

学校编码: 10384

密级_____

学号: 22320131151394

廈門大學

硕士学位论文

珠江口水体硝化和无机氮
吸收速率及其影响因素

Rates and Influence Factors of Water Nitrification and
Inorganic Nitrogen Uptake in Pearl River Estuary

张 晓

指导教师姓名: 高树基 教授

专业名称: 海洋化学

论文提交日期: 2016年4月

论文答辩时间: 2016年5月

2016年5月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

摘要.....	I
Abstract.....	III
第 1 章 绪论	1
1.1 研究背景与意义.....	1
1.1.1 氮循环过程简介.....	1
1.1.2 河口地区氮循环研究的意义.....	5
1.2 氮循环研究现状.....	6
1.2.1 硝化作用.....	6
1.2.2 浮游植物无机氮吸收.....	10
1.2.3 珠江口研究背景.....	13
1.3 本研究的目标.....	14
1.4 论文框架.....	14
第 2 章 研究区域与方法	16
2.1 研究区域概况.....	16
2.1.1 珠江口背景简介.....	16
2.2 站位设置、样品采集与保存、培养实验.....	16
2.2.1 采样站位设置.....	16
2.2.2 样品采集与保存.....	18
2.2.3 培养实验方法.....	20
2.2.4 样品测定.....	22
2.3 速率的计算方法.....	27
2.3.1 硝化速率的计算方法.....	27
2.3.2 氮吸收速率的计算方法.....	28
第 3 章 硝化速率测定结果与影响因素	30

3.1 硝化速率的空间分布.....	30
3.2 硝化速率的影响因素.....	31
3.2.1 光照对硝化速率的影响.....	31
3.2.2 氨氮浓度对硝化速率的影响.....	34
3.2.3 TSM 对硝化速率的影响	36
3.2.4 水体 AOA/AOB 丰度对氨氧化速率的影响	37
第 4 章 珠江口浮游植物吸收及其影响因素	43
4.1 珠江口浮游植物氮吸收速率的分布.....	43
4.2 浮游植物氮吸收的影响因素.....	46
4.2.1 浮游植物对不同形态氮的偏好性.....	46
4.2.2 光照对浮游植物氮吸收的影响.....	49
4.2.3 底物浓度对氮吸收的影响.....	55
4.2.4 浮游植物丰度对氮吸收的影响.....	61
第 5 章 总结与展望	69
研究内容小结.....	69
不足与展望.....	70
参考文献.....	72
附录	83
致谢	85

Contents

Abstract.....	III
Chapter 1 Introduction	1
1.1 Background and Significance	1
1.1.1 The nitrogen cycle.....	1
1.1.2 The significance of estuary nitrogen cycle	5
1.2 Overview of nitrogen cycle research	6
1.2.1 Nitrification.....	6
1.2.2 Inorganic nitrogen uptake	10
1.2.3 Background research of Pearl River Estuary	13
1.3 Objectives	14
1.4 Thesis structure	14
Chapter 2 Materials and methods.....	16
2.1 Background of study region.....	16
2.1.1 Background information of Pearl River Estuary	16
2.2 Stations, sampling and chemical analysis	16
2.2.1 Stations setting.....	16
2.2.2 Sampling and preservation.....	18
2.2.3 Incubation experiments	20
2.2.4 Sample analysis.....	22
2.3 Rate calculation.....	27
2.3.1 Nitrification rate.....	27
2.3.2 Inorganic nitrogen uptake rate	28
Chapter 3 Results of nitrification	30
3.1 Distribution of nitrification	30
3.2 Influence factor of nitrification	31

3.2.1 Illumination.....	31
3.2.2 Ammonia concentration.....	34
3.2.3 TSM.....	36
3.2.4 AOA/AOB abundance.....	37
Chapter 4 Results of inorganic nitrogen uptake.....	43
4.1 Distribution of inorganic nitrogen uptake.....	43
4.2 Influence factor of inorganic nitrogen uptake.....	46
4.2.1 Preferences to N-species.....	46
4.2.2 Illumination.....	49
4.2.3 Substrate concentration.....	55
4.2.4 Phytoplankton abundance.....	61
Chapter 5 Conclusions.....	69
Summary.....	69
Prospects.....	70
References.....	72
Appendix.....	83
Acknowledgements.....	85

