

# 菊花江蕨(*Gracilaria lichenoides*)对 N、P 吸收效应及其细胞超微结构变化\*

黄鹤忠<sup>1,2</sup> 梁建生<sup>1</sup> 张群英<sup>2</sup>

(1. 扬州大学生物科学与技术学院 扬州 225009; 2. 苏州大学基础医学与生物科学学院 苏州 215123)

**提要** 通过设置 5 个 N/P 浓度梯度和 3 个 N 浓度下的 4 个 N:P 梯度, 进行了江蕨对 N、P 的短期(0—4h)和长期(第 14 天)吸收速率(*SNUR* 和 *LNUR*)以及短期和长期吸收效率(*SNUE* 和 *LNUE*)的研究, 同时观察了 5 个 N/P 浓度梯度对江蕨细胞超微结构的影响。结果表明: N:P 比为 16:1 时, 江蕨对 N、P 的 *SNUR* 和 *LNUR* 均最大( $P<0.05$ ); N/P 为 1200/75 和 960/60 $\mu\text{mol/L}$  浓度时, 分别对 N 和 P 的 *SNUR* 最大, 达 12.85 和 0.79 $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$ , 但此 N/P 浓度下长期培养的江蕨叶绿体结构存在不同程度的损伤; 而 N/P 浓度 480/30 $\mu\text{mol/L}$  时, 对 N 和 P 的 *LNUR* 均最大值 4.23 和 0.31 $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$ 。江蕨对 N、P 的 *SNUE* 和 *LNUE* 在介质 N/P 60/3.75 $\mu\text{mol/L}$  时为最高, 而在 1200/75 $\mu\text{mol/L}$  时为最低( $P<0.05$ )。

**关键词** 江蕨, 氮, 磷, 吸收效应, 超微结构

**中图分类号** Q948.885.3

随着全球工农业的发展和人口规模的不断扩大, 导致从工业和畜牧渔业废水、生活污水以及地表径流中带入海洋的 N、P 营养物质不断增加, 造成近年来沿海水域的富营养化问题日益突出。另外, 在水产养殖过程中, 由于养殖动物生长过程中的残饵、排泄物和水体各种动植物的尸体等不断积累, 也容易造成水体的 N、P 浓度升高而出现富营养化。国内外学者普遍认为, 混养大型海藻是吸收、利用营养物质、延缓水质富营养化的有效措施之一。由于江蕨属(*Gracilaria*)的种类具有生长快、适应性强、产量高的特点, 因此, 已有许学者开展了利用栽培这些大型经济海藻作为生物过滤器来吸收利用近海或养殖池塘水体中的 N、P, 从而对富营养化水体进行生物修复的研究(Nelson *et al.*, 2001; Tang *et al.*, 2003; 钱鲁闽等, 2005; Zhou *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2008; Huo *et al.*, 2012)。但是, 以往报道都仅限于研究江蕨在较低 N、P 浓度环境下的吸收或修复效应, 至今尚未见到有关江蕨在高或过高 N、P 浓度环境中的短期和长期吸收效应及其细胞超微结构变化等方面的研究报道。

菊花江蕨(*Gracilaria lichenoides*)(本文简称江蕨)是我国热带、亚热带海区的重要经济海藻, 与其它江蕨属的种类相比, 具有生长快、适应性好、耐高温等明显优势, 且能在近海水域和海水池塘小水体中均能生长, 是潜在的生物修复器(Xu *et al.*, 2008)。

本文在适宜的实验生态条件下, 通过测定江蕨在不同 N、P 比以及低、中、高和过高 N、P 浓度条件下对 N、P 营养盐的短期、长期吸收速率和吸收效率, 较为全面地来定量分析评价江蕨在各种 N、P 营养盐环境条件下对 N、P 的吸收潜力; 通过观察江蕨在不同 N、P 浓度条件下其细胞器超微结构的变化, 来客观评价江蕨对环境 N、P 浓度的适应范围。以期江蕨更好、更广泛地应用于水体修复实践积累有价值的资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料的来源与预培养

实验用江蕨采自江苏省南通市沿海实验基地海水养殖池塘(30°02'26"N, 130°02'26"E), 低温充氧包

\* 江苏省社会发展基金资助项目, BS2002016 号。黄鹤忠, 在读博士, E-mail: suda-shui@163.com

通讯作者: 梁建生, 教授, E-mail: jsliang@yzu.edu.cn

收稿日期: 2012-03-19, 收修改稿日期: 2012-07-15

装后运带回实验室,藻体用过滤海水洗净,放入室内数个透明玻璃水族箱(水体容积约为 20L)中,在该藻生长的最佳环境条件(钱鲁闽等, 2005)下培养:水温  $(28\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ , 光照强度  $120\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ , 光周期 12L:12D, 盐度 25, pH  $8.0\pm 0.3$ 。每隔 3 天换水 1 次并添加 *f/2* 配方(Ritchie, 1988)的微量元素和 B 族维生素以及氮  $150\mu\text{mol/L}$ (以  $\text{NaNO}_3$  形式添加)和磷  $10\mu\text{mol/L}$ (以  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  形式添加)营养盐 1 次, 每天定时搅水 4—6 次以保持水体交换和藻体光照均匀。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 培养方法

实验海水的处理: 先将洗净的江蕨在消毒过的天然海水中培养 3d 至海水中 N、P 消耗尽(检测 TN 和 TP 含量分别大约 0.05 和  $0.003\mu\text{mol/L}$ ), 再经  $4.0\text{—}5.5\mu\text{m}$  孔径滤膜过滤, 以消除水体中悬浮颗粒对藻体光合作用的影响。实验江蕨的处理与培养: 在正式实验前, 海藻在改良的 *f/2* 配方(未添加氮和磷)中培养 10d, 至藻体色泽出现淡黄色, 表示已处于饥饿状态(刘静雯等, 2001)。根据预先适宜培养密度实验的结果, 确定 N、P 吸收实验的培养密度为  $2\text{g}(\text{FW})/\text{L}$ , 各组配置好 N、P 后, 在三角烧瓶(500ml 培养介质)口加盖锡箔纸, 置于光照培养箱中, 保持与预备实验相同的温度、光照等培养条件, 定时摇动并更换三角烧瓶位置。

