# 低盐在短时间内对绿潮浒苔(*Ulva prolifera*)氮磷吸收的动态影响*

朱 明[1] 刘 峰[2, 3①] 陈 璐[4] 刘兆普[5①]

(1. 淮海工学院海洋生命与水产学院 连云港 222005; 2. 中国科学院海洋研究所实验海洋生物学重点实验室 青岛 266071; 3. 青岛海洋科学与技术国家实验室海洋生物学与生物技术功能实验室 青岛 266237; 4. 上海师范大学生命与环境科学学院 植物种质资源开发中心 上海 200234; 5. 南京农业大学资源与环境科学学院 南京 210095)

**摘要** 我国黄海出现的绿潮发源于黄海南部苏北辐射沙洲紫菜养殖区，苏北沙洲区濒临的沿岸河网众多，来自沿岸径流的淡水携带大量氮磷等营养盐间歇性入海，导致海水的富营养化并伴随着盐度的周期性波动。本研究通过模拟实验研究低盐度(15 和 5)对浒苔吸收氮盐($NO_3^-$-N 和 $NH_4^+$-N)和磷盐($PO_4^{3-}$-P)的影响，主要发现：与盐度 30 相比，在低盐度(15 和 5)时，浒苔对 $NO_3^-$-N 的 1h 最大吸收速率($V_{max}$)和亲和力($V_{max}/K_s$)分别提高 280%和 350%左右，半饱和常数($K_s$)下降 15%左右，并能够维持对 $NO_3^-$-N 的高效吸收(24h)；盐度 15 和 5 时，浒苔对 $NH_4^+$-N 的 1h 最大吸收速率($V_{max}$)分别提高 40%和 200%，亲和力($V_{max}/K_s$)分别提高 20%和 180%，$K_s$ 分别提高 15%和 30%，但是盐度降低对 $NH_4^+$-N 的长效吸收产生负面影响，甚至在盐度 5 条件下出现吸收高浓度 $NH_4^+$-N 后再释放的现象；与盐度 30 相似，盐度 15 条件下浒苔能够快速吸收 $PO_4^{3-}$-P，而盐度 5 则导致藻细胞内的 $PO_4^{3-}$-P 在早期阶段快速流失，并在后期不能有效吸收 $PO_4^{3-}$-P。本实验的结果表明，降低盐度有利于浒苔对氮源的快速吸收，在盐度 15 下浒苔能够实现对硝酸盐和磷盐的高效吸收。

**关键词** 绿潮；浒苔；盐度；营养盐；吸收速率

**中图分类号** Q178.1; X171; X55 doi: 10.11693/hyhz20180200032

由大型海藻暴发性营养生长形成的藻类灾害(绿潮和金潮)已经成为一个世界性的海洋生态安全问题(Smetacek *et al*, 2013)。大型藻类灾害的发生地通常存在大量营养盐的持续输入，海藻吸收和储存营养盐能力在很大程度上决定着其在沿岸带生态系统中的竞争能力(Runcie *et al*, 2003; Luo *et al*, 2012)。研究显示石莼属(*Ulva*)藻类具有较高的营养盐吸收速率和储存能力，能够快速响应营养盐的波动式变化(Fong *et al*, 2000)，在富营养化水域环境中快速生长，进而形成绿潮(Cohen *et al*, 2004a, b; Largo *et al*, 2004)。有研究显示陆源径流以及苏北沿岸流带来的低盐水体中富含氮磷等营养盐，为浒苔绿潮的暴发提供了重要的物质基础(高嵩等, 2012)。

米氏(Mihcaelis-Menton)方程表示稳态时藻类对氮盐(如 $NO_3^-$-N 和 $NH_4^+$-N)和磷盐(如 $PO_4^{3-}$-P)的吸收理论模型。在这个模型中，$V_{max}$ 和 $K_s$ 分别表示对离子的最大吸收速率和在达到最大吸收速率一半时底物浓度(半饱和常数)，而运输系统的亲和力则通过 $V_{max}/K_s$ 获得(Harrison *et al*, 1989; Berges *et al*, 1994)。该模型广泛用于描述藻类或大型水生植物对营养盐的吸收

* 青岛海洋科学与技术国家实验室鳌山科技创新计划项目，2016ASKJ02 号；国家自然科学基金项目，41876165 号；江苏省连云港市科技攻关(现代农业)项目，NYYQ1612 号；中国科学院前沿科学重点研究项目，QYZDB-SSW-DQC023 号；江苏省品牌专业项目，ppzy2015B159 号；中国科学院青年创新促进会基金，2015164 号；海洋赤潮灾害立体监测技术与应用国家海洋局重点实验室开放研究基金，MATHAB201701 号。朱 明，教授，博士，E-mail: zhuming2382@163.com

