

添加氮磷对龙须菜光合固碳能力影响的现场研究

黄瑶^{1,2} 毛玉泽^{1*} 周毅³ 蒋增杰¹ 王东哲^{1,2} 颜婷茹¹ 方建光¹

⁽¹⁾ 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 山东省渔业资源与生态环境重点实验室

中国水产科学研究院黄海水产研究所 碳汇渔业实验室, 青岛 266071)

⁽²⁾ 上海海洋大学水产与生命学院, 201306)

⁽³⁾ 中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

摘要 采用碘量法和碱度法, 通过测定密闭容器中溶解氧和无机碳浓度的变化, 从产氧和固碳两个方面研究添加氮、磷对龙须菜光合作用速率的影响。实验设置为加氮(ADDN, $10\mu\text{mol/L NH}_4\text{Cl}$)、加磷(ADDP, $1.0\mu\text{mol/L KH}_2\text{PO}_4$)、同时加氮磷(ADDNP, $10\mu\text{mol/L NH}_4\text{Cl} + 1.0\mu\text{mol/L KH}_2\text{PO}_4$)、不加氮磷(NONP) 4个处理, 不加龙须菜的海水作为对照。根据实验前后光合作用瓶内各参数的变化, 计算了龙须菜光合产氧速率(R_O , $\text{mg/g DW} \cdot \text{h}$), 固碳速率(R_{DIC} , $\mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$), HCO_3^- 吸收速率($R_{\text{HCO}_3^-}$, $\mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$)、 CO_2 吸收速率(R_{CO_2} , $\mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$)以及光合熵(PQ)和二氧化碳分压($p\text{CO}_2$)的变化, 探讨了氮磷营养盐对龙须菜光合作用固碳速率的影响, 为提高龙须菜的碳汇功能提供理论参考。结果表明, 8~11月添加氮磷对龙须菜 R_O 的影响差异不显著, 12月加氮和加磷能显著提高龙须菜 R_O , R_O 存在明显的季节变化; 添加氮磷对 R_{DIC} 的影响差异不显著, 存在明显的季节变化, 与 R_O 相同, 9月最高($287.3\mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$), 12月最低位($134.8\mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$); R_{CO_2} 除12月外, 不同处理差异不显著, 季节变化明显, 平均 R_{CO_2} 8月最高, 11月最低; $R_{\text{HCO}_3^-}$ 不同处理差异不显著, 季节变化明显, 9月最高, 12月最低; 实验结束后容器内 $p\text{CO}_2$ 范围为 $82.7 \sim 238.7\mu\text{atm}$ (平均 $152.1\mu\text{atm}$), 双因素方差分析表明不同处理 $p\text{CO}_2$ 差异不显著, 不同月份差异显著; 不同处理和不同月份PQ值均有显著差异, 加氮组平均PQ值最高(1.23), 不同月份平均值为 $0.59 \sim 1.50$ 。

关键词 龙须菜 产氧速率 固碳速率 光合熵

中图分类号 S968.41⁺9

文献标识码 A

文章编号 1000-7075(2013)01-0022-09

Field study on photosynthetic carbon acquisition of *Gracilaria lemaneiformis* after adding nitrogen and phosphorus

HUANG Yao^{1,2} MAO Yu-ze^{1*} ZHOU Yi³ JIANG Zeng-jie¹

WANG Dong-zhe^{1,2} YAN Ting-ru¹ FANG Jian-guang¹

⁽¹⁾ Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Shandong Provincial

Key Laboratory of Fishery Resources and Eco-environment, Yellow Sea Fisheries Research Institute,

Chinese Academy of Fishery Sciences, Carbon-Sink Fisheries Laboratory, Qingdao 266071)

⁽²⁾ College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, 201306)

⁽³⁾ Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

国家科技支撑计划(2011BAD13B02)、国家海洋局海洋公益性行业科研经费专项(201205031)和国家自然科学基金(40776090;40976073)共同资助

* 通讯作者。E-mail: maoyz@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2012-10-01, 接受日期: 2012-12-20