摘要

氮是海洋初级生产力的主要限制因素之一，海洋氮循环过程与碳、磷等其它生源要素的循环紧密联系，影响有机物输出，调控海洋生物泵效率和大气二氧化碳水平，在海洋生物地球化学循环过程中扮演极其重要的角色。硝化作用和浮游植物吸收是氮循环中的重要过程，大量人为来源活性氮的排放对河口和近海的生物地球化学过程产生了显著影响，并影响了氮营养盐内部转化过程。本研究于2015年7月间，对珠江口的11个站位进行了调查，覆盖了珠江口淡水区域、咸淡水混合区和冲淡水区。

本研究首次应用氮稳定同位素示踪技术，调查了夏季珠江口水体的硝化速率和分布。本研究测得珠江口上游淡水区域的硝化速率为 $4.00 - 17.64 \mu \text{mol/L/d}$ ，中游咸淡水混合区速率为 $0.28 - 4.05 \mu \text{mol/L/d}$ ，下游口外珠江冲淡水影响区速率为 $0.03 - 0.36 \mu \text{mol/L/d}$ 。

珠江口硝化过程存在显著的光抑制效应，表层光照条件下硝化速率比黑暗条件下低 50 - 90%。本研究首次发现珠江口水体氨氧化细菌 (AOB) 和氨氧化古菌 (AOA) 在珠江口上中下游均有分布，且 AOA 丰度比 AOB 高出 2 - 4 个数量级。同时，AOA 和 AOB 丰度总体呈现随深度增加的趋势，表明其对弱光条件的倾向性。在珠江口上游，硝化速率与氨氮浓度无显著相关性，在珠江口中下游，硝化速率与氨氮浓度存在一定的正相关；在珠江口下游，硝化速率与 AOA/AOB 丰度存在良好的对数关系，但上游这种关系较弱。

本研究还对浮游植物无机氮吸收速率进行了调查，珠江口浮游植物的铵氮吸收速率变化较大，沿入海方向速率迅速降低，而亚硝氮和硝氮的吸收速率较为稳定， NH_4^+ 吸收速率分别为 $9.07 - 13.82 \mu \text{mol/L/d}$ ， $0.24 - 1.38 \mu \text{mol/L/d}$ 和 $0.34 - 1.69 \mu \text{mol/L/d}$ ； NO_2^- 吸收速率分别为 $0.14 - 0.43 \mu \text{mol/L/d}$ ， $0.02 - 0.26 \mu \text{mol/L/d}$ 和 $0.03 - 1.12 \mu \text{mol/L/d}$ ， NO_3^- 吸收速率分别为 $0.33 - 1.37 \mu \text{mol/L/d}$ ， $0.12 - 0.52 \mu \text{mol/L/d}$ 和 $0.06 - 11.47 \mu \text{mol/L/d}$ 。RPI (relative preference index) 指数结果表明在珠江口所有站位浮游植物对铵氮均具有强烈的偏好，尤其在珠江口中游，亚硝则仅在珠江口中下游表现出偏好性，而浮游植物对硝氮在所有站位均表现为不亲

和。

本研究发现黑暗条件下，浮游植物对三种无机氮的吸收速率均显著低于光照条件，其中黑暗条件下浮游植物对铵氮的吸收速率仅为光照下的 28 - 47%，但 RPI 大于光照条件，同时叶绿素 a 浓度与铵吸收之间出现了良好的线性关系，表明黑暗条件下浮游植物更加倾向于吸收还原态的 NH_4^+ 。铵氮浓度与铵吸收速率之间关系符合米氏方程，铵氮浓度较高的上游，随着铵氮浓度的上升，铵吸收速率基本保持不变，而在铵氮浓度较低的下游，铵吸收速率随着铵氮浓度增大而增大，两者之间存在线性关系。浮游植物对亚硝和硝氮的吸收速率较为恒定，与亚硝或硝氮浓度之间的关系不明显。在下游站位，浮游植物丰度在有光条件下主导了对亚硝和硝氮的吸收。

关键词：硝化作用；无机氮吸收；河口；光照；硝化菌

ABSTRACT

Nitrogen is one of the limiting factors of ocean primary productivity. Coupled with other biogenic elements, such as carbon and phosphorus, nitrogen cycle plays an important role on marine biogeochemical process by controlling export of organic matter, efficiency of biological pump and atmospheric CO₂ level. Input of growing anthropogenic nitrogen via river significantly changes the composition of reactive nitrogen, which led to a serial impact to the internal pathways of nitrogen cycle. 11 stations, covered freshwater zone, mixing zone and plume zone of Pearl River Estuary, were investigated.

