2006, **30**(1): 89-94.]
- [6] Lu Huanchun, Wang Feier, Chen Yingxu *et al.* Multianalysis between chlorophyll-a and environmental factors in Qiandao Lake water. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, **14**(8): 1347-1350. [吕唤春, 王飞儿, 陈英旭等. 千岛湖水体叶绿素 a 浓度与相关环境因子的多元分析. 应用生态学报, 2003, **14**(8): 1347-1350.]
- [7] Liang Shuxuan, Wang Yunxiao, Qin Zhe. Chlorophyll-a and analysis of water quality of Lake Baiyangdian. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2012, **3**: 66-73. [梁淑轩, 王云晓, 秦哲. 白洋淀叶绿素 a 及其水质因子分析. 海洋湖沼通报, 2012, **3**: 66-73.]
- [8] Wang Zhen, Zou Hua, Yang Guijun *et al.* Spatial-temporal characteristics of chlorophyll-a and its relationship with environmental factors in Lake Taihu. *J Lake Sci*, 2014, **26**(4): 567-575. DOI:10.18307/2014.0411. [王震, 邹华, 杨桂军等. 太湖叶绿素 a 的时空分布特征及其与环境因子的相关关系. 湖泊科学, 2014, **26**(4): 567-575.]
- [9] Wu Zhaoshi, Zhang Lu, Liu Baogui *et al.* Spatial distribution of chlorophyll-a in Poyang Lake during wet season and its relationship with environmental factors. *Wetland Science*, 2014, **12**(3): 286-292. [吴召仕, 张路, 刘宝贵等. 鄱阳湖丰水期水体中叶绿素 a 浓度空间分布及其与环境因子的关系. 湿地科学, 2014, **12**(3): 286-292.]
- [10] Thomas JR, Havens K, Zhu GW *et al.* Comparative analysis of nutrients, chlorophyll and transparency in two large shallow lakes (Lake Taihu, P.R. China and Lake Okeechobee, USA). *Hydrobiologia*, 2009, **627**: 211-231.
- [11] Zhou Hong. Quantity of chlorophyll-a and water quality in the West Lake, Hangzhou. *Journal of Zhejiang University: Science Edition*, 2001, **28**(4): 439-442. [周宏. 杭州西湖水体中叶绿素 a 含量与水质的关系. 浙江大学学报: 理学版, 2001, **28**(4): 439-442.]
- [12] Hu Yufei, Yu Dezha, Guo Longgen *et al.* Relationships of water taste and odor compounds and their related environmental factors in Lake Donghu, Wuhan. *J Lake Sci*, 2017, **29**(1): 87-94. DOI:10.18307/2014.0411. [胡宇飞, 余得昭, 过龙根等. 武汉东湖水体异味物质及其与水环境因子相互关系. 湖泊科学, 2017, **29**(1): 87-94.]
- [13] Yao Yuan, He Feng, Hu Shenghua *et al.* Effects of allelopathy of submerged macrophytes on the phytoplankton community collected from the west part of the West Lake wetland in Hangzhou, China. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, **36**(4): 971-978. [姚远, 贺锋, 胡胜华等. 沉水植物化感作用对西湖湿地浮游植物群落的影响. 生态学报, 2016, **36**(4): 971-978.]
- [14] Zhang Zongshe, Huang Xiangfei eds. Research methods of freshwater plankton. Beijing: Science Press, 1991. [章宗涉, 黄祥飞. 淡水浮游生物研究方法. 北京: 科学出版社, 1991.]
- [15] Pourriot R. Food and feeding habits of Rotifera. *Archiv für Hydrobiologie Beiheft Ergebnisse der Limnologie*, 1977, **8**: 243-260.
- [16] De Bernardi R, Giussani G, Manca M. Cladocera: predators and prey. *Hydrobiologia*, 1987, **145**: 225-243.
- [17] Yang Yufeng, Huang Xiangfei. Advances in ecological studies on zooplankton. *J Lake Sci*, 2000, **12**(1): 82-89. DOI:10.18307/2000.0113. [杨宇峰, 黄祥飞. 浮游动物生态学研究进展. 湖泊科学, 2000, **12**(1): 82-89.]
