

北部湾冬季的生物固氮作用

石荣贵^{1,2}, 连忠廉^{3,4}, 龙爱民¹, 郑爱榕⁴, 陈敏⁴, 吕娥⁴

(1. 中国科学院南海海洋研究所热带海洋环境国家重点实验室 广东 广州 510301; 2. 中国科学院研究生院 北京 100049;
3. 国家海洋局南海环境监测中心 广东 广州 510300; 4. 厦门大学 海洋与环境学院海洋学系 福建 厦门 361005)

摘要: 2006年12月至2007年1月(冬季)期间,对北部湾海区的生物固氮作用进行了初步研究。结果表明:当培养时间为2 h时,水体浮游生物固氮速率最高,且固氮速率随着培养时间的延长而逐渐降低。北部湾冬季固氮速率存在周日变化,8:10~11:10时段内固氮速率达到最高值。10 m和30 m水深在夜间仍能检测到固氮活性,这可能是浮游生物昼夜垂直移动引起的。北部湾冬季固氮速率的范围为447.5~1447.2 pmol/(L·h),固氮速率呈现出从湾内往湾外不断增加的趋势,湾口海区(B06站)的积分固氮速率为319.5 μmol/(m²·d)。B06站Fe加富实验表明,添加100 nmol/L Fe能够明显促进生物固氮作用,北部湾冬季湾口海区生物固氮作用可能受到Fe限制。

关键词: 生物固氮; Fe限制; 北部湾; 冬季

中图分类号: Q178.53 文献标识码: A 文章编号: 1007-6336(2012)03-0524-05

Biological fixed nitrogen of Tokin Gulf in winter

SHI Rong-gui^{1,2}, LIAN Zhong-lian^{3,4}, LONG Ai-min¹, ZHENG Ai-rong⁴, CHEN Min⁴, LV E⁴

(1. State Key Laboratory of Oceanography in the Tropics, South China Sea Institute of Oceanology, CAS, Guangzhou 510301, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. South China Sea Branch, State Oceanic Administration, Guangzhou 510300, China. 4. Department of Oceanography, College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The biological nitrogen fixation rates were investigated in Tokin Gulf waters in winter from Dec. 2006 to Jan. 2007. The nitrogen fixation rates were decreased as extension of culture time, the optimal culture time was 2 h. The nitrogen fixation rates showed diurnal variations, the highest nitrogen fixation rate appeared at 8:10~11:10, the diazotrophs still have the nitrogen fixation activity during the night at the depths of 10 m and 30 m, which may result from the diurnal migration of planktons. The nitrogen fixation rates ranged from 447.5 pmol/(L·h) to 1447.2 pmol/(L·h) of Tokin Gulf waters in winter. Which showed a longitudinally increasing trend, the integral nitrogen fixation rate at station B06 was 319.5 μmol/(m²·d). The iron enrichment experiment at the mouth of the bay (B06) showed that the biological nitrogen fixation significantly promoted by adding iron concentration of 100 nmol/L. The biological nitrogen fixation rates at the bay mouth might be iron limited.

Key words: nitrogen fixation; iron limitation; Tokin Gulf; winter

海洋中有着极其丰富的固氮生物种群和多样的共生固氮方式,海洋生物固氮是海洋中“新N”的重要来源。海洋生物固氮与光合固碳密切联系、相辅相成,对海洋浮游植物生物量和初级生产力调控有重要促进作用,并影响海洋中C、N、P等生源要素的生物地球化学循环^[1-4]。

尽管海洋生物固氮潜力巨大,由于受到各种物理、化

学和生物因子的共同限制作用,使得海洋生物固氮总量不可能无限增加^[1,5-15]。Fe是海洋浮游植物的必需微量元素^[16]。Fe的有机络合作用、颗粒活性以及受到浮游植物的吸收作用,再加上外源Fe的输入有限,全球许多海区(特别是大洋海区)表层水中活性Fe浓度不能满足浮游植物生长和固氮作用的需要^[17]。与大洋相比,虽然近

收稿日期: 2011-05-14, 修订日期: 2011-08-16

基金项目: 国家自然科学基金重大研究计划重点项目资助(90411016); 国家教育部高等学校骨干教师计划基金资助项目

作者简介: 石荣贵(1984-),男,福建省龙岩市人,硕士研究生,主要从事海洋环境地球化学研究, E-mail: shironggui09@mails.gucas.ac.cn