This study is the first time to apply stable isotope tracer method to obtain the rate and distribution of water nitrification rate. The nitrification rate in freshwater zone, mixing zone and plume zone were 4.00 - 17.64 μ mol/L/d, 0.28 - 4.05 μ mol/L/d and 0.03 - 0.36 μ mol/L/d, respectively. Significant light inhibition of ammonia oxidation can be observed in all survey area.

First time, we reported the distribution of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea in the whole estuary of Pearl River. AOA had an abundance 2 - 4 order of magnitude greater than that of AOB. Meanwhile, abundance of AOA/AOB revealed a trend of increasing with depth, which indicated the orientation of nitrifiers to low light. In upper area of Pearl River Estuary, it showed no significant correlation between nitrification rate and ammonia concentration while a certain positive correlation exists in lower estuary. Nitrification rate also has a logarithmic relationship with AOA/AOB abundance in lower estuary. However, the relationship is unapparent in upper area.

This study also applied stable isotope tracer method to obtain the rate and distribution of inorganic nitrogen uptake by phytoplankton. Ammonium uptake rate decreased rapidly along the river flow while nitrite and nitrate uptake rate were steady. NH₄⁺ uptake rate in freshwater zone, mixing zone and plume zone were 9.07 - 13.82 μ mol/L/d, 0.24 - 1.38 μ mol/L/d and 0.34 - 1.69 μ mol/L/d, respectively. NO₂⁻ uptake

rate were 0.14 - 0.43 μ mol/L/d, 0.02 - 0.26 μ mol/L/d and 0.03 - 1.12 μ mol/L/d, respectively. NO_3^- uptake rate were 0.33 - 1.37 μ mol/L/d, 0.12 - 0.52 μ mol/L/d and 0.06 - 11.47 μ mol/L/d, respectively. The phytoplankton RPI (relative preference index) indicates that ammonium was strongly preferred by phytoplankton, especially in mixing zone of mid-estuary. Nitrite only be preferred in lower estuary and nitrate showed no preference to phytoplankton at all.

Phytoplankton uptake rate of 3 N-species under dark conditions significantly lower than that under light. Dark NH_4^+ uptake were only 28 - 47 % of illuminated rate, but had a superior RPI. The good linear relationship between Chl-a concentration and Dark NH_4^+ uptake indicated that phytoplankton were prone to assimilate NH_4^+ of reducing state. Relationship between ammonium concentration and ammonium uptake rate do correspond to Michaelis-Menten equation. NH_4^+ uptake were stable under extremely high concentration of NH_4^+ in freshwater zone, while it increased linearly with NH_4^+ in lower estuary. NO_2^- and NO_3^- uptake rate showed no correlation with substrate concentration yet seems dependent on the phytoplankton abundance.

Key Words: Nitrification; Inorganic nitrogen uptake; Estuary; Illumination; Nitrifier.

第一章 绪论

1.1 研究背景与意义

氮元素是生物必需的营养元素之一，是构建氨基酸、蛋白质等有机大分子的必要组分。与碳、磷、硅、硫等生源要素相同，氮也是海洋生态系统新陈代谢的重要物质基础，在海洋生物地球化学过程中扮演着极为重要的角色 (Falkowski et al., 1998)。此外，氮元素存在更多种化合价态，因而具有较强的生物地球化学活性，同时也决定了氮循环过程更具复杂性。对于大多数海洋，生物可利用的活性氮是初级生产力的主要限制因子之一 (Falkowski, 1997)，在某种程度上决定了海洋生物泵的固碳效率和表层海洋碳输出通量的大小，海洋氮库的变化是大气中二氧化碳浓度变化的重要驱动力 (Sabine et al., 2004)。近十多年来，含氮温室气体的研究成为关注的热点问题 (Codispoti, 2010)。同时，人类活动如燃烧化石燃料、施用化肥等对海洋氮库的影响日益增加，使原有的活性氮迁入-迁出平衡受到破坏，进一步改变海洋生物地球循环，引发一系列生态和环境问题 (Galloway et al., 1995)。总之，海洋氮循环研究已成为影响海洋生物地球化学循环和全球气候变化的关键问题之一。