- [18] Orcutt JD, Pace ML. Seasonal dynamics of rotifer and crustacean zooplankton populations in a eutrophic, monomictic lake with a note on rotifer sampling techniques. *Hydrobiologia*, 1984, **119**: 73-80.
- [19] Zhang Zhen, Chen Feizhou, Zhou Wanping *et al.* Effects of *Daphnia carinata* grazing on the phytoplankton of Lake Xuanwu, Nanjing. *J Lake Sci*, 2009, **21**(3): 415-419. DOI:10.18307/2009.0316. [张镇, 陈非洲, 周万平等. 南京玄武湖隆腺溞(*Daphnia carinata*) 牧食对浮游植物的影响. 湖泊科学, 2009, **21**(3): 415-419.]
- [20] Zhou Kunpeng, Liu Yangchun, Wang Chongchen. Analysis on temporal-spatial variation of eutrophication in Shichahai area, Beijing. *Environmental Chemistry*, 2016, **35**(4): 703-712. [周坤朋, 刘阳春, 王崇臣. 北京什刹海区域水体富营养化时空演变特征分析. 环境化学, 2016, **35**(4): 703-712.]
- [21] Wen XL, Xi YL, Qian FP *et al.* Comparative analysis of rotifer community structure in five subtropical shallow lakes in East China: role of physical and chemical conditions. *Hydrobiologia*, 2011, **661**: 303-316.
- [22] Qian Fangping, Xi Yilong, Wen Xinli *et al.* Eutrophication impact on community structure and species diversity of rotifers in five lakes of Anhui. *Biodiversity Science*, 2007, **15**(4): 344-355. [钱方平, 席贻龙, 温新利等. 湖泊富营养化对轮虫群落结构及物种多样性的影响. 生物多样性, 2007, **15**(4): 344-355.]
- [23] Wen Xinli, Xi Yilong, Zhang Lei *et al.* Analysis of community structure of rotifera and ecological assessment of water quality in Lake Jinghu, Wuhu city. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, **30**(2): 152-158. [温新利, 席贻龙, 张雷等. 芜湖市

- 镜湖轮虫群落结构分析及水质生态学评价. 水生生物学报, 2006, **30**(2): 152-158.]
- [24] Huang Xiangfei ed. Survey, observation and analysis of Lake Ecology. Beijing: Chinese Standard Press, 1999. [黄祥飞. 湖泊生态调查观测与分析. 北京: 科学出版社, 1999.]
- [25] Koste W ed. Rotatoria; Die Rädertiere Mitteleuropas. Berlin: Gebrüder Borntraeger, 1978.
- [26] Jiang Xiezhi, Du Nanshan eds. Fauna of China animals—Freshwater Cladocer. Beijing: Science Press, 1979. [蒋燮治, 堵南山. 中国动物志——淡水枝角类. 北京: 科学出版社, 1979.]
- [27] Špoljar M, Habdija I, Primc-Habdija B *et al.* Impact of environmental variables and food availability on rotifer assemblage in the Karstic Barrage Lake Visovac (Krka River, Croatia). *International Review of Hydrobiology*, 2005, **90**: 555-579.
- [28] Obertegger U, Smith HA, Flaim G *et al.* Using the guild ratio to characterize pelagic rotifer communities. *Hydrobiologia*, 2011, **662**: 157-162.
- [29] R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria: ISBN 3-900051-07-0. Available at: <http://www.R-project.org>, 2011.
- [30] Ge Dabing, Wu Xiaoling, Zhu Weilin *et al.* Chlorophyll-a and its relationship with water quality in Southlake, Yueyang city. *Environmental Monitoring in China*, 2005, **21**(4): 69-71. [葛大兵, 吴小玲, 朱伟林等. 岳阳南湖 Chl.a 浓度及其水质关系分析. 中国环境监测, 2005, **21**(4): 69-71.]
- [31] Lü H, Yang J, Liu L *et al.* Temperature and nutrients are significant drivers of seasonal shift in phytoplankton community from a drinking water reservoir, subtropical China. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, **21**: 5917-5928.