### 1.2.2 分组设计

按实验目的将 N、P 吸收的 2 个实验分别分组。第 1 组: 不同 N、P 浓度条件下江蕨对 N、P 的吸收, 分组情况为: 培养介质无机 N/P 浓度分别设 60/3.75、240/15、480/30、960/60、1200/75  $\mu\text{mol/L}$  5 个梯度, N:P=16:1, 每个处理组设 3 个重复。第 2 组: 不同 N、P 比条件下江蕨对 N、P 的吸收, 分组情况为: 总无机 N 浓度设定为 30、120 和  $480\mu\text{mol/L}$  3 个梯度, 每个 N 浓度下设 N:P 比值分别为 4:1、8:1、16:1、32:1 等 4 个梯度, 每组设有 3 个重复。本文中的 N 由  $\text{NH}_4^+-\text{N}$   $\text{NO}_3^- -\text{N}=1:1$  组成, P 为  $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 。

### 1.2.3 N、P 短期(0—4h)吸收实验

采用经 N、P 消耗尽处理过的江蕨(饥饿江蕨)和海水, 按分组要求配制培养介质的 N/P 浓度, 培养介质中加入藻体并开启灯光(早晨 7:00)后立即开始本实验计时, 分别测定实验开始的 0h 和 4h 水样的 N、P 浓度, 以评估饥饿江蕨对 N、P 的短期(0—4h)吸收效应。

### 1.2.4 N、P 长期(第 14 天的 24h 期间)吸收实验

所有的实验处理组每天早晨 7:00 更换培养介质, 且每隔 3—4d 测定藻体鲜重, 将培养密度调整为初始值,

连续培养至第 14 天时, 于 0h 和 24h 采集各实验组水样 10ml, 分别测定其 N、P 浓度, 以评估江蕨长期(14d)适应各 N、P 浓度后的 24h 期间吸收效应。

### 1.2.5 江蕨超微结构观察

在 N、P 长期(14d)吸收处理的各浓度梯度培养瓶中取江蕨藻体相同的部位, 洗净后切成 2mm 长的短枝, 置于 2%戊二醛和 1%锇酸双重固定, 丙酮系列脱水, 树脂包埋, LKB 超薄切片, 经醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色, 于透射电镜(H-600, 日本日立)下观察并拍照。

## 1.3 指标测定与数据处理

### 1.3.1 指标测定和计算

以上各实验组的水样均密封保存在  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱内, 在 3d 内完成水样中  $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- -\text{N}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$  的含量测定。测定方法按我国海洋监测规范(GB17378-1998) (国家海洋局, 1991)进行。

各 N、P 营养盐的吸收速率 [ $NUR$ ,  $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$ ] 和吸收效率 ( $NUE$ , %), 营养盐从介质中去除的百分数, 即去除率, 按下述公式计算:  $NUR = [(C_n - C_{n+1}) \times V] / (B \times \Delta t)$  ( $n = 0, 1, 2, \dots$ );  $NUE(\%) = [(C_n - C_{n+1}) / C_n] \times 100$  ( $n = 0, 1, 2, \dots$ )。式中,  $C_n$  和  $C_{n+1}$  分别为第  $n$  次和后 1 次取样时培养介质中营养盐含量 ( $\mu\text{mol/L}$ ),  $V$  为所用培养介质体积 (L),  $\Delta t$  为试验时间 (h),  $B$  为江蕨的生物量 (DW, g)。

藻体特定生长率 ( $SGR$ , %/d) (Haglund *et al*, 1996) 的计算:  $SGR = [(W_t - W_0)^{1/t} - 1] \times 100\%$ ,  $W_t$  为  $t$  时间的江蕨生物量 (g, FW),  $W_0$  为开始时的江蕨生物量 (g, FW),  $t$  为实验持续的天数 (d)。

### 1.3.2 数据分析

用 SPSS11.5 统计软件对结果进行比较及分析。采用单因素方差分析法 (ANOVA), 并应用 Duncan 法对各组间进行多重显著性比较, 取  $P < 0.05$  为差异显著,  $P < 0.01$  为差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同 N、P 浓度条件下江蕨对 N、P 营养盐吸收速率及吸收效率的变化

从图 1A 中看出, 随着培养介质 N、P 浓度的升高, 江蕨对 N、P 的短期(0—4h)吸收速率也随之提高, 江蕨对 N、P 的吸收速率 [分别记为  $SNUR(\text{N})$  和  $SNUR(\text{P})$ ] 与介质浓度 ( $C$ ) 的回归关系符合对数方程表达式, 分别为:  $SNUR(\text{N}) = 6.0201 \ln C + 3.4577$  ( $R^2 = 0.9721$ ,  $P < 0.01$ ),  $SNUR(\text{P}) = 0.2761 \ln C + 0.3737$  ( $R^2 = 0.9508$ ,  $P < 0.01$ )。江蕨对 N 和 P 的最大短期吸收速率为 12.85 和  $0.79\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$ , 对应的介质 N/P 浓度