作者简介: 黄瑶(1987-), 女, 硕士研究生, 主要从事藻类生理生态健康养殖研究。E-mail: clarehuangyao@163.com, Tel: (0532)85822957

ABSTRACT Effects of ammonia and phosphorus addition on *Gracilaria lemaneiformis* photosynthetic rate were evaluated in terms of oxygen production and carbon acquisition, and the carbon sink function of this cultured seaweed was discussed. Iodimetry measurement for dissolved oxygen and total alkalinity (TA) determination for dissolved inorganic carbon (DIC) were taken to measure the rates of O_2 production and DIC acquisition of *G. lemaneiformis*. During the experiment period, seaweed *G. lemaneiformis* was cultured in sealed synthetic glass containers under 4 different nutrient conditions (ADDN, $10\mu\text{mol/L NH}_4\text{Cl}$; ADDP, $1.0\mu\text{mol/L KH}_2\text{PO}_4$; ADDNP, $10\mu\text{mol/L NH}_4\text{Cl} + 1.0\mu\text{mol/L KH}_2\text{PO}_4$; NONP, without addition of nitrogen or phosphorus), *in situ* seawater as control. The results showed that from August to November, the added ammonia and phosphorus had no significant effect on R_O (photosynthetic rate in oxygen production) of *G. lemaneiformis*; in November, the added ammonia and phosphorus significantly increased the R_O of the seaweed. The added ammonia and phosphorus had no significant impact on R_{DIC} . R_{CO_2} ranged from 6.9 to $18.4\mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$ (average $11.3\mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$). No significant difference in each condition but obvious seasonal variations were observed. $R_{\text{HCO}_3^-}$ ranged from 117.1 to $487.1\mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$. ANOVA analysis revealed no significant difference in $p\text{CO}_2$ for each treatment, but there were obvious seasonal variations in $p\text{CO}_2$. Significant difference in photosynthetic quotient (PQ) was found among treatments and months; PQ (average) maximized (1.23) when ammonia was added, and the monthly average PQ was in the range of 0.59~1.50.

KEY WORDS *Gracilaria lemaneiformis* Rate in oxygen production
Carbon acquisition rate Photosynthetic quotient

生物固碳是目前公认的最安全、有效、经济的固碳方式;除陆地森林、草地生态系统外,海洋生物固碳已引起全世界的关注(Tang *et al.* 2011; Hepburn *et al.* 2011)。海洋生物中的大型藻类被认为是最具潜力的生物净化器,其在光合作用过程中,不仅能够利用二氧化碳,释放氧气,并且可以利用水体中的溶解性无机氮和磷,起到净化水质的作用。在众多海藻中,养殖的大型藻类的初级生产力较高,仅次于珊瑚礁;利用养殖的大型藻类增加碳汇,不仅符合我国节能减排的近期需求,而且在远期以可再生能源等替代能源的发展方面具有巨大的潜力(刘 慧等 2011)。海洋生态系统对大气二氧化碳浓度的调控作用越来越受到重视(Melillo *et al.* 1990; Hönlisch *et al.* 2012),地球上大约有 93%的二氧化碳会通过碳循环进入海洋,它们或重新进入生物地化循环,或被长期储存起来(Nellemann *et al.* 2009)。大型藻类和浮游植物等的初级生产是海洋生态系统参与全球碳循环的起始环节和关键部分之一。

光合无机碳利用的研究是理解大型海藻光合作用机理、生理生态以及生物量生产的基础。在过去 30 年中,尤其是近年来对大型海藻类的光合无机碳利用做了大量的研究工作,使人们对大型海藻光合无机碳利用特性及机理有了较为清晰的概念。但还有许多重要的问题,如 CO_2 在海水中处于一个复杂的平衡态,因此在光合无机碳利用中 HCO_3^- 与 CO_2 对光合碳吸收的相对贡献定量化的研究,碳酸盐体系与氮磷营养盐的选择性利用和协同竞争机制等研究较少。大型藻类能有效利用营养盐,控制水体的富营养化,对大型藻类的生理生态功能尤其是对水体氮磷的吸收方面的研究较多,但是对大型藻类的光合固碳特性研究较少,并且停留在实验室阶段。