通讯作者: 连忠廉, E-mail: williamsocean@gmail.com

岸海区 Fe 的含量较高,然而浮游植物群落对 Fe 的需求也更大,Fe 限制的阈值较高^[18]。特别是在特定的地形、水文等条件下,Fe 很可能成为限制因子,成为近岸海区赤潮的主要激发因子之一^[19-22]。

目前有关中国近海的生物固氮作用研究还比较薄弱,研究区域主要集中在东海南部和南海北部^[23-24],还未见有关中国近海固氮总量以及固氮作用限制因子方面的报道。北部湾位于南海西北部,是一个天然的亚热带半封闭海湾,具有丰富的海洋生物资源,是我国的第四大渔场^[25]。本文首次在北部湾海区对生物固氮的时空变化进行了研究,并通过现场 Fe 加富培养实验,探讨了 Fe 对北部湾生物固氮作用的影响,对北部湾生物固氮的调控因子进行了初步讨论。

1 材料与方法

1.1 调查站位与样品采集

于2006年12月~2007年1月(冬季)期间,搭乘“实验2号”科考船完成现场采样和培养实验。采样站位如图1所示,选择B06站进行固氮的时间变化和Fe添加实验。表层海水用洁净的塑料桶打取,其它水层水样用Ni-skin 采水器采集,将水样分装到含硅胶垫橡皮塞的250 mL 盐水瓶中进行现场培养。按采样层次设置不同的培养箱,培养箱上覆盖遮光网以模拟现场光强。水柱中光的衰减系数由实测透明度估算得到^[26]。抽取表层循环海水以保持培养箱内水温恒定。

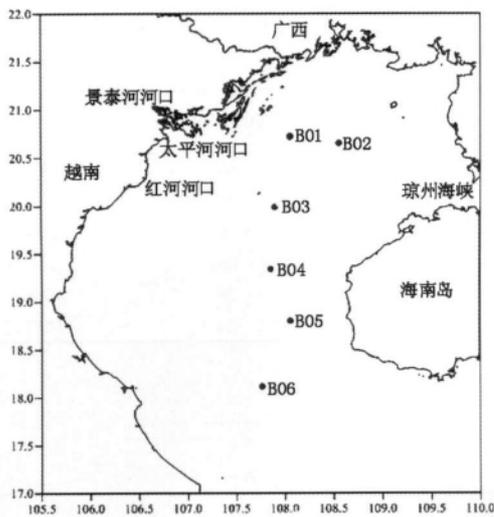


图1 北部湾冬季采样站位

Fig. 1 Locations of sampling stations of Tokin Gulf in winter

温度和盐度用CTD测定。水样经450℃下灼烧4 h后的GF/F滤膜过滤后,分别采集滤液和滤膜,以测定营养盐(N、P)和叶绿素a。Fe加富实验中,Fe标准储备液(0.01 mol/L)用优级纯FeCl₃与EDTA按照1:1.5比例配制^[27]。盐水瓶中最终外加Fe浓度分别为0,10,50,100,1000 nmol/L。

1.2 相关参数的测定

固氮速率的测定用乙炔还原法^[28],盐水瓶中乙炔气

体体积比约为10%,将盐水瓶底部朝上置于上述培养箱中培养2 h,用GC900型气相色谱仪(上海科创仪器公司)测量乙炔还原活性,本研究用C₂H₂/N₂换算因子为4:1。乙炔还原活性的单位为pmolN/(L·h)(每升水样中的固氮生物每小时固氮的pmol数)。营养盐的测定按照《海洋监测规范第4部分:海水分析》(GB 17378.4-1991)进行,叶绿素a样品用5 mL的90%丙酮溶液暗处冷冻萃取24 h后,用Turner Designs -Au 荧光仪测定。

采样和培养实验器皿均在10%盐酸中浸泡7 d后,用蒸馏水充分洗涤。每组实验设置三个平行,所有实验数据均用SPSS 17.0 统计分析软件处理。

2 结果与讨论

2.1 不同培养时间对固氮速率测定的影响

在海洋生物固氮速率的测定中,不同研究者所采用的培养时间往往不一致。如:Williams和Carpenter^[29]在夏威夷附近卡内奥赫湾进行固氮速率现场测定时,采用1 h的培养时间,Fu和Bell^[30]采用3 h培养时间;而Steppe等^[31]则将培养时间设为24 h。因此,为了提高现场培养效率,有必要对培养时间进行优化。

