

龙须菜 (*Gracilaria lemaneiformis*) 在营养限制胁迫后对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的超补偿吸收研究*

李大鹏 林贞贤[†]

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

[†](中国海洋大学海洋生物系 青岛 266003)

摘要 采用营养限制胁迫处理的方法,研究龙须菜对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的超补偿吸收现象。龙须菜在低营养限制胁迫(饥饿)下培养 10 天后,恢复营养盐培养 3 天,测定其对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸收速率。N 吸收实验结果表明,对 $\text{NH}_4\text{-N}$ (采用靛酚蓝分光光度法测定)表现出较强的超补偿吸收能力。与持续正常培养的对照组和持续受高浓度营养盐胁迫的处理组比较,各组在培养第一天时对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的吸收速率差异明显,饥饿处理组最高为 $17.73\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$,对照组最高为 $12.25\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$,高营养盐处理组最高只有 $6.12\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。随着培养时间的推移,对照组与处理组之间的差异逐渐减小,培养到第三天时吸收速率趋于一致。而各组对 $\text{NO}_3\text{-N}$ (采用钼锑还原萘乙二胺分光光度法测定)的吸收速率都很小,最高为饥饿处理组只有 $1.49\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$,说明龙须菜优先选择吸收 $\text{NH}_4\text{-N}$ 。实验结束后称重发现对照组、饥饿处理组和饱和组生长率(SGR)分别为 5.85%、5.44%、5.02%,ANOVA 方差分析表明,三者存在显著差异($P=0.0046<0.05$),证实大型海藻也存在超补偿生长的现象。

关键词 龙须菜, 饥饿胁迫, 超补偿, $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸收, $\text{NO}_3\text{-N}$ 吸收

中图分类号 Q789

超补偿现象在自然界普遍存在,最初是在一些高等动植物中发现的,是生物在长期的进化过程中不断适应环境的结果。生物体在遭受营养限制、环境因子胁迫等作用时,生长和生理机制往往会收到限制和影响(李梅等, 2004),但胁迫解除恢复到适宜的生存条件后,它们在生长繁殖和对营养盐的吸收方面,会超过未受过胁迫的正常生物,这种现象尤其在反刍动物(陈志伟等, 1999)、水产动物(吴立新等, 2000)、高等植物(邹春静等, 1998)及陆生草本植物(张荣等, 1998)中被广泛报道,在海洋微藻方面也有报道(刘宁宁等, 2002; 段舜山等, 2003),在大型海藻方面,刘静雯等(2001)用 N 饥饿方法处理细基江蓠繁枝变型,在随后的 N 吸收实验中发现细基江蓠对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 有一个明显的快速吸收阶段。本文中以龙须菜为实验材料,

分析了大型海藻营养限制胁迫(饥饿)后,吸收 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的基本规律并探讨了对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的超补偿能力。研究海藻补偿生长的特点和规律不仅有助于揭示海藻适应饥饿或其他环境胁迫的生理生态学对策,而且对于大型经济海藻的开发、利用和海洋环境保护有十分重要的意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用龙须菜 (*Gracilaria lemaneiformis*) 取自中国科学院海洋研究所开放室种质库,选择健康藻体,用镊子仔细除去表面附着的杂藻,然后用酒精棉擦拭藻体,最后用大量消毒海水冲洗材料,放在室内水族箱(20L)培养,藻体密度为 $3\text{g}/\text{L}$,海水经煮沸消毒后添加 PES(Provasoli, 1968)加富培养基。培养条件为: $19\text{--}22^\circ\text{C}$ 、光照强度 $5000\text{--}7000\text{lx}$ 、光

* 中国科学院创新工程项目资助, KZCX3-SW-215 号; 国家自然科学基金项目资助, 40473046 号。李大鹏, 博士, 副研究员, E-mail: dpli@ms.qdio.ac.cn

周期 14L: 10D、盐度 30、pH 8.0。

1.2 处理方法

实验设置了饥饿、饱和两种处理及对照。把材料分到三个水族箱中分别培养,海水经煮沸消毒后不加 PES,培养至培养液中 N 消耗尽后(2 天左右),继续培养 10 天,藻体色泽淡黄色表示已处于饥饿状态(刘静雯等,2001)作为饥饿处理组。消毒海水添加 PES,每天更换培养基,使龙须菜始终处于较高营养盐的条件下培养,培养 10 天作为营养盐饱和处理组。消毒海水不添加 PES,每天换水,作为正常对照组。