龙须菜 *Gracilaria lemaneiformis* 是我国栽培的重要大型经济海藻,属于红藻门 Rhodophyta、江蓠科 Gracilariaceae、江蓠属 *Gracilaria*, 目前被广泛用于提取琼胶(刘思俭 2001)和喂养鲍 *Haliotis* sp. (欧俊新等 2011)。研究表明,养殖龙须菜能够有效提高水体中溶解氧的浓度,去除无机氮和无机磷(汤坤贤等 2005; 毛玉泽等 2006)。水产养殖中龙须菜作为生物过滤器能够有效地控制沿岸水域富营养化,起到修复和净化养殖

环境的作用(赵先庭等 2007)。实验室条件下有关光照、温度、营养盐、二氧化碳等龙须菜光合作用影响因素已经有系统研究(Zou *et al.* 2004,2009;Zheng *et al.* 2009;李枫等 2009;Xu *et al.* 2010;程丽巍等 2011;徐军田等 2011)。本研究通过碘量法测定溶解氧(DO)、碱度法测定海水中溶解无机碳(DIC)、pH 漂移法现场研究了添加氮、磷对龙须菜光合作用和碳酸盐体系的影响,目的是探讨影响自然海区养殖条件下龙须菜固碳机制,为提高大型藻类养殖的碳汇功能提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验设计及水体各项指标及参数测定

实验于 2002 年 8~12 月在山东桑沟湾贝藻混养区进行。设置加氮(ADDN, $10\mu\text{mol/L NH}_4\text{Cl}$)、加磷(ADDP, $1.0\mu\text{mol/L KH}_2\text{PO}_4$)、同时加氮磷(ADDNP, $10\mu\text{mol/L NH}_4\text{Cl}$, $1.0\mu\text{mol/L KH}_2\text{PO}_4$)、不加氮磷(NONP)营养盐 4 个处理,测定龙须菜光合作用产氧和固碳能力,以不加大型藻类的作为对照。实验选择晴天的中午,每 30d 进行 1 次,每处理 3 个重复。将事先配置的不同氮磷浓度的海水虹吸到光合作用瓶中(PB, 体积 2L),取初始水样测定营养盐的初始值。将一定湿重(约 3g)的龙须菜用海水洗净后悬挂于装有不同营养盐浓度的光合作用瓶内,密封悬挂于养殖筏架上水深 1.0~1.5m 处,2~3h 后取出,虹吸法取水样,现场固定溶解氧水样,其他水样冷藏运回实验室备用。采用碘量法测定 DO,用 Orion 公司生产的 520A 型精密 pH 计测定 pH(± 0.002),表层温度计测定温度,HD-3 型海水盐度计测定盐度,Li-250 型照度计测定光照。

另取 300ml 水样用 $0.45\mu\text{m}$ 的滤膜过滤,用于水体营养盐的测定;取 100ml 水样用于碱度的测定,同时测定水样的温度、pH 值,详见《海洋调查规范海水化学要素调查》。 $\text{NH}_4\text{-N}$ 用次溴酸钠氧化法测定, $\text{PO}_4\text{-P}$ 用钼钼蓝分光光度法测定,总碱度用 pH 法测定。

龙须菜样品用滤纸吸干水分,测量湿重(g),实验结束后于电热干燥箱 65°C 烘 24h 至衡重,测量干重(g)。

1.2 龙须菜光合产氧速率计算

光合作用产氧速率(R_o)通过实验前后 O_2 的浓度计算: $R_o(\text{mg/g DW} \cdot \text{h}) = (\text{O}_2' - \text{O}_2) \times V_o / W_o / t$ 。式中, O_2' 是实验结束时加龙须菜的光合作用瓶 O_2 的浓度(mg/L), O_2 是空白对照瓶中(无龙须菜) O_2 的浓度(mg/L), V_o 是光合作用瓶的体积(L), W_o 是实验龙须菜的干重(g), t 是实验时间(h)。

