

三峡库区澎溪河典型优势藻细胞 N/P 比与限制性评价的原位分析*

秦榕聪^{1,2}, 肖艳¹, 郭劲松^{1,3}, 李哲^{1,3**}, 方芳³, 刘静⁴, 杨梅³

(1: 中国科学院重庆绿色智能技术研究院, 重庆 400714)

(2: 中国科学院大学, 北京 100049)

(3: 重庆大学城市建设与环境工程学院, 重庆 400044)

(4: 成都理工大学地质灾害防治与地质环境保护国家重点实验室, 成都 610059)

摘要: 本文通过选取水华鱼腥藻(*Anabaena flos-aquae*)、铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)、空球藻(*Eudorina* sp.)和湖北小环藻(*Cyclotella hubeiana*)为三峡库区流域中典型的优势藻,在澎溪河进行原位培养试验,跟踪监测了三峡水库不同运行时期4种典型优势藻细胞氮(Cell-N)、磷(Cell-P)浓度以及环境水体中的总氮(TN)、总磷(TP)浓度,并且结合团队之前的研究成果,根据临界(供应)N/P摩尔比、细胞N/P摩尔比和Guildford的TN/TP摩尔比评价标准对库区水体的营养限制状态进行了评价,为进一步揭示三峡水库运行下支流水域富营养化过程与生理特征的限制性评价提供研究基础。原位试验结果表明:3个评价标准下水体的营养(氮或磷)限制状态基本相同,低水位时期水体无机磷营养盐比较贫乏,在试验初期没有显著的营养盐限制而在末期受到了磷的相对限制;高水位试验初期和末期均未呈现显著的营养盐限制;泄水期营养盐变动频繁,试验初期表现为氮限制而末期表现为磷限制。虽然各藻种在不同时期会表现出不同的营养盐限制性,但总的来看,临界N/P比和细胞N/P比的阈值范围具有一定指示作用,能够从藻类细胞生理的角度对水体的营养状况作出初步评价。

关键词: 三峡库区;澎溪河;优势藻;原位试验;细胞N/P比;化学计量关系;营养限制

In situ research of relationship between cellular N/P of dominate algae species and limitation evaluation in Pengxi River of the Three Gorges Reservoir

QIN Rongcong^{1,2}, XIAO Yan¹, GUO Jinsong^{1,3}, LI Zhe^{1,3**}, FANG Fang³, LIU Jing⁴ & YANG Mei³

(1: Chongqing Institute of Green and Intelligent Technology, Chinese Academy of Sciences, Chongqing 400714, P.R.China)

(2: University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P.R.China)

(3: Faculty of Urban Construction and Environmental Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044, P.R.China)

(4: State Key Laboratory of Geohazard Prevention and Geo-environment Protection, Chengdu University of Technology, Chengdu 610059, P.R.China)

Abstract: This paper present *in situ* experiments in Pengxi River of the Three Gorges Reservoir by selecting *Anabaena flos-aquae*, *Microcystis aeruginosa*, *Eudorina* sp. and *Cyclotella hubeiana* as dominate algae species, monitoring nitrogen (Cell-N) and phosphorus (Cell-P) concentrations of these algae cells in three operating periods, and measuring total nitrogen (TN) together with total phosphorus (TP) concentrations in ambient water body. Combined with our previous findings, the state of nutrient limitation is evaluated via critical (supply) N/P ratio, cellular N/P ratio and Guildford's TN/TP ratio evaluating standard, providing research foundation of limitation evaluation for revealing the eutrophication processes as well as algae physiological characteristics of tributary waters in the Three Gorges Reservoir. The results of *in situ* research showed that these three evaluation standards presented the same state of nutrient (nitrogen or phosphorus) limitation. Specifically, in low water period, phosphorus was deficient, and no obvious nutrient limitation were presented at initial cultivation stage while phosphorus limitation was appeared at last cultivation stage. In high water period, both initial and last cultivation phase observed no obvious nutrient limitations. In discharge period the initial

* 国家自然科学基金项目(51679226,41771520,51779240)资助。2017-10-25 收稿;2017-12-12 收修改稿。秦榕聪(1993~),女,硕士研究生;E-mail:qinrongcong@outlook.com.

** 通信作者;E-mail:zheli81@sina.com.

stage showed nitrogen limitation while the final stage appeared phosphorus limitation because of the frequent change of nutrient. Though each algae in different water periods presented various nutrient limitations, on the whole, the threshold range of critical N/P ratio and cellular N/P ratio have significantly and promisingly indicative effect, the nutrient state of water body can be preliminarily evaluated from the perspective of physiology of algae cells.

Keywords: Three Gorges Reservoir; Pengxi River; dominate algae species; *in situ* experiments; cellular N/P ratio; stoichiometric ratio; nutrient limitation

随着全球水资源短缺及水环境污染问题的加剧,水库作为人类调节和利用淡水资源的主要方式,其供水功能和生态功能越来越受到社会和学界的关注^[1]. 三峡水库是我国具有战略意义的超大型深水河道水库,具有其独特的调度运行方式和水动力条件,在水库水位涨落的“脉冲”效应下,形成了同天然湖泊、河流迥异的生物地球化学过程和生态功能特征. 藻类是天然水体中有机质的主要初级生产者,其自身的元素构成通过食物链、食物网影响着水库生物群落的结构和功能,并对碳(C)、氮(N)、磷(P)等元素的生物地球化学循环过程以及全球气候变化有着重要影响^[2]. “水华”是淡水水体中特定优势藻短期持续生长并出现生物量大量积累的现象^[3]. 三峡水库蓄水以来,水流变缓、回水顶托及反季节蓄水导致时空异质性显著,加上近岸场镇、农村生产生活产生的 N、P 营养盐的大量输入,导致库区部分支流水华暴发的频率和延续时间呈上升趋势. 早期的研究大多以湖泊或河流生态学的经典理论为基础^[4-6]. 近年来,不少研究强调了不同运行时期和水动力条件改变对水华过程的影响^[7-8]. 但在三峡库区支流水华过程中,关于不同运行时期优势藻生长同水体 N、P 营养盐和细胞 N、P 元素的供需协同关系尚未明确,因此三峡库区支流生态管理与水华防控措施的科学依据仍不充分.