1.3 $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸收实验

实验用 450ml 烧杯,装 400ml 培养液,加入龙须菜 1.2g(用滤纸吸干藻体表面水分)放到培养室培养,水温为 22℃,光照强度为 4500lx,光周期为 14L: 10D,盐度为 30,pH 为 8.0。每个处理设置三个平行样,实验起始 $\text{NH}_4\text{-N}$ 浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度 280 $\mu\text{mol/L}$;实验第 1、2、3、4、6、8、12h 分别取 5ml 水样测培养液中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 浓度变化;实验第 4、8、12、24h 取 2.5ml 水样测培养液中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的浓度变化,吸收速率计算公式(金送笛等,1994)为:

$$U = (C_n - C_{n+1}) V / (t \times G) (n = 0, 1, 2 \dots)$$

式中, U 为吸收速率, C_n 为第 n 次取样时培养液

中 $\text{NH}_4\text{-N}$ ($\text{NO}_3\text{-N}$) 含量, V 为培养液体积, t 为实验持续的时间, G 为龙须菜生物量。

第二天更换新培养液,重复第一天的实验内容,持续三天。第四天称重,日特定生长率的计算公式(刘静雯等,2001)为:

$$\text{SGR} = [(W_t / W_0)^{1/t} - 1] \times 100\%$$

式中, W_0 为初始龙须菜的鲜重, W_t 为实验结束时龙须菜的鲜重, t 为实验持续的天数。

2 结果

2.1 龙须菜对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的吸收特点

饥饿处理后的龙须菜对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的吸收在第一天中存在一个明显的快速吸收阶段,尤其是前 3h,测定结果见图 1。 $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸收速率,饥饿处理组远远高于对照组和饱和处理组,饱和处理组吸收速率一直处于较低和较恒定的水平,见图 2。第二天处理组与对照组之间的吸收速率差异变小,饱和处理组吸收速率趋于正常对照组水平,第三天处理组跟对照组之间的差异不明显。

尽管培养液中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度高于 $\text{NH}_4\text{-N}$,但只是在 $\text{NH}_4\text{-N}$ 浓度较低的 8h 以后对 $\text{NO}_3\text{-N}$ 才有较明显的吸收,测定结果见图 3。其中饱和处理组在前 4h 内还出现了负吸收,处理组和对照组的吸收速率都远远低于 $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸收速率。测定结果见图 4。