① 通讯作者：刘 峰，特聘研究员，E-mail: liufeng@qdio.ac.cn；刘兆普，教授，E-mail: sea@njau.edu.cn

收稿日期：2018-02-07，收修改稿日期：2018-04-26

特性(刘静雯等, 2004; 温珊珊等, 2008; Luo *et al*, 2012)。

有关浒苔在室内外实验条件下吸收硝酸盐($NO_3^-$-N)和铵氮($NH_4^+$-N)动力学实验, 已经获得了诸多结果。史华明(2009)研究发现在盐度 30 条件下, 经过 2d 饥饿处理后的浒苔快速地吸收 $NO_3^-$-N 和 $NH_4^+$-N 发生在实验的开始阶段, 表明浒苔具有快速储备营养盐的特征; 在 1.5h 内对 $NH_4^+$-N 和 $NO_3^-$-N 的吸收速率符合米氏动力学方程, 其中浒苔对 $NH_4^+$-N 的半饱和常数小于对 $NO_3^-$-N 的半饱和常数, 对 $NH_4^+$-N 的最大吸收速率大于 $NO_3^-$-N (李俭平等, 2010; Luo *et al*, 2012); 而吴婷(2013)则发现浒苔对 $NO_3^-$-N 的最大吸收速率大于 $NH_4^+$-N。上述研究出现的浒苔对 $NO_3^-$-N 和 $NH_4^+$-N 最大吸收速率的差异, 可能与实验材料的发育阶段、生理状态、饥饿处理时间以及实验时间区段的选择有密切关系。研究显示, 在正常盐度(30)条件下经过磷($PO_4^{3-}$-P)饥饿处理后的石莼(*Ulva lactuca*)对 $PO_4^{3-}$-P 能够快速和过量的吸收, 并以多聚磷(PolyP)的形式储存在细胞内(Runcie *et al*, 2001, 2004)。

石莼属绿藻通常生长在半咸水的河口或潮间带水域环境中, 盐度波动或降低会影响藻类对氮磷等营养盐的吸收和同化能力(Cohen *et al*, 2004b)。在正常盐度(30)的海水中石莼属海藻对氮盐($NO_3^-$-N 和 $NH_4^+$-N)吸收特性的研究已有诸多报道, 但对于盐度降低如何影响绿潮浒苔(*Ulva prolifera*)对营养盐($NO_3^-$-N, $NH_4^+$-N, $PO_4^{3-}$-P)吸收还未见相关报道。连续 11 年在我国黄海出现的绿潮, 发源于黄海南部苏北辐射沙洲紫菜养殖区; 苏北沙洲区濒临的沿岸河网众多, 来自沿岸径流的淡水携带大量氮磷等营养盐间歇性入海, 导致海水的富营养化并伴随着盐度的周期性波动(Luo *et al*, 2011; Liu *et al*, 2012, 2013)。本实验通过设置不同盐度(30、15 和 5)条件, 研究浒苔在 24h 内吸收 $NO_3^-$-N、$NH_4^+$-N 和 $PO_4^{3-}$-P 的变化规律。

## 1 材料与方法

### 1.1 藻样采集与预培养

绿潮浒苔藻体于 2010 年 5 月在连云港近海采集, 经形态和分子鉴定为 *Ulva prolifera*。将洗净的藻体放入 0.2%的 KI 培养液中浸泡 1min, 再用高压灭菌海水冲洗 3—4 次, 以去除附着的杂质等(叶静等, 2006), 然后通过灭菌的自然海水(盐度 32±2, pH 8.0—8.3, 28.5μmol/L $NO_3^-$-N, 3.54μmol/L $PO_4^{3-}$-P)进行保种培养。培养过程中添加 0.5—1mg/L 的二氧化锗($GeO_2$), 藻体密度不超过 5.0g/L, 温度为 20±1°C, 光照强度为 50—60μmol photons/($m^2$s), 光照周期为 12L : 12D。

取健康的浒苔藻体作为实验材料, 将挑选的具有多分枝的藻体, 在 500mL 球形培养瓶里连续充气培养, 培养液为 400mL 抽滤的自然海水, 每天更换一次。藻体密度不超过 1.0g/L, 培养温度为 20±1°C, 光照强度为 100—120μmol photons/($m^2$s), 光照周期为 12L : 12D。

### 1.2 不同盐度下浒苔对硝酸盐和铵盐的 24h 连续吸收

使用红海盐(Red Sea salt, Israel)充分溶解于蒸馏水, 配置不同盐度的人工海水, 并用 1mol/L 的 NaOH 或者 HCl 调节 pH 值至 8.3。将单根藻丝在盐度 30 条件下进行 7d 饥饿培养后, 取 0.2g 置于 250mL 锥形瓶中(培养液 200mL), 设置 3 个盐度 30、15 和 5, 每个盐度条件下分别添加 25、50、100、200 和 300μmol/L 的 $NO_3^-$-N 或 $NH_4^+$-N, 每个处理设置 3 个平行组; 在温度 20°C、光照 100—120μmol photons/($m^2$s)条件下培养, 并在 0、1、3、6、9、12 和 24h 后使用一次性注射器和 0.45μm 微孔滤膜取培养介质的水样 1mL, 于 –20°C 冷冻保存待测。

### 1.3 不同盐度下浒苔对磷酸盐 24h 连续吸收

将上述经过 7d 营养饥饿胁迫的藻体 0.2g, 置于 250mL 锥形瓶中(培养基 200mL), 设置 3 个盐度 30、15 和 5(用蒸馏水和红海盐按比例配置), 每个盐度条件下分别添加 60μmol/L $PO_4^{3-}$-P, 培养条件和取样时间同 1.2。

### 1.4 营养盐分析检测方法

硝酸盐含量的测定方法: 使用 Smartchem 自动水质分析仪, 采用镉柱还原法检测水体中的硝酸盐含量, 样品经过一个开放的镀铜镉柱还原器后, 硝酸根还原为亚硝酸根。亚硝酸根通过磺胺处理后与 N-1-萘基乙二胺盐酸偶联形成深色的偶氮染料, 然后在 550nm 或者 520nm 比色分析。

铵氮含量的测定方法: 铵氮的测定采用国标 GB 17378.4-2007 次溴酸盐氧化法。

磷酸盐含量的测定方法: 使用 Smartchem 自动水质分析仪、采用磷钼蓝显色法磷酸盐含量的测定(Murphy *et al*, 1958), 钼酸铵与正磷酸盐在酸性条件下反应生成钼酸盐。随后被抗坏血酸还原成钼蓝。反应的催化剂是锑盐, 在 880nm 检测吸光度。