分别为 1200/75 和 960/60 $\mu\text{mol/L}$ 。

由图 1B 看出, 随着培养介质 N、P 浓度(C)的不断提高, 江蕨对 N 和 P 的短期吸收效率[分别记为  $SNUE(N)$ 和  $SNUE(P)$ ]却随之逐渐降低, 回归方程分别为  $SNUE(N) = -10.883C + 96.943$  ( $R^2=0.9884$ ,  $P<0.01$ )和  $SNUE(P) = -7.668C + 91.104$  ( $R^2=0.9508$ ,  $P<0.01$ )。  $SNUE(N)$ 和  $SNUE(P)$ 分别由介质 N/P 浓度为 60/3.75 $\mu\text{mol/L}$  时的最高值 88.15%和 87.17%, 逐渐下降至介质 N/P 浓度为 1200/75 $\mu\text{mol/L}$  时的最低值 42.63%和 53.84%, 此时的  $SNUE(N)$ 显著低于  $SNUE(P)$  ( $P<0.05$ )。

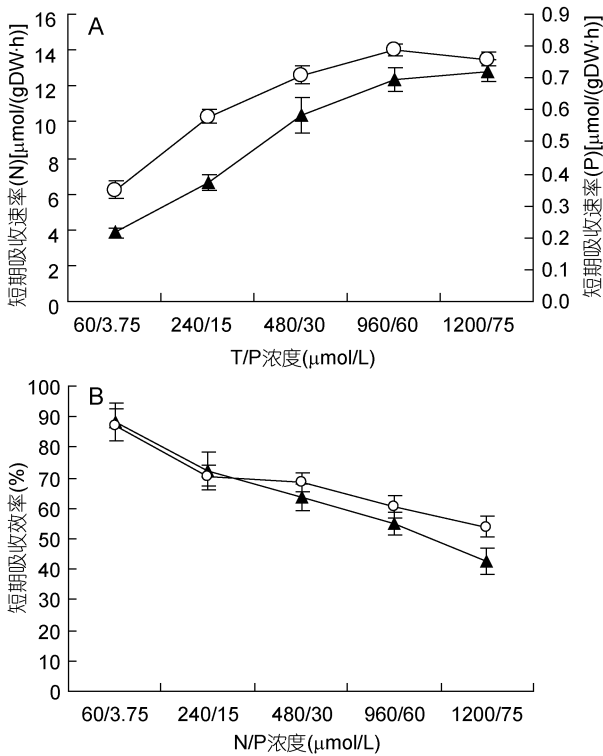


图 1 不同氮、磷浓度下江蕨短期(0—4h)对氮和磷营养盐的吸收效应

Fig.1 Uptake effects of N and P by *G. lichenoides* cultivated in different N and P concentration for the entire short-term experiment (0—4h)

注: 氮(○), 磷(▲)。A. 短期吸收速率(SNUR), B. 短期吸收效率(SNUE)

江蕨对介质 N、P 营养盐的长期(培养至第 14 天的 24h 内)吸收速率[分别记为  $LNUR(N)$ 和  $LNUR(P)$ ] (图 2A), 由图中看出, 江蕨对 N、P 吸收率的长期效应与短期效应具有明显区别, 随着培养介质 N、P 浓度的升高, 其  $LNUR(N)$ 和  $LNUR(P)$ 呈现出先升高后下降的变化规律, 拟合方程符合多项式表达式, 分别

为:  $LNUR(N) = -0.6364C^2 + 3.7916C - 1.53$  ( $R^2=0.9203$ ,  $P<0.01$ ),  $LNUR(P) = -0.045C^2 + 0.251C - 0.05$  ( $R^2=0.9901$ ,  $P<0.01$ )。当培养介质 N/P 浓度从 60/3.75 上升至 480/30( $\mu\text{mol/L}$ )时, 江蕨  $LNUR(N)$ 和  $LNUR(P)$ 呈现逐渐上升趋势, 并达到最高值 4.23 和 0.31 $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$ ; 随着 N、P 浓度的继续升高, 其  $LNUR(N)$ 和  $LNUR(P)$ 却出现了不同程度的下降趋势, 当 N/P 达到 960/60  $\mu\text{mol/L}$  浓度时, 其  $LNUR(P)$ 显著低于最高吸收率( $P<0.05$ ); 而此时  $LNUR(N)$ 虽有所减低, 但与其最高吸收率值间无显著差异( $P>0.05$ ); 当 N/P 继续升高至 1200/75 $\mu\text{mol/L}$  浓度时, 其  $LNUR(N)$ 和  $LNUR(P)$ 均达到了各实验组的最低值, 分别为 1.32 和 0.0 $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$  ( $P<0.05$ )。

由图 2B 看出, 随着培养介质 N、P 浓度的不断升高, 江蕨对 N 和 P 的长期(第 14 天的 24h 内)吸收效率[分别记为  $LNUE(N)$ 和  $LNUE(P)$ ]随之逐渐下降, 回归方程分别为  $LNUE(N) = -12.591C + 62.679$  ( $R^2=0.9629$ ,  $P<0.01$ )和  $LNUE(P) = -12.392C + 75.968$  ( $R^2=0.9877$ ,  $P<0.01$ ), 江蕨的  $LNUE(N)$ 和  $LNUE(P)$ 分别由

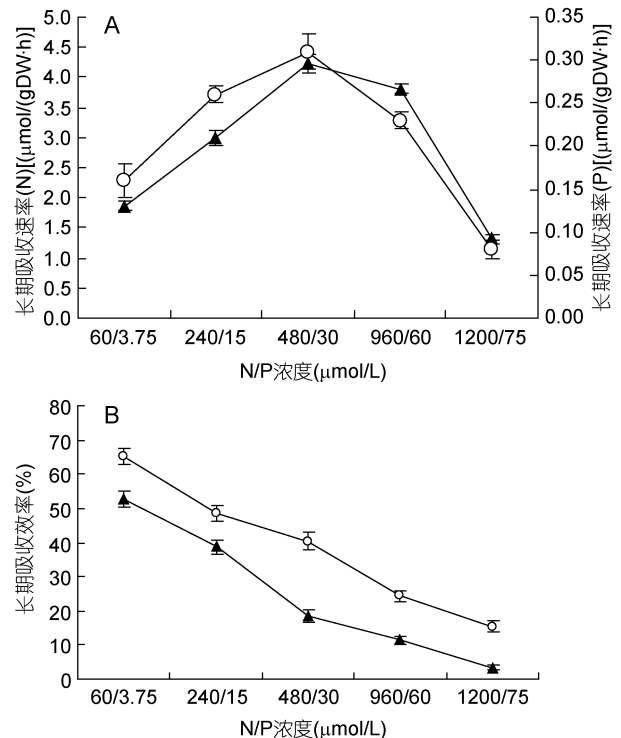


图 2 在不同氮磷浓度下江蕨对氮和磷营养盐的长期(第 14 天的 24h 内)吸收效应

Fig.2 Uptake effects of N and P by *G. lichenoides* cultivated in different N and P concentration for the entire long-term experiment (over a 24h period at 14<sup>th</sup> day)