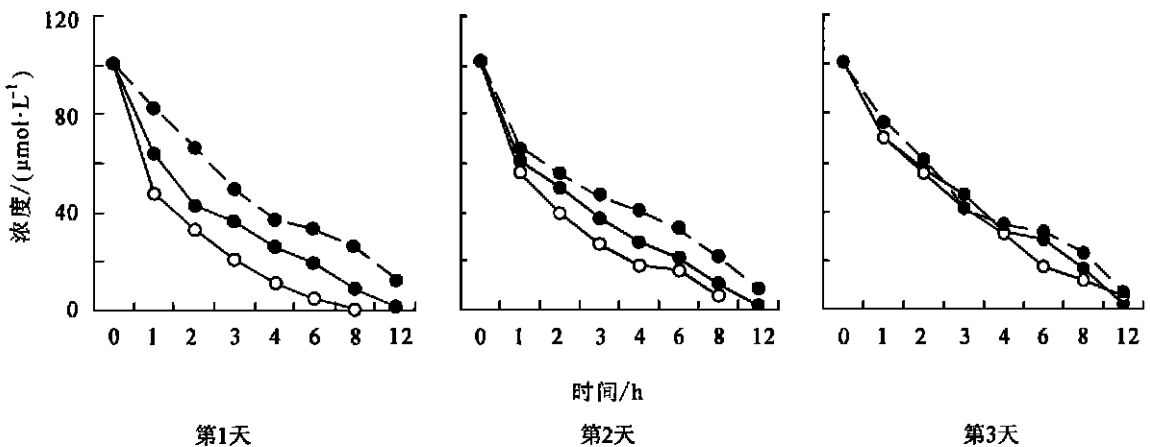


图 1 培养液中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 浓度随时间的变化过程

Fig. 1 Temporal change in $\text{NH}_4\text{-N}$ concentration of medium

—●—正常对照, —○—饥饿处理, —●—饱和处理。图 2、图 3、图 4 同

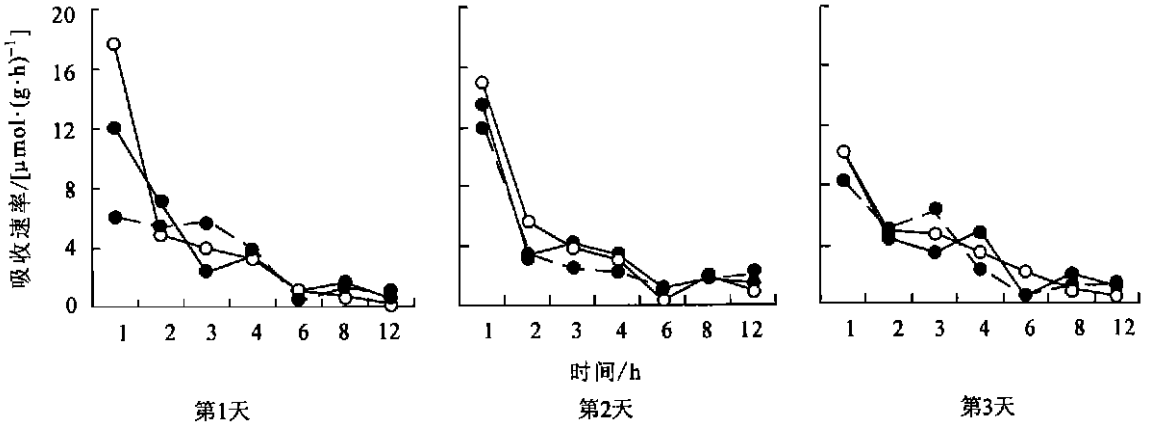


图2 龙须菜 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的吸收速率随时间的变化

Fig.2 Temporal change in $\text{NH}_4\text{-N}$ uptake rate of *G. lemaneiformis*