### 1.5　数据分析

使用 Origin 8.0 软件进行数据分析，采用单因素方差分析(one-way AVONA)和 T 检验(T-test)比较不同处理之间的差异，设显著水平为 $P<0.05$。

## 2　实验结果

### 2.1　三种盐度条件下浒苔对 $NO_3^-$-N 的吸收

在 30、15 和 5 盐度条件下，经过 24h 的培养，培养液中 $NO_3^-$-N 的含量呈现持续降低的趋势($P<0.05$)，表明不同盐度下浒苔展现出对 $NO_3^-$-N 的持续吸收。浒苔对 $NO_3^-$-N 的吸收量随着盐度的下降不断增加，在盐度为 15 和 5 时，吸收主要发生在实验开始后的 3h 内(图 1)。

硝酸盐($NO_3^-$-N)浓度在 25—300μmol/L 范围内，在盐度 30、15 和 5 条件下浒苔对 $NO_3^-$-N 的 1h 内的吸收速率符合米氏方程: $V=V_{max}\cdot S/(K_s+S)$ ($R^2>0.96$)(表 1)。与盐度 30 相比，在低盐度(15 和 5)时，浒苔对 $NO_3^-$-N 的 1h 最大吸收速率($V_{max}$)和亲和力($V_{max}/K_s$)分别提高 280%和 350%左右($P<0.05$)，半饱和常数($K_s$)下降 15%左右($P<0.05$)，并能够维持对 $NO_3^-$-N 的高效吸收(24h)。$V_{max}$ 和 $V_{max}/K_s$ 随盐度降低而大幅度提升和 $K_s$ 的降低，表明盐度降低提高了浒苔对 $NO_3^-$-N 的竞争优势。

### 2.2　三种盐度条件下浒苔对 $NH_4^+$-N 的吸收

在盐度 30 条件下，浒苔能够对 25—300μmol/L 铵氮($NH_4^+$-N)实现完全的吸收；而在盐度 15 条件下浒苔仍然能够实现对低浓度 $NH_4^+$-N (25—100μmol/L)的吸收，但是在 $NH_4^+$-N 浓度为 200μmol/L 和 300μmol/L 时分别在 12h 和 6h 停止对 $NH_4^+$-N 的吸收，甚至有少量的释放。而在盐度 5 条件下，除了在低浓度 25μmol/L 时浒苔连续吸收 $NH_4^+$-N 外，其他浓度条件下都出现了 $NH_4^+$-N 被吸收后、被释放和再吸收的过程。

在 $NH_4^+$-N 浓度 25—300μmol/L 浓度范围内，在盐度 30、15 和 5 条件下浒苔对 $NH_4^+$-N 的 1h 吸收速率符合米氏方程，$V=V_{max}\cdot S/(K_s+S)$ ($R^2>0.96$)。浒苔对铵氮的 1h 最大吸收速率 $V_{max}$、$K_s$ 以及 $V_{max}/K_s$ 都随着盐度的下降而上升($P<0.05$)；与盐度 30 相比，盐度 15 和 5 条件下的 $V_{max}$ 分别提高了近 40%和 200% ($P<0.05$)；半饱和常数($K_s$)随盐度下降而升高，与盐度 30 相比盐度 15 和 5 条件下的 $K_s$ 分别提高近 15%和 30%；盐度 15 和 5 条件下浒苔对铵氮的亲和力($V_{max}/K_s$)分别提高近 20%和 180% ($P<0.05$)。

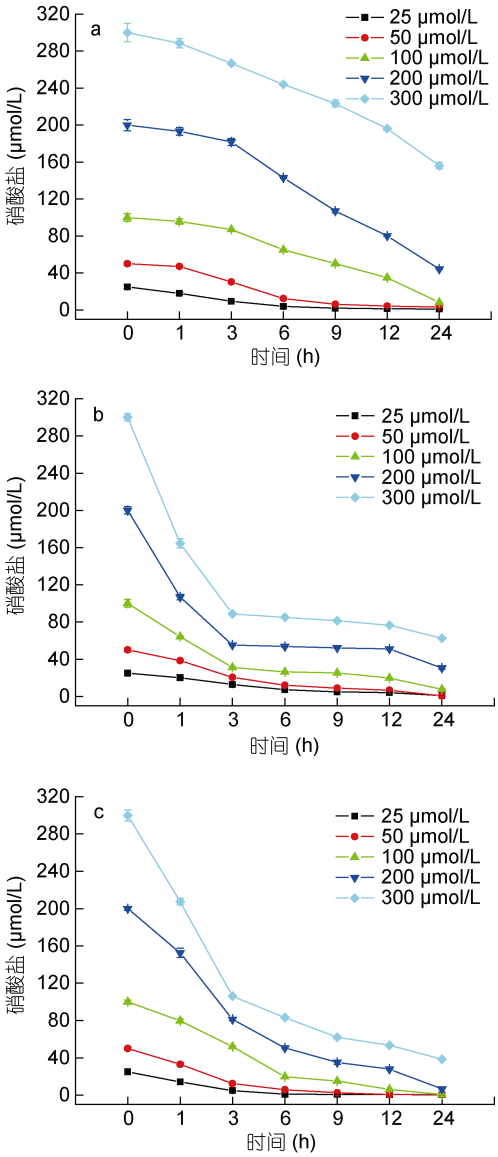


图 1　不同盐度下浒苔培养液中硝酸盐($NO_3^-$-N)浓度变化(差异线显示标准差, $n$=3)