河口作为陆源物质向海洋输送的主要通道，其输送的营养盐支持了近岸海域20%的初级生产力 (Field et al., 1998)。同时，河口地区聚集了大量人口，工业、农业发达，因此受到人类活动的严重影响，大量人为来源活性氮的排放对河口和近海的生物地球化学过程产生显著影响 (Howarth and Marino, 2006)。因此，在河口这样的海陆边界系统，受人为活动影响显著，水动力过程很强，氮循环相关过程可能更加错综复杂。研究探讨该区域的氮循环过程对治理该地区富营养化、赤潮等环境生态问题具有重要意义。

1.1.1 氮循环过程简介

自然界中的氮按存在形态可分为有机氮、无机氮和分子态氮，前两者是大多数生物可直接利用的氮形态，又称固定态氮 (fixed nitrogen) 或活性氮。氮化合物的形态和性质十分多样，水环境中的氮大多数以溶解在水中的 N_2 分子形态存

在, N_2 分子具有稳定的共价键断裂, 需要特殊的酶才能使其断裂, 因此大多数生物难以利用。而可被生物直接利用的固定态氮仅占海洋总氮储库的 $\sim 6\%$ (Capone et al., 2008)。其中, 溶解无机氮 (DIN) 主要包括氨氮 (NH_3 和 NH_4^+)、亚硝酸盐 (NO_2^-) 和硝酸盐 (NO_3^-), NO_3^- 化学性质最为稳定, 含量最高, 是海洋生物主要利用的无机氮营养盐。 NH_4^+ 含量相比很低, 但却是浮游植物、细菌最偏好的营养盐。 NO_2^- 活性介于前两者之间, 参与了多种重要氮循环过程 (Seitzinger et al., 2002; Brandes et al., 2007)。有机氮主要分为颗粒有机氮 (PON) 和溶解有机氮 (DON)。溶解有机氮主要包括多种氨基酸、小分子肽、脲、尿素, 以及腐殖质等较复杂的可溶性有机物, 颗粒有机氮 (PON) 是评估海洋初级生产力或者生物量的大小的重要参数 (Ward and Bronk, 2001; McCarthy et al., 1998)。

海洋中氮化合物的形态和性质各不相同, 并且可以通过多种生物地球化学过程互相转化 (图 1.1), 由此构成了复杂的氮循环过程 (Capone et al., 2008)。改变氮库存的源汇过程包括生物固氮作用和反硝化过程。氮的固定是氮元素进入氮循环的第一步, 主要包括生物固氮、工业固氮和自然界高能固氮 (由闪电引发) 等过程。其中, 生物固氮作用 (N_2 -fixation) 是海洋中活性氮的主要来源之一, 是由具备固氮酶的固氮菌或固氮藻将溶解态 N_2 转化为生物可利用态的耗能过程, 在缺乏外源性输入氮的海区, 这是活性氮最重要的来源 (Deutsch et al., 2007)。