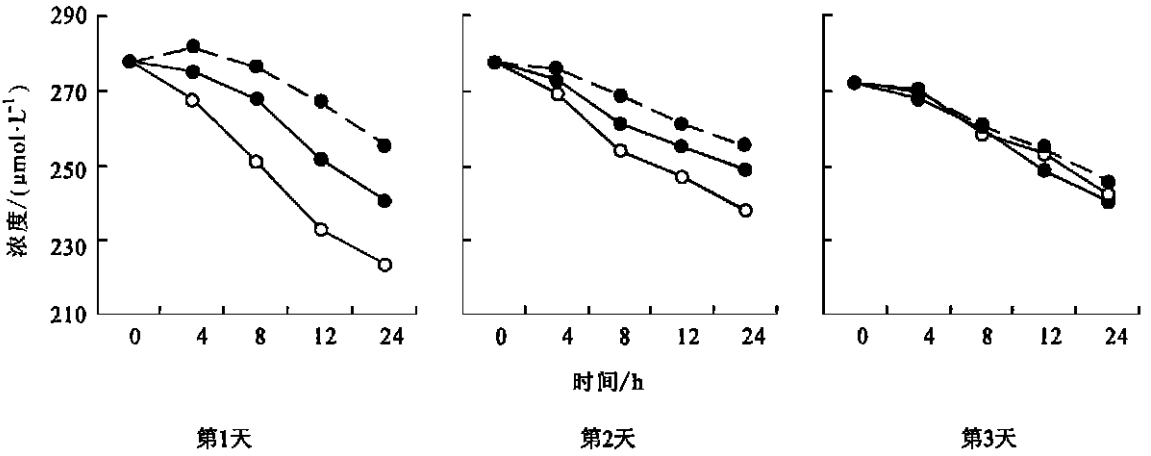


图3 培养液中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度随时间的变化过程

Fig.3 Temporal change in $\text{NO}_3\text{-N}$ concentration of medium

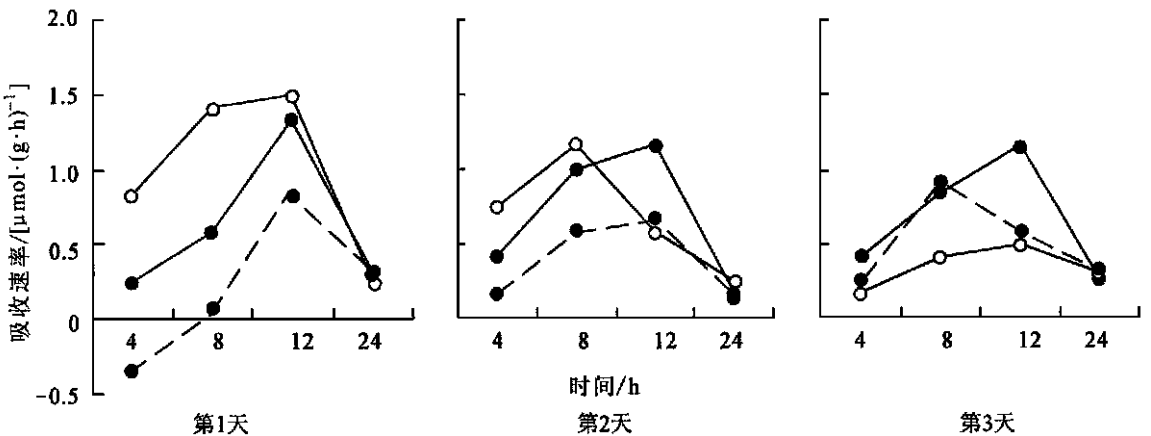


图4 龙须菜 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的吸收速率随时间的变化

Fig.4 Temporal change in $\text{NO}_3\text{-N}$ uptake rate of *G. lemaneiformis*

2.2 营养胁迫后及正常对照的生长率

培养 3 天后称重计算生长率, 实验结果见表 1。ANOVA 单因子方差分析表明, 对照组、饥饿处理组和饱和处理组三者生长率差异显著 ($P = 0.0046 < 0.05$)。正常对照组与饥饿处理组做 ANOVA 单因子方差分析, 两者生长差异显著 ($P = 0.025 < 0.05$)。

表 1 正常对照组及营养胁迫组龙须菜的生长率(平均值 \pm SD, $n = 3$)

Tab. 1 Different growth rates of *G. lemaneiformis* between treated and control group

组别	正常对照	饥饿处理	饱和处理
SGR (%)	5.44 \pm 0.02	5.85 \pm 0.02	5.02 \pm 0.06

3 讨论

3.1 龙须菜对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的吸收特点

大型海藻只能利用水体中的溶解状态的营养盐, 生长主要受 N、P 等元素的限制。在氮的 3 种化合态中, 藻类主要利用 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ 是含氮化合物的最终氧化产物, $\text{NH}_4\text{-N}$ 是还原态的无机氮, $\text{NO}_2\text{-N}$ 是中间氧化还原过程的中间产物, 高浓度 $\text{NO}_2\text{-N}$ 对藻类毒性很大, 不同化合态的氮在微生物作用下可以相互转化。当水体缺氧时, 有利于 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2\text{-N}$ 还原为 $\text{NH}_4\text{-N}$ 。水生动物的排泄以氨为主, 生物代谢产物及残体的分解也会产生氨, 因此, 水产养殖海区以 $\text{NH}_4\text{-N}$ 为主。本实验中, 尽管 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的浓度是 $\text{NH}_4\text{-N}$ 浓度的 2.8 倍, 但龙须菜优先选择吸收 $\text{NH}_4\text{-N}$, 当环境中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的浓度降低到一定程度时才吸收 $\text{NO}_3\text{-N}$, 这可能与藻类细胞缺少硝酸还原酶(NR)有关(严国安等, 1995), 也可能与实验材料的不同有关, 但藻类将吸收的无机氮同化为生物体的有机氮时, 都必须还原成 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的形式(潘瑞炽等, 1995; Mengel *et al.*, 1987)。

