

富营养化与生长密度对绿潮藻浒苔暴发性生长机制的影响

李信书^{1,3}, 徐军田¹, 姚东瑞^{1,2}, 何培民^{3*}

(1. 淮海工学院江苏省海洋生物技术重点实验室, 江苏 连云港 222005;

2. 中国科学院植物研究所, 江苏 南京 210014;

3. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 2013064)

摘要:近海海域富营养化导致的氮(N)和磷(P)增加,是绿潮藻浒苔快速增长的物质基础,而浒苔在海洋中的生长密度也会对浒苔的快速生长产生影响。通过设置不同的起始生物量浓度,研究不同生长密度与N、P对浒苔生长特性的影响,同时研究其光合生理特性的响应,以探讨浒苔暴发性增长的可能机制。结果显示,起始生物量越大,浒苔的相对生长率就越低,而N、P对浒苔的生长速率有明显的促进效应,并且N、P之间有显著的交互作用。在低密度时,+N+P处理的浒苔,最大生长速率可以达到0.75,其加倍时间仅为0.92 d,这个生长速率足以维持浒苔在早期的暴发性增长。+N或+P都显著提高浒苔光合色素水平,这也导致+N+P组的最大光合作用速率(P_{max})比+N组、+P组和对照组分别高17%、45%和57%。富营养化和低生物密度是维持浒苔高速增长的重要条件,这也是绿潮早期暴发性增长的基础。

关键词:浒苔;氮;磷;光合色素;光合作用

中图分类号:S 917.3

文献标志码:A

近海海域的富营养化正成为一个全球性的生态问题^[1],2008年6—7月间在青岛海岸和附近海域大约捞除了100万t鲜重的浒苔(*Ulva prolifera*),另外估计有200万t浒苔沉入了附近的海底^[2]。绿潮等大型藻类有害藻华会对海洋生态系统产生诸如使水体和底质中溶氧降低的有害影响,导致无脊椎动物和鱼类死亡^[3],改变海洋生态系统的群落结构^[4]。

研究表明,适宜的温度和光照是浒苔暴发的重要条件^[5-8],浒苔的中空结构、多分枝形态利于其漂浮并快速生长^[5]。陈群芳等^[6]证实浒苔具有强大的繁殖力,通过释放大量孢子实现种群快速扩增,Lin等^[7]认为淡水的注入使盐度和pH降低,促进了浒苔的生长。人类活动引起的近海营养物质特别是氮(N)和磷(P)含量的增加,经常会引起藻类的暴发^[9]。形成藻华的大型藻类往往具有快速吸收营养盐然后进行快速增殖的潜

力,例如石莼、刚毛藻和江蓠等种类^[10]。浒苔暴发性生长的一个重要机制可能是其可以有效利用水中的营养盐,实现快速生长。

已有较多的研究涉及浒苔的生长^[5,7-8,11-15],但其方法多为静止培养或未加说明,所得到的最大相对生长率仅为0.451^[11]。静止培养与自然海域水交换充分的情况下营养物质的供应状况不同,得到的生长率与自然海区相比可能存在很大的差异。本实验设置了充气培养方式,在不同单位体积生物量和氮磷加富的条件下,绿潮藻浒苔生长、光合作用及光合色素的响应,为研究浒苔暴发的生理机制提供参考。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验所用的浒苔于2008年7月4日采自青岛栈桥绿潮现场,在实验室光照培养箱中于1 L

收稿日期:2012-08-30 修回日期:2013-04-16

资助项目:国家海洋局海洋公益性行业科研专项项目(201205010);江苏省科技厅科技支撑项目(BE2011719);江苏省自然科学基金项目(BK2011400)

通信作者:何培民,E-mail:pmhe@shou.edu.cn

锥形瓶中,在 20 °C 和光照度 6 000 lx,光周期为 12 h:12 h 的条件下,用过滤的自然海水培养,约每周换 1 次海水。选取长约 3 cm 的幼藻作为实验材料。

