

CO₂ 和硝氮加富对龙须菜 (*Gracilaria lemaneiformis*) 生长、生化组分和营养盐吸收的影响

徐智广¹, 邹定辉^{1,*}, 张 鑫¹, 刘树霞¹, 高坤山²

(1. 汕头大学海洋生物研究所, 汕头 515063; 2. 厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门 361005)

摘要: 为了探讨大气 CO₂ 和海水硝氮浓度升高对龙须菜生理特性的影响, 在实验室条件下把藻体于 CoNo、C + No、CoN + 和 C + N + 4 种不同 CO₂ 和硝氮供应水平的处理中进行培养, 15d 后, 分别测定各种不同培养条件下藻体的生长、色素含量、可溶性蛋白含量和营养盐吸收速率。结果表明: CO₂ 或硝氮浓度增加都会使藻体生长加快, 但当二者同时加富时对生长的促进作用没有表现出协同效应。不管是高氮还是低氮的培养条件, 高浓度 CO₂ 都能使藻体的色素和可溶性蛋白的含量降低, 而使硝酸还原酶活性升高; 同时, 在硝氮加富的条件下, 高浓度 CO₂ 培养能够显著提高藻体的营养盐吸收速率。不管是高还是低的 CO₂ 浓度培养条件下, 硝氮浓度增加都会使藻体的色素和可溶性蛋白含量以及营养盐吸收速率得到显著提高。这些结果说明, 在大气 CO₂ 浓度升高或海水富营养化条件下, 龙须菜的生长、硝酸还原酶活性和营养盐吸收速率都可能得到促进, 而色素和可溶性蛋白的含量也会受到影响。

关键词: 龙须菜; CO₂; 硝氮; 营养盐吸收; 生长; 生化组分

文章编号: 1000-0933(2008)08-3752-08 中图分类号: Q143 文献标识码: A

Effects of increased atmospheric CO₂ and N supply on growth, biochemical compositions and uptake of nutrients in *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta)

XU Zhi-Guang¹, ZOU Ding-Hui^{1,*}, ZHANG Xin¹, LIU Shu-Xia¹, GAO Kun-Shan²

1 Marine Biology Institute, Shantou University, Shantou 515063, China

2 State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(8): 3752 ~ 3759.

Abstract: To investigate the effects of increased atmospheric CO₂ and N supply in seawater on the red alga *Gracilaria lemaneiformis*, the thalli were incubated in laboratory for 15 days under 4 different conditions of CoNo, C + No, CoN + and C + N + respectively, then the growth, nutrient uptake rates, contents of pigments and soluble proteins in alga were measured. The results show that either increased atmospheric CO₂ or N supply can enhance the relative growth rate (RGR) of *G. lemaneiformis*, but they have no synergic effect. Elevated CO₂ decreases, but N supply increases, the contents of pigments and soluble proteins. Increased atmospheric CO₂ reinforces the activity of nitrate reductase (NRA) under the conditions of both enriched and unenriched N supply in *G. lemaneiformis* but stimulates the uptake of nutrient only in case

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30670396, 30470343); 国家教育部科学技术研究重点资助项目(207080); 国家 863 计划资助项目(2006AA10A416); 广东省科技计划资助项目(2006B20601005, 04010990)

收稿日期: 2007-04-28; **修订日期:** 2008-05-10

作者简介: 徐智广(1977 ~), 男, 河北唐山人, 博士生, 主要从事海洋环境和海藻生物学研究. E-mail: g_zgxu@stu.edu.cn

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: dhzou@stu.edu.cn

Foundation item: The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30670396 and 30470343), the Key Project of Chinese Ministry of Education (No. 207080), the Chinese "863" project (No. 2006AA10A416) and Guangdong Natural Science Foundation (No. 2006B20601005 and 04010990)

Received date: 2007-04-28; **Accepted date:** 2008-05-10

Biography: XU Zhi-Guang, Ph.D. candidate, mainly engaged in marine environment and seaweeds biology. E-mail: g_zgxu@stu.edu.cn

of high N supply. In any case of CO₂ concentration, enriched N supply improves the nutrient uptake rates of *G. lemaneiformis*. It is concluded that the growth, NRA and nutrient uptake of the red alga *G. lemaneiformis* would be enhanced and the contents of pigments and soluble proteins be changed by increased atmospheric CO₂ or seawater eutrophication in future.