TN 与 TP 之比是反映库区水体营养特点的重要评价指标. 库区 N、P 输入与水华的关系探讨主要是从库区支流营养状态评价入手,大量研究客观地反映了成库后的营养状态变化,并为其引起水华的原因和控制途径提供了基础信息^[9-10]. 另一方面,N、P 等营养盐是影响藻类生长及群落发展的重要物质基础,与之相关的研究均集中于营养水平、各环境要素与群落结构之间现状调查的分析与判断^[11-12],但对于三峡水库运行下支流水域富营养化过程与藻类生长对 N、P 的实际消耗和需求变化的研究尚未开展. 生态化学计量学(ecological stoichiometry)作为研究水库生态系统的有效工具,结合了分析化学、生物学和生态学的理论,为生态过程中化学元素同生物、非生物要素协同变化规律的研究提供了科学的认识手段^[13-14]. Redfield 在浮游植物化学计量学领域做出了开创性的工作,他所提出的浮游植物 N、P 元素的摩尔比为 16:1^[15],该比例被广泛应用到水体营养状态的评价中^[16]. 而藻类生境中的 N、P 营养盐浓度在很大程度上影响着 Redfield N/P 比^[17],故水体供应的可溶性 N/P 比亦是本研究考量的重点. 因此,本研究从反映藻类生理特征的角度,通过采用原位试验的优势藻细胞 N/P 比和 Guildford 等^[18]的 TN/TP 限制性评价方法,并结合室内受控实验的临界(供应)N/P 比对不同运行时期三峡库区澎溪河的营养物限制性特点进行分析探讨,为水库运行下氮、磷营养物的控制提供前期研究基础.

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

1.1.1 区位与水系 澎溪河流域(31°00'~31°42'N,107°56'~108°54'E)位于三峡库区中段北岸,流域面积 5172.5 km²,干流全长 182.4 km,发源于重庆市开县白泉乡钟鼓村,于云阳县新县城(双江镇)汇入长江,河口距三峡大坝约 247 km,河道平均坡降 1.25‰. 澎溪河属典型支状流域(图 1),东河为澎溪河流域正源,自北向南流,于开县县城与南河汇合后,再于开县渠口与平行于南河流向的普里河汇合. 澎溪河是三峡库区中段北岸最大的支流,流域面积约为三峡库区总面积的 9.2%,同三峡库区其他支流相比,具有其典型性和代表性^[19].

1.1.2 气候气象特点 澎溪河流域气候条件受太平洋、印度洋季风及西风环流和青藏高原气旋的影响,属亚热带润湿季风气候,总体表现为气候温和、雨量充沛、四季分明、冬暖春早的特点. 其年平均气温 10.8~18.5℃,最冷月为 1 月和 2 月,平均气温 -0.1~7.0℃;最热月为 7 月和 8 月,平均气温 21.0~29.4℃. 多年平均太阳辐射量 3709.81 MJ/m²,年均日照 1463.1 h,多年平均水面蒸发量 584.6 mm,干旱指数约为 0.7^[19].

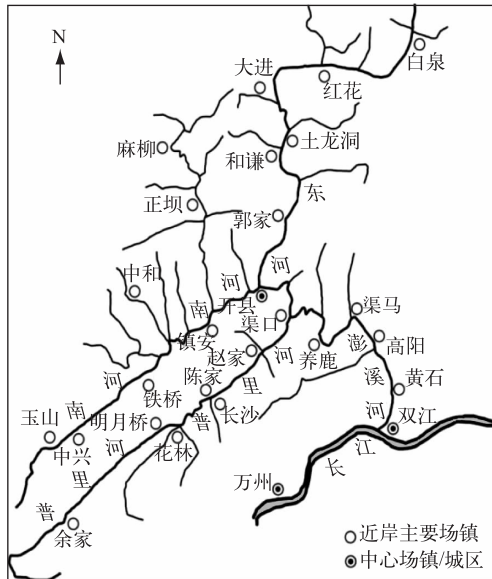


图1 澎溪河流域水系

Fig.1 River system of Pengxi River

mm 放至水面以下), 容积为 4 L, 所采用的筛网(瑞士 Sefar® 筛网)孔径为 $3\ \mu\text{m}$, 能够阻挡绝大多数藻类细胞的进出^[20].

试验水样采用表层湖水经 $3\ \mu\text{m}$ 筛网过滤(以去除湖水中原有的藻种和浮游动物的干扰)后注入培养装置中作为初始培养液. 培养对象选择近年三峡库区澎溪河典型优势藻种, 分别为水华鱼腥藻(*Anabaena flos-aquae*)、铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)、空球藻(*Eudorina* sp.) 和湖北小环藻(*Cyclotella hubeiana*), 每种藻均采用上述培养装置分别进行单独培养(图 2b). 藻种购买于中国科学院水生生物研究所(编号分别为 FACHB-245、FACHB-978、FACHB-646 和 FACHB-1030), 经实验室扩大培养后分别接种进入 4 个培养装置进行试验, 分组为 A、B、C 和 D, 藻种初始浓度为 $25\ \mu\text{g/L}$ 左右.

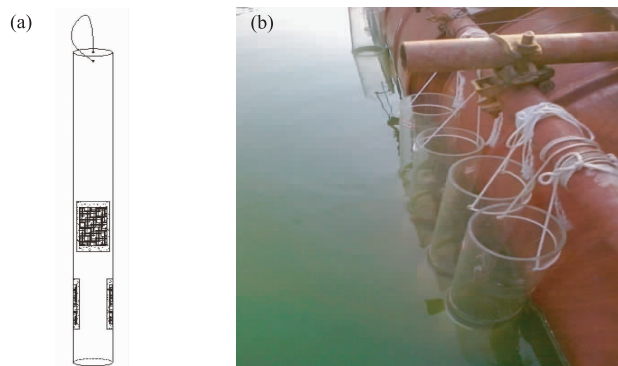


图2 培养装置示意图(a)及原位试验现场(b)

Fig.2 Sketch map of the incubation devices (a) and scene photographs of *in situ* incubation (b)

1.3 藻细胞和水质 N、P 营养盐指标测定

试验期间, 每天采集 4 个培养桶中的藻液用于细胞氮(Cell-N)和细胞磷(Cell-P)浓度的测定. Cell-N 浓度采用 EuroEA3000 元素分析仪进行测定, Cell-P 浓度采用 Pugo-Pay 和 Raimbault^[21] 改良的分光光度法进行

1.1.3 原位试验区域 位于澎溪河中游的高阳平湖为库区直接与干流相接的最大湖面, 该处水面变宽, 水体流速降低, 是近年库区水华暴发最为频繁的区域之一.

1.2 原位培养试验

根据三峡水库运行情况和团队前期的野外研究成果, 完整水库运行周期被划分为 3 个不同运行时期: (1) 低水位时期: 6—9 月; (2) 高水位时期: 10 月—次年 1 月; (3) 泄水时期: 2—5 月^[19]. 本研究在上述 3 个运行时期内, 分别选取 2016 年 7 月 14 日—7 月 21 日(低水位时期)、2016 年 12 月 29 日—2017 年 1 月 5 日(高水位时期)和 2017 年 3 月 25 日—2017 年 4 月 4 日(泄水时期)开展原位培养试验, 试验周期分别为 8、8 和 11 d. 其中, 试验的第 1 天和最后 1 天分别对应本研究的试验初期和末期.