1.2 实验方法

实验分为对照组, +N 组, +P 组, +N + P 组 4 个处理组 (+N、+P 表示添加 NaNO₃、Na₂HPO₄,根据 VSE 培养基,使 N、P 终浓度分别为 500 μmol/L NO₃⁻,35 μmol/L PO₄³⁻[16]),在对照组中不加 NaNO₃ 和 Na₂HPO₄,自然海水(盐度 30)中的总 N、活性 P 浓度分别为 7.8 μmol/L 和 0.54 μmol/L,自然海水中总 N 和 PO₄³⁻ 的测定采用《海洋监测规范》中的方法;只加 NaNO₃ 的组标记为 +N;只加 Na₂HPO₄ 的组标记为 +P, +N + P 组中 NaNO₃、Na₂HPO₄ 均添加。每个处理设 4 个平行。

将在上述 4 个营养条件下分别预培养 3 d 的浒苔取出,用吸水纸吸干藻体表面的游离水,依据实验需要分别称取一定量藻体置于相应处理组培养瓶中培养。培养瓶为圆球形,在底部有通气孔,容积为 550 mL,装培养液 500 mL,上口以聚乙烯薄膜封口。通气量为 1.2 L/min,培养箱温度设置为 20 °C,光照为 6 000 lx,光暗比 L:D 为 12 h:12 h,每天 24 h 通气。

1.3 生长率的测定

培养 3 d 测定藻体的鲜重,按照式(1)求得其相对生长率(SGR)^[17]:

$$SGR = (\ln W_t - \ln W_0) / t \quad (1)$$

式中, W_t 为第 t 天的鲜重, W_0 为初始鲜重。

1.4 光合放氧的测定

光合放氧采用 Clark 液相氧电极测定,通过 THD-0506 超级水浴控制温度。光合反应介质为过滤消毒的天然海水(盐度 30, pH 8.2)。光源为卤钨灯,通过调节光源与反应槽的距离而获得不同强度的光强,光强用光量子计测定。所用藻体质量为 0.015 g(鲜重),反应介质体积为 2 mL。通过式(2)拟合光响应曲线:

$$P_n = P_{\max} \times \tanh(\alpha \times I / P_{\max}) + R_d \quad (2)$$

式中, P_{\max} 为最大光合作用速率, α 为低光下的光合利用速率, R_d 为呼吸作用。并计算出光饱和点:

$$I_k = P_{\max} / \alpha \quad (3)$$

和光补偿点:

$$I_c = R_d / \alpha^{[18]} \quad (4)$$

1.5 光合色素的测定

叶绿素和类胡萝卜素含量参照 Wellburn^[19] 的方法测定。

1.6 统计与分析

实验数据应用 Microsoft Excel 2003 及 Origin 7.0 软件进行 t 检验(t -tests)检测平均数之间的差异,用 Two-Way ANOVA (Tukey) 进行双因子方差分析,以 $P < 0.05$ 作为差异的显著水平。

2 结果

2.1 不同 N、P 条件对浒苔生长的影响

图 1 显示不同氮磷营养水平条件下,浒苔不同起始生物量在 3 d 中的相对生长率。可以看出,起始生物量越大,浒苔的相对生长率就越低。以空白对照组为例,相对生长率从起始生物量为 0.1 g/L 的 0.68 逐渐下降到 2 g/L 的 0.27。氮磷加富对浒苔的生长率也有显著影响。各起始生物量不同营养水平的生长率均为对照组 < +P 组 < +N 组 < +N + P 组,均为对照组最低, +N + P 组最高。当起始生物量为 0.1 g/L 时,对照组、+P 组、+N 组和 +N + P 组的相对生长率分别为 0.68、0.69、0.72 和 0.75,经 t 检验,各组间均有显著差异($P < 0.05$)。双因子方差分析(Two-Way ANOVA)表明,添加氮或磷均显著影响浒苔的生长率($P < 0.001$),且氮水平和磷水平存在交互作用($P < 0.001$)(表 1)。