本文比较了在不同培养时间条件下生物固氮速率的差异。结果表明,随着培养时间的延长,实测固氮速率值逐渐降低,其中2 h培养时间所得固氮速率值最高,当培养时间为24 h时,所测得的固氮速率值仅为2 h时的12%(图2)。实测固氮速率随培养时间延长而降低的原因可能是光合作用所产生的氧对固氮酶活性具有抑制作用^[6]。

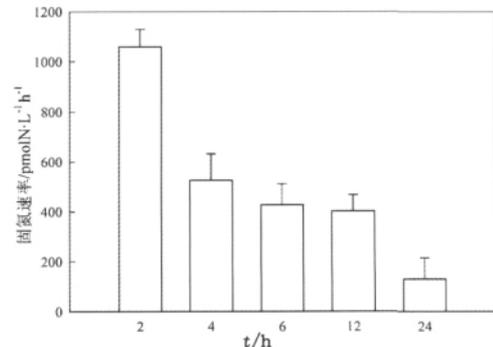


图2 不同培养时间条件下所得固氮速率比较

Fig. 2 Comparison of nitrogen fixation rates of different culture time

2.2 固氮速率的周日变化

B06 站水深0 m和50 m生物固氮速率周日变化的结果(图3)表明,固氮速率在8:10~11:10时段内最高,其次为11:10~14:10时段。中午时间段固氮速率低于上午,可能是中午时段的固氮酶活性受到光抑制作用^[7]。伴随着上午和中午时段水体表层浮游植物繁殖和固氮作用对营养物质的大量消耗,在14:10~17:10和0:10~3:10时段内,0 m固氮速率均低于检测限。水深10 m和30 m固氮速率的周日变化情况与0 m和50 m类似,均在8:10~11:10时段内固氮速率具有最高值,不同的是,10

m 和 30 m 水深在夜间 0:10 ~ 3:10 时段内仍能测出固氮作用的发生,且固氮活性高于 11:10 ~ 14:10 时段,这可能是由于固氮藻在夜间下沉,在次表层聚集,但很难达到 50 m 水深,因此在 0:10 ~ 3:10 时段 50 m 固氮速率低于检测限。14:10 ~ 17:10 时段 50 m 固氮速率未检出也可能是由于固氮生物丰度较低或者营养物质不足造成的。束毛藻被认为是海洋中分布最广的固氮蓝藻,但其只能在白天固氮^[32],研究表明,某些固氮藻类(如海洋球形蓝细菌等)固氮与固碳具有昼夜错开的现象,白天进行光合作用,夜晚光合作用停止时则进行生物固氮^[33]。因此,北部湾除了束毛藻等固氮蓝藻以外,还可能存在着其它能够在夜间固氮的微生物。有关北部湾固氮生物的群落组成目前尚未有文献报道,还有待进一步研究。

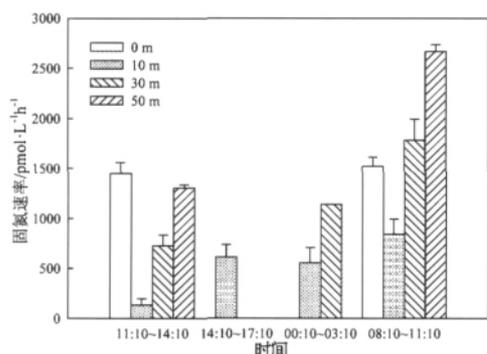


图3 固氮速率的周日变化

Fig. 3 Diurnal variation of nitrogen fixation rates

2.3 冬季北部湾水体的固氮速率

表1 北部湾冬季表层水体固氮速率

Tab. 1 Surface nitrogen fixation rates in Tokin Gulf in winter

站位	$T/^\circ\text{C}$	S	$c/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$					DIN/DIP	表层固氮速率 / $\text{pmol}(\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$
			NO_3^-	NO_2^-	NH_4^+	DIN	DIP		
B01	20.82	33.04	0.21	0.05	0.41	0.67	0.01	67	447.5
B02	22.25	33.09	1.79	0.29	0.21	2.29	0.10	23	761.8
B03	22.00	33.89	-	-	0.04	0.04	0.03	1	926.1
B04	23.05	33.80	0.90	0.09	0.61	1.60	0.01	160	773.5
B05	23.70	33.59	1.27	0.07	0.61	1.96	0.10	20	1086.0
B06	24.36	33.87	0.32	-	0.39	0.71	0.03	24	1447.2