当海藻处于 N 饥饿状态时, 对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸收存在以下三个阶段: 1) 短期的快吸收阶段; 2) 内部营养盐浓度控制的吸收阶段; 3) 外部营养盐控制的吸收阶段。理论上大型藻类对 N 的吸收速率符合米氏方程, 但实际上, 吸收速率和介质浓度之间常常偏离米氏方程曲线, 因为在高浓度的介质中, 吸收不会呈现饱和情况(Morten, 1994)。吸收实验中第一天的快吸收阶段是为了补充由于饥饿而产生的 N 库亏空, 随着培养液中营养盐含量降

低及藻体自身内部 N 库的充盈, 吸收速率随即处于较低和较恒定的状态, 而饱和处理组由于本身 N 库的充盈, 所以对 N 的吸收速率一直较低和较恒定(图 2), 随着时间的推移, 由于充实的 N 库的反馈抑制了 N 的吸收速率, 所以第二天处理组与对照组之间的吸收速率差异变小(图 2、图 4)。第三天吸收速率主要由培养液营养盐浓度控制了。

而饱和处理组在前 4h 内还出现了负吸收, 验证了藻体在体内 N 库充盈时, 存在向培养液分泌 N 的过程。

许忠能等(2002)报道, 同是江蓠属的细基江蓠繁枝变种在总氮浓度 $100\mu\text{mol/L}$ 时, 氮的吸收速率为 $2.58\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$, 低于本实验结果, 可能与本实验的培养基是完全培养基、磷浓度较高 ($72\mu\text{mol/L}$) 和添加微量元素等有关。刘静雯等(2001)报道的细基江蓠繁枝变种最大日特定生长率(SGR)为 8.66%, 稍高于本实验, 这主要与培养条件的差异有关。

3.2 大型海藻对营养盐的超补偿性吸收现象

一般来说, 影响大型海藻吸收营养盐的主要因素有光照、温度、盐度、pH、潮汐、营养盐浓度、海藻的生长特点及其营养史等。在自然界中, 由于季节更替, 水温、光照等环境因子经常变化, 海藻生长的最适环境往往很少存在, 同时受海区营养盐水平高低的限制, 所以海藻经常受到饥饿(即海藻对营养盐的吸收没有达到机体正常生长发育的需要)或光照不足的胁迫, 作为生理生态学上的一种适应性, 当受过胁迫的藻类恢复到适宜的生存条件时, 它们在对营养盐的吸收、生长生殖和生物量等方面会超过未受过胁迫的正常生物的现象。

对大型海藻化学成分的分析表明, 大型海藻组织中具有丰富的氮库, 可以高效的吸收储存大量的营养盐, Fujita(1985)报道过三种藻类 *Uva lactuca*、*Enteromorpha sp.* 和 *Gracilaria tikvahiae*, 当养殖在贫 N 的环境中时, 体内的 N 库仍可以维持它们生长 6—14 天; Clifford 等(1989)研究认为, 温度较低, 大型海藻生长缓慢时, 在水环境 N 充足的条件下, 大型海藻仍然可以吸收储存部分营养盐, 以备日后快速生长时利用, 这都是大型海藻适应环境的一种自身调节。龙须菜在环境适宜时, 可以快速进行无性增殖, 具有较高的繁殖力, 补偿性生长有助于提高繁殖力, 耐受极端环境因子造成的损失。

养殖大型海藻可以吸收、转移水体中营养盐,

是延缓海区富营养化的有效措施。研究大型海藻营养代谢的基础特征及其与环境因子相互关系, 选择生长快速、对营养盐(尤其是 $\text{NH}_4\text{-N}$)吸收和储存能力较强、耐高温等适合养殖水体特征的大型经济海藻, 探讨其吸收营养盐的动力学特征, 最终建立大型经济海藻与水产动物的生态养殖模式。

4 结论

4.1 龙须菜在饥饿处理后对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 存在明显的快速吸收阶段, 与正常组差异明显, 饥饿处理后的龙须菜对 $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸收存在超补偿吸收现象, 但持续时间较短(2天左右)。