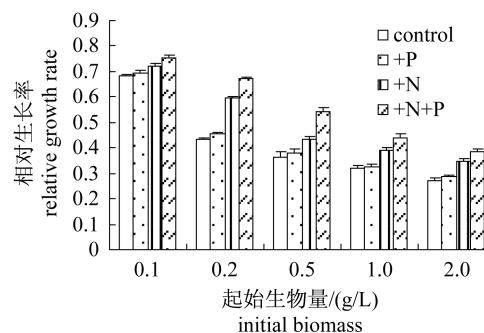


图 1 4 种氮磷营养水平条件下,浒苔不同起始生物量在 3 d 中的相对生长率

Fig. 1 The relative growth rates at varying initial biomass density of *U. prolifera* under four nutritional conditions within 3 days

表 1 4 种 N、P 营养条件下浒苔生长率和光合色素含量的双因子方差分析结果
 Tab.1 The results of of Two-Way ANOVA of relative growth rate and pigments in *U. prolifera* in response to four nutritional conditions(mean \pm SD; $n = 4$)

营养盐水平 nutrition level	相对增长率 SGR		叶绿素 a Chl. a		叶绿素 b Chl. b		胡萝卜素 Car	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
	A	139.5	5.8×10^{-8}	472.7	5.2×10^{-11}	56.8	6.8×10^{-6}	69.6
B	1 315	1.2×10^{-12}	666.7	6.9×10^{-12}	100.6	3.4×10^{-7}	84.1	9.1×10^{-7}
A \times B	21.2	5.9×10^{-4}	97.6	4.1×10^{-7}	38.2	4.7×10^{-5}	0.28	0.60

注:A 表示 P 水平;B 表示 N 水平;A \times B 表示交互作用。

Notes:A represents P levels; B represents level of N; A \times B represents interaction.

图 2 显示了不同氮磷营养水平和不同起始生物量条件下,浒苔生物量加倍所需的时间。生物量加倍时间随起始生物量增大而逐渐延长,以 +N + P 组为例,加倍时间从起始生物量为 0.1 g/L 的 0.92 d 逐渐延长到 2 g/L 的 1.80 d。氮磷水平也显著影响浒苔生物量的加倍时间,以 0.2 g/L 的起始生物量为例,对照组、+P 组、+N 组和 +N + P 组的加倍时间分别为 1.60、1.53、1.16 和 1.03 d。

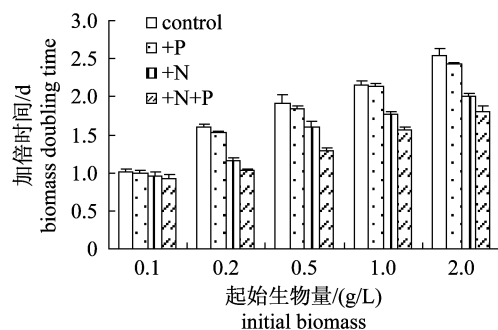


图 2 浒苔不同起始生物量在不同氮磷营养水平条件下生物量加倍所需的时间

Fig.2 The biomass doubling time at varying initial biomass density of *U. prolifera* under four nutritional conditions

2.2 不同 N、P 条件对浒苔光合色素的影响

从图 3 中可以看出不同 N、P 水平会影响浒苔光合色素含量的水平。+N 或 +P 都显著提高浒苔光合色素水平,同时 +N + P 光合色素含量最高,叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量分别达到 1.86、1.34 和 0.31 mg/g 鲜重,对照组光合色素含量最低,叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量分别为 0.69、0.57 和 0.12 mg/g 鲜重。*t* 检验表明,各营养水平之间的叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量均有显著差异 ($P < 0.05$), +N 组的光合色素含量均显著大于 +P 组 ($P <$

0.05)。双因子方差分析(Two-Way ANOVA)表明,添加氮或磷均对叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量有显著影响,对叶绿素 a、叶绿素 b 含量影响均存在交互作用 ($P < 0.001$),但对类胡萝卜素含量没有交互作用 ($P = 0.6$) (表 1)。