Key Words: *Gracilaria lemaneiformis*; CO₂; nitrate; nutrient uptake; growth; biochemical composition

正在发生的大气 CO₂ 浓度升高是目前全球环境问题中的一个重要方面,它将对全球生态系统产生深刻的影响。植物生理生态学家很关心这种 CO₂ 浓度变化对植物的可能效应,对于这种变化对陆生植物的影响已做了广泛而深入的研究^[1]。海洋面积占地球表面积的 71% 以上,能够溶解和吸收大量的 CO₂,在全球碳循环中具有重要作用。近年来,国内外学者在大气 CO₂ 的浓度升高对水生植物(特别是海洋藻类)生理生态的影响方面展开了广泛的研究^[2]。研究表明,大气 CO₂ 浓度升高能提高海洋浮游植物初级生产力^[3],对海洋微藻和大型藻类的生长、光合作用和营养盐吸收等生理生化特性都会产生影响^[4~8]。

海水富营养化是引起人们广泛关注的一个重要的海洋环境问题。富营养化指海洋生态系统中限制性营养盐的自然增加和人为增加及其引起生态系统的相应变化。它不仅直接影响了浮游植物生产力和生物量,而且间接地改变了浮游生物和底栖生物的群落结构和季节循环,从而对近海生态系统造成破坏^[9]。国内外学者普遍认为养殖大型海藻是吸收、利用营养物质,延缓并改善水域富营养化的有效措施之一^[10,11]。

龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)属于江篱属,是一种大型经济红藻,原产地在山东省和辽宁省,自从由北向南的引种成功以后,在中国沿海已经形成相当规模的养殖。除了经济上的效益,龙须菜的大规模养殖也是降低中国近海富营养化的一条有效途径^[12]。许多学者在龙须菜与营养盐因子相互关系方面展开了研究^[13]。但是,关于碳、氮相互作用对龙须菜的生理生态影响的研究仍未见报道。本文探讨了龙须菜对环境中硝氮加富和 CO₂ 浓度升高的响应,以期为全球变化背景下龙须菜的养殖及其对海水富营养化的生物修复作用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

龙须菜于 2005 年 5 月 11 日采自广东南澳岛近海筏式养殖区。采集时选择健康一致的藻体,长度 25cm 左右,放于盛有少量海水的塑料袋中,用低温箱(温度 4℃ 左右)在 3h 内运到实验室,在装有高压灭菌的自然海水(pH 8.2;盐度 33;NO₃⁻-N 浓度 10 μmol L⁻¹;无机磷浓度 0.5 μmol L⁻¹)的锥形烧瓶中暂养 2d,然后用作实验材料。暂养条件为:温度 20℃;光照强度 120 μmol photons m⁻² s⁻¹;光暗周期为 12h:12h;用充气泵 24h 充空气。

1.2 不同条件下龙须菜的培养

实验材料放在 3L 锥形烧瓶中(装有 2L 高压灭菌的自然海水),于 CO₂ 培养箱(Conviron EF7;加拿大)中培养 15d(2005 年 5 月 14 日至 28 日),培养过程分为 CoNo、C + No、CoN + 和 C + N + 4 种不同处理,各 3 个重复,每 2d 换 1 次培养水体。4 种处理除了 CO₂ 和 NO₃⁻ 浓度不同,其他条件均相同,其中无机磷浓度均加富至 50 μmol L⁻¹,培养密度为每升海水 2g 藻体(湿重),培养的光温条件与暂养的光温条件一致。

4 种不同的培养条件:

CoNo NO₃⁻ 浓度为 10 μmol L⁻¹;充自然空气,CO₂ 浓度为 360 μl L⁻¹

C + No NO₃⁻ 浓度为 10 μmol L⁻¹;所充气体中 CO₂ 浓度为 720 μl L⁻¹

CoN + NO₃⁻ 浓度为 500 μmol L⁻¹;充自然空气,CO₂ 浓度为 360 μl L⁻¹

C + N + NO₃⁻ 浓度为 500 μmol L⁻¹;所充气体中 CO₂ 浓度为 720 μl L⁻¹。

以上各种条件中,10 μmol L⁻¹ 的 NO₃⁻ 浓度为自然海水,500 μmol L⁻¹ 的 NO₃⁻ 浓度通过向自然海水中加入

NaNO₃ 获得[龙须菜在这一浓度下,对 NO₃⁻ 的吸收已经达到最大(数据未列出),NO₃⁻ 的吸收利用不会受到限制],720 μl L⁻¹ 的 CO₂ 浓度通过调节 CO₂ 培养箱内气体的 CO₂ 量获得。

培养过程结束后,分别测定生长、各种色素含量、可溶性蛋白含量、硝酸还原酶活性(NRA)以及营养盐吸收速率等指标。最后,把4种不同处理的龙须菜转移到相同的中间 NO₃⁻ 浓度条件下(NO₃⁻ 浓度为 50 μmol L⁻¹,充自然空气,其他条件不变),再次分别测定各自的 NO₃⁻ 吸收速率。

1.3 日相对生长率(RGR)的测定

分别测定实验初始时藻体的湿重(W_0)和结束时藻体的湿重(W_t),通过公式: $RGR = \ln(W_t/W_0) \times t^{-1} \times 100$ 计算,其中 t 为培养时间,单位为(d)。