本试验所用装置为团队设计的半封闭原位培养桶(专利号 ZL201120242491.2), 如图 2a 所示. 培养桶具备较高的透光性和通透性, 为侧壁四周交错开孔且开孔采用筛网覆盖的圆柱形有机玻璃桶, 直径 100 mm, 高 800 mm(含保护高 300 mm, 即装置仅下部 500

测定,具体测量方法为:采用孔径 $0.45\ \mu\text{m}$ 玻璃纤维滤膜(Whatman © GF/F 膜)收集藻细胞,将富集截留有藻细胞的滤膜置于 50 ml 具塞比色管中,加蒸馏水淹没滤膜并定容至 25 ml,加入 4 ml 过硫酸钾在 120°C 温度下消解 30 min 后,冷却至室温,再将溶液过滤以去除膜碎片与悬浮藻类碎屑的影响,收集滤液并定容至 50 ml,用钼锑抗分光光度法测定 Cell-P 浓度;将富集截留有藻细胞的滤膜于 65°C 烘 24 h 后,使用元素分析仪测量 Cell-N 浓度. 上述实验方法的重现性良好,Cell-N 和 Cell-P 的 R^2 分别为 0.9942 和 0.9912(图 3).

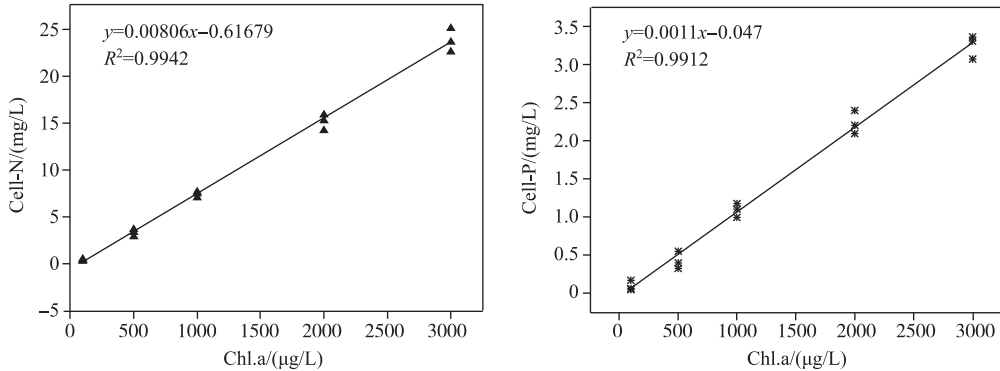


图 3 藻细胞 N、P 测定方法的重复性验证

Fig.3 Repeatability verified of algal Cell-N and Cell-P detected methods

同期使用 5 L 改良采水器采集表层 0.5 m 湖水用于营养盐指标的测定,包括叶绿素 a (Chl.a)、硝态氮 (NO_3^- -N)、铵态氮 (NH_4^+ -N)、总氮 (TN)、溶解性磷酸盐 (SRP)、总磷 (TP) 浓度等,上述所有指标测定参照《水和废水监测分析方法》(第四版)进行^[22],各指标分别进行 3 次重复实验.

1.4 数据处理及分析方法

用 Origin 9.0 软件对 Cell-N、Cell-P 浓度和生境要素指标进行统计分析,采用变异系数 (C_v) 表征数据变化幅度,数据采用平均值 \pm 标准误表示.

2 结果与分析

2.1 原位试验中水体 N、P 营养盐变化特征

低水位时期,天气晴多阴少,出现 3 次雷雨天气,降雨量为 $31.7\pm 21.7\ \text{mm}$,光照辐射强度 (PAR) 比较大,波动范围为 $7.02\sim 139.68\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,平均值为 $53.73\pm 8.06\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$. 水体中 SRP 和 TP 浓度均较低,尤其是 SRP 浓度甚至不能检出,最大值仅为 $0.47\ \mu\text{mol}/\text{L}$. 磷元素主要以颗粒态磷 (PP) 的形式存在,TP 浓度均值为 $2.02\pm 0.87\ \mu\text{mol}/\text{L}$. 而 TN 浓度相当高,最大值达到了 $121.67\ \mu\text{mol}/\text{L}$,均值为 $91.36\pm 23.46\ \mu\text{mol}/\text{L}$. TN 和 TP 浓度变化趋势在前 5 天基本一致,随后 TN 浓度增加、TP 浓度减少,第 8 天均维持在较低水平(表 1 和图 4).

高水位时期,天气多为晴天,伴有阴天多云,期间降雨一次,降雨量约为 $0.8\ \text{mm}$,PAR 较小,波动范围为 $19.99\sim 172.45\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,平均值为 $58.61\pm 10.36\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$. 水体中 SRP 浓度相对低水位时期有所上升,均值为 $2.46\pm 0.48\ \mu\text{mol}/\text{L}$. 磷元素的赋存形态以 SRP 为主,TP 浓度为 $2.12\sim 4.40\ \mu\text{mol}/\text{L}$. 这期间,TN 浓度依然比较高,均值为 $98.44\pm 14.89\ \mu\text{mol}/\text{L}$. TN 和 TP 浓度变化趋势在后 5 天保持一致,前 3 天 TP 浓度呈下降趋势、TN 浓度则先升高后降低(表 1 和图 4).

泄水时期,天气晴多阴少,无降雨,PAR 波动较大,变化范围为 $16.30\sim 577.45\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,平均值为 $199.41\pm 131.48\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$. 这一时期水体中 SRP 和 PP 浓度相当,均较低,TP 浓度均值为 $1.86\pm 1.27\ \mu\text{mol}/\text{L}$. 由于水体扰动程度强烈,磷元素的赋存形态并不以某一种形态为主而是兼而有之. TN 浓度在 $30.00\sim 115.84\ \mu\text{mol}/\text{L}$ 之间波动,均值为 $68.90\pm 22.91\ \mu\text{mol}/\text{L}$. TN 和 TP 浓度变化趋势大致保持一致,但 TN 浓度在第 3 天陡然降低(表 1 和图 4).

表 1 原位试验期间生境主要 N、P 营养盐浓度

Tab.1 The concentration of N and P nutrients in habitat niche during the *in situ* experiment

运行时期	项目	SRP	TP	NH ₄ ⁺ -N	NO ₃ ⁻ -N	TN
低水位时期	变化范围/($\mu\text{mol/L}$)	0~0.47	0.99~3.10	5.96~24.7	23.78~71.54	53.65~121.67
	均值/($\mu\text{mol/L}$)	0.23 \pm 0.25	2.02 \pm 0.87	12.68 \pm 6.76	47.66 \pm 18.50	91.36 \pm 23.46
	C _v 值	0.28	0.38	3.60	7.19	6.02
高水位时期	变化范围/($\mu\text{mol/L}$)	1.54~3.25	2.12~4.40	5.92~28.96	69.47~81.75	75.76~124.37
	均值/($\mu\text{mol/L}$)	2.46 \pm 0.48	3.36 \pm 0.78	14.47 \pm 7.56	76.61 \pm 3.82	98.44 \pm 14.89
	C _v 值	0.09	0.2	3.95	0.19	2.25
泄水时期	变化范围/($\mu\text{mol/L}$)	0.31~1.21	0.55~3.26	3.50~15.34	27.99~56.09	30.00~115.84
	均值/($\mu\text{mol/L}$)	0.56 \pm 0.33	1.86 \pm 1.27	9.99 \pm 5.29	45.55 \pm 11.47	68.90 \pm 22.91
	C _v 值	0.20	0.87	2.80	2.89	7.62