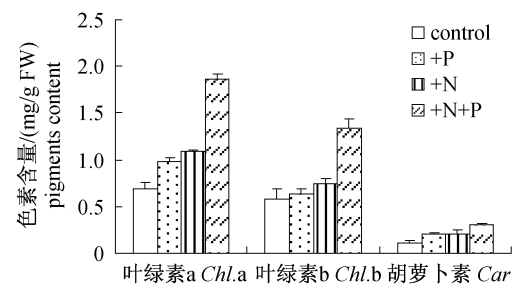


图 3 4 种 N、P 条件下浒苔光合色素的含量
 Fig.3 The pigments contents in *U. prolifera* in response to four nutritional conditions

2.3 不同 N、P 条件下浒苔光合放氧速率

图 4 为不同 N、P 条件下浒苔的光合放氧的光响应曲线,经过非线性拟合光响应曲线,得到相关参数列于表 2 中。

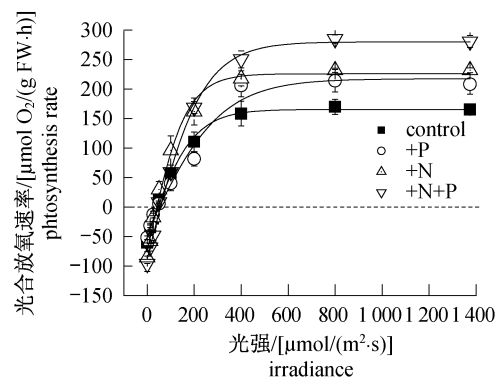


图 4 4 种 N、P 条件下浒苔的光合放氧的光响应曲线
 Fig.4 P-I curves of *U. prolifera* in response to four nutritional conditions

表 2 4 种 N、P 条件下,浒苔的 P-I 曲线光合参数

Tab. 2 Photosynthetic parameters of the P-I curves in *U. prolifera* grown in four nutritional conditions

营养盐水平 nutrition level	呼吸作用/ [$\mu\text{mol O}_2/(\text{g FW} \cdot \text{h})$] R_d	光合利用率/ [$\mu\text{mol O}_2/(\text{g FW} \cdot \text{h})$] α	光补偿点/ [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] I_c	光饱和点/ [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] I_k	最大光合作用速率/ [$\mu\text{mol O}_2/(\text{g FW} \cdot \text{h})$] P_{max}
control	-33.56 ± 5.23^a	1.08 ± 0.06^a	31.07 ± 3.07^a	200.86 ± 9.67^a	216.93 ± 15.27^a
+ P	-41.34 ± 4.37^b	1.23 ± 0.02^b	33.07 ± 1.47^a	208.12 ± 13.11^a	260.13 ± 19.82^b
+ N	-43.75 ± 3.56^b	1.41 ± 0.02^c	31.03 ± 3.12^a	214.48 ± 11.24^a	302.42 ± 10.24^c
+ N + P	-51.03 ± 4.39^c	1.40 ± 0.03^c	36.43 ± 2.23^b	262.52 ± 9.46^b	367.53 ± 8.50^d

注: P_{max} 为最大光合作用速率, R_d 为呼吸作用, I_k 为光饱和点, I_c 为光补偿点, α 为光合作用速率。不同的上标字母代表差异显著 ($P < 0.05$)。

Notes: P_{max} , maximum photosynthesis; R_d , dark respiration; I_k , initial saturation irradiance; I_c , compensation point; α , photosynthetic efficiency. Significant differences ($P < 0.05$) are indicated by different superscript letters.