1.4 有关细胞生化组分含量的测定

(1)叶绿素 a (Chla)和类胡萝卜素(Car)含量的测定 参照 Jensen 的方法^[14],用丙酮研磨一定湿重的藻体,定容,离心,取上清液测其在波长 450、666nm 和 730nm 处的吸光值。通过如下公式计算含量: $Chla = (OD_{666} - OD_{730}) \times V \times 10 / (890 \times g)$; $Car = OD_{450} \times V \times 10 / (2500 \times g)$ 。其中,OD 为吸光值, V 为定容后的溶液体积, g 为藻体湿重。

(2)藻蓝蛋白(PC)和藻红蛋白(PE)含量的测定 参照 Siegelman 和 Kycia 的方法^[15],用 0.1mol/L 的磷酸缓冲液研磨一定湿重的藻体,定容,离心,取上清液测其在波长 455、564、592、618nm 和 645nm 处的吸光值。通过如下公式计算含量: $PE = [(OD_{564} - OD_{592}) - (OD_{455} - OD_{592}) \times 0.2] \times 0.12 \times V/g$; $PC = [(OD_{618} - OD_{645}) - (OD_{592} - OD_{645}) \times 0.2] \times 0.15 \times V/g$ 。其中,OD 为吸光值, V 为定容的溶液体积, g 为藻体湿重。

(3)可溶性蛋白含量的测定 参照 Kochert 的方法^[16],用 0.1mol/L 的磷酸缓冲液研磨一定湿重的藻体,定容,离心,取上清液用考马斯亮蓝 G-250 染料结合法测蛋白浓度,用牛血清蛋白做标准曲线,然后通过公式计算藻体蛋白含量。 $Soluble\ proteins = N_0 \times V/g$,其中 N_0 为上清液蛋白浓度, V 为定容后溶液的体积, g 为藻体湿重。

1.5 硝酸还原酶活性(NRA)的测定

参照 Corzo 等的方法^[17],通过测定一定量藻体(活体)在一定量反应介质中单位时间内产生的亚硝氮(NO₂⁻-N)的量来表示藻体的 NRA。具体方法为:称取 0.1g 藻体(湿重)→加入 10ml 反应介质缓冲液(0.1mol/L 磷酸缓冲液,pH 7.5;0.01mmol L⁻¹ 的葡萄糖;0.5mmol L⁻¹ 的 Na-EDTA;200mmol L⁻¹ 的 NaNO₃)→充氮气 2 min(赶出溶液中的氧气)→黑暗条件下 30℃ 反应 30 min→取出藻体→吸取反应介质缓冲液 2ml 加入 1ml 磺胺试剂,5 min 后加入 1ml 盐酸萘乙二氨试剂,混匀,静置 15 min→测定 543nm 处的吸光值→用标准曲线回归方程计算亚硝氮(NO₂⁻-N)的含量,然后计算酶活性。以每克湿重藻体每小时产生的 NO₂⁻-N 量表示 NRA(μmol NO₂⁻ h⁻¹ g⁻¹ FW)。标准曲线用不同浓度的 NaNO₂ 标准溶液制作。

1.6 营养盐吸收速率的测定

通过测定培养前后藻体培养介质中营养盐的浓度,用营养盐的减少速率来表示藻体对该营养盐的吸收速率。具体公式如下: $uptake\ rate = (N_0 - N_t) \times V \times g^{-1} \times t^{-1}$ 。其中, N_0 为实验开始时培养水体中营养盐的浓度, N_t 为实验结束时营养盐的浓度, V 为培养水体的体积, g 为实验开始时藻体的湿重, t 为培养时间(h)。NO₃⁻ 浓度的测定采用 Cu-Cd 还原-重氮-偶氮分光光度法,无机磷浓度的测定采用磷钼蓝分光光度法^[18]。

1.7 统计分析

所有测定结果表示为平均数 ± 标准差($n \geq 3$),用方差分析(ANOVA)和 t -检验进行统计显著性分析,以 $P < 0.05$ 作为差异的显著性水平。

2 结果

2.1 生长

C + No、CoN + 和 C + N + 等 3 种处理的龙须菜的日相对生长率都比 CoNo 处理的高 50% 左右,而这 3 种处理之间没有显著性差异(图 1)。这表明,大气 CO₂ 升高或海水中 NO₃⁻ 加富都能显著促进龙须菜的生长,但

当二者同时加富的时候,对龙须菜生长的促进作用并不是他们分别单独加富时的加倍。

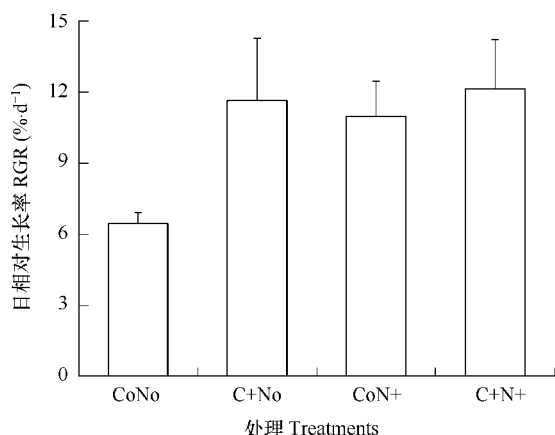


图1 不同 C、N 处理对龙须菜生长的影响

Fig. 1 Effects of different C and N growth treatments on the growth of *Gracilaria lemaneiformis*