注: 氮(○), 磷(▲)。A. 长期吸收速率(LNUR), B. 长期吸收效率(LNUE)

最高值 52.61%和 65.34%逐渐下降至最低值 3.31%和 15.43%。*LNUE*(图 2B)与 *SNUE*(图 1B)相比,江蕨在相同介质 N/P 浓度下对 N、P 的 *LNUE* 均明显低于其 *SNUE*;在各 N、P 浓度下的 *LNUE*(N)均显著低于 *LNUE*(P) ( $P<0.05$ )。

表 1 显示了江蕨在不同 N、P 浓度条件下对 N、P 营养盐吸收速率比[UR(N) UR(P)]的变化情况,从中可看出,江蕨短期和长期的 UR(N) UR(P)均随介质 N、P 浓度的提高而逐渐提高,当 N/P 浓度分别达到 960/60 和 240/15 $\mu\text{mol/L}$  时,其短期和长期的 UR(N) UR(P)不再继续显著提高,而是保持在 UR(N) UR(P)为 14 左右的最高水平( $P<0.05$ ),

2.2 不同 N、P 比条件下江蕨对 N、P 营养盐吸收速率的变化

图 3 显示了在 3 种 N 浓度条件下, N、P 比变化

对江蕨吸收 N、P 营养盐的短期速率[*SNUR*(N)、*SNUR*(P)](图 3A、B)和长期速率[*LNUR*(N)、*LNUR*(P)](图 3C、D)的影响。江蕨对 N、P 营养盐的短期和长期吸收速率的高低都呈现出介质高 N>中 N>低 N 浓度的规律;在相同 N 浓度下的不同 N、P 比对江蕨 *SNUR*(N)、*SNUR*(P)和 *LNUR*(N)、*LNUR*(P)也产生有规律的影响,这在高 N 和中 N 浓度环境中尤为明显,具体表现为随着 N P 比值的增高, *SNUR*(N)、*SNUR*(P)和 *LNUR*(N)、*LNUR*(P)均出现先升高后下降的趋势,当 N P 比值为 16 1 时,吸收速率均达到最高值( $P<0.05$ );而当 N P 比值为 4 1 时,高 N、中 N 浓度下的 *SNUR*(N)、*LNUR*(N)和低 N 浓度下的 *LNUR*(N)以及高 N 浓度下的 *SNUR*(P)、*LNUR*(P)均出现了最低值( $P<0.05$ );另外,当 N P 比值为 32 1 时,江蕨 *SNUR*(P)、*LNUR*(P)均达到最低值( $P<0.05$ )。

表 1 在不同氮、磷浓度下江蕨对氮和磷的吸收速率比

Tab.1 Ratio of uptake rates in N and P by *G. lichenoides* cultivated in different N and P concentration

N/P 浓度( $\mu\text{mol/L}$ )	60/3.75	240/15	480/30	960/60	1200/75
短期 N、P 吸收速率比	9.97 $\pm$ 0.087 <sup>a</sup>	11.03 $\pm$ 0.071 <sup>a</sup>	12.66 $\pm$ 0.119 <sup>bc</sup>	13.42 $\pm$ 0.138 <sup>cd</sup>	14.31 $\pm$ 0.127 <sup>d</sup>
长期 N、P 吸收速率比	12.63 $\pm$ 0.092 <sup>b</sup>	13.54 $\pm$ 0.084 <sup>d</sup>	13.65 $\pm$ 0.115 <sup>cd</sup>	14.17 $\pm$ 0.152 <sup>d</sup>	14.20 $\pm$ 0.132 <sup>d</sup>

注:表中各项指标为平均值 $\pm$ 标准差,数值右上角标有不同字母表示有显著差异( $P<0.05$ )