4.2 龙须菜在营养盐胁迫处理后, 生长率存在显著性差异($P < 0.05$), 初步验证了大型海藻也有超补偿生长现象。

参 考 文 献

- 刘宁宇, 段舜山, 2002. 蛋白核小球藻在光胁迫下的超补偿现象. 生态科学, 21(1): 53—54 [Liu N N, Duan S S, 2002. Overcompensation in *Chlorella pyrenoidosa* (Chlorococaceae) under light stress. *Ecologic Science*, 21(1): 53—54]
- 刘静雯, 董双林, 马 , 2001. 温度和盐度对几种大型海藻生长率和 $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸收的影响. 海洋学报, 23(2): 109—116 [Liu J W, Dong S L, Ma S, 2001. Effects of temperature and salinity on growth of *G. tenuistipitata* var. *liui*, *U. pertusa*, *G. filicina* and $\text{NH}_4\text{-N}$ uptake of *G. tenuistipitata* var. *liui*. *Acta Oceanol Sinica*, 23(2): 109—116]
- 许忠能, 林小涛, 林继辉等, 2002. 营养盐因子对细基江蓑繁枝变种氮、磷吸收速率的影响. 生态学报, 22(3): 366—374 [Xu Zh N, Lin X T, Lin J H *et al*, 2002. The effects of nutrient availability on the uptake of nitrogen and phosphorus by *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* Zhang et Xia. *Acta Ecologica Sinica*, 22(3): 366—374]
- 李梅, 徐瑾, 刘志礼等, 2004. 镉诱导的氧化胁迫对叉鞭金藻 (*Dicrateria inornata*) 的影响. 海洋与湖沼, 35(5): 467—472 [Li M, Xu J, Liu Z L *et al*, 2004. Strontium stress on marine microalgae *Dicrateria inornata* growth and antioxidant enzymes activities. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 35(5): 467—472]
- 陈志伟, 侯先志, 赵志恭, 1999. 反刍家畜补偿生长能力的研究进展. 中国食草动物, 1(5): 35—38 [Chen Z W, Hou X Z, Zhao Z G, 1999. Advance in studies on compensatory growth ability of ruminant livestock. *Herbivore of China*, 1(5): 35—38]
- 吴立新, 董双林, 2000. 水产动物继饥饿或营养不足后的补偿生长研究进展. 应用生态学报, 11(6): 943—946 [Wu L X, Dong S L, 2000. Advance in studies on compensatory growth of aquatic animals after starvation of under nutrition. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 11(6): 943—946]
- 邹春静, 徐文铎, 张远等, 1998. 沙地云杉幼树对食叶害虫危害的补偿与超补偿效应. 应用生态学报, 9(2): 119—122 [Zou Ch J, Xu W D, Zhang Y *et al*, 1998. Compensation and overcompensation effects of *Picea mongolica* seedlings damaged by defoliating insects. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 9(2): 119—122]
- 张荣, 杜国祯, 1998. 放牧草地群落的冗余与草地可持续利用研究. 中国草地, 7(4): 13—19 [Zhang R, Du G Z, 1998. Redundance and compensation of grazed grassland communities. *Acta Prata Culture Sinica*, 7(4): 13—19]
- 段舜山, 郭羽丰, 刘振乾等, 2003. 四列藻在营养限制胁迫下的超补偿生长研究. 生态学报, 23(7): 1297—1304 [Duan S S, Guo Y F, Liu Z Q *et al*, 2003. Overcompensation growth of *Tetraselmis tetrehele* under the stress of nutrients deficiency. *Acta Ecologica Sinica*, 23(7): 1297—1304]
- 金送笛, 李永函, 倪彩虹等, 1994. 菹草 (*Potamogeton crispus*) 对水中氮、磷的吸收及若干影响因素. 生态学报, 14(2): 168—173 [Jin S D, Li Y H, Ni C H *et al*, 1994. Uptake by *Potamogeton crispus* of nitrogen and phosphorus from water and some affecting factors. *Acta Ecologica Sinica*, 14(2): 168—173]
- 严国安, 谭智群, 1995. 藻类净化污水的研究及其进展. 环境科学进展, 3(3): 45—54 [Yan G A, Tan Z Q, 1995. Research progresses on algae used in sewage purification. *Advances in Environmental Science*, 3(3): 45—54]
- 潘瑞炽, 董愚得, 1995. 植物生理学. 北京: 高等教育出版社, 52—77
- Mengel K, Kirkby E A, 1987. 植物营养原理. 北京: 农业出版社, 171—186
- Clifford S Duke, Wayne Litaker, Ramus J, 1989. Effects of temperature, nitrogen supply, and tissue nitrogen on ammonium uptake rates of the chlorophyte seaweeds *Ulva lactuca* and *Codium decorticatum*. *J Phycol*, 25: 113—120
- Fujita R M, 1985. The role of nitrogen status in regulating transient ammonium uptake and nitrogen storage by macroalgae. *J Exp Mar Biol Ecol*, 92: 283—301
- Morten F P, 1994. Transient ammonium uptake in the macroalgae *Ulva lactuca* (Chlorophyta): nature, regulation, and the consequences for choice of measuring technique. *J Phycol*,