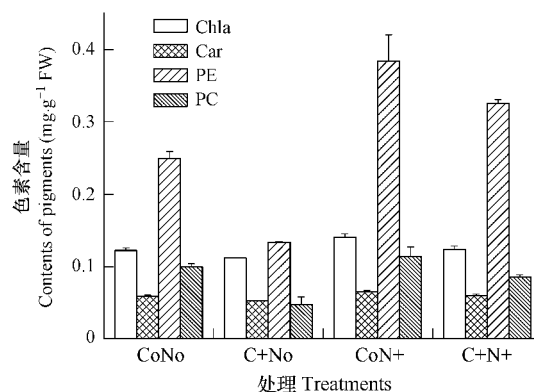


图2 不同 C、N 条件培养对龙须菜 Chla、Car、PE、PC 含量的影响

Fig. 2 Effects of different C and N growth treatments on the contents of Chla, Car, PE and PC in *Gracilaria lemaneiformis*

2.2 色素和可溶性蛋白含量

相同的 CO₂ 浓度下, N + 培养的龙须菜 Chla、Car、PE、PC 等 4 种色素含量和可溶性蛋白含量比 No 培养的含量都要高;而相同 NO₃⁻ 浓度下培养的藻体, C + 培养的 4 种色素和可溶性蛋白含量比 Co 处理的低(图 2、图 3)。

由此可知,高浓度的 NO₃⁻ 可以提高龙须菜藻体中 Chla、Car、PE、PC 和可溶性蛋白的含量,而高浓度的 CO₂ 会降低它们在藻体中的含量。

2.3 硝酸还原酶活性

从图 4 可以看出,不管是光照还是黑暗条件下,相同的 NO₃⁻ 浓度下, C + 培养的藻体 NRA 比 Co 培养的藻体要高 ($P < 0.01$);而相同 CO₂ 浓度下, N + 和 No 培养对龙须菜的 NRA 没有显著影响 ($P > 0.05$)。可见,高浓度的 CO₂ 可以提高龙须菜的 NRA,而对于长期培养的龙须菜来说,高浓度 NO₃⁻ 相对于低浓度 NO₃⁻ 培养对藻体的 NRA 并没有显著影响。

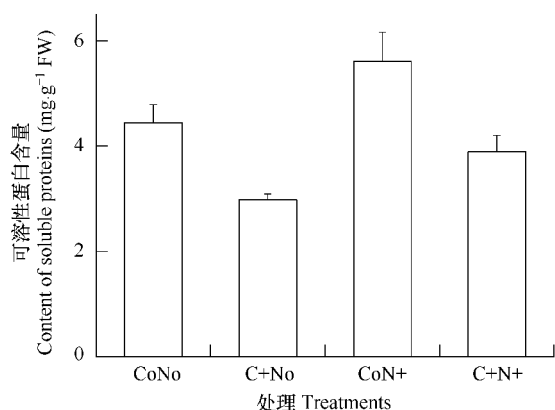


图3 不同 C、N 条件培养对龙须菜可溶性蛋白含量的影响

Fig. 3 Effects of different C and N growth treatments on content of soluble proteins in *Gracilaria lemaneiformis*

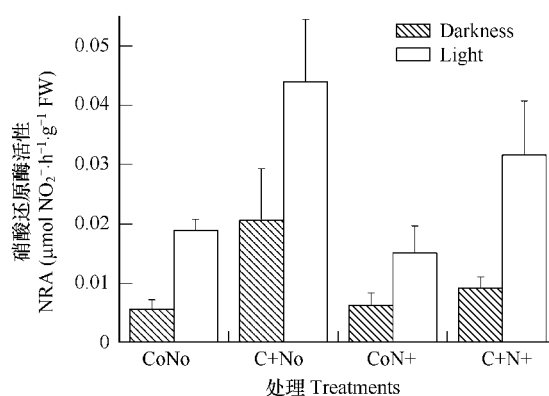


图4 不同 C、N 条件培养对龙须菜硝酸还原酶活性的影响

Fig. 4 Effects of different C and N growth treatments on the activity of nitrate reductase in *Gracilaria lemaneiformis*

2.4 营养盐的吸收

由图5可知,在N⁺处理的情况下,大气CO₂浓度升高条件下培养的龙须菜比正常CO₂浓度培养条件下的藻体N和P的吸收速率要快($P < 0.01$);而No处理的情况,二者之间并无显著差异($P > 0.05$)。可见在N供应受限制时,CO₂对龙须菜营养盐吸收速率没有显著影响,而N供应充足的时候,高浓度的CO₂能够提高龙须菜对氮、磷营养盐的吸收速度。