Fig.1　The change of nitrate ($NO_3^-$-N) concentration in the couture medium of *U. prolifera* at a different salinity (Error bars indicate standard error, $n$=3)

注: a. 盐度 30; b. 盐度 15; c. 盐度 5

虽然盐度下降提高了浒苔对铵氮的 $V_{max}$ 和 $V_{max}/K_s$，提高了浒苔对 $NH_4^+$-N 短时间吸收的竞争能力，有利于浒苔在应对来源于低盐水体间歇性 $NH_4^+$-N 补充时保持竞争优势；但其提高幅度远低于对硝酸盐的 $V_{max}$ 和 $V_{max}/K_s$。但是低盐度导致半饱和常数的提高，不利于浒苔在低盐条件下有效利用铵氮，从实验后期的结果也可以看出，盐度下降导致浒苔不能维持对 $NH_4^+$-N 的长效吸收，甚至出现细胞内 $NH_4^+$-N 向细胞外释放的现象。

表 1 盐度 30、15 和 5 下浒苔 1h 内吸收 $NO_3^-$-N 的动力学参数

Tab.1 Dynamics parameters of nitrate ($NO_3^-$-N) uptake by *U. prolifera* in 1 hour at salinities 30, 15, and 5

| 盐度 | 最大吸收速率($V_{max}$) (μmol/L $NO_3^-$N/(gFW h)) | 半饱和常数 $K_s$(μmol/L) | $V_{max}/K_s$ | $R^2$ |
|---|---|---|---|---|
| 30 | 35.40 | 568.18 | 0.0623 | 0.9620 |
| 15 | 131.89 | 485.30 | 0.27 | 0.9694 |
| 5 | 136.64 | 481.93 | 0.2835 | 0.9749 |

表 2 盐度 30、15 和 5 下浒苔 1h 内吸收 $NH_4^+$-N 的动力学参数

Tab.2 Dynamics parameters of ammonium ($NH_4^+$-N) uptake by *U. prolifera* in 1h at salinities 30, 15, and 5

| 盐度 | 最大吸收速率($V_{max}$) (μmol/L $NH_4^+$-N/(gFW h)) | 半饱和常数 $K_s$(μmol/L) | $V_{max}/K_s$ | $R^2$ |
|---|---|---|---|---|
| 30 | 139.54 | 190.97 | 0.730 | 0.962 |
| 15 | 191.73 | 218.77 | 0.876 | 0.969 |
| 5 | 437.90 | 241.58 | 1.812 | 0.995 |

### 2.3 盐度下降对浒苔吸收磷酸盐的影响

在不同盐度和处理时间段内，浒苔对 $PO_4^{3-}$-P 既有吸收、也有释放。在盐度 30 条件下浒苔在 9h 内连续吸收 $PO_4^{3-}$-P，在 9—12h 浒苔向介质中缓慢释放少量 $PO_4^{3-}$-P，在 12—24h 又继续吸收 $PO_4^{3-}$-P。盐度 15 条件下，浒苔在 6h 内快速吸收 $PO_4^{3-}$-P，经过 6—9h 的停滞期后，浒苔在 9—12h 之间快速释放 $PO_4^{3-}$-P，并在 12—24h 时间段内仍然缓慢释放 $PO_4^{3-}$-P。而在盐度 5 条件下，浒苔在 1h 内缓慢吸收 $PO_4^{3-}$-P 后，在 1—6h 内持续释放 $PO_4^{3-}$-P，再经过 6—12h 的快速吸收后，介质中 $PO_4^{3-}$-P 回到了接近初始的水平，并在 12—24h 时间内缓慢吸收 $PO_4^{3-}$-P (图 3)。实验说明低盐(5)能够引起浒苔细胞内部的 $PO_4^{3-}$-P 释放，并阻止藻类对 $PO_4^{3-}$-P 的长效吸收。

## 3 讨论

### 3.1 盐度降低对浒苔吸收硝酸盐的影响

本实验在盐度 30 条件下测得浒苔 1h 对 $NO_3^-$-N 的最大吸收速率($V_{max}$)为 35.4μmol/L(gFW h)，高于李俭平等(2010)1.5h 内所测得的 $V_{max}$(26.67μmol/L/(gFW h))。这可能由于本实验所使用的实验材料经过了更长时间的饥饿处理(7d)，消耗了浒苔细胞内氮库中更多的氮源，为外源氮源的吸收和储存提供更大的胞内空间。

无论浒苔对硝酸盐的短时间(1h)最大吸收速率 $V_{max}$、还是长时间(24h 内)的吸收量都随盐度的下降而增加，说明盐度的降低能够促进浒苔对硝酸盐的吸收。该过程可能与硝酸盐的主动运输有关，在转运蛋白向细胞内主动运输硝酸盐过程中，氮源是以带正电荷的化合物形式与 $Na^+$一起通过带负电荷的海藻细胞膜电位而传递，同时伴随着 $K^+$的外流以维持膜的电位平衡，但是需要 $Na^+/K^+$泵重新建立起离子梯度(Flynn, 1991)；而在低盐条件下藻细胞为了维持细胞内外的渗透压平衡，促进了细胞内部 $K^+$向细胞外的流动，提高了硝酸盐转运蛋白运输效率和硝酸盐的吸收(Cohen *et al*, 2004b)；同时液泡中其他可溶性物质(包括 $NH_4^+$)向外释放(Fong *et al*, 2000)，也为硝酸盐在液泡内的积累提供了额外容纳量，提高了藻类对硝酸盐的亲和力。在硝酸盐加富条件下，盐度降低提高了浒苔的硝酸还原酶活性(Zhu *et al*, 2016)，提高了硝酸盐的同化效率，降低细胞内的硝酸盐储存量，从而促进了藻类对硝酸盐的吸收。