注:“-”表示未检出,“DIN”表示总溶解无机氮,“DIP”表示总溶解无机磷。

表2 世界不同海域固氮速率比较

Tab. 2 Comparison of nitrogen fixation rates in different sea areas

海域	调查时间	研究水深/m	固氮速率		站位数	测定方法	文献
			$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$	$\text{pmol}(\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$			
阿拉弗拉海	1999年11月	0~10	3 955		2	N15	[37]
南美东北海岸	1996年11月	0~100	3110		14	ARA	[38]
热带北大西洋	1994年5月-6月	0~121	898		18	ARA	[39]
西南太平洋	2003年10月	0~50	306		1	N15	[36]
热带北大西洋	2001年2月	0~100	167		23	ARA	[40]
中国台湾东北部海区	1994年3月	0~100	35.7		2	N15	[41]
中国东海南部	1995年9月	0~50	2.1		3	ARA	[23]
中国南海北部	2006年12月	0~78	1.2		3	N15	[24]
中国北部湾	2007年1月	0~50	319		1	ARA	本研究

注:ARA表示用乙炔还原法测定, N^{15} 表示用 N^{15} 同位素示踪法(IT)测定。

冬季北部湾各站位表层固氮速率的变化范围为 447.5 ~ 1 447.2 $\text{pmol}/(\text{L} \cdot \text{h})$,平均值为 907.0 $\text{pmol}/(\text{L} \cdot \text{h})$ (表1)。固氮速率从湾内往湾外有不断增加的趋势,最大值出现在 B06 站,该站位靠近外海,海水透明度较高,有利于固氮生物的生长和进行固氮作用。贾晓平等^[25]指出,冬季北部湾海区浮游植物快速繁殖消耗海水中的无机磷酸盐(DIP),磷酸盐含量普遍较低。本研究中 DIP 平均浓度只有 0.05 $\mu\text{mol}/\text{L}$,接近南海贫营养海水的 DIP 浓度(0.02 $\mu\text{mol}/\text{L}$)^[34]。除了 B03 站位以外,其他站位的 DIN:DIP 均超过 Redfield 比值的 16:1^[35],然而大量的现场和室内实验表明,束毛藻体内的 N:P 在 50 左右^[3],有关冬季北部湾的生物固氮是否受到 P 的限制还有待进一步研究。

根据 B06 站位不同水深固氮速率周日变化,计算得到 B06 站位积分固氮速率为 319.5 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 。根据 Redfield 比值(C:N=6.6)^[35],B06 站位的固碳速率为 2 108.6 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$,北部湾海域总面积为 $1.3 \times 10^5 \text{ km}^2$ ^[25],由此我们粗略估算出冬季北部湾日固氮量为 $5.8 \times 10^8 \text{ g}$,对初级生产力的贡献为 $3.2 \times 10^9 \text{ g/d}$ (以 C 计)。与世界其它海域比较(表2),北部湾冬季的固氮速率与 Garcia 等^[36]在西南太平洋新喀里多尼亚湾的研究结果相近,显著高于在中国东海和南海北部的固氮速率。因研究海域、季节,固氮生物种类、生理状态以及测定方法等的不同,不同海区的固氮速率测值存在较大差异,比如在南美东北海岸冬季发生霍克半管藻赤潮期间,固氮速率

可达到 $3\ 110\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$, 是北部湾冬季固氮速率的 9.7 倍。固氮速率测定的巨大差异, 给估算全球海洋固氮总量以及海洋新生产力带来一定的困难, 迫切需要在方法学上做进一步的统一。

2.4 Fe 加富对固氮速率的影响

北部湾 B06 站 Fe 加富实验表明, 外加 Fe 能够明显促进固氮生物的固氮作用(图 4)。当外加 Fe 浓度为 $100\ \text{nmol}/\text{L}$ 时, 对固氮速率的促进作用最为明显, 固氮速率可达 $1\ 413\ \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{h})$, 是对照组的 1.8 倍。本研究中外加 Fe 能够轻微促进浮游植物的生长, 当外加 Fe 浓度为 $1\ 000\ \text{nmol}/\text{L}$ 时, 叶绿素 a 浓度达到最高值, 为 $1.25\ \text{mg}/\text{L}$ 。在冬季, 北部湾浮游植物大量繁殖消耗海水中的 Fe, 而作为 Fe 主要输入来源的河流径流量锐减, 再加上南海贫营养海水的入侵作用, 相对于其它站点, 湾口 B06 站海水中的 Fe 浓度较低, 使得 B06 站 Fe 加富能够明显促进固氮作用。不同浓度的 Fe 对固氮作用和浮游植物的生长促进效果不同, 反映了固氮作用和固碳作用对 Fe 的需求量不同, 固氮生物对 Fe 的需求量比非固氮生物要高一个数量级以上^[9], 同时也表明固氮作用和固碳作用的不同步以及固氮生物和固碳生物群落的差异。