如图6所示,当把这4种不同条件下培养的龙须菜放到相同的中间NO₃⁻浓度条件下时,No条件下培养的龙须菜的NO₃⁻吸收速率反而比N⁺培养的要快,而不同CO₂浓度培养的藻体此时的NO₃⁻吸收速率没有显著差异($P > 0.05$);同时,比较图5-B和图6可以看出,No培养的龙须菜的NO₃⁻吸收速率在中间NO₃⁻浓度条件下比在之前的No条件下明显加快,而N⁺培养的藻体比之前则显著减慢。可见,当龙须菜从高NO₃⁻转入低NO₃⁻环境时,NO₃⁻的吸收速率会减慢;而从低NO₃⁻转入高NO₃⁻环境时,NO₃⁻的吸收速率加快。

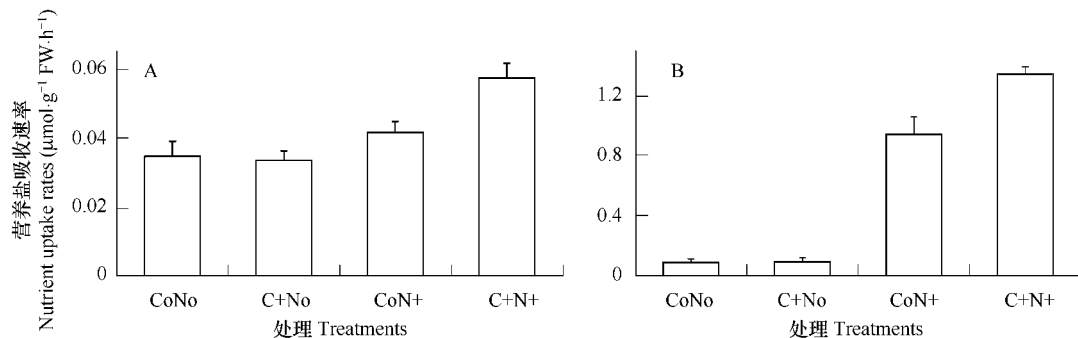


图5 不同C、N条件培养对龙须菜营养盐吸收速率的影响

Fig. 5 Effects of different C and N growth treatments on nutrient uptake rates for *Gracilaria lemaneiformis*

A: PO₄³⁻ 吸收速率; B: NO₃⁻ 吸收速率 A: PO₄³⁻ uptake rate; B: NO₃⁻ uptake rate

3 讨论

3.1 对生长的影响

由于海藻的种类以及实验条件的不同,高浓度的CO₂对大型海藻的生长所表现出的效应不同^[2]。本研究中,CO₂的加富提高了龙须菜的生长速率(图1),这与江篱属中其它种类 *Gracilaria* sp. 和 *Gracilaria chilensis* 的情况相似^[19]。这些种类的海藻虽然能够利用海水中的HCO₃⁻,但在自然海水中光合作用很容易受到无机碳的限制^[20],而大气CO₂的加富,能够提高培养水体中的无机碳浓度,促进光合固碳作用,从而加速了藻体的生长。另有一些种类的海藻不能够利用海水中的HCO₃⁻,如 *Hizikia fusiformis*,但CO₂的加富同样能够促进其生长,这是因为海水中CO₂浓度的升高不但促进了藻体的光合固碳,同时,CO₂/O₂比值的升高抑制了光呼吸作用,减少了能量的消耗^[8]。同时,还有一些海藻不但能够利用HCO₃⁻,并且自然海水中HCO₃⁻的浓度又是饱和的,如 *Ulva rigida*,但是因为CO₂的加富刺激了氮在藻体内的积累,从而也加速了藻体的生长^[21]。除了促进作用,CO₂的加富也可能降低或者对藻体的生长不产生显著影响。如,提高CO₂浓度对 *Gracilaria gaditana* 的生长速率没有影响^[22],而使紫菜属中 *Porphyra leucostica* 的生长速率反而降低^[23]。这些结果可能是因为CO₂加

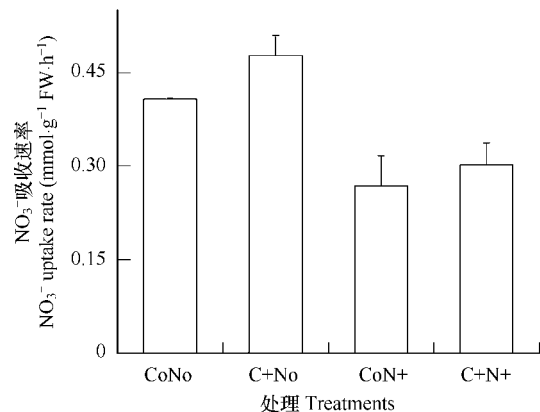


图6 4种不同生长处理的龙须菜放到相同的中间浓度条件下时NO₃⁻的吸收速率

Fig. 6 NO₃⁻ uptake rates under the same condition of the medial NO₃⁻ concentration for *Gracilaria lemaneiformis* grown at 4 different C and N growth treatments