1.3 无机碳体系参数和光合固碳速率计算

根据温度 K 和盐度计算出碳酸解离常数 K'_1 和 K'_2 ,通过下列公式计算总碱度和海水中无机碳体系各参数的含量(Dickson *et al.* 2007):

$$\text{CA} = \text{TA} - \frac{K'_B T_B}{K'_B + [\text{H}^+]} - [\text{OH}^-]_T + [\text{H}^+]_T \quad (1)$$

$$\text{式中, } T_B = [\text{B}(\text{OH})_3 + \text{B}(\text{OH})_4^-] \quad (2)$$

$$\text{DIC} = \text{CA} \left(\frac{1 + K'_2 / [\text{H}^+] + [\text{H}^+] / K'_1}{1 + 2K'_2 / [\text{H}^+]} \right) \quad (3)$$

$$[\text{HCO}_3^-] = \text{CA} \times \frac{[\text{H}^+]}{[\text{H}^+] + 2K'_2} \quad (4)$$

$$[\text{CO}_3^{2-}] = \text{CA} \times \frac{K'_2}{[\text{H}^+] + 2K'_2} \quad (5)$$

$$[\text{CO}_{2(\text{T})}] = \text{CA} \times \frac{[\text{H}^+]^2}{K'_1([\text{H}^+] + 2K'_2)} \quad (6)$$

$$p\text{CO}_2 = \frac{[\text{CO}_2]}{a_s}, a_s \text{ 为二氧化碳溶解度常数} \quad (7)$$

式中,CA 是碳酸碱度,TA 是总碱度。

光合固碳速率(R_{DIC})通过 DIC 变化率计算: $R_{DIC}(\mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}) = (\text{DIC} - \text{DIC}') \times V_0 / W_0 / t$, DIC' 是实验结束时加龙须菜的光合作用瓶 DIC 的浓度($\mu\text{mol/L}$), DIC 是空白对照瓶中的 DIC 的浓度($\mu\text{mol/L}$), 其他参数同 R_0 。

采用类似的公式计算龙须菜对 CO_2 的吸收速率(R_{CO_2} , $\mu\text{mol/gDW} \cdot \text{h}$) 和 HCO_3^- 的吸收速率($R_{\text{HCO}_3^-}$, $\mu\text{mol/gDW} \cdot \text{h}$)。

光合熵(Photosynthetic Quotient, PQ)指光合作用净产氧量与光合作用固碳量的比值(摩尔比), 通过下式计算。

$$\text{PQ} = \frac{\text{产氧量}}{\text{碳吸收量}} = \frac{\Delta[\text{O}_2]}{\Delta[\text{DIC}]} \quad (8)$$

1.4 数据处理

采用 SPSS 18.0 软件对数据进行统计分析, 方差分析(ANOVA)检测处理之间的差异(P), $P < 0.05$ 作为差异显著检验水平。

2 结果

2.1 实验海区环境参数

实验期间海区实验点理化参数见表 1, 从 8~12 月, 水温逐渐下降, 从 24.0°C 下降到 10.0°C , 盐度变化范围为 $31.6 \sim 32.9$, pH 值逐渐升高, 变化范围为 $8.04 \sim 8.18$, DO 变化范围为 $7.33 \sim 9.09 \text{ mg/L}$, 总无机氮变化范围为 $6.45 \sim 19.90 \mu\text{mol/L}$, 呈下降趋势, 无机磷变化范围为 $0.19 \sim 0.74 \mu\text{mol/L}$ 。