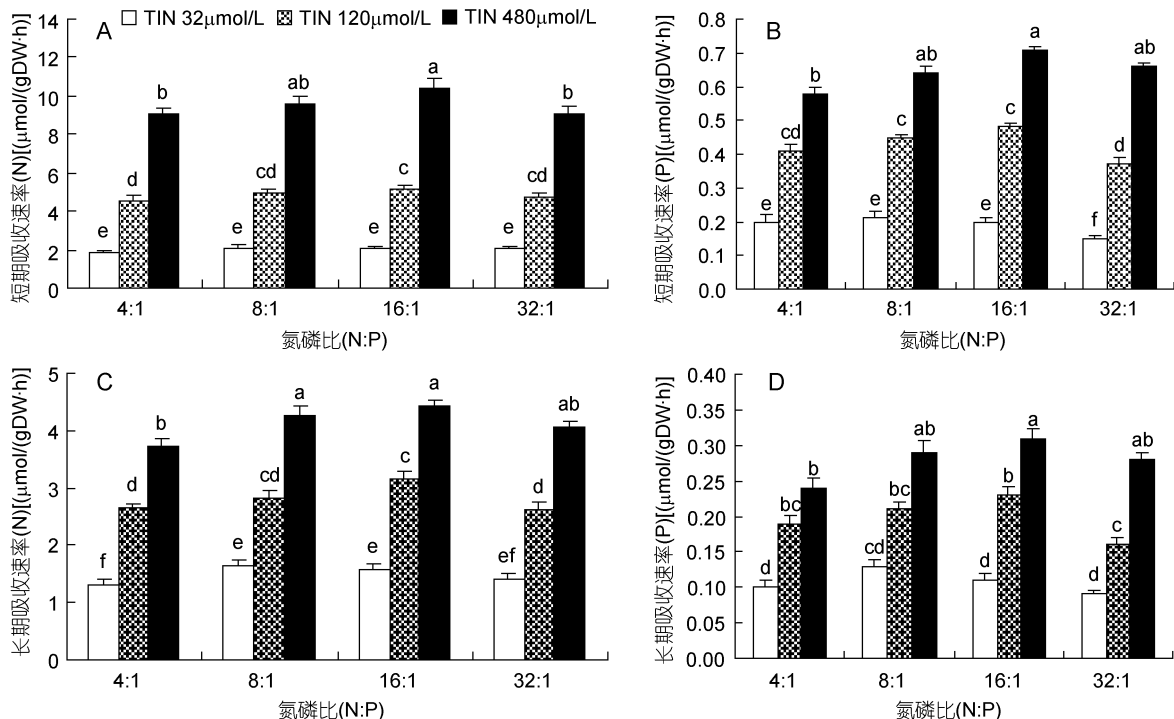


图 3 在 3 种氮浓度的不同氮磷比条件下江蕨对氮和磷营养盐的吸收速率

Fig.3 Uptake rates of N and P by *G. lichenoides* cultivated in different N:P with three N concentration

A. 对氮的短期吸收速率[*SNUR*(N)], B. 对磷的短期吸收速率[*SNUR*(P)], C. 对氮的长期吸收速率[*LNUR*(N)], D. 对磷的长期吸收速率[*LNUR*(P)]; 数据柱上方标有不同字母表示存在显著差异( $P<0.05$ )。图例数据单位为 $\mu\text{mol/L}$

图 4 显示了江蕨在 3 种 N 浓度条件下, 介质 N、P 比变化与江蕨对 N、P 的短期吸收速率比[ $SNUR(N):SNUR(P)$ ](图 4A)和长期吸收速率比[ $LNUR(N):LNUR(P)$ ](图 4B)相互关系的实验结果。由图 4 可知, 在高 N 浓度下, 长期和短期的吸收速率比值均维持在较高水平; 而在中 N 和低 N 浓度介质中, 除了高 N、P 比(32:1)条件下的  $SNUR(N):SNUR(P)$  比值出现了显著升高, 并达到了高 N 浓度的水平( $P>0.05$ )以外, 其余 N、P 比条件下的  $SNUR(N):SNUR(P)$  比值均显著低于高 N 浓度的相应  $SNUR(N):SNUR(P)$  比值( $P<0.05$ )(图 4A); 在中 N 和低 N 浓度下的  $LNUR(N):LNUR(P)$  比值具有随着介质 N、P 比的提高而增高的变化趋势(图 4B), 并且与高 N 浓度下的  $SNUR(N):SNUR(P)$  比值无显著差异( $P>0.05$ )。

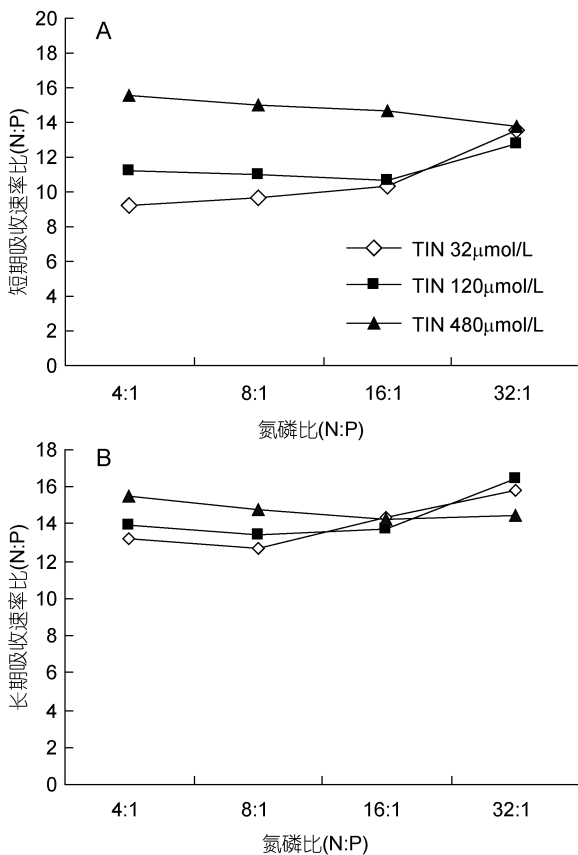


图 4 在 3 种氮浓度的不同氮磷比条件下江蕨对氮和磷营养盐的吸收速率比

Fig.4 Ratio of uptake rates of N and P by *G. lichenoides* cultivated in different N:P with three N concentration

A. 短期氮磷吸收速率比[ $SNUR(N):SNUR(P)$ ], B. 长期氮磷吸收速率比[ $LNUR(N):LNUR(P)$ ]. 图例数据单位为  $\mu\text{mol/L}$

### 2.3 不同 N、P 浓度条件下江蕨细胞的超微结构变化

江蕨在不同 N、P 浓度条件下培养 14d 后, 各浓

度组的江蕨细胞叶绿体和线粒体的透射电镜观察结果见图 5。图 5 显示, 在 0/0、60/3.75、240/15 和 480/30( $\mu\text{mol/L}$ )的 N/P 浓度条件下分别处理 14d 的江蕨细胞叶绿体和线粒体正常, 具体表现为细胞器形态规则, 边缘清晰完整, 基质稠密, 类囊体整齐排列, 但 0/0 $\mu\text{mol/L}$  N/P 浓度组的叶绿体要明显小于其它浓度组。经 960/60 和 1200/75 $\mu\text{mol/L}$  N/P 浓度处理 14d 的江蕨, 尽管其线粒体正常, 但叶绿体边缘形态不规则, 类囊体膨胀、排列不整齐, 其中 1200/75 $\mu\text{mol/L}$  N/P 浓度组的叶绿体基质稠密度降低。