从图 4 和表 2 中可以看出,对照组、+P 组、+N 组和 +N + P 组最大光合作用速率 (P_{max}) 依次增加,各组间存在显著差异 (t -test, $P < 0.05$), +N + P 组的 P_{max} 比 +N 组高 17%,比 +P 组高 45%,比对照组高 57%; +N 组 P_{max} 比 +P 组高 30%,比对照组高 49%,+P 组的 P_{max} 比对照组高 11%。+N 或 +P 均使浒苔光能利用效率斜率 α 增加,+P 组、+N 组和 +N + P 组 α 较对照组分别增加了 10.2%、29.6% 和 30.5%。添加 N、P 也使浒苔的呼吸增加,+P 组、+N 组和 +N + P 组的呼吸较对照组分别增加 23.2%、29.8% 和 52.1%。单独添加 N 或 P 对浒苔补偿光强 (I_c) 和半饱和光强 (I_k) 没有影响 ($P > 0.05$),同时添加 N、P 使浒苔的 I_c 和 I_k 分别比对照增加 17.3% 和 30.3%。

3 讨论

实验表明,大型海藻浒苔具有极高生长能力,这是绿潮暴发的基本原因之一。在 N、P 同时加富的情况下浒苔的生长速率更高,不过其生长率受制于单位水体的生物量。浒苔的生物量加倍时间因营养盐条件和藻密度而不同。在 0.1 g/L 的起始密度下,其加倍时间仅为 0.92 d (+N + P 组),即使在较大生物量密度下其加倍时间依营养条件不同只有 1.8 ~ 2.5 d,这与之前的报道有很大差别。例如王建伟等^[13]的结果表明,在最适温度 (20 ~ 25 °C)、盐度 (24 ~ 28) 条件下,浒苔的湿生物量在 20 d 内仅增加了 1 倍多。李瑞香等^[14]在温度 20 °C 和盐度 30 条件下的结果与王建伟等^[13]的研究结果基本一致。在这些涉及浒苔生长的实验中,李俭平等^[11]所得到的相对生长率最大,为 0.451 (换算为本实验的计算方法为

0.372)。这与本研究的结果存在比较大的差异,可能主要是因为本实验是在连续充气的条件下进行的,而上述实验均为静止培养^[7-8,11-15]或仅每天用玻璃棒搅动几次^[11]。

本实验中的装置能使培养瓶中水流上下旋转,使浒苔始终处于运动状态。这与在自然海域中,在风和海流作用下浒苔一直处于运动状态的情形类似。水流影响水生植物利用溶解无机碳的能力,进而影响光合作用能力^[20]。水流同时也提高了藻类利用营养盐的效率^[21]。海藻生长需要大量的碳,在自然海水 (pH 8.1 ~ 8.3) 中,由于水溶性 CO_2 只占总无机碳库的 0.5% ~ 1%,90% 以上的是无机碳重碳酸盐 (HCO_3^-),所以大型海藻的大部分光合无机碳源由 HCO_3^- 提供^[22]。因此无机碳利用能力决定了大型海藻的光合速率和生长率^[23]。在静止培养的情况下,初始时浒苔的强光合作用能力导致溶液中的无机碳被大量吸收,溶液的 pH 显著上升, CO_2 的供应减少,浒苔不得不消耗更多的能量使 HCO_3^- 转化为 CO_2 ,从而供应细胞内 Rubisco (1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶) 的需要,在这个过程中藻类的光合作用能力显著下降,pH 上升速度减缓,等 pH 接近藻类 pH 补偿点时,藻类的光合作用与呼吸作用相等,藻类的生长停止。连续充气使大气中的 CO_2 充分溶入,减缓 pH 的升高,使藻体表面的营养盐及时更新补充,在生物量密度很小的情况下,营养盐和 CO_2 的供应都充分满足藻体的需要,海水的碳酸盐系统维持在一个较为恒定的水平,藻体一直保持相对高的光合作用速率,从而维持很高的生长率。这样的培养方式与自然海域具有一定水流和波浪作用下的条件更为接近,本实验中较低水平的生物量密度则能够充分模拟自然界中浒苔生长

情况,在浒苔暴发的早期,单位海区内浒苔的生物量是非常低的,并且具有更加充足的光照和充分的海水混合,在自然海域浒苔可能具有更高的生长率和更短的生物量加倍时间。这种可以和海区中优势微藻相媲美的高生长率赋予了浒苔急剧暴发的潜力而成为绿潮藻。