表 1 实验海区海水理化环境参数

Table 1 Physicochemical characteristics of sea water in the experimental area

时间 Date	水温 T($^\circ\text{C}$)	盐度 S	pH	溶解氧 DO(mg/L)	总无机氮 TIN($\mu\text{mol/L}$)	无机磷 $\text{PO}_4\text{-P}$ ($\mu\text{mol/L}$)
08-25	24.0	32.7	8.04	7.36	19.90	0.61
09-28	22.8	32.9	8.09	7.33	16.98	0.39
11-06	14.6	31.9	8.17	8.47	10.91	0.74
12-04	10.0	31.6	8.18	9.09	6.45	0.19

试验海区海水碳酸盐体系各组分含量见表 2, 从 8~12 月, 总无机碳 DIC 变化范围为 $1723.88 \sim 1933.62 \mu\text{mol/L}$, 9 月最高, 11 月最低; 碳酸氢根浓度($[\text{HCO}_3^-]$)变化范围为 $1651.95 \sim 1837.40 \mu\text{mol/L}$, 9 月最高, 12 月最低; 碳酸根浓度($[\text{CO}_3^{2-}]$)变化范围为 $57.62 \sim 80.77 \mu\text{mol/L}$, 9 月最高, 12 月最低; 二氧化碳浓度($[\text{CO}_2(\text{T})]$)变化范围为 $14.27 \sim 15.98 \mu\text{mol/L}$, 8 月最高, 11 月最低; 二氧化碳分压($p\text{CO}_2$)的变化范围为 $319.21 \sim 541.01 \mu\text{atm}$, 8 月最高, 12 月最低。

表 2 试验海区不同月份碳酸盐体系各组分含量

Table 2 Concentration of CO_2 components in seawater of experimental area($\mu\text{mol/L}$)

时间 Date	总无机碳浓度 [DIC]	碳酸氢根浓度 [HCO_3^-]	碳酸根浓度 [CO_3^{2-}]	二氧化碳浓度 [$\text{CO}_2(\text{T})$]	二氧化碳分压 $p\text{CO}_2$ (μatm)
08-25	1782.26	1698.40	67.88	15.98	541.01
09-28	1933.62	1837.40	80.77	15.45	507.13
11-06	1843.32	1759.23	69.82	14.27	369.29
12-04	1723.88	1651.95	57.62	14.31	319.21
平均 Mean	1820.77	1736.74	69.02	15.00	434.16

2.2 添加氮磷对龙须菜光合产氧速率的影响

实验期间添加氮磷对龙须菜光合作用产氧的变化如图1所示。8月加磷组(ADDP)最低,为 $8.7 \text{ mg/g DW} \cdot \text{h}$,对照组(NONP) R_0 最高,为 $11.5 \text{ mg/g DW} \cdot \text{h}$;9月同时加氮磷组(ADDN) R_0 最低($9.6 \text{ mg/g DW} \cdot \text{h}$),其他各组相差不大(约为 $11.2 \text{ mg/g DW} \cdot \text{h}$);11月加氮组 R_0 略高于其他组,各处理之间差异不显著;12月龙须菜 R_0 总体较低,但加氮和加磷组的光合产氧速率相对较高,与其他两组差异显著。双因素方差分析表明,添加氮、磷营养盐对龙须菜 R_0 影响差异不显著,但存在显著的季节变化,9月份平均 R_0 最高,为 $10.8 \text{ mg/g DW} \cdot \text{h}$,12月平均 R_0 最低,为 $2.5 \text{ mg/g DW} \cdot \text{h}$ 。

2.3 不同处理龙须菜光合作用对无机碳体系的影响

用龙须菜对总无机碳(DIC)的吸收速率表示光合作用固碳能力。从图2可以看出,8月各处理组吸收DIC的速率在 $213.9 \sim 240.1 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$ 之间,添加磷组最低,不添加氮磷组最高;9月各处理组吸收DIC速率在 $281.0 \sim 294.9 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$ 之间,不加氮磷组略高于其他组;11月龙须菜对DIC的吸收速率范围为 $130.1 \sim 155.3 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$,不加氮磷组和同时添加氮磷组相对较高;12月各处理组龙须菜DIC的吸收速率为 $102.7 \sim 160.6 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$,加氮组合加磷组较其他两组高,但差异也不显著。双因素方差分析表明添加氮磷对龙须菜吸收DIC的影响差异不显著,但不同季节差异显著。各处理9月龙须菜吸收无机碳速率最高,为 $287.3 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$,12月最低位 $134.8 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$ 。