富降低了培养水体中的 pH 值造成的间接作用,但具体机制尚需进一步研究。

本研究中,硝氮的加富也加快了龙须菜的生长速率。这与 Dawes 等报道的江篱属海藻 *Gracilaria verrucosa* 和 *G. tikvahiae* 中的结果^[24]以及徐永健等报道的氮素对龙须菜生长的影响结果一致^[13]。其生理原因在于,氮是植物生长的营养基础和外部信号^[25],自然海水中生长的藻体一般处于氮限制,氮营养盐的加富为藻体提供了生长的信号,刺激藻体生长调控相关基因的合成,同时也使藻体利用营养生长的一系列生理过程的底物浓度升高,在一定范围内使藻体的同化作用加强,从而促进其快速生长。但本研究中,CO₂和氮同时加富时,龙须菜的生长速率跟二者分别单独加富时没有显著差异,并没有出现更快的生长现象。其原因可能是因为在氮供应充足的情况下 CO₂的加富减少了 Rubisco(1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶)的合成,从而部分的降低了碳的同化,而在氮限制的条件下,CO₂的加富对 Rubisco 并没有明显的抑制作用^[22, 26]。

3.2 对色素和可溶性蛋白含量的影响

Andria 等对江篱属藻类 *Gracilaria gaditana* 进行不同 CO₂浓度和氮水平的生长处理,发现 PE,PC 和 Chla 以及可溶性蛋白含量在 CoN + 处理中含量最高而在 C + No 中最低^[22]。本研究中,CO₂的加富培养也降低了龙须菜藻体色素 PE、PC、Chla 和可溶性蛋白的含量,而氮加富却提高了他们在藻体中的含量(图 2,3),这一结果与 Andria 等的结果一致。其生理原因可能是,CO₂的加富促进了藻体内可溶性碳水化合物的积累,而可溶性碳水化合物对光合作用相关酶的基因表达具有抑制作用,从而降低了 Rubisco 含量和对 CO₂的羧化能力,最终导致光合色素和可溶性蛋白的含量降低。另一方面,氮是植物生长的基础^[25],为各种蛋白的合成提供营养原料,而自然海水中的藻体一般是氮缺乏的,氮的加富必然导致以氮为底物的氮代谢的加强,从而增加了氮同化物在藻体内的积累。同时,作为大型海藻的主要氮库,藻胆蛋白会在氮充足的环境中大量合成,为藻体储存多余的氮源^[27]。

3.3 对硝酸盐吸收的影响

CO₂的浓度变化影响氮代谢中的许多关键酶活性^[28],已有报道表明,高浓度的 CO₂使得 *Ulva riditana*^[21]和 *Porphyra leucostica*^[23]的 NRA 升高。本研究中,相同的氮浓度下,CO₂加富也显著地提高了龙须菜的 NRA(图 4)。Gordillo 等等认为,是 CO₂直接作用于硝酸还原酶(NR)合成的初始阶段,对酶的合成进行调节^[21],而并不是象高等植物那样通过影响碳代谢的生理过程来影响 NRA^[29]。另外,本研究中,在氮供应充足的情况下,CO₂的加富加快了龙须菜氮、磷营养盐的吸收速率(图 5),这与另外两种红藻 *Gracilaria* sp. 和 *Gracilaria chilensis*^[19]以及绿藻 *Ulva lactuca*^[30]、褐藻 *Hizikia fusiforme*^[8]中的情况一致。但也有相反的结果,高浓度的 CO₂使 *Gracilaria gaditana*^[22]和 *Porphyra leucostica*^[23]的 NO₃⁻吸收速率下降。

Mercado 等对 *Porphyra leucostica* 进行 CO₂加富培养 7 ~ 8d 后,提高了 NRA 的同时却降低了 NO₃⁻的吸收速率,由此认为在高 CO₂浓度下,*Porphyra leucostica* 对 NO₃⁻吸收和还原过程并不相耦联^[23]。其他一些研究也得到了类似的结论^[17]。但本研究中,高 CO₂浓度培养龙须菜 15d 后,同时提高了 NRA 和 NO₃⁻吸收速率,影响却是一致的(图 4,图 5)。这可能由于海藻的种类以及培养时间不同所致。另外,由于 NR 是一种底物诱导酶^[31, 32],并且 NRA 与细胞内 NO₃⁻浓度的增加成正相关关系^[33],所以当高浓度 CO₂使 NO₃⁻吸收速率加快时,细胞内 NO₃⁻浓度的快速增加会刺激 NRA 的升高,二者的变化趋势相同。对于高浓度的 CO₂对 NO₃⁻吸收和 NRA 的影响机制尚需进一步研究。