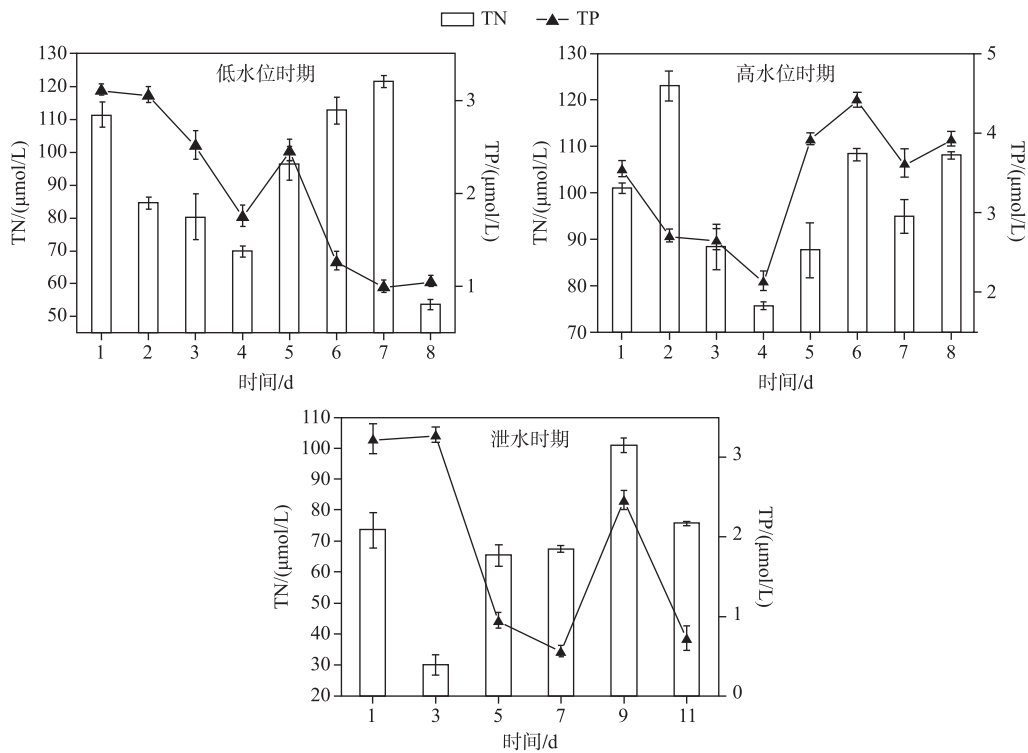


图 4 不同运行时期原位试验中生境 TN 和 TP 的变化特征

Fig.4 Variation characteristics of TN and TP during *in situ* experiments in three operating periods

2.2 原位试验中优势藻 Cell-N 和 Cell-P 变化特征

低水位时期, 4 组培养装置中优势藻 Cell-N 和 Cell-P 浓度变化趋势基本一致. 除了 D 组湖北小环藻外, A、B、C 3 组优势藻: 水华鱼腥藻、铜绿微囊藻、空球藻的 Cell-N 浓度基本都在同一水平, 后期均略有下降, 最终浓度分别稳定在 36.78 \pm 4.25、15.57 \pm 2.36 和 18.43 \pm 2.84 $\mu\text{mol/L}$, 而 D 组中 Cell-N 浓度在后期有所上升, 终值浓度为 75.74 \pm 16.94 $\mu\text{mol/L}$. A、B、C 3 组中优势藻 Cell-P 浓度的变化趋势为先上升后下降, 最后分别稳定在 1.35 \pm 0.17、1.17 \pm 0.11 和 1.77 \pm 0.11 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度水平. 同样, D 组中湖北小环藻 Cell-P 浓度在后期有所上升, 稳定在 3.20 \pm 0.28 $\mu\text{mol/L}$.

高水位时期, A、B、C、D 4 组优势藻的 Cell-N 变化相对稳定, 最后浓度分别为 14.29 \pm 4.78、17.97 \pm 5.49、

13.05±3.08 和 14.29±0.76 $\mu\text{mol/L}$ 。除了 C 组空球藻的 Cell-P 在后期呈上升趋势外,其他 A、B、D 3 组优势藻:水华鱼腥藻、铜绿微囊藻、湖北小环藻的 Cell-P 与 Cell-N 的变化趋势一致。4 组优势藻 Cell-P 的末期浓度分别为 1.22±0.06、0.72±0.22、3.94±0.63 和 0.98±0.07 $\mu\text{mol/L}$ 。

泄水时期,A 组水华鱼腥藻和 B 组铜绿微囊藻的 Cell-N 浓度在整个培养阶段比较稳定,末期浓度值分别为 27.96±1.50 和 37.81±1.17 $\mu\text{mol/L}$,C 组空球藻和 D 组湖北小环藻的 Cell-N 浓度均处于上升趋势,末期的 Cell-N 浓度分别为 103.97±14.06 和 74.38±12.29 $\mu\text{mol/L}$ 。而 4 组优势藻 Cell-P 浓度的变化呈先上升后下降的趋势,末期浓度分别维持在 3.20±0.09、2.95±0.20、5.48±0.44 和 1.09±0.51 $\mu\text{mol/L}$ 的水平。