从图3可以看出,不同处理龙须菜对 CO_2 的吸收速率(R_{CO_2})的季节变化。8月份不加氮磷组吸收速率最高,为 $16.4 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$,加磷组最低,为 $12.9 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$;9月变化范围为 $10.7 \sim 11.7 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$,各组之间差异不大;11月变化范围为 $9.0 \sim 10.7 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$,加氮组最高;12月变化范围为 $7.9 \sim 11.4 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$,加氮组相对较高,不加氮磷组明显低于其他各组。双因素方差分析表明不同处理间差异不显著,8月不同处理组平均吸收速率最高,为 $14.2 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$,与其他各月之间差异显著,其他月之间差异不显著,平均范围为 $9.7 \sim 11.2 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$ 。

从图4可以看出,不同处理龙须菜对 HCO_3^- 的吸收速率($R_{\text{HCO}_3^-}$)的季节变化。8月变化范围为 $293.3 \sim 351.9 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$,加磷组最低,不加氮磷组最高;9月加氮组最低,不加氮磷组最高,变化范围为 $412.1 \sim 430.5 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$;11月加氮组最低,加氮磷组最高,变化范围为 $196.8 \sim 220.0 \mu\text{mol/g DW} \cdot \text{h}$;12月不

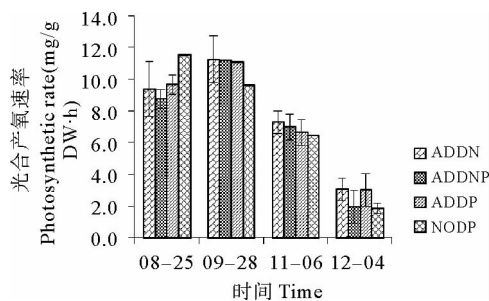


图1 不同处理龙须菜光合产氧速率的季节变化

Fig.1 Seasonal variations of photosynthetic rate in oxygen production of *G. lemaneiformis* under different conditions

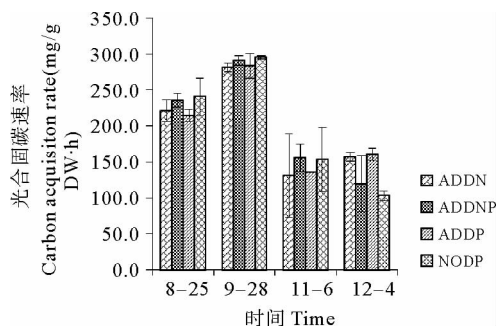


图2 不同处理龙须菜光合作用固碳速率(DIC)的季节变化

Fig.2 The seasonal variation of carbon acquisition rate by *G. lemaneiformis* under different conditions

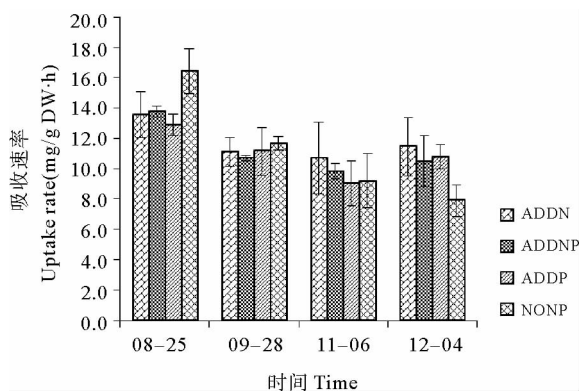


图3 不同处理龙须菜光合作用吸收 CO_2 的季节变化

Fig.3 The seasonal variation of uptake rate of carbon dioxide by *G. lemaneiformis* under different conditions