本实验结果表明,在高 NO₃⁻浓度生长条件下,龙须菜对氮、磷营养盐的吸收速率都显著提高(图 5),这与 Pedersen 等对几种紫菜属海藻做的氮、磷吸收实验结果一致^[34]。但是当把 4 种处理的藻体放到相同的中间 NO₃⁻浓度条件下时,以前不同浓度的 CO₂处理对此时的 NO₃⁻吸收没有显著影响(图 6)。可见当去除高浓度的 CO₂条件后,其对 NO₃⁻吸收的影响也随即消失。而之前 No 和 N + 处理的藻体由于放到中间 NO₃⁻浓度的水体中时二者的初始营养状态不同(No 处理的处于氮限制,N + 处理的处于氮饱和),No 处理的藻体 NO₃⁻的吸收速率大大加快,而 N + 处理的却大大降低(图 5 和图 6),此时的离子吸收速率可能主要受组织内部的营

养状态而不是外界营养盐浓度所控制。

References:

- [1] Makino A, Mae T. Photosynthesis and plant growth at elevated levels of CO₂. *Plant Cell Physiol*, 1999, 40 (10): 999—1006.
- [2] Zou D H, Gao K S. Effects of elevated CO₂ concentration on the photosynthesis and related physiological processes in marine macroalgae. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(10): 1750—1757.
- [3] Hein M, Sand-Jensen K. CO₂ increases oceanic primary production. *Nature*, 1997, 388: 526—527.
- [4] Xia J R, Gao K S. Effects of high CO₂ concentration on growth and photosynthesis of *Spirulina Maxima*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, 25 (5): 474—480.
- [5] Zou D H, Chen X W. Effects of elevated CO₂ concentration on growth and some physiological and biochemical traits in *Enteromorpha clathrata* (Chlorophyta). *Marine Science Bulletin*, 2002, 21(5): 38—45.
- [6] Zou D H, Gao K S and Xia J R. Photosynthetic utilization of inorganic carbon in the economic brown alga, *Hizikia fusiforme* (Sargassaceae) from the south China sea. *J Phycol*, 2003, 39: 1095—1100.
- [7] Yu J, Tang X X, Zhang P Y, Dong S L. Effects of CO₂ enrichment on growth, photosynthesis and activities of antioxidant enzymes of two marine micro-green-algae. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(2): 197—202.
- [8] Zou D H. Effects of elevated atmospheric CO₂ on growth, photosynthesis and nitrogen metabolism in the economic brown seaweed, *Hizikia fusiforme* (Sargassaceae, Phaephyta). *Aquaculture*, 2005, 250: 726—735.
- [9] Smetacek V. Coastal eutrophication: causes and consequences (A). In: Mantourd M ed. *Ocean Margin Processes in Global Change*. New York: John Wiley & Sons, 1991. 251—279.
- [10] Yang Y F, Fei X G. Prospects for bioremediation of cultivation of large-sized seaweed in eutrophic mariculture areas. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 2003, 33(1): 53—57.
- [11] Fei X G. Solving the costal eutrophication problem by large scale seaweed cultivation. *Hydrobiologia*, 2004, 512: 145—151.
- [12] Tang K X, You X P, Lin Y S, Chen M E, Shen D Y, Lin S B. A study on bioremediation of eutrophication of mariculture waters by *Gracilaria lemaneiformis*. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(11): 3044—3051.
- [13] Xu Y J, Qian L M, Wang Y S. Effects of nitrogen nutrients on growth rate and pigment compositions of *Gracilaria lemaneiformis*. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2006, 25(2): 222—228.
- [14] Jensen A. Chlorophylls and carotenoids. In: Hellebust J A and Craigie J S eds. *Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods*. London, New York, Melbourne: Cambridge University Press, 1978. 61—69.
- [15] Siegelman H W and Kycia J H. Algal biliproteins. In: Hellebust J A and Craigie J S eds. *Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods*. London, New York, Melbourne: Cambridge University Press, 1978. 71—79.
- [16] Kochert G. Protein determination by dye binding. In: Hellebust J A and Craigie J S eds. *Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods*. London, New York, Melbourne: Cambridge University Press, 1978. 92—93.
- [17] Corzo A, Niell F X. Determination of nitrate reductase activity in *Ulva rigida* C. Agardh by the *in situ* method. *Exp Mar Biol Ecol*, 1991, 146: 181—191.
- [18] Harrison P J. Determining phosphate uptake rates of phytoplankton. In: Lobban C S, Chapman D J, Kremer B P eds. *Experimental Phycology: a Laboratory Manual*. New York: Cambridge University Press, 1988. 186—195.
- [19] Gao K, Aruga Y, Asada K, Kiyohara M. Influence of enhanced CO₂ on growth and photosynthesis of the red algae *Gracilaria* sp. and *G. chilensis*. *J. Appl. Phycol.*, 1993, 5: 563—571.
- [20] Zou D H, Xia J R, Yang Y F. Photosynthetic use of exogenous inorganic carbon in the agarophyte *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta). *Aquaculture*, 2004, 237: 421—431.
- [21] Gordillo F J L, Niell F X, Figueroa F L. Non-photosynthetic enhancement of growth by high CO₂ level in the nitrophilic seaweed *Ulva rigida* C. Agardh (Chlorophyta). *Planta*, 2001, 213: 64—70.
- [22] Andria J R, Vergara J J, Perez-Llorens J L. Biochemical responses and photosynthetic performance of *Gracilaria* sp. (Rhodophyta) from Cadiz, Spain, cultured under different inorganic carbon nitrogen levels. *Eur. J. Phycol.*, 1999, 34: 497—504.
- [23] Mercado J M, Javier F, Gordillo L, Niell X, Figueroa F L. Effects of different levels of CO₂ on photosynthesis and cell components of the red alga *Porphyra leucosticta*. *J. Appl. Phycol.*, 1999, 11: 455—461.
- [24] Dawes C J, Koch E W. Physiological responses of the red algae *Gracilaria verrucosa* and *G. tikvahiae* before and after nutrient enrichment. *Bull Mar Sci*, 1990, 46(2): 335—344.