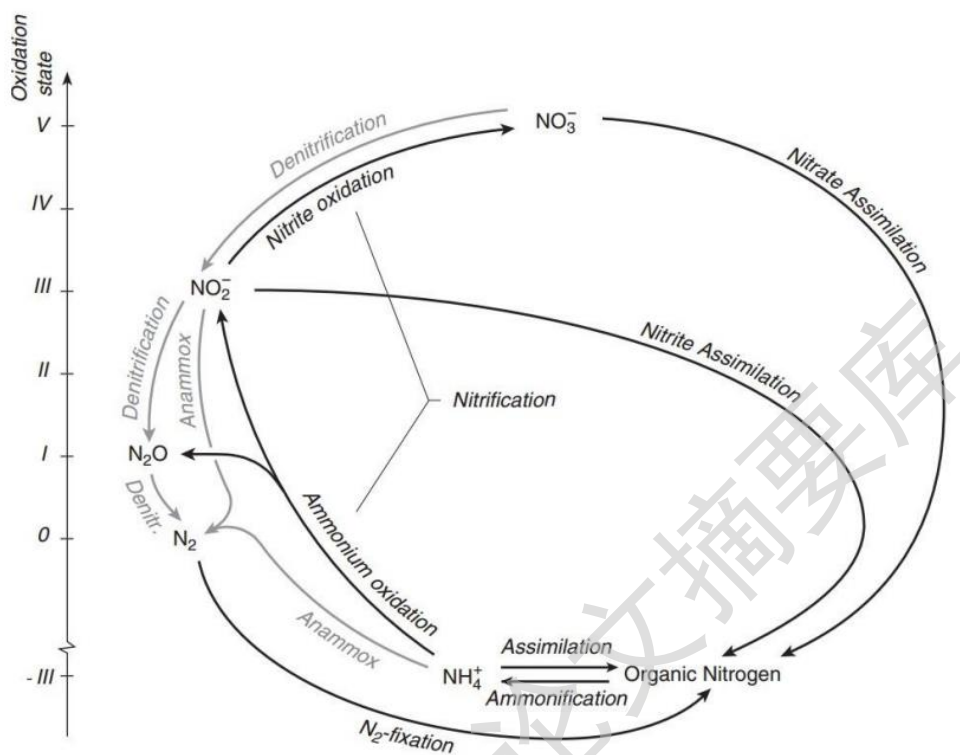


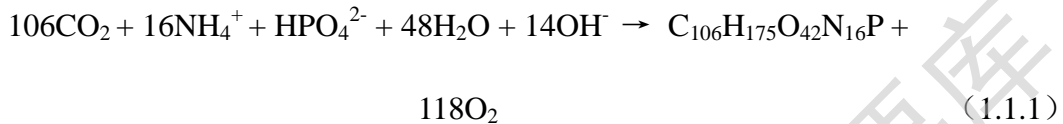
图 1.1 海洋氮循环的主要过程（自 Gruber, 2008）

Figure 1.1 Major chemical forms and transformations of nitrogen in the marine environment

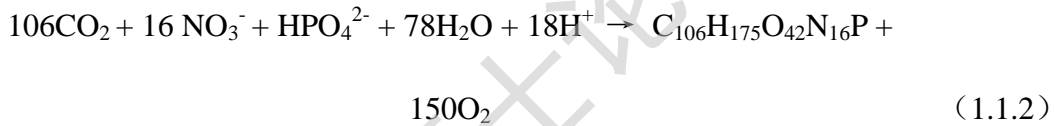
相对的，海洋中也存在氮的迁出过程，主要包括反硝化（denitrification）、厌氧氨氧化（anammox）等多种途径，常发生于缺氧水体中。反硝化细菌将 NO_2^- 或 NO_3^- 作为电子受体，氧化有机物进行化能自养，过程中生成 N_2O 或 N_2 。厌氧氨氧化菌则利用 NO_2^- （或 NO_3^- ）作为电子受体进行固碳，将 NO_2^- 和 NH_4^+ 发生归中反应，产生分子态 N_2 ，完成氮的迁出。除了反硝化和厌氧氨氧化以外，近年来对沉积-水界面的研究中还有许多新发现的脱氮过程、如化学反硝化（chemo-denitrification）、耦合硝化-反硝化（coupled nitrification-denitrification）和氧限自营硝化反硝化（OLAND）等（Brandes et al., 2007）。

除了氮库的源汇过程，氮循环还存在复杂的内部过程。从定量的角度看，浮游植物吸收 NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^- 支持光合作用合成有机物在整个氮循环过程中占

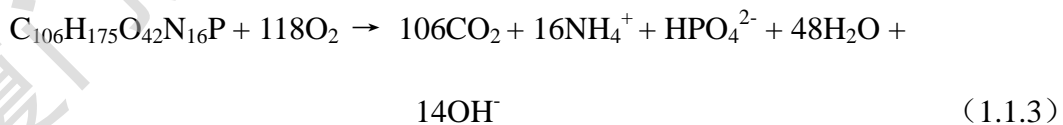
主要地位 (Capone et al., 2008)。大量实测结果表明, 浮游植物体内含碳、氮、磷的比值约为 106:16:1, 即为 Redfield 比值。浮游植物吸收 NO_2^- 和 NO_3^- 后, 需要花费能量将其还原为还原态, 才能用于合成氨基酸和蛋白质等, 这一过程需要消耗能量, 因此浮游植物一般优先吸收 NH_4^+ , 这一过程统称同化作用 (assimilation), 可用下式表示 (Gruber, 2008):