通常认为海水中 N 是限制海藻生长的主要营养元素^[24]。在河口区生态系统中,氮对初级生产力的限制是非常常见的现象^[25]。但氮供应充足时,往往会发生大型藻类的暴发^[9]。研究结果表明在 N 加富的情况下,浒苔的生长率得到显著的提高。单独 P 加富对浒苔也有一定的促进生长的作用,但相对 N 加富其作用要小得多。当 N、P 同时加富时,浒苔的生长率更高。在长江流域,化肥的使用量从 1980 年的 3.02×10^6 t 增加到 1996 年的 9.37×10^6 t^[26]。Yan 等^[27]的研究表明,1997 年通过各种途径进入长江流域的氮量为 7.8×10^6 t,是 1968 年的 3 倍。高磊等^[28]发现黄海和东海西部海域在近 40~50 年中 NO_3^- 浓度快速上升,长江、淮河等河流中 NO_3^- 的平均浓度至少提高了 $7.8 \mu\text{mol/L}$ 。Liu 等^[8]发现在江苏中部沿海每年 3—5 月有超过 5×10^4 t 发酵鸡粪使用于沿岸养殖池,然后这些养殖废水直接排放到附近海域,加剧了海洋的富营养化程度。这为浒苔的快速生长提供了物质条件,说明黄海海域丰富的 NO_3^- 可能是浒苔暴发的物质条件之一。

添加 N、P 使浒苔的 P_{max} 显著上升,表明 N、P 加富能促进浒苔光合能力的提高,这与 N、P 加富时浒苔的相对生长率相吻合。N、P 同时加富时,浒苔的 I_k 明显增加,反映了浒苔在 N、P 供应充足时耐受强光能力有所加强。N 加富或 N、P 同时加富也促使浒苔初始斜率 α 升高,表明在 N 丰富时浒苔的捕光能力有所增强,这有助于浒苔在营养盐丰富时维持较高的光能利用效率。N、P 加富也使浒苔的呼吸有所加强,这可能是因同化作用增加而引起额外的呼吸作用。Turpin 等^[29]也发现添加 NO_3^- ,会使藻类的呼吸加强,以固定碳合成氨基酸。

N、P 都可以促进浒苔光合色素尤其是叶绿素的合成,而 N 的这种作用更明显。当 N、P 同时供应充足时,浒苔积累光合色素更多,显示 N、P 对浒苔光合色素合成具有交互作用。Falkowski 等^[30]发现 N 缺乏将会使刚毛藻 (*Chaetomorpha*

linum) 的光合色素含量下降,当外界 N 源丰富时刚毛藻利用叶绿素储存 N,而当外界 N 缺乏时,它会释放叶绿素 N 用来合成蛋白质。Kennison 等^[31]发现 2 种浒苔 (*U. expansa*, *U. intestinalis*) 可以快速吸收并大量储存 N,这可能是浒苔成为优势种的原因。浒苔在 N 丰富时大量合成叶绿素,而当海域中 N 供应不足时可能释放叶绿素 N 用于生长,这可能是浒苔保证其快速生长的机制之一。

参考文献:

- [1] Corredor J E, Howarth R W, Twilley R W, et al. Nitrogen cycling and anthropogenic impact in the tropical Inter-American seas [J]. *Biogeochemistry*, 1999, 46(1-3):163-178.
- [2] Sun S, Wang F, Li C L, et al. Emerging challenges: Massive green algae blooms in the Yellow Sea [J]. *Nature Precedings*, hdl:10101/npre. 2008. 2266. 1.
- [3] Raffaelli D, Balls P, Way S, et al. Major long-term changes in the ecology of the Ythan estuary, Aberdeenshire, Scotland; How important are physical factors? [J]. *Aquatic Conservation*, 1999, 9(2): 219-236.
- [4] Ahern J, Lyons J, MccLelland J, et al. Invertebrate response to nutrient-induced changes in macrophyte assemblages in Waquoit Bay [J]. *The Biological Bulletin*, 1995, 189(2):241-242.
- [5] 姚东瑞. 浒苔 [M]. 北京: 海洋出版社, 2011: 64-66.
- [6] 陈群芳, 何培民, 冯子慧, 等. 漂浮绿潮藻浒苔孢子/配子的繁殖过程 [J]. *中国水产科学*, 2011, 18(5):1069-1076.
- [7] Lin A P, Wang C, Pan G H, et al. Diluted seawater promoted the green tide of *Ulva prolifera* (Chlorophyta, Ulvales) [J]. *Phycological Research*, 2011, 59(4):295-304.
- [8] Liu F, Pang S J, Chopin T, et al. Understanding the recurrent large-scale green tide in the Yellow Sea: Temporal and spatial correlations between multiple geographical, aquacultural and biological factors [J]. *Marine Environmental Research*, 2013, 83:38-47.
- [9] Valiela I, Foreman K, La Montagne M, et al. Couplings of watersheds and coastal waters sources and consequences of nutrient enrichment in Waquoit Bay Massachusetts [J]. *Estuaries*, 1992, 15(4): 443-457.
- [10] Duke C S, Litaker W, Ramus J. Effects of

- temperature, nitrogen supply, and tissue nitrogen on ammonium uptake rates of the Chlorophyte seaweeds *Ulva curvata* and *Codium decorticatum* [J]. *Journal of Phycology*, 1989, 25(1): 113 – 120.
- [11] 李俭平, 赵卫红, 付敏, 等. 氮磷营养盐对浒苔生长影响的初步探讨 [J]. *海洋科学*, 2010, 34(4): 45 – 48
- [12] 陈静, 沈颂东, 薛静. 紫外辐射和低盐胁迫对浒苔生长的影响 [J]. *生态科学*, 2010, 29(2): 131 – 135.
- [13] 王建伟, 阎斌伦, 林阿朋, 等. 浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 生长及孢子释放的生态因子研究 [J]. *海洋通报*, 2007, 26(2): 60 – 65.
- [14] 李瑞香, 吴晓文, 韦钦胜, 等. 不同营养盐条件下浒苔的生长 [J]. *海洋科学进展*, 2009, 27(2): 211 – 216.
- [15] 吴晓文, 李瑞香, 徐宗军. 营养盐对浒苔生长影响的围隔生态实验 [J]. *海洋科学进展*, 2010, 28(4): 538 – 544.
- [16] Ott F D. Synthetic media and techniques for the xenic cultivation of marine algae and flagellate [J]. *Virginia Journal of Science*, 1965, 16: 205 – 218.
- [17] Evans G C. The quantitative analysis of plant growth [M]. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1972: 734.
- [18] Henley W J. Measurement and interpretation of photosynthetic light-response curves in algae in the context of photoinhibition and diel changes [J]. *Journal of Phycology*, 1993, 29: 729 – 739.
- [19] Wellbum A R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1994, 144(3): 307 – 313.
- [20] Hurd C L. Water motion, marine macroalgal physiology, and production [J]. *Journal of Phycology*, 2003, 36(3): 453 – 472.
- [21] Larned S T, Atkinson M J. Effects of water velocity on NH_4 and PO_4 uptake and nutrient-limited growth in the macroalga *Dictyosphaeria cavernosa* [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1997, 157: 295 – 302.
- [22] Invers O, Zimmerman R C, Alberte R S, *et al.* Inorganic carbon sources for seagrass photosynthesis: An experimental evaluation of bicarbonate use in species inhabiting temperate waters [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2001, 265(2): 203 – 217.
- [23] Mercado J M, Niell F X, Silva J, *et al.* Use of light and inorganic carbon acquisition by two morphotypes of *Zostera noltii* Hornem [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2003, 297(1): 71 – 84.
- [24] Villares R, Carballeira A. Nutrient limitation in macroalgae (*Ulva* and *Enteromorpha*) from the Rías Baixas (NW Spain) [J]. *Marine Ecology*, 2004, 25(3): 225 – 243.
- [25] Pedersen M F, Borum J. Nutrient control of algal growth in estuarine waters. Nutrient limitation and the importance of nitrogen requirements and nitrogen storage among phytoplankton and species of macroalgae [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1996, 142(1–3): 261 – 272.
- [26] 中国农业年鉴编辑委员会. 中国农业年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 1 – 576.
- [27] Yan W J, Zhang S. How do nitrogen inputs to the Changjiang basin impact the Changjiang River nitrate: Atemporal analysis for 1968 – 1997 [J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2003, 17(4). doi: 1029/2002GB002029.
- [28] 高磊, 李道季. 黄、东海西部营养盐浓度近几十年来的变化 [J]. *海洋科学*, 2009(5): 64 – 69.
- [29] Turpin D H, Elrifi I R, Birch D G, *et al.* Interactions between photosynthesis, respiration, and nitrogen assimilation in microalgae [J]. *Canadian Journal of Botany*, 1988, 66(10): 2083 – 2097.
- [30] Falkowski P G, Owens T G. Light-shade adaption: Two strategies in marine phytoplankton [J]. *Plant Physiology*, 1980, 66(4): 592 – 595.
- [31] Kennison R L, Kamer K, Fong P. Rapid nitrate uptake rates and large shortterm storage capacities may explain why opportunistic green macroalgae dominate shallow eutrophic estuaries [J]. *Journal of Phycology*, 2011, 47(3): 483 – 494.