## 3 讨论

### 3.1 介质 N、P 浓度和比例的条件与江蕨对 N、P 营养盐吸收效应间的关系

钱鲁闽等(2006)研究环境因子对龙须菜(*G. lemaneiformis*)和菊花江蕨(*G. lichenoides*)N、P 吸收速率的影响时所设置的 N/P 浓度为 100/8 $\mu\text{mol/L}$ , 研究营养盐因子对该 2 种江蕨 N、P 吸收速率的影响时所设置的最高 N/P 浓度为 200/20 $\mu\text{mol/L}$ (钱鲁闽等, 2005)。本文研究菊花江蕨对高浓度 N/P(最高达 1200/75 $\mu\text{mol/L}$ )的吸收效应, 对揭示该藻的 N、P 吸收潜力具有重要意义。

本研究结果显示, 饥饿江蕨对 N、P 的短期吸收速率随介质 N、P 浓度的提高而升高, 这表明, 对于体内缺乏 N、P 的饥饿江蕨而言, 可将环境中的无机 N、P 营养盐大量地快速吸收, 即使在高浓度下其大量吸收的 N、P 超出了同化的需求, 也可以“奢侈”的方式在组织中储存。因此, 江蕨是典型的机会生物种类, 当环境中大量的氮、磷营养物质存在时, 能快速地吸收, 并在体内储存(钱鲁闽等, 2006)。这种快速吸收和存储氮、磷营养盐的特性可以最大限度地快速改善水体中的富营养化环境条件。可见, 菊花江蕨是一种理想的海水富营养化修复生物。

结果还显示, 随着培养介质 N、P 浓度的不断提高, 江蕨对 N、P 的短期和长期吸收效率却随之逐渐降低, 并且相同 N、P 浓度环境下的长期吸收效率均显著低于短期吸收效率。这表明, 对于非饥饿江蕨而言, 当环境中 N、P 浓度在一定的范围时, 其吸收 N、P 营养盐的速率和同化速率可以相互促进(许忠能等, 2002; 刘静雯等, 2004), 因而可随环境 N、P 浓度的增高而加快吸收速率; 但是长期处于过高的 N、P 浓度环境中的江蕨, 不但营养盐的吸收效应受到抑制, 而且还会破坏叶绿体等细胞器的结构(图 5)。江蕨短



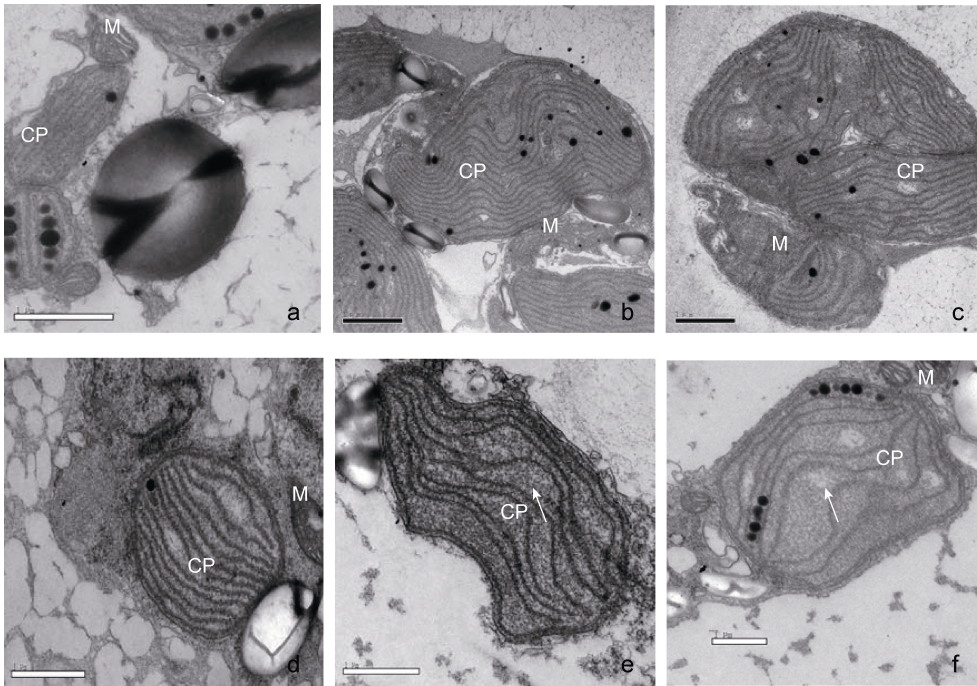


图5 在不同氮、磷浓度下培养 14d 的江蕨细胞超微结构

Fig.5 Ultrastructure of cells of *G. lichenoides* cultivated in different N and P concentration for 14 day  
注: a、b、c 和 d 示 N/P 分别为 0/0、60/3.75、240/15 和 480/30 $\mu\text{mol/L}$  浓度培养下的江蕨叶绿体和线粒体正常; e 和 f 示 N/P 为 960/60 和 1200/75 $\mu\text{mol/L}$  浓度下培养的江蕨线粒体正常, 但叶绿体中的类囊体膨胀(箭头所指); CP: 叶绿体, M: 线粒体。图内标尺均为 1 $\mu\text{m}$