不同时期原位试验中 4 组优势藻的 Cell-N、Cell-P 变化过程如图 5 所示。

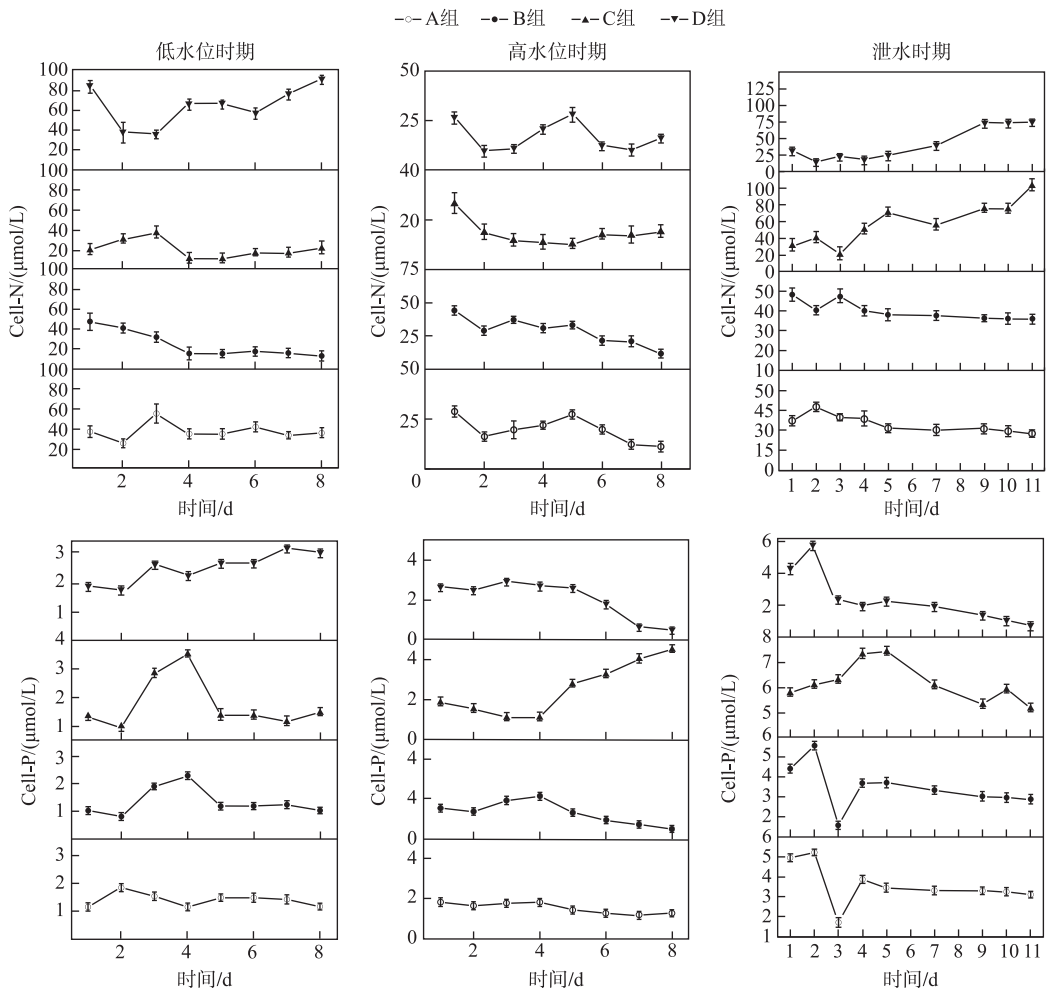


图 5 不同运行时期原位试验中优势藻 Cell-N 和 Cell-P 浓度的变化特征

Fig.5 Variation characteristics of Cell-N and Cell-P of dominate algae species during *in situ* experiments in different operating periods

2.3 原位试验中优势藻和水体 Chl.a 变化特征

低水位时期,4 组优势藻种的初始 Chl.a 浓度在 21.17~35.86 $\mu\text{g/L}$ 之间,A 组水华鱼腥藻和 B 组铜绿微囊藻的 Chl.a 浓度自试验初期就缓慢下降,即前期生物量下降最后藻种基本全部死亡,组间无显著性差异 ($P>0.05$)。C 组空球藻和 D 组湖北小环藻的 Chl.a 浓度变化趋势一致,试验初期生物量开始累积,而从第 5

天起藻种大量死亡,随后生物量稳定在较低水平,且组间无显著性差异($P>0.05$).湖水中的藻种生物量在试验期间先降低后升高,均值为 $43.94\pm 23.00\ \mu\text{g/L}$,期间为水华暴发时期.第5天开始,除了湖水中藻种外,4组优势藻种生物量均出现负增长或增长缓慢的情况,这可能是由于试验期间的光照强度较大,而所培养的藻种均处于表层,没有相应地上浮或者下沉来自我保护,或者是由于有效利用光强的空间不在装置培养范围内(图6).

高水位时期,4组优势藻种的Chl.a初始浓度在 $39.3\sim 57.17\ \mu\text{g/L}$ 之间,A组水华鱼腥藻、B组铜绿微囊藻和D湖北小环藻的Chl.a浓度从试验初期就呈现下降趋势,最后B、D组装置中藻种基本全部死亡,A组藻种Chl.a浓度稳定在 $23.13\pm 1.23\ \mu\text{g/L}$,组间无显著性差异($P>0.05$).C组空球藻培养初期生物量基本不变,维持在 $26.97\pm 8.87\ \mu\text{g/L}$,第5天开始藻种生物量持续积累,在试验末期Chl.a浓度达到 $84.97\pm 13.98\ \mu\text{g/L}$.湖水中藻种浓度始终维持在相对较低的范围内,Chl.a浓度为 $3.76\pm 0.96\ \mu\text{g/L}$ (图6).

泄水时期,4组优势藻种的Chl.a初始浓度在 $12.38\sim 32.86\ \mu\text{g/L}$ 之间,A组水华鱼腥藻和B组铜绿微囊藻的Chl.a浓度自试验初期就缓慢下降,第5天藻种基本全部死亡,组间无显著性差异($P>0.05$).C组中生物量先上升,自第6天开始出现波动,试验末期的Chl.a浓度为 $46.02\pm 14.04\ \mu\text{g/L}$.D组湖北小环藻生物量前3天呈下降趋势,Chl.a浓度维持在 $26.01\pm 8.05\ \mu\text{g/L}$,第3天呈现指数增长,末期Chl.a浓度达到 $150.83\pm 7.71\ \mu\text{g/L}$ (图6).

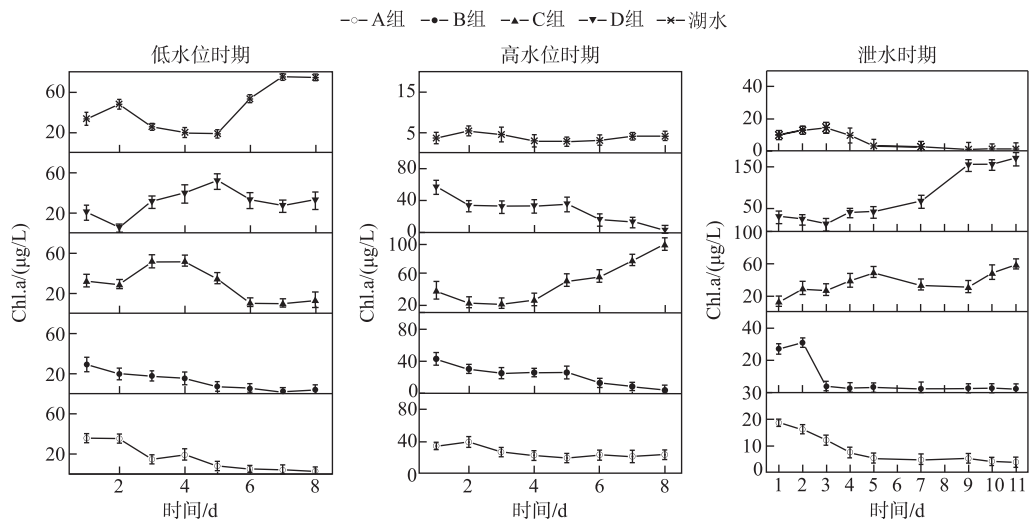


图6 不同运行时期原位试验中湖水和优势藻 Chl.a 浓度的变化特征

Fig.6 Variation characteristics of Chl.a concentration of the lake water and dominate algae species during *in situ* experiments in three operating periods

3 讨论

水库营养盐相对丰度变化影响藻类的生长,如何更明确地判断一个水体的营养状况以提供更合理、有效的环境管理措施,是研究水库水环境氮、磷营养物限制的目的.通过对不同水生生态系统氮、磷相对关系的研究,Guildford等^[18]提出了基于营养物总量形式的氮、磷限制性标准: $\text{TN}/\text{TP}>50$ (摩尔比,下同)为磷限制, $\text{TN}/\text{TP}<20$ 为氮限制.低生长速率下,藻细胞N、P元素的构成比例不随环境中N/P供应比例的变化而变化^[23].此时,藻细胞按该比例吸收营养物直至其中一营养物浓度降低至临界浓度,随后另一营养物被过量消耗.而在高生长速率下,藻细胞N/P比会根据环境中供应N/P比呈趋向性变化,最终达到临界N/P比^[24].因此,本文采用临界N/P比和细胞N/P比两种评价方法来判断藻类的营养限制状态.