30: 980—986

Algae. In: Watanabe A, Hattori A ed. Cultures and Collections of Algae. Tokyo: Japanese Society of Plant Physiology, 47—49

Provasoli L, 1968. Media and Prospects for Cultivation of Marine

NH₄⁺N OVER-COMPENSATORY UPTAKE OF *GRACILARIA* *LEMANEIFORMIS* UNDER THE STRESS OF NUTRIENTS DEFICIENCY

LI Da-Peng, LIN Zhen-Xian

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

(Department of Marine Biology, Ocean University of China, Qingdao, 266003)

Abstract Over-compensatory growth is a common phenomenon in some higher animals and plants. Research on compensatory growth has covered ruminant animal, aquatic animal, higher plant and micro-algae. However, a few were done on macro-algae compensatory growth and ammonium over-compensatory uptake.

In this paper, *Gracilaria lemaneiformis* was used as experimental material for the study of NH₄⁺N over-compensatory uptake under laboratory conditions. *G. lemaneiformis* was thoroughly cleaned, free of epibiotics carefully removed, and cultured in beakers in an illuminating incubator under 22 °C, 4500lx, L: D 14/10, 30 salinity and pH 8.0.

The experiments included two periods. Firstly, *G. lemaneiformis* was cultured for 10 days under the condition of nutrients stress, i. e. nutrients deficiency and nutrients enrichment (PES culture medium), with fresh water one as the control. Secondly, the nutrients stress was lifted; the treated and the control were simultaneously cultured for another 3 days under the same nutrients supply with daily medium change. The experiments were done in 450ml beakers with 1.2g *G. lemaneiformis* and 400ml PES medium, and the concentration of NH₄⁺N, NO₃⁻N, PO₄⁻P, was 100, 280, and 72 μmol/L respectively. Triplicate were set for each group. During the experiment, the NH₄⁺N, NO₃⁻N uptake rate were measured periodically.

After subject to the nutrients deficiency, *G. lemaneiformis* showed a strong ability of NH₄⁺N uptake. The uptake rate of NH₄⁺N of the starved group, the control group and the fed group, was 17.73, 12.25, and 6.12 μmol/(g·h), respectively. The starved had the highest uptake rate of NH₄⁺N but its highest uptake rate of NO₃⁻N was only 1.49 μmol/(g·h), much smaller than that of NH₄⁺N, indicating that *G. lemaneiformis* assimilated NH₄⁺N first. As a result, the concentration of NO₃⁻N in the beakers was 3 times higher of the NH₄⁺N.

As the culture time proceeded, difference between the treated and the control decreased gradually and finally were equivalent. The special growth rate (SGR) in the group of the starved, the control and the fed was 5.85%, 5.44%, and 5.02% respectively. The difference of the growth rate between the treated and the control was significant ($P = 0.0046 < 0.05$).

After 10 days of nutrients deficiency, there was a short phase of rapid NH₄⁺N uptake demonstrating over-compensatory growth. Thus, NH₄⁺N over-compensatory uptake of *G. lemaneiformis* could be used as guidance for cultivation. Moreover, *G. lemaneiformis* have very high productivity and ability of absorbing large quantities of N. It is believed that *G. lemaneiformis* cultivation in large scale is a good solution to eutrophication in coastal waters.

Key words *Gracilaria lemaneiformis*, Nutrients deficiency, Over-compensatory growth, NH₄⁺N uptake, NO₃⁻N uptake