期和长期吸收 N、P 的速率比都随着培养介质 N、P 浓度的不断提高而逐渐提高, 并且高 N(480 $\mu\text{mol/L}$ ) 下的低 N:P 比(4:1)介质中的短、长期 P 吸收速率显著降低( $P < 0.05$ )。这些结果表明, 随着环境中 N、P 浓度的升高逐渐向更有利于江蕨对 N 的吸收, 而对 P 的吸收会产生抑制作用。其原因之一, 可能是植物对 P 的代谢速度较 N 要慢; 原因之二, 较过高的 N 浓度而言, 环境中过高的 P 浓度易对江蕨的叶绿体等细胞器产生损伤(本课题组超微观察结果), 因此对高 P 浓度条件下的 P 吸收速率产生抑制, 可能是一种自我保护措施。从结果可看出, 介质 N、P 营养盐浓度越低, 江蕨对 N、P 吸收速率越不易受其 N、P 比的变化而变化, 表明江蕨在环境或体内的 N、P 营养盐相对缺乏时, 对 N、P 的吸收比例没有选择性, 可能是一个被动的吸收过程。但当环境中 N、P 浓度较高或江蕨体内 N、P 营养盐较丰富时, 其对 N、P 的吸收速率比维持在 14:1 左右, 且江蕨对 N、P 的短期和长期吸收速率均达到最高值( $P < 0.05$ ) 的介质 N:P 比值为 16:1。这些结果提示, 江蕨在 N、P 营养盐富余情况下对 N、P 的吸收可能是一个主动过程。研究结果表明(Leonardo *et al*, 1999), 大型藻类同化 N、P 的质量

浓度比是 30:1 (相当于 N、P 的摩尔浓度比为 13.57)。因此, 江蕨吸收 N、P 的最佳的介质 N、P 比与其对 N、P 的吸收速率比与其同化 N、P 的比例有非常密切的关系。

### 3.2 介质 N、P 浓度对江蕨细胞超微结构的影响

叶绿体可将吸收的光能转化成化学能, 并以碳水化合物的形式储存, 是植物进行正常生命活动和生长所必需的能量转化细胞器, 其中的类囊体含有光合作用光反应和暗反应所需的酶系统, 类囊体的整齐排列有利于其获得最大的光吸收面积, 以确保最佳的光合作用效率(Gabara *et al*, 2003; Zbigniew *et al*, 2007; Yu *et al*, 2008)。电

镜观察结果(图 5)发现, 当培养介质 N/P 浓度由低逐渐上升到 480/30 $\mu\text{mol/L}$  时, 叶绿体等细胞器的超微结构正常, 江蕨对 N 和 P 的长期吸收速率也达到了最高值 4.23 和 0.31 $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$ , 表明此 N、P 浓度下的江蕨细胞器的生理功能正常, 且代谢速率最高。当介质 N、P 浓度过高或过低时, 都会对江蕨细胞器特别是叶绿体和类囊体的超微结构产生明显影响, 江蕨长期(14d)处于营养缺乏(N/P 0/0  $\mu\text{mol/L}$ )环境时的叶绿体明显缩小, 表明其叶绿素合成受到了阻碍; 然而, N/P 达到 960/60 $\mu\text{mol/L}$  及以上的高浓度会造成江蕨叶绿体边缘形态不规则、类囊体膨胀、排列不整齐, 类囊体结构和功能的破坏, 可引起光合过程的 PSI、PSII 之间的联系阻断, 从而使光合作用严重受阻(Gupta *et al*, 1995)。1200/75  $\mu\text{mol/L}$  N/P 浓度组的叶绿体基质稠密度降低(图 5f), 表明更高的 N、P 浓度胁迫还能引起叶绿体基质中的质体型核糖体减少, 导致内源性蛋白质复制效率和叶绿体的代谢活性减低(Schmidt *et al*, 2009), 这可能是引起江蕨在过高 N、P 浓度条件下其长期吸收效率受到抑制和显著降低的重要原因之一。有研究表明, 线粒体超微结构的变化

将会导致 ATP 代谢的混乱(Vosjan *et al*, 1990), 本研究结果显示, 尽管过高 N、P 浓度对叶绿体结构产生影响, 但对线粒体超微结构尚未造成影响。相比龙须菜(*G. lemaneiformis*)处于 115.4—221.1 $\mu\text{mol/L}$  时生长最好, 而处于 306.5 $\mu\text{mol/L}$  N 浓度中 72h 时, 藻体受到伤害, 生长受到一定的抑制(蔡西栗等, 2011)的研究结果, 菊花江蓠对环境 N、P 浓度的耐受性具有明显优势。因此, 值得对该藻在对污水处理和富营养化水质修复等方面开展进一步研究和开发。

#### 4 结论

综上所述, N:P 比 16:1 时, 最有利于提高菊花江蓠对 N、P 的短期和长期吸收效应。N/P 为 1200/75 和 960/60 $\mu\text{mol/L}$  浓度时, 分别对 N 和 P 的短期吸收效率达到最大值, 但此 N/P 浓度下长期培养的江蓠叶绿体结构存在不同程度的损伤, 其吸收效率也明显降低; 而 480/30 $\mu\text{mol/L}$  的 N/P 浓度最有利于提高其对 N 和 P 长期吸收速率。菊花江蓠对高 N、P 浓度的耐受力以及其吸收潜力值得进一步研究和开发。