3.1 临界(供应)N/P比相对限制评价结果

低水位时期,试验初期供应N/P比(摩尔比,下同)为 31.81 ± 4.01 ,试验末期供应N/P比明显增加,为

88.13±15.89(图 7a),这是由生境中的氮浓度上升而磷浓度下降造成的.低水位运行时期,主汛期的到来对水体有一定程度的扰动,汛期上游水体携带入泥沙及其他颗粒物,且优势藻种的大量繁殖使得该时期水体的透明度及真光层不高,并且水体中光照强度的衰减程度较大,此时的 PAR 在 50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 左右.根据作者所在团队前期室内研究结果^[25],光强为 50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的临界 N/P 比的阈值在 15~30 之间,供应 N/P<15 为氮限制,而>30 则为磷限制.据此,此时的水体不论是在初期还是末期,水环境供应 N/P 均大于 30(图 6),尤其是在末期,较低的 SRP 导致了极低的 P 浓度,从而导致供应 N/P 较高,整个水体呈现出磷限制状态.

高水位时期,PAR 在 50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 左右,试验初期供应 N/P 比为 26.21±0.97,无显著的氮或者磷限制,同样试验末期胞外 N/P 比为 14.54±1.51,仍无显著的氮或者磷限制(图 7a).高水位研究期间,由于库容的增加和降雨量的减小,水体的扰动程度不大,透明度和真光层深度均较大,营养盐相对低水位时期较为丰富,而这个时期的光热输入是全年中最低的,水体中的生物量较低,低扰动和低降雨量使得营养盐浓度在 3 个时期中最丰富且波动最小,水体整体上也并没有强烈的氮或者磷的相对限制问题.

泄水时期,PAR 在 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 左右,临界 N/P 比在 30~45 之间,运行初期供应 N/P 比为 16.04±9.70,呈氮相对限制状态;而末期供应 N/P 比为 69.68±13.09,水体呈现磷相对限制状态(图 7a).泄水时期的水温逐渐上升,光强也增大,水体扰动增强,供应 N/P 比的波动也较大.

3.2 细胞 N/P 比相对限制评价结果

低水位时期,根据作者所在团队前期研究结果,PAR 为 50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,细胞 N/P 比的临界值在 12.32~27.04 之间^[25].从细胞 N/P 比(Cell-N/Cell-P 摩尔比,下同)的角度,水华鱼腥藻、铜绿微囊藻、空球藻和湖北小环藻在试验初期以及末期的细胞 N/P 比分别为 22.89±1.89、47.65±1.79、23.97±1.07 和 32.77±1.61 以及 27.44±1.68、13.31±1.30、31.56±3.41 和 23.59±4.11(图 7b).水华鱼腥藻在试验初期无氮或磷营养盐的相对限制,而在试验末期处于磷限制状态.初期水华鱼腥藻对氮、磷均有一定吸收,随着培养的进行,氮、磷被消耗,但由于水华鱼腥藻的固氮作用,使得末期呈现出磷限制,这与临界 N/P 比评价一致.同样,空球藻由初期不受氮、磷限制的状态逐渐在末期受到磷的相对限制.铜绿微囊藻由初期的磷限制转变为末期的氮限制,且湖北小环藻于初期处于磷限制状态而末期无氮或磷的相对限制.造成这种不同评价结果的原因可能是,水华鱼腥藻和空球藻对物质的利用程度更大,能够过量吸收磷,因此初期不受磷限制;而低水位时期较强的扰动和较高的温度不利于藻种的生长,高光热条件使得光合作用受到一定影响,藻细胞通过调整光捕获色素蛋白以及光合传递链中蛋白含量以避免光氧化损伤^[26],进而引起对氮、磷需求的变化,因此铜绿微囊藻和湖北小环藻两个藻种 Cell-N 浓度从第 4 天开始处在较低水平.与此同时,水体低磷环境使得藻种一直处在磷“饥饿”状态,后期径流或者降雨携带磷进入水体,进而影响到藻细胞的吸收,因此 Cell-P 浓度在末期有所增加.

高水位时期,PAR 为 50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,水华鱼腥藻、铜绿微囊藻、空球藻和湖北小环藻在试验初期以及末期的细胞 N/P 比分别为 12.35±1.22、23.16±0.72、12.56±1.94 和 5.90±0.99 以及 12.66±1.72、25.14±1.44、3.68±1.69 和 18.43±2.59(图 7c).试验初期水华鱼腥藻、铜绿微囊藻和空球藻没有显著氮或者磷限制,湖北小环藻受到氮相对限制,而在末期除空球藻受氮限制外,各藻种均无明显氮或者磷限制.各藻种细胞 N/P 比与水体中临界 N/P 受限状态基本一致.这可能是由于高水位期间光热条件较差,藻类细胞通过提高生长速率使得细胞 N/P 比与实际需求比率相接近,以增加胞内光捕获蛋白浓度来适应低光辐射强度.

泄水时期,PAR 在 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 左右,作者所在团队前期实验结果^[25]表明,细胞 N/P 比的临界值在 17.63~31.86 之间,水华鱼腥藻、铜绿微囊藻、空球藻和湖北小环藻在试验初期以及末期的细胞 N/P 比分别为 7.93±1.83、9.79±1.82、11.54±1.23 和 7.37±1.19 以及 8.73±1.77、12.60±1.36、18.99±1.63 和 67.88±1.44(图 7d).各优势藻在试验初期均呈现出氮限制,与临界 N/P 评价结果一致.除了湖北小环藻在末期呈现出磷相对限制外,水华鱼腥藻和铜绿微囊藻在试验末期仍呈现氮限制状态.这可能是由于水体营养盐的较强波动,水华鱼腥藻和铜绿微囊藻对高扰动条件适应较差,而适应高扰动条件的空球藻和湖北小环藻对营养盐进行吸收、转化,空球藻中 Cell-N 浓度不断上升而 Cell-P 浓度下降,但是可能由于培养周期较短,因而空球藻 Cell-P 水平仍然较高,而湖北小环藻细胞 N/P 比处于较高水平.除此之外,该时期较高的光辐射强度也

导致了各优势藻通过降低胞内光捕获蛋白浓度以避免光损伤,故 Cell-N 浓度总体偏低,呈现出氮限制状态.