现有的国内外相关研究主要集中在低浓度的 Fe 对浮游植物的生长和固氮作用的限制, 而有关 Fe 富足条件下浮游植物的生理生态状况则涉及较少。Hutchins 和 Bruland 等^[20] 研究指出, 如果远海水域中可溶性 Fe 水平在 $1.5 \sim 2.5\ \text{nmol}/\text{L}$ 的水平下, 浮游植物群落的生长则不存在 Fe 限制的压力, 而高浓度的 Fe(III) 对某些蓝藻的生长具有抑制作用, 甚至导致死亡^[42]。本研究最大外加 Fe 浓度达 $1\ 000\ \text{nmol}/\text{L}$, 在此浓度下 Chl a 浓度达到最高值, 固氮活性与对照组相当, 未表现出抑制作用, 在 Sunda 等^[18] 的 Fe 加富实验中, 最高外加 Fe 浓度约为 $10\ 000\ \text{nmol}/\text{L}$, 当外加 Fe 浓度为 $1\ 000\ \text{nmol}/\text{L}$ 时, 浮游植物对 Fe 仍具有很高的吸收速率。本文研究过程中没有监测 Fe 浓度的变化, 采样和处理过程中可能存在沾污, 再加上盐水瓶中 Fe 的附壁与沉淀作用, 给解释实验结果带来一定的不确定性。

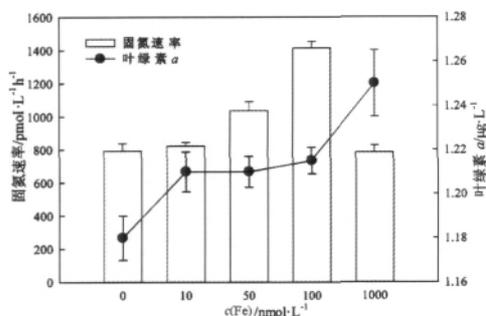


图 4 Fe 加富对固氮速率和叶绿素 a 的影响

Fig. 4 Effects of iron enrichment on nitrogen fixation rate and Chl a

3 结论

北部湾冬季生物固氮作用的现场研究结果表明, 随

着培养时间的延长, 固氮速率逐渐降低, 2 h 培养时间所得固氮速率值最高。冬季北部湾不同水深生物固氮速率存在明显的周日变化, 固氮速率在 8:10~11:10 时段内最高, 在夜间(0:10~3:10 时间段) 10 m 和 30 m 水深固氮生物仍能够进行固氮作用, 且固氮活性高于 11:10~14:10 时段。北部湾冬季固氮速率呈现出从湾内往湾外不断增加的趋势, 变化范围为 $447.5 \sim 1\ 447.2\ \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{h})$, 日固氮总量为 $5.8 \times 10^8\ \text{g}$, 对初级生产力的贡献为 $3.2 \times 10^9\ \text{g}/\text{d}$ (以 C 计), B06 站的积分固氮速率为 $319.5\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 。现场 Fe 加富的结果表明, 添加 $100\ \text{nmol}/\text{L}$ Fe 能够明显促进生物固氮作用, 在高浓度 Fe ($1\ 000\ \text{nmol}/\text{L}$) 条件下, 仍具有固氮活性, 且仍能明显促进浮游植物生长, 未表现出抑制作用, 说明北部湾冬季湾口海区生物固氮作用可能受到 Fe 限制。

参考文献:

- [1] KARL D, MICHAELS A, BERGMAN B, et al. Dinitrogen fixation in the world's oceans [J]. *Biogeochemistry*, 2002, 57(1): 47-98.
- [2] 董俊德, 王汉奎, 张 德, 等. 海洋固氮生物多样性及其对海洋生产力的氮、碳贡献 [J]. *生态学报*, 2002, 22(10): 1741-1749.
- [3] LAROCHE J, BREITBARTH E. Importance of the diazotrophs as a source of new nitrogen in the ocean [J]. *Journal of Sea Research*, 2005, 53(1/2): 67-91.
- [4] 侯建军, 黄邦钦. 海洋蓝细菌生物固氮的研究进展 [J]. *地球科学进展*, 2005, 20(3): 312-319.
- [5] POSTGATE J R. Nitrogen fixation [M]. England: Cambridge University Press, 1998.
- [6] STAAL M, HEKKERT S T L, HARREN F J M, et al. Effects of O_2 on N_2 fixation in heterocystous cyanobacteria from the Baltic Sea [J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2003, 33(3): 261-270.
- [7] BELL P R F, FU F X. Effect of light on growth, pigmentation and N_2 fixation of cultured *Trichodesmium* sp from the Great Barrier Reef lagoon [J]. *Hydrobiologia*, 2005, 543: 25-35.
- [8] LEHTIMAKI J, MOISANDER P, SIVONEN K, et al. Growth, nitrogen fixation, and nodularin production by two Baltic Sea cyanobacteria [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(5): 1647.
- [9] SANUDO-WILHELMY S A, KUSTKA A B, GOBLER C J, et al. Phosphorus limitation of nitrogen fixation by *Trichodesmium* in the central Atlantic Ocean [J]. *Nature*, 2001, 411(6833): 66-69.
- [10] WU J F, SUNDA W, BOYLE E A, et al. Phosphate depletion in the western North Atlantic Ocean [J]. *Science*, 2000, 289(5480): 759-762.
- [11] KUSTKA A, CARPENTER E J, SANUDO-WILHELMY S A. Iron and marine nitrogen fixation: Progress and future directions [J]. *Research in Microbiology*, 2002, 153(5): 255-262.
- [12] MOORE J K, DONEY S C. Iron availability limits the ocean nitrogen inventory stabilizing feedbacks between marine denitrification and nitrogen fixation [J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2007, 21(2), GB2001. doi: 10.1029/2006GB002762.