本实验中相对于盐度 30，浒苔在盐度 15 条件下具有更高的 $NO_3^-$-N 最大吸收速率，与 Cohen 等(2004b)对肠浒苔的研究结果相一致，同时浒苔在低盐度(5)条件下所表现出对 $NO_3^-$-N 高吸收速率和亲和力有利于浒苔快速吸收来自于淡水中的 $NO_3^-$-N，保持在河口地区的竞争优势。

本实验中浒苔在三个盐度条件下对硝酸盐的快速吸收发生在起始的 3h 内，其后对硝酸盐的吸收导致培养液中的硝酸盐近乎线性的衰减，说明浒苔的硝酸盐转运与石莼(*Ulva rigida*)存在相似的机制(Corzo *et al*, 1994)，其硝酸盐转运蛋白能够被硝酸盐快速激活，盐度下降通过提高浒苔对 $NO_3^-$-N 的亲和力，从而提高转运蛋白的转运效率。在盐度 30 时，浒苔对高浓度(200—300μmol/L)的硝酸盐以近乎线性的方式吸收，可能由于海水中的硝酸盐经常处于较低水平，藻类对硝酸盐采取主动吸收的机制，但是当硝酸盐浓度上升到一定水平时，藻类也可能同时采取被动吸收的方式提高以快速利用间歇出现的硝酸盐。

### 3.2 盐度降低对浒苔吸收铵氮的影响

本实验中浒苔短时间(1h)吸收铵氮的 $V_{max}$

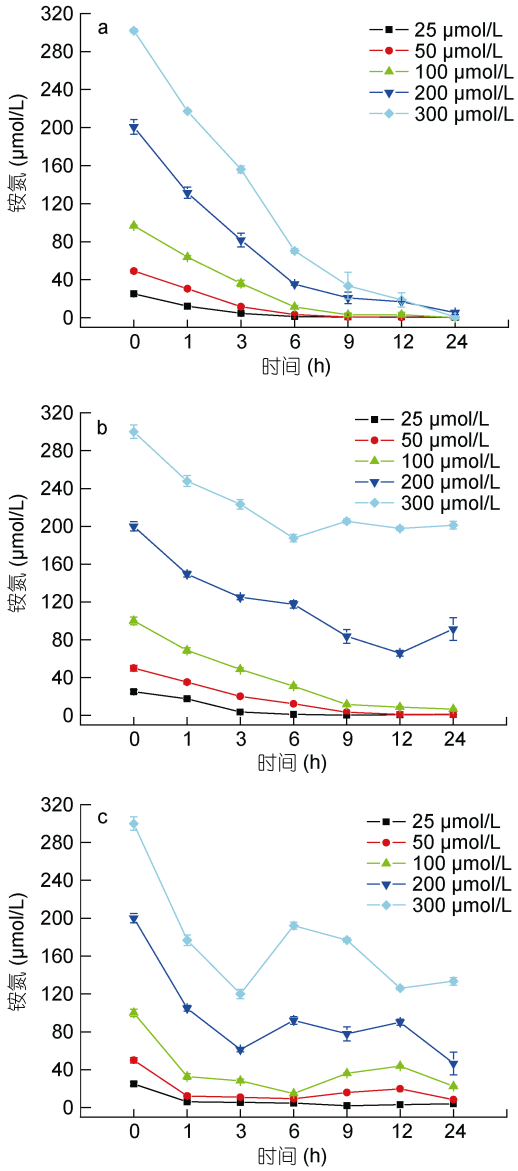


图 2　不同盐度下浒苔培养液中铵氮($NH_4^+$-N)浓度变化(差异线显示标准差, $n$=3)

Fig.2　The change of ammonium ($NH_4^+$-N) concentration in the culture medium of *U. prolifera* at a different salinity (Error bars indicate standard error, $n$=3)

注: a. 盐度 30; b. 盐度 15; c. 盐度 5

(139.54μmol/L/(gFW h))远大于李俭平等(2010)实验结果中的 29.54μmol/L/(gFW h)。可能因为相对于短期(2d)而言，长期(7d)的饥饿胁迫能够消耗更多细胞所储存的铵氮，从而提高了对铵氮的吸收速率。盐度下降提高了藻类对铵氮的短时间吸收能力($V_{max}$)，说明盐度降低促进了铵氮向细胞内的渗透；但是同时盐度下降也提高了半饱和常数($K_s$)，降低了浒苔对铵氮的亲和力，因此藻类在 24h 对铵氮的吸收随盐度下降而减少，也从另外一个角度说明铵氮是以被动吸收的形式进入细胞内部。

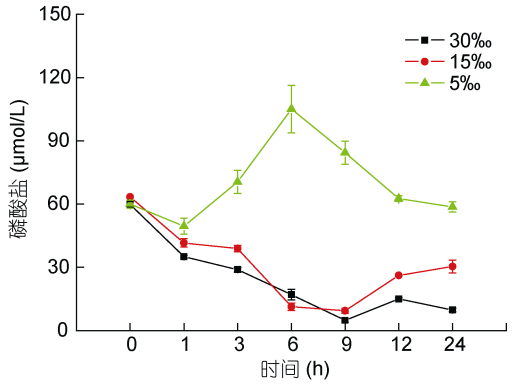


图 3　在不同盐度下浒苔培养液中磷酸盐($PO_4^{3-}$-P)浓度的变化(差异线显示标准差, $n$=3)

Fig.3　The change of phosphate ($PO_4^{3-}$-P) concentration in the culture medium of *U. prolifera* at a different salinity (Error bars indicate standard error, $n$=3)