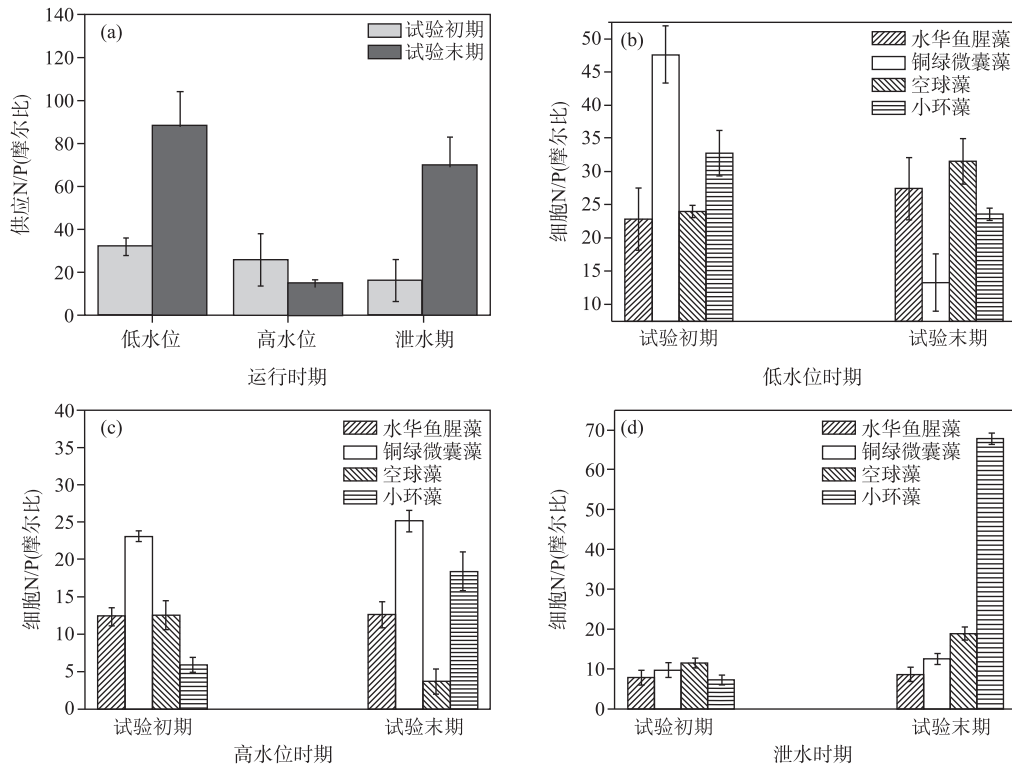


图 7 不同运行时期供应 N/P 比和细胞 N/P 比的变化特征

Fig.7 Variation characteristics of supply N/P and cellular N/P in different operating periods

3.3 Guildford 限制性标准评价结果

基于 Guildford 等^[18]的氮、磷限制性标准:TN/TP>50 为磷限制,TN/TP<20 为氮限制. 低水位时期,试验初期 TN/TP 比为 14.41 ± 1.82 ,末期为 39.85 ± 16.22 ,初期并没有 TN 或者 TP 限制,而在末期整个水体逐渐表现为磷相对限制;高水位时期,试验初期 TN/TP 比为 16.21 ± 3.97 ,末期为 13.54 ± 0.68 ,整个试验期间的 TN/TP 比稳定在一个适中的值并且变化范围比较小,在 10.13~20.62 之间波动,没有出现氮或者磷相对限制的情况;泄水时期,试验初期 TN/TP 比为 17.03 ± 13.87 ,末期为 67.85 ± 21.67 ,泄水期由于人工调蓄造成水体扰动程度较大,导致营养盐浓度的波动也较大,试验初期水体并未表现出明显的氮或者磷限制,水体偶尔会出现氮限制的情况,而试验末期整个水体表现出明显的磷限制.

Guildford 限制性标准的评价结论与本研究原位试验的结论基本一致,说明临界 N/P 比和细胞 N/P 比在本次原位试验中的评价效果良好且具有一定参考性. 就 3 个研究阶段来说,水体藻类生长容易出现磷限制的特征,而各个优势藻种内部 Cell-N 和 Cell-P 浓度也受到水体中供应 N/P 比的影响,虽然藻种本身的差异和光照等外部环境的影响使得细胞 N/P 比和供应 N/P 比存在一定出入,但在总体上呈现出一致性,而室内的模拟实验结论用于野外水体的预测具有一定的指示作用.

4 结论

1) 基于 Guildford 的评价标准发现,低水位时期,试验初期水体营养状况对典型优势藻种并无显著限制,但试验末期则表现为磷相对限制. 高水位时期,试验期间水体对藻种没有营养盐的相对限制;泄水时期试验初期水体对藻种没有显著的营养物相对限制,但试验末期表现为磷的相对限制.

2) 临界 N/P 比同 Guildford 评价标准的判别结果基本一致。低水位时期,各优势藻种在试验初期和末期均受磷相限制;高水位时期,无论试验初期或末期,所有优势藻种均未呈现显著的营养盐限制;泄水时期,试验初期各优势藻种均处于氮限制状态,末期则呈现出磷限制状态。上述结果说明本研究所述的临界 N/P 比的阈值范围能够从藻类细胞生理的角度对水体的营养状况作出初步评价。

3) 细胞 N/P 比作为生理指标,对临界 N/P 比起着辅助判断作用,受生长速率影响,在低生长速率条件下,细胞 N/P 比的判别效果更好,而在指数生长阶段,临界 N/P 比则更具现实意义。同时,Cell-N 浓度的变化能够在一定程度上解释藻细胞氮、磷需求与光适应的关系。当 PAR 较低时,各优势藻通过增加胞内光捕获蛋白浓度来适应较低光辐射强度,进而 Cell-N 浓度升高;相反地,当 PAR 较高时,各优势藻细胞的 Cell-N 浓度降低,这是为避免光损伤而减少胞内光捕获蛋白浓度的结果。