加氮磷组最低,加磷组最高,变化范围为 131.3~217.2 $\mu\text{mol/g DW}\cdot\text{h}$,不同月份的单因素方差分析显示处理间 HCO_3^- 的吸收速率差异均不显著。双因素方差分析结果显示不同月份之间 $R_{\text{HCO}_3^-}$ 差异显著,9 月最高(421.6 $\mu\text{mol/g DW}\cdot\text{h}$),其次为 8 月(321.8 $\mu\text{mol/g DW}\cdot\text{h}$),11 月和 12 月相对较低,分别为 208.2 和 180.1 $\mu\text{mol/g DW}\cdot\text{h}$ 。

实验前后不同处理培养水体中 CO_2 分压($p\text{CO}_2$)变化见图 5。8~12 月自自然海水中 $p\text{CO}_2$ 呈现下降趋势,实验结束后光合作用瓶中 $p\text{CO}_2$ 显著低于自然海水,说明大型藻类光合作用能降低海水中 $p\text{CO}_2$ 。8 月 $p\text{CO}_2$ 分压范围为 168.8~201.6 μatm ,加氮磷组最低,加磷组最高;9 月 $p\text{CO}_2$ 分压范围为 88.0~100.8 μatm ,加氮磷组最低,不加氮磷组最高;11 月 $p\text{CO}_2$ 分压范围为 141.2~180.0 μatm ,加磷组最低,加氮组最高;12 月 $p\text{CO}_2$ 范围为 138.5~207.8 μatm ,加磷组显著低于其他各组,不加氮磷组最高。双因素方差分析表明不同处理 $p\text{CO}_2$ 差异不显著,不同月份差异显著,9 月不同处理培养海水中 $p\text{CO}_2$ 最低(96.4 μatm),显著低于其他月份,其他月份之间差异不显著。

不同处理龙须菜光合熵(PQ)的季节变化见图 6。8 月 PQ 值在 1.29~1.49 之间,不加氮磷组 PQ 值最高,与其他各组有显著差异;9 月 PQ 值在 1.04~1.24 之间,加氮磷组最低,加磷组最高,各组之间差异不显著;11 月 PQ 值在 1.31~1.74 之间,不加氮磷组最低,加氮组最高,与不加氮磷组和同时加氮磷组差异显著;12 月 PQ 值范围在 0.51~0.65 之间,加氮磷组最低,加磷组最高,各组之间差异不显著。双因素方差分析结果显示不同处理和不同月份 PQ 值均有显著差异,加氮组平均 PQ 值最高(1.23),与同时加氮磷组和不加氮磷组之间有显著差异,与加磷组差异不显著。S-N-K 多重比较表明不同月份各处理平均 PQ 之间均存在显著差异,12 月最低(0.59),11 月最高(1.50),8 月和 9 月分别为 1.35 和 1.17。

3 讨论

3.1 基于 pH 值的无机碳体系测定

本研究采用碱度法计算光合作用介质中无机

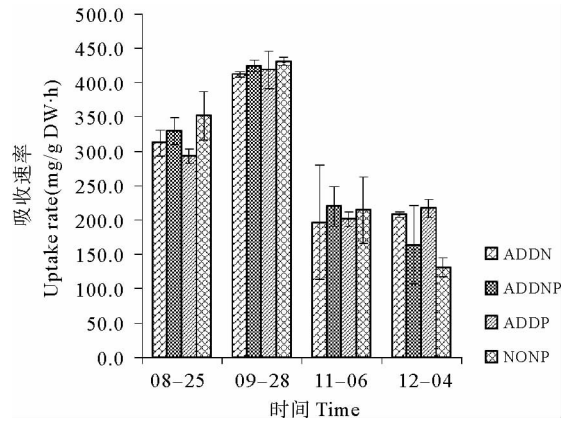


图 4 不同处理龙须菜光合作用吸收 HCO_3^- 的季节变化
Fig. 4 The seasonal variation of uptake rate of bicarbonate by *G. lemaneiformis* under different conditions