研究发现肠浒苔(*U. intestinalis*)和石莼(*U. expansa*)在高浓度硝酸盐(250, 840μmol/L)培养 2 周后，水体中出现了铵氮的积累，其浓度与培养液中的硝酸盐浓度正相关，说明铵氮作为藻类利用硝酸盐同化作用的产物，当其含量超出细胞需求时也会排出细胞外(Fong *et al*, 2004)。本实验结果说明，铵氮进入抑或流出藻体，不只与细胞与细胞内外铵氮的浓度有关，而且与盐度的变化有关。正常盐度(30)条件下细胞内外的渗透压是平衡的，铵氮进入藻细胞的途径是单向的；而盐度降低导致藻细胞内部渗透压的提高，从而可能抑制外源性离子的进入或者内源性离子向细胞外部的流出。比如在 300μmol/L 铵氮处理组中，藻体在盐度 15 条件下 6h 后停止吸收铵氮，说明细胞的内外的铵氮浓度达到了一定的平衡；而在低盐度(5)条件下，藻体在 3h 连续吸收铵氮则向水体释放铵氮，9h 后重新从培养液中吸收铵氮，可能与细胞内外的渗透压达到平衡有关。高浓度铵氮对生物具有一定的毒性，因此其渗出细胞的过程是否涉及主动运输，需要进一步研究。

### 3.3　不同盐度下浒苔吸收硝酸盐与铵氮的差异

本研究中，盐度 30 条件下浒苔展现出优先吸收 $NH_4^+$的特点，这与肠浒苔(*U. intestinalis*)一致。Cohen 等(2004a)对肠浒苔的研究发现，当以 600μmol/L $NH_4NO_3$-N 添加氮源时，经过 24h 的连续吸收，$NH_4^+$从 300μmol/L 减少到 50μmol/L，而 $NO_3^-$从 300μmol/L 减少到 150μmol/L，说明该藻类优先吸收 $NH_4^+$-N，但是也同时吸收 $NO_3^-$-N，该策略有利于河口地区的绿潮藻应对不同来源的多重氮源。Ale 等(2011)对石

莼(*U. lactuca*)的研究表明无论是单独添加还是一起添加 $NO_3^-$-N 或 $NH_4^+$-N (50μmol/L), 其对 $NH_4^+$-N 吸收速率都大于对 $NO_3^-$-N 的吸收; 并且其 50μmol/L $NH_4^+$-N 加富条件下石莼的最大生长速率(16.4±0.18%/d) 也高于 50μmol/L $NO_3^-$-N 处理组(9.4±0.72%/d)。上述结果表明石莼属(*Ulva*)的藻类似乎更加偏好于铵氮, 尽管海水的氮源大多以硝酸盐的形式存在。

$V_{max}$ 具有独特的生态学意义, 特别是当营养盐以短期间隙式方式(in short pulse)供给(比如动物排泄)时(D'Elia *et al*, 1978)。本研究中, 在三个盐度条件下, 浒苔对铵氮的最大吸收速率 $V_{max}$ 都大于对硝酸盐的最大吸收速率 $V_{max}$。浒苔在盐度下降时对铵氮的高效吸收能力的提高有利于该藻应对来源于养殖淡水及生活污水的高含量铵氮间歇性补充, 在此过程中水体的盐度通常同时出现下降。

在正常盐度(30)条件下, 浒苔对铵氮的 $V_{max}$ 都大于其对硝酸盐的 $V_{max}$, 与李俭平等(2010)的实验结果一致, 而吴婷(2013)等研究实验显示相反的结果, 可能由于本实验中的材料经过了 7d 的营养饥饿处理, 消耗了藻细胞内部大部分的硝酸盐和铵氮, 而吴婷(2013)的实验材料经过了 2d 的营养饥饿处理, 藻类可能通过硝酸还原酶的作用将其所储存的硝酸盐还原为铵氮, 减少了细胞内硝酸盐的含量并增加铵氮存在一定的积累, 从而阻碍了铵氮的吸收, 并可能导致该实验中 48h 内浒苔对硝酸盐的吸收量大于对铵氮的吸收量。

吴婷(2013)与史华明(2009)的研究发现在盐度 30 条件下浒苔对 $NH_4$-N 的亲和力大于其对 $NO_3$-N 的亲和力($K_s$ 值越大, 亲和力越小), 本研究显示盐度下降(15 和 5)条件下, 浒苔对铵氮的半饱和常数 $K_s$ 都小于对硝酸盐, 说明低盐条件下浒苔仍然能够保持对铵氮较高的亲和力。浒苔在盐度降低条件下所保持的高效吸收铵氮能力, 有助于其优先获得在河口和径流中偶然出现的铵氮。

硝酸盐进入细胞后经过硝酸还原酶的作用转化铵氮, 而盐度降低导致浒苔细胞内部铵氮的外渗, 减少了铵氮对硝酸还原酶的负反馈作用以及与硝酸盐的位点竞争作用, 这也可能是导致浒苔在低盐度条件下硝酸盐吸收量高于正常盐度条件的原因之一。而硝酸盐经过主动运输, 很快被还原为铵氮并进入细胞蛋白合成系统, 因此低盐度条件并未引起硝酸盐的释放。