5 参考文献

- [1] Lehner B, Liermann CR, Revenga C *et al* eds. Global reservoir and dam (grand) database. Technical Documentation; Version 1.1, 2011.
- [2] Elser JJ, Sterner RW, Gorokhova E *et al*. Biological stoichiometry from genes to ecosystem. *Ecology Letters*, 2010, **3**(6): 540-550. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2000.00185.x.
- [3] Heisler J, Gilbert PM, Anderson DM *et al*. Eutrophication and harmful algal blooms: A scientific consensus. *Harmful Algae*, 2008, **8**: 3-13. DOI: 10.1016/j.hal.2008.08.006.
- [4] Kuang QJ, Zhou GJ, Hu ZY. Changes in algal community structure and algal density in relation to TN and TP in the Three Gorges Reservoir. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2007, **16**(2): 231-235. [况琪军, 周广杰, 胡征宇. 三峡库区藻类种群结构与密度变化及其与氮磷浓度的相关性分析. 长江流域资源与环境, 2007, **16**(2): 231-235.]
- [5] Zeng H, Song LR, Yu ZG *et al*. Preliminary study on algal blooms within the Three Gorges Reservoir. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2007, **16**(3): 336-339. [曾辉, 宋立荣, 于志刚等. 三峡水库“水华”成因初探. 长江流域资源与环境, 2007, **16**(3): 336-339.]
- [6] Zheng BH, Cao CJ, Qin YW *et al*. Analysis of nitrogen distribution characters and their sources of the major input rivers of Three Gorges Reservoir. *Environmental Science*, 2008, **29**(1): 1-6. [郑丙辉, 曹承进, 秦延文等. 三峡水库主要入库河流氮营养盐特征及其来源分析. 环境科学, 2008, **29**(1): 1-6.]
- [7] Li Z, Guo J, Fang F *et al*. The nutrients-phytoplankton relationship under artificial reservoir operation: a case study in tributaries of the Three Gorge Reservoir, China. In: Han BP, Liu Z eds. *Monogra Biol 91: Tropical and sub-tropical reservoir limnology in China: theory and practice*. New York: Springer, 2010: 193-200.
- [8] Huang YL, Liu DF, Chen MX. Simulation of algae bloom under different flow velocity. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, **19**(10): 2293-2298. [黄钰铃, 刘德富, 陈明曦. 不同流速下水华生消的模拟. 应用生态学报, 2008, **19**(10): 2293-2298.]
- [9] Li Z, Fang F, Guo JS *et al*. Spring algal bloom and nutrients characteristics in Xiaojiang River backwater area, Three Gorge Reservoir. *J Lake Sci*, 2009, **21**(1): 36-44. DOI:10.18307/2009.0105. [李哲, 方芳, 郭劲松等. 三峡小江回水区段 2007 年春季水华与营养盐特征. 湖泊科学, 2009, **21**(1): 36-44.]
- [10] Zhang S, Li CM, Fu YC *et al*. Trophic states and nutrient output of tributaries bay in Three Gorges Reservoir after impoundment. *Environmental Science*, 2008, **29**(1): 7-12. [张晟, 李崇明, 付永川等. 三峡水库成库后支流库湾营养状态及营养盐输出. 环境科学, 2008, **29**(1): 7-12.]
- [11] Zheng BH, Zhang Y, Fu G *et al*. On the assessment standards for nutrition status in the Three Gorge Reservoir. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, **26**(6): 1022-1030. [郑丙辉, 张远, 富国等. 三峡水库营养状态评价标准研究. 环境科学学报, 2006, **26**(6): 1022-1030.]
- [12] Xu QJ, Zheng BH, Zhu YZ *et al*. Nutrient status evaluation for tributary of Three Gorges Reservoir. *China Environmental Science*, 2010, **30**(4): 453-457. [许秋瑾, 郑丙辉, 朱延忠等. 三峡水库支流营养状态评价方法. 中国环境科学, 2010, **30**(4): 453-457.]
- [13] Sterner RW, Elser JJ eds. *Ecological stoichiometry: the biology of elements from molecules to the biosphere*. New Jersey: Princeton University Press, 2002: 1-43.

- [14] Xu L, Shao XG eds. Chemometrics methodology: 2nd version. Beijing: Science Press, 2004: 1-65. [许禄, 邵学广著. 化学计量学方法: 第二版. 北京: 科学出版社, 2004: 1-65.]
- [15] Redfield AC. The biological control of chemical factors in the environment. *Science Progress*, 1960, **11**: 150-170.
- [16] Tyrrell T. The relative influences of nitrogen and phosphorus on oceanic primary production. *Nature*, 1999, **400**(6744): 525-531. DOI: 10.1038/22941.
- [17] Galbraith ED, Martiny AC. A simple nutrient-dependence mechanism for predicting the stoichiometry of marine ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, **112**(27): 8199-8204. DOI: 10.1073/pnas.1423917112.
- [18] Guildford SJ, Hecky RE. Total nitrogen, total phosphorus, and nutrient limitation in lakes and oceans: Is there a common relationship? *Limnology and Oceanography*, 2000, **45**(6): 1213-1223. DOI: 10.4319/lo.2000.45.6.1213.
- [19] Guo JS, Li Z, Fang F eds. Response and mechanism of ecoenvironment to reservoir operation of the Three Gorges: Study on water environment in Pengxi river, a typical tributary of the Yangtze. Beijing: Science Press, 2017: 138-150. [郭劲松, 李哲, 方芳著. 三峡水库运行对其生态环境的影响与机制: 典型支流澎溪河水环境变化研究. 北京: 科学出版社, 2017: 138-150.]
- [20] Li Z, Xie D, Guo JS *et al.* Preliminary study on in situ growth rate of dominant algae species in Pengxi River of the Three Gorges Reservoir. *J Lake Sci*, 2012, **24**(5): 746-754. DOI: 10.18307/2012.0516. [李哲, 谢丹, 郭劲松等. 三峡水库澎溪河典型优势藻原位生长速率的初步研究. 湖泊科学, 2012, **24**(5): 746-754.]
- [21] Pujol M, Raimbault P. Improvement of the wet-oxidation procedure for simultaneous determination of particulate organic nitrogen and phosphorus collected on filters. *Marine Ecology Progress Series*, 1994, **105**(1): 203-207. DOI: 10.3354/meps105203.
- [22] "Water and wastewater monitoring and analysis method" editorial board of State Environmental Protection Administration of China ed. Monitoring and analysis methods of water and wastewater: fourth edition. Beijing: China Environmental Science Press, 2002: 243-285. [国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法: 第4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 243-285.]
- [23] Klausmeier CA, Litchman E, Levin SA. Phytoplankton growth and stoichiometry under multiple nutrient limitation. *Limnology and Oceanography*, 2004, **49**(4): 1463-1470. DOI: 10.4319/lo.2004.49.4_part_2.1463.
- [24] Hillebrand H, Steinert G, Boersma M *et al.* Goldman revisited: Faster-growing phytoplankton has lower N:P and lower stoichiometric flexibility. *Limnology & Oceanography*, 2013, **58**(6): 2076-2088. DOI: 10.4319/lo.2013.58.6.2076.
- [25] Yang M. Effect of irradiance and N/P ratio on algae species in Pengxi River of the Three Gorges Reservoir [Dissertation]. Chongqing: Chongqing University, 2013. [杨梅. 光照、N/P 协同对三峡澎溪河典型优势藻的影响研究 [学位论文]. 重庆: 重庆大学, 2013.]
- [26] Falkowski PG, Laroche J. Acclimation to spectral irradiance in algae. *Journal of Phycology*, 1991, **27**(1): 8-14. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1991.00008.x.