- [32] Ruan Xiaohong, Shi Xiaodan, Zhao Zhenhua *et al.* Correlation between chlorophyll-a concentration and environmental factors in shallow lakes in plain river network areas of Suzhou. *J Lake Sci*, 2008, **20**(5): 556-562. DOI:10.18307/2008.0502. [阮晓红, 石晓丹, 赵振华等. 苏州平原河网区浅水湖泊叶绿素 a 浓度与环境因子的相关关系. 湖泊科学, 2008, **20**(5): 556-562.]
- [33] Fan Tingyu, Cheng Fangkui, Yan Jiaping *et al.* Distribution and correlation factors of chlorophyll-a in Linhuan coal mining subsidence water in Huaibei. *Environmental Chemistry*, 2015, **34**(6): 1168-1176. [范廷玉, 程方奎, 严家平等. 淮北临涣煤矿塌陷水域叶绿素 a 浓度与相关因子分析. 环境化学, 2015, **34**(6): 1168-1176.]
- [34] Liu Jiankang ed. Advanced aquatic biology. Beijing: Science Press, 1999. [刘建康. 高级水生生物学. 北京: 科学出版社, 1999.]
- [35] Hu Ren, Lin Qiuqi, Duan Shunshan *et al.* Distribution of chlorophyll-a and phosphorus in subtropical reservoirs, South China. *Ecological Science*, 2002, **21**(4): 310-315. [胡韧, 林秋奇, 段舜山等. 热带亚热带水库浮游植物 Chl.a 浓度与磷分布的特征. 生态科学, 2002, **21**(4): 310-315.]
- [36] Tian Shimi, Yang Yang, Qiao Yongmin *et al.* Temporal and spatial distribution of phytoplankton chlorophyll-a and its relationships with environmental factors in Dongjiang River, Pearl River basin. *J Lake Sci*, 2015, **27**(1): 31-37. DOI:10.18307/2015.0104. [田时弥, 杨扬, 乔永民等. 珠江流域东江干流浮游植物叶绿素 a 浓度时空分布及与环境因子的关系. 湖泊科学, 2015, **27**(1): 31-37.]
- [37] Liu X, Lu XH, Chen YW. The effects of temperature and nutrient ratios on *Microcystis* blooms in Lake Taihu, China: An 11-year investigation. *Harmful Algae*, 2011, **10**(3): 337-343.
- [38] Li Peipei, Shi Wen, Liu Qigen *et al.* Spatial and temporal distribution patterns of chlorophyll-a and the correlation analysis with environmental factors in Lake Qiandao. *J Lake Sci*, 2011, **23**(4): 568-574. DOI:10.18307/2011.0412. [李培培, 史文, 刘其根等. 千岛湖叶绿素 a 的时空分布及其与影响因子的相关分析. 湖泊科学, 2011, **23**(4): 568-574.]
- [39] Wang Wei, Gu Jiguang, Han Boping. Analysis of factors affecting chlorophyll-a concentration in small reservoirs in South China. *Chinese Journal of Applied Environmental Biology*, 2009, **15**(1): 64-71. [王伟, 顾继光, 韩博平. 华南沿海地区小型水库叶绿素 a 浓度的影响因子分析. 应用与环境生物学报, 2009, **15**(1): 64-71.]
- [40] Zhou Beibei, Wang Guoxiang, Xu Yao *et al.* Spatial distribution of chlorophyll-a and its relationships with environmental factors in Qin-huai River, Nanjing. *J Lake Sci*, 2012, **24**(2): 267-272. DOI:10.18307/2012.0215. [周贝贝, 王国祥, 徐瑶等. 南京秦淮河叶绿素 a 浓度空间分布及其与环境因子的关系. 湖泊科学, 2012, **24**(2): 267-272.]
- [41] Li Feipeng, Zhang Haiping, Chen Ling. Temporal and spatial distribution of environmental factors and chlorophyll-a and their correlation analysis in a small enclosed lake. *Environmental Science*, 2013, **34**(10): 3854-3861. [李飞鹏, 张海平, 陈玲. 小型封闭水体环境因子与叶绿素的时空分布及相关性研究. 环境科学, 2013, **34**(10): 3854-3861.]
- [42] Chen Y, Qin B, Teubner K. Long-term dynamics of phytoplankton assemblages: *Microcystis*-domination in Lake Taihu, a large shallow lake in China. *Journal of Plankton Research*, 2003, **25**: 445-453.