### 3.4 盐度降低对浒苔磷酸盐吸收的影响

磷酸盐($PO_4^{3-}$-P)吸收分为表面吸附和细胞吸收两个步骤(Yao *et al*, 2011), 据此推测, 在盐度 5 实验初期阶段介质中的 $PO_4^{3-}$-P 浓度的下降可能是由于细胞壁的吸附作用, 而不是向细胞内的转移; $PO_4^{3-}$-P 的释放可能与低盐度 5 的渗透胁迫有关。盐度下降所产生的细胞内高渗透条件也阻止了 $Na^+$向细胞内的转移, 对磷与 $Na^+$的共同运输机制产生负面影响(Ullrich *et al*, 1982; Weiss *et al*, 2001), 进一步减少了藻类对磷的吸收。中等盐度(15)也可能导致细胞内物质的流失, 浒苔仍然能够正常吸收 $PO_4^{3-}$-P, 意味着浒苔对 $PO_4^{3-}$-P 的同化效率提高, 从而抵消了盐度下降的影响。

## 4 结论

本研究主要发现: (1) 与盐度 30 相比, 在低盐度(15 和 5)时, 浒苔对 $NO_3^-$-N 的 1h 最大吸收速率($V_{max}$)和亲和力($V_{max}/K_s$)分别提高 280%和 350%左右, 半饱和常数($K_s$)下降 15%左右, 并能够维持对 $NO_3^-$-N 的高效吸收(24h); (2) 盐度 15 和 5 时, 浒苔对 $NH_4^+$-N 的 1h 最大吸收速率($V_{max}$)分别提高 40%和 200%, 亲和力($V_{max}/K_s$)分别提高 20%和 180%, $K_s$ 分别提高 15%和 30%, 但是盐度降低对 $NH_4^+$-N 的长效吸收产生负面影响, 甚至在盐度 5 条件下出现吸收高浓度 $NH_4^+$-N 后再释放的现象; (3) 与盐度 30 相似, 盐度 15 条件下浒苔能够快速吸收 $PO_4^{3-}$-P, 而盐度 5 则导致藻细胞内的 $PO_4^{3-}$-P 在早期阶段快速流失, 并在后期不能有效吸收 $PO_4^{3-}$-P。本实验的结果表明, 降低盐度有利于浒苔对氮源的快速吸收, 在盐度 15 下浒苔能够实现对硝酸盐和磷盐的高效吸收; 这对认识浒苔在低盐富营养化环境下生长生殖的生物学机制有重要意义。

## 参 考 文 献


叶 静, 张 喆, 李富超等, 2006. 大型绿藻浒苔转化表达系统选择标记的筛选. 生物技术通报, (3): 63—67

史华明, 2009. 浒苔对氮磷吸收和释放及与中肋骨条藻竞争关系的初步研究. 青岛: 中国海洋大学硕士学位论文, 20—23

刘静雯, 董双林, 2004. 氮饥饿细基江蓠繁枝变型和孔石莼氨氮的吸收动力学特征. 海洋学报, 26(2): 95—103

李俭平, 赵卫红, 付 敏等, 2010. 氮磷营养盐对浒苔生长影响的初步探讨. 海洋科学, 34(4): 45—48

吴 婷, 2013. 营养盐对浒苔生长的影响及浒苔对不同氮源吸收特性的初步研究. 青岛: 中国海洋大学硕士学位论文, 28—33

高 嵩, 石晓勇, 王 婷, 2012. 浒苔绿潮与苏北近岸海域营养盐浓度的关系研究. 环境科学, 33(7): 2204—2209

温珊珊, 张寒野, 何文辉等, 2008. 真江蒿对氨氮去除效率与吸收动力学研究. 水产学报, 32(5): 794—803

Ale M T, Mikkelsen J D, Meyer N S, 2011. Differential growth response of *Ulva lactuca* to ammonium and nitrate assimilation. J Appl Phycol, 23: 345—351

Berges J A, Montagnes D J S, Hurd C L *et al*, 1994. Fitting ecological and physiological data to rectangular hyperbolae: a comparison of methods using Monte Carlo simulations. Marine Ecology Progress Series, 114: 175—183

Cohen R A, Fong P, 2004a. Nitrogen uptake and assimilation in *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link (Chlorophyta): using $^{15}N$ to determine preference during simultaneous pulses of nitrate and ammonium. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 309(1): 67—77

Cohen R A, Fong P, 2004b. Physiological responses of a bloom-forming green macroalga to short-term change in salinity, nutrients, and light help explain its ecological success. Estuaries, 27(2): 209—216

Corzo A, Niell F X, 1994. Nitrate-reductase activity and in vivo nitrate-reduction rate in *Ulva rigida* illuminated by blue light. Marine Biology, 120(1): 17—23

D'Elia C F, De Boer J A, 1978. Nutritional studies of two red algae. II. Kinetics of ammonium and nitrate uptake. Journal of Phycology, 14(3): 266—272

Flynn K J, 1991. Algal carbon-nitrogen metabolism: a biochemical basis for modelling the interactions between nitrate and ammonium uptake. Journal of Plankton Research, 13(2): 373—387

Fong P, Fong J J, Fong C R, 2004. Growth, nutrient storage, and release of dissolved organic nitrogen by *Enteromorpha intestinalis* in response to pulses of nitrogen and phosphorus. Aquatic Botany, 78(1): 83—95

Fong P, Zedler J B, 2000. Sources, sinks, and fluxes of nutrients (N+P) in a small highly modified urban estuary in southern California. Urban Ecosystems, 4(2): 125—144

Harrison P J, Parslow J S, Conway H L, 1989. Determination of nutrient uptake kinetic parameters: a comparison of methods. Marine Ecology Progress Series, 52: 301—312

Largo D B, Sembrano J, Hiraoka M *et al*, 2004. Taxonomic and ecological profile of 'green tide' species of *Ulva* (Ulvales, Chlorophyta) in central Philippines. Hydrobiologia, 512(1—3): 247—253