- [25] Crawford N M. Nitrate: nutrient and signal for plant growth. *The Plant Cell*, 1995, 7: 859—868.
- [26] Harmens H, Stirling C M, Marshall C, Farrar J F. Dose down-regulation of photosynthetic capacity by elevated CO₂ depend on N supply in *Dactylis glomerata*? *Physiol Plant*, 2000, 108: 43—50.
- [27] Kursar T A, Alberte R S. Photosynthetic unit organization in a red alga: relationships between light-harvesting pigments and reaction centres. *Plant Physiol*, 1983, 72: 409—414.
- [28] Stitt M and Krapp A. The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: the physiological and molecular background. *Plant Cell Environ*, 1999, 22: 583—621.
- [29] Webber A N, Nie G Y, Long S P. Acclimation of photosynthetic proteins to rising atmospheric CO₂. *Photosynth Res*, 1994, 39: 413—425.
- [30] Zou D H, Gao K S, Ruan Z X. Effects of elevated CO₂ concentration on photosynthesis and nutrients uptake of *Ulva lactuca*. *J Ocean Univ Qingdao*, 2001, 31(6): 877—882.
- [31] Crawford N M, Arst N H J. The molecular genetics of nitrate assimilation in fungi and plants. *Annu Rev Genet*, 1993, 27: 115—146.
- [32] Xu Z G, Zou D H, Zhang X, Liu S X, Gao K S. Effects of light and different forms of nitrogen on the nitrate reductase of *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta). *Journal of Fisheries of China*, 2007, 31(3): 90—96.
- [33] Collos Y, Slawyk G. Significance of cellular nitrate content in natural population of marine phytoplankton board cultures. *Mar Biol*, 1976, 34: 27—32.
- [34] Pedersen A, Kraemer G, Yarish C. The effects of temperature and nutrient concentrations on nitrate and phosphate uptake in different species of *Porphyra* from Long Island Sound (USA). *J Exp Mar Biol Ecol*, 2004, 312: 235—252.

参考文献:

- [2] 邹定辉, 高坤山. 高浓度 CO₂对大型海藻光合作用及相关过程的影响. *生态学报*, 2002, 22(10): 1750~1757.
- [4] 夏建荣, 高坤山. 高浓度 CO₂对极大螺旋藻生长和光合作用的影响. *水生生物学报*, 2001, 25(5): 474~480.
- [5] 邹定辉, 陈雄文. 高浓度 CO₂对条浒苔(*Enteromorpha clathrata*)生长和一些生理生化特征的影响. *海洋通报*, 2002, 21(5): 38~45.
- [7] 于娟, 唐学玺, 张培玉, 董双林. CO₂加富对两种微绿藻的生长、光合作用和抗氧化酶活性的影响. *生态学报*, 2005, 25(2): 197~202.
- [10] 杨宇峰, 费修缙. 大型海藻对富营养化海水养殖区生物修复的研究与展望. *青岛海洋大学学报*, 2003, 33(1): 053~057.
- [12] 汤坤贤, 游秀萍, 林亚森, 陈敏儿, 沈东煜, 林泗彬. 龙须菜对富营养化海水的生物修复. *生态学报*, 2005, 25(11): 3044~3051.
- [13] 徐永健, 钱鲁闽, 王永胜. 氮素营养对龙须菜生长及色素组成的影响. *台湾海峡*, 2006, 25(2): 222~228.
- [30] 邹定辉, 高坤山, 阮祚禧. 高 CO₂浓度对石莼光合作用及营养盐吸收的影响. *青岛海洋大学学报*, 2001, 31(6): 877~882.
- [32] 徐智广, 邹定辉, 张鑫, 刘树霞, 高坤山. 光照和不同形态氮营养盐供应对坛紫菜硝酸还原酶活性的影响. *水产学报*, 2007, 31(1): 90~96.