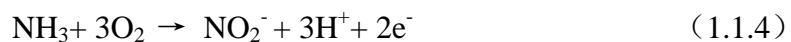
在大洋中, 活性氮主要形态为 NO_3^- , 其次为 DON, 而 NH_4^+ 、 NO_2^- 和 N_2O 等仅占活性氮的 $\sim 0.3\%$, 对硝氮的吸收可占总 DIN 吸收速率的 40 - 50% (Bronk, 2002), 硝酸盐的吸收需要更多能量, 因此需要光合作用分解更多的水分子, 因此有:

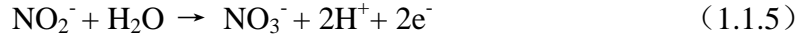


浮游植物对 NO_2^- 的吸收与 NO_3^- 类似, 理论上, 只要是能利用 NO_3^- 的浮游植物就能利用 NO_2^- (Capone et al., 2008)。活性氮进入生物体内后, 变为有机氮形式, 参与生物的各项生命过程, 最后以排泄物、生物遗骸等形态回到自然界中, 经微生物的分解转化为氨氮, 这一过程就是有机物的矿化, 或称氨化 (ammonification), 是连接有机质和无机态氮的重要纽带, 氨化过程可用下式表示:



在有氧条件下, 氨氧化细菌或者氨氧化古菌将水体中的氨转化为亚硝酸盐, 并在亚硝氧化菌的作用下进一步转化为硝酸盐的过程统称为硝化作用 (nitrification), 这一过程由氨氧化和亚硝酸盐氧化两个步骤组成:





虽然同化、氨化和硝化等过程不会改变活性氮储库的总量，但却改变了活性氮的形态分布，从而影响一系列相关的生物地球化学过程，如硝化为反硝化过程提供了底物 NO_2^- 或 NO_3^- ，因此为活性氮的移除奠定了基础，在河口区域，耦合硝化-反硝化对固定氮移除有重要作用 (Corredor et al., 1999)。

1.1.2 河口地区氮循环研究的意义

工业革命以来，人类活动生产了大量活性氮，其产量远远超过了自然界天然固氮的水平，仅 1996 年，全球向陆地生态系统输入的人为来源活性氮就约有 150Tg (Smil, 1998)。这些人类来源的固定态氮通过化肥过量使用、养殖污水排放等途径进入陆地径流，并最终通过河流进入近岸和海洋。据上世纪中期以来的统计，人类活动已导致河流输送的 DIN 增长了 2 - 4 倍，并提供了河口地区 89% 的 DON 来源 (Seitzinger et al., 1999; Seitzinger and Sanders, 2002)，导致河口地区的氮负载不断加重，引发了多种环境问题，由此，河口的氮循环过程一直备受关注。

大量含氮营养盐进入河口，将刺激河口内部的初级生产，使浮游植物快速增殖，引发水华或有毒赤潮 (Galloway et al., 2004)。水华使水体生物量大量增加，当这些有机物死亡后分解矿化，使底层水中的溶解氧被快速消耗，诱发水体缺氧事件，严重威胁鱼类等其他生物的生存。甚至导致生态系统的崩溃，形成一般动植物难以生存的“死区” (Hagy et al., 2004; Canfield et al., 2010)。此外，在缺氧条件下，丰富的有机质促进了各类脱氮过程，如厌氧氨氧化和耦合硝化-反硝化等 (Ravishankara et al., 2009)。这些过程一方面减轻了河口和近岸的氮负载，另一方面，这些过程中常常伴随着 N_2O 气体的释放， N_2O 的温室效应是 CO_2 的 ~ 300 倍，同时也对臭氧层有破坏作用，因此将引发一系列气候问题 (IPCC, 2007)。过量氮输入本身也对水生生物有毒害作用，如过高的氨氮、亚硝均对生物有一定毒性 (Paerl, 1997; Lomas and Lipschultz, 2006)。

总之，活性氮排放的增加造成了河流、湖泊、河口和沿海海域水华和赤潮的

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.