Liu F, Pang S J, Zhao X B *et al*, 2012. Quantitative, molecular and growth analyses of *Ulva* microscopic propagules in the coastal sediment of Jiangsu province where green tides initially occurred. Marine Environmental Research, 74: 56—63

Liu F, Pang S J, Chopin T *et al*, 2013. Understanding the recurrent large-scale green tide in the Yellow Sea: temporal and spatial correlations between multiple geographical, aquacultural and biological factors. Marine Environmental Research, 83: 38—47

Luo M B, Liu F, 2011. Salinity-induced oxidative stress and regulation of antioxidant defense system in the marine macroalga *Ulva prolifera*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 409(1—2): 223—228

Luo M B, Liu F, Xu Z L, 2012. Growth and nutrient uptake capacity of two co-occurring species, *Ulva prolifera* and *Ulva linza*. Aquatic Botany, 100: 18—24

Murphy J, Riley J P, 1958. A single-solution method for the determination of soluble phosphate in sea water. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 37(1): 9—14

Runcie J W, Larkum A W D, 2001. Estimating internal phosphorus pools in macroalgae using radioactive phosphorus and trichloroacetic acid extracts. Analytical Biochemistry, 297(2): 191—192

Runcie J W, Ritchie R J, Larkum A W D, 2003. Uptake kinetics and assimilation of inorganic nitrogen by *Catenella nipae* and *Ulva lactuca*. Aquatic Botany, 76(2): 155—174

Runcie J W, Ritchie R J, Larkum A W D, 2004. Uptake kinetics and assimilation of phosphorus by *Catenella nipae* and *Ulva lactuca* can be used to indicate ambient phosphate availability. Journal of Applied Phycology, 16(3): 181—194

Smetacek V, Zingone A, 2013. Green and golden seaweed tides on the rise. Nature, 504(7478): 84—88

Ullrich W R, Glaser E, 1982. Sodium-phosphate cotransport in the green alga *Ankistrodesmus braunii*. Plant Science Letters, 27(2): 155—161

Weiss M, Haimovich G, Pick U, 2001. Phosphate and sulfate uptake in the halotolerant alga *Dunaliella* are driven by $Na^+$-symport mechanism. Journal of Plant Physiology, 158(12): 1519—1525

Yao B, Xi B D, Hu C M *et al*, 2011. A model and experimental study of phosphate uptake kinetics in algae: considering surface adsorption and P-stress. Journal of Environmental Sciences, 23(2): 189—198

Zhu M, Liu Z P, Shao H B *et al*, 2016. Effects of nitrogen and phosphate enrichment on the activity of nitrate reductase of *Ulva prolifera* in coastal zone. Acta Physiologiae Plantarum, 38: 169

# THE IMPACT OF A SHORT LOWERED SALINITY ON NUTRIENT UPTAKE BY GREEN TIDE-FORMING ALGA *ULVA PROLIFERA*

ZHU Ming[1], LIU Feng[2, 3], CHEN Lu[4], LIU Zhao-Pu[5]

(1. *College of Marine Life and Fisheries*, *Huaihai Institute of Technology*, *Lianyungang* 222005, *China*; 2. *CAS Key Laboratory of Experimental Marine Biology*, *Institute of Oceanology*, *Chinese Academy of Sciences*, *Qingdao* 266071, *China*; 3. *Laboratory for Marine Biology and Biotechnology*, *Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology*, *Qingdao* 266237, *China*; 4. *Development Center of Plant Germplasm Resources*, *College of Life and Environmental Sciences*, *Shanghai Normal University*, *Shanghai* 200234, *China*; 5. *College of Resources and Environmental Science*, *Nanjing Agricultural University*, *Nanjing* 210095, *China*)

**Abstract** Green tides in the Yellow Sea were found originated in the *Pyropia* cultivation region of Subei Shoal, northern Jiangsu, China, where many coastal rivers flood into the sea and bring a short and large amount of nutrients including nitrogen and phosphorus. We studied the dynamic change in the uptake of nitrate, ammonium, and phosphate by green tide-forming alga *Ulva prolifera* under a short and low salinity impact. Three salinity levels at 30, 15, and 5 were simulated. The maximum uptake rate ($V_{max}$), the half-saturation constant $K_s$, and the affinity ($V_{max}/K_s$) were used. The results show that, compared those of salinity 30, those of low salinities at 15 and 5 showed considerable enhancement in terms of nutrient absorption and affinity. For examples, the maximum uptake rate and the affinity to $NO_3^-$-N at salinities 15 and 5 in 1h enhanced about 280% and 350%, respectively, and the half-saturation constant decreased by about 15%, which resulted in a continuous efficient uptake of nitrate in 24h. At salinities 15 and 5, the maximum uptake rate of $NH_4^+$-N increased by 40% and 200%, the affinity increased by 20% and 180%, and the half-saturation constant ($K_s$) increased by 15% and 30%, respectively. However, the short lowered salinity resulted in an absorption delay of a long period, and at salinity 5, the *U. prolifera* thalli could even take high-concentration $NH_4^+$-N first and then release it. At salinity 15, *U. prolifera* could quickly uptake phosphate ($PO_4^{3-}$-P), which is very similar to that at salinity 30, while at salinity 5, the algae could release phosphate from cells at the early growth stage, causing the inability of absorbing phosphate in later growth stages. Therefore, a lower salinity could benefit *U. prolifera* for quick uptake of nitrogen sources. Specifically, at salinity 15, the algae could absorb both $NO_3^-$-N and $PO_4^{3-}$-P in high efficiency in response to a suddenly reduced salinity.

**Key words** green tides; *Ulva prolifera*; salinity; nutrition; uptake rate