Effects of nitrogen and phosphorus on the growth, photosynthesis and pigments of *Ulva prolifera*

LI Xinshu^{1,3}, XU Juntian¹, YAO Dongrui^{1,2}, HE Peimin^{3*}

(1. Key Laboratory of Marine Biotechnology of Jiangsu Province, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China;

2. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China;

3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Eutrophication is the most serious environmental problem in the coastal marine pollution. Macroalgal blooms tend to have the potential for rapid absorption of nutrients and rapid proliferation. In order to investigate the physiological and biochemical responses of *Ulva prolifera* to nitrogen (N) and phosphorus (P) in the eutrophic seawater, the growth rate, photosynthesis and the pigments of *U. prolifera* were determined under different nutrients conditions and different culture densities. The experiment was divided into four treatments: the control group, + N group, + P group, and + N + P group (+ N, + P represents adding NaNO₃, Na₂ HPO₄, respectively). The algae were pre-cultured in four nutrition conditions for 3 d. The temperature was set at 20 °C, light intensity was approximately 6 000 lx, and photoperiod L: D was 12 h: 12 h with continuous aeration. Our results showed that either N or P supplies could increase the growth rate of *U. prolifera*, but much more significant enhancement was found in the N enrichment than P enrichment. When the original biomass was set as 0.1 g/L, the relative growth rates of the control group, + P group, + N group and + N + P group were 0.68, 0.69, 0.72 and 0.75, respectively. There was a negative relation between the relative growth rate and biomass density. The biomass doubling time significantly shortened when N and P were added. When the original biomass was 0.2 g/L, the biomass doubling time of control group, + P group, + N group and + N + P group was 1.60, 1.53, 1.16, and 1.03 d, respectively. The fastest biomass doubling time was found in the thalli grown at N and P enrichments condition and 0.1 g/L initial biomass density, with the period of 0.92 d. Either N enrichment or P enrichment could increase the chlorophyll and carotenoid contents, as well as the net photosynthetic rate of *U. prolifera*. The maximum net photosynthetic rate and pigments contents in *U. prolifera* were found in the culture condition with a combination of simultaneous enrichment of N and P. There was a significant interaction between N and P enrichment. In summary, N, P enrichments can significantly promote the growth, increase the photosynthetic pigments and photosynthetic rate of *U. prolifera*, which may be an important mechanism of the bloom of *U. prolifera*.

Key words: *Ulva prolifera*; nitrogen; phosphorus; photosynthesis; photosynthetic pigment

Corresponding author: HE Peimin. E-mail: pmhe@shou.edu.cn