#### 参 考 文 献

- 刘静雯, 董双林, 2004. 氮饥饿细基江蓠繁枝变型和孔石莼氮的吸收动力学特征. 海洋学报, 26(2): 95—103
- 刘静雯, 董双林, 马 牲, 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
- 许忠能, 林小涛, 林继辉等, 2002. 营养盐因子对细基江蓠繁枝变种氮、磷吸收速率的影响. 生态学报, 22(3): 366—374
- 国家海洋局, 1991. 海洋监测规范. 北京: 海洋出版社, 265—273
- 钱鲁闽, 徐永健, 王永胜, 2005. 营养盐因子对龙须菜和菊花江蓠氮磷吸收速率的影响. 台湾海峡, 24(4): 546—552
- 钱鲁闽, 徐永健, 焦念志, 2006. 环境因子对龙须菜和菊花心江蓠 N、P 吸收速率的影响. 中国水产科学, 13(2): 257—262
- 蔡西栗, 邵曼玮, 孙 雪等, 2011. 龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)中多种植物激素的 GC-MS 检测及对氮胁迫的响应. 海洋与湖沼, 42(6): 753—758
- Gabara B, Sklodowska M, Wyrwicka A *et al*, 2003. Changes in the ultrastructure of chloroplasts and mitochondria and antioxidant enzyme activity in *Lycopersicon esculentum* Mill. Leaves sprayed with acid rain. Plant Science, 164: 507—516
- Gupta A, Singhal C, 1995. Inhibition of PSII activity by copper and its effect on spectral properties on intact cells in *Anacystis nidulans*. Environmental and Experimental Botany, 35: 435—439
- Haglund K, Björklund M, Gunnare S *et al*, 1996. New method for toxicity assessment in marine and brackish environments using the macroalga *Gracilaria tenuistipitata* (Gracilariales, Rhodophyta). Hydrobiologia, 326/327: 317—325
- Huo Y Z, Xu S N, Wang Y Y *et al*, 2012. Bioremediation efficiency of *Gracilaria verrucosa* for an integrated multi-trophic aquaculture system with *Pseudosciaena crocea* in Xiangshan harbor, China. Aquaculture, 329: 99—105
- Leonardo N A, Daniel R, 1999. Effects of nitrogen source, N:P ratio and N-pulse concentration and frequency on the growth of *Gracilaria cornea* (Gracilariales, Rhodophyta) in culture. Hydrobiologia, 398/399: 315—320
- Nelson S G, Glenn E P, Conn J *et al*, 2001. Cultivation of *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) in shrimp-farm effluent ditches and floating cages in Hawaii: a two-phase polyculture system. Aquaculture, 193: 239—248
- Ritchie R J, 1988. The ionic relations of *Ulva lactuca*. J Plant Physiol, 133: 183—192
- Schmidt É C, Scariot L A, Rover T *et al*, 2009. Changes in ultrastructure and histochemistry of two red macroalgae strains of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales), as a consequence of ultraviolet B radiation exposure. Micron, 40: 860—869
- Tang K X, Yuan D X, Lin S B *et al*, 2003. Depression and affect of red tide on main water quality index by *Gracilaria tenuistipitata*. Mar Environ Sci, 22: 24—27
- Vosjan, J H, Döhler G, Nieuwland G, 1990. Effect of UV-B irradiance on the ATP content of microorganisms of the Weddell Sea (Antarctica). Netherlands Journal of Sea Research, 25: 391—394
- Xu Y J, Fang J G, Wei W, 2008. Application of *Gracilaria lichenoides* (Rhodophyta) for alleviating excess nutrients in aquaculture. Journal of Applied Phycology, 20: 199—203
- Yu J, Yang Y F, 2008. Physiological and biochemical response of seaweed *Gracilaria lemaneiformis* to concentration changes of N and P. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 367: 142—148
- Zbigniew T, Agnieszka B R, Tadeusz S *et al*, 2007. Cadmium effect on the growth, photosynthesis, ultrastructure and phytochelatin content of green microalga *Scenedesmus armatus*: A study at low and elevated  $\text{CO}_2$  concentration. Environmental and Experimental Botany, 60: 291—299
- Zhou Y, Yang H, Hu H *et al*, 2006. Bioremediation potential of the macroalga *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) integrated into fed fish culture in coastal waters of north China. Aquaculture, 252: 264—276

## UPTAKE EFFECTS OF NITROGEN AND PHOSPHORUS AND CELL ULTRASTRUCTURE CHANGES OF *GRACILARIA LICHENOIDES*

HUANG He-Zhong<sup>1,2</sup>, LIANG Jian-Sheng<sup>1</sup>, ZHANG Qun-Ying<sup>2</sup>

(1. College of Bioscience and Biotechnology, Yangzhou University, Yangzhou, 225009; 2. School of Basic Medicine and Biological Science, Soochow University, Suzhou, 215123)

**Abstract** The effects of variable 5 N/P concentration levels and 4 N : P ratio levels of 3 N concentration levels, respectively, on uptake rates (*SNUR* and *LNUR*) and uptake efficiency (*SNUE* and *LNUE*) of N (TIN) and P ( $\text{PO}_4^{3-}$ -P) by *Gracilaria lichenoides* for short-term (0—4h) and long-term (over a 24h period at 14<sup>th</sup> day) were studied. Meanwhile, ultrastructure of cells of *G. lichenoides* cultivated in different N and P concentration for 14 day was observed. The results showed that optimal N : P ratio in culture media which *SNUR* and *LNUR* for N and P by *G. lichenoides* reached the highest value among different N/P concentrations ( $P < 0.05$ ) was 16 : 1. The reached maximum *SNUR* of N and P by *G. lichenoides* was respectively 12.85 and 0.79  $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$ , when the N/P concentration in medium was 1200/75 and 960/60  $\mu\text{mol}/\text{L}$ , but the ultrastructure of chloroplasts of *G. lichenoides* cultivated in those N/P concentration for 14 day emerged some extent damage. The reached maximum *LNUR* of N and P by *G. lichenoides* were 4.23 and 0.31  $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$ , respectively, when the N/P concentration in medium was 480/30  $\mu\text{mol}/\text{L}$ . The reached maximum *SNUE* and *LNUE* of N and P by *G. lichenoides* was in the medium of N/P 60/3.75  $\mu\text{mol}/\text{L}$ , but decreased to the minimum *SNUE* and *LNUE*, respectively, was in the medium of N/P 1200/75  $\mu\text{mol}/\text{L}$ .

**Key words** *Gracilaria lichenoides*, Nitrogen, Phosphorus, Uptake effect, Ultrastructure