- [13] BERMAN-FRANK I, CULLEN J T, SHAKED Y, et al. Iron availability, cellular iron quotas, and nitrogen fixation in *Trichodesmium* [J]. *Limnology and Oceanography*, 2001, 46 (6): 1249-1260.
- [14] MOORE C M, MILLS M M, ACHTERBERG E P, et al. Large-scale distribution of Atlantic nitrogen fixation controlled by iron availability [J]. *Nature Geoscience*, 2009, 2: 867-871.
- [15] MILLS M M, RIDAME C, DAVEY M, et al. Iron and phosphorus co-limit nitrogen fixation in the eastern tropical North Atlantic [J]. *Nature*, 2005, 429(6989): 292-294.
- [16] 袁征, 祁建华, 张曼平. 海水中铁的来源形态及其与浮游植物的相互关系 [J]. *海洋湖沼通报*, 2003, 4: 38-48.
- [17] WANG W, DEI R. Bioavailability of iron complexed with organic colloids to the cyanobacteria *Synechococcus* and *Trichodesmium* [J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2003, 33: 247-259.
- [18] SUNDA W G, HUNTSMAN S A. Iron uptake and growth limitation in oceanic and coastal phytoplankton [J]. *Marine Chemistry*, 1995, 50(1/2/3/4): 189-206.
- [19] WALSH J. Nitrogen fixation within a tropical upwelling ecosystem: Evidence for a Redfield budget of carbon/nitrogen cycling by the total phytoplankton community [J]. *Journal of Geophysical Research*, 1996, 101(C9): 620-607.
- [20] HUTCHINS D A, BRULAND K W. Iron-limited diatom growth and Si: N uptake ratios in a coastal upwelling regime [J]. *Nature*, 1998, 393(6685): 561-564.
- [21] BREITBARTH E, GELTING J, WALVE J, et al. Dissolved iron (II) in the Baltic Sea surface water and implications for cyanobacterial bloom development [J]. *Biogeosciences*, 2009, 6(11): 2397-2420.
- [22] 黄良民, 钱宏林, 李锦蓉. 大鹏湾赤潮多发区的叶绿素 a 分布与环境关系初探 [J]. *海洋与湖沼*, 1994, 25(2): 197-205.
- [23] CHANG J, CHIANG K P, GONG G C. Seasonal variation and cross-shelf distribution of the nitrogen-fixing cyanobacterium, *Trichodesmium*, in southern East China Sea [J]. *Continental Shelf Research*, 2000, 20(4/5): 479-492.
- [24] CHEN Y, CHEN H, TUO S, et al. Seasonal dynamics of new production from *Trichodesmium* N₂ fixation and nitrate uptake in the upstream Kuroshio and South China Sea basin [J]. *Limnology and Oceanography*, 2008, 53(5): 1705-1721.
- [25] 贾晓平, 李永振, 李纯厚, 等. 南海专属经济区和大陆架渔业生态环境与渔业资源 [M]. 北京: 科学出版社, 2004: 1-299.
- [26] 胡建宇. 物理海洋学基础教程 [M]. 厦门: 厦门大学, 1995.
- [27] BOYD P, MUGGLI D, VARELA D, et al. In vitro iron enrichment experiments in the NE subarctic Pacific [J]. *MEPS*, 1996, 136: 179-193.
- [28] CAPONE D G. Determination of nitrogenase activity in aquatic samples using the acetylene reduction procedure [M]. *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*. Lewis Press, Boca Raton, Fla, 1993: 621-631.
- [29] WILLIAMS S L, CARPENTER R C. Effects of unidirectional and oscillatory water flow on nitrogen fixation (acetylene reduction) in coral reef algal turfs, Kaneohe Bay, Hawaii [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1998, 226(2): 293-316.
- [30] FU F X, BELL P R F. Factors affecting N₂ fixation by the cyanobacterium *Trichodesmium* sp. GBR-TRL1101 [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 45(2): 203-209.
- [31] STEPPE T, OLSON J, PAERL H, et al. Consortial N₂ fixation: A strategy for meeting nitrogen requirements of marine and terrestrial cyanobacterial mats [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1996, 21(3): 149-156.
- [32] CAPONE D G, CAPONE D G, ZEHR J P, et al. *Trichodesmium*, a globally significant marine cyanobacterium [J]. *Science*, 1997, 276(5316): 1221-1229.
- [33] BERMAN-FRANK I, LUNDGREN P, CHEN Y B, et al. Segregation of nitrogen fixation and oxygenic photosynthesis in the marine cyanobacterium *Trichodesmium* [J]. *Science*, 2001, 294(5546): 1534-1537.
- [34] WU J. Dissolved inorganic phosphorus, dissolved iron, and *Trichodesmium* in the oligotrophic South China Sea [J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2003, 17: 1-10.
- [35] REDFIELD A, KETCHUM B, RICHARDS F. The influence of organisms on the composition of sea-water [J]. *The Sea*, 1963, 2: 26-77.
- [36] GARCIA N, RAIMBAULT P, SANDRONI V. Seasonal nitrogen fixation and primary production in the Southwest Pacific: Nanoplankton diazotrophy and transfer of nitrogen to picoplankton organisms [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2007, 343: 25-33.
- [37] MONTOYA J P, HOLL C M, ZEHR J P. High rates of N₂ fixation by unicellular diazotrophs in the oligotrophic Pacific Ocean [J]. *Nature*, 2004, 430: 1027-1031.
- [38] CARPENTER E J, MONTOYA J P, BURNS J, et al. Extensive bloom of a N₂-fixing diatom/cyanobacterial association in the tropical Atlantic Ocean [J]. *Marine Ecology-Progress Series*, 1999, 185: 273-283.
- [39] CAPONE D, BURNS J, MONTOYA J, et al. Nitrogen fixation by *Trichodesmium* spp.: An important source of new nitrogen to the tropical and subtropical North Atlantic Ocean [J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2005, 19(2), GB2024. doi: 10.1029/2004GB002331.
- [40] FALCON L I, CARPENTER E J, CIPRIANO F, et al. N₂ fixation by unicellular bacterioplankton from the Atlantic and Pacific oceans: Phylogeny and in situ rates [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(2): 765-770.
- [41] LIU K K, SU M J, HSUEH C R, et al. The nitrogen isotopic composition of nitrate in the Kuroshio Water northeast of Taiwan: Evidence for nitrogen fixation as a source of isotopically light nitrate [J]. *Marine Chemistry*, 1996, 54(3/4): 273-292.
- [42] 邢伟. 铁对水华蓝藻的生态生理学效应研究 [D]. 北京: 中国科学院研究生院水生生物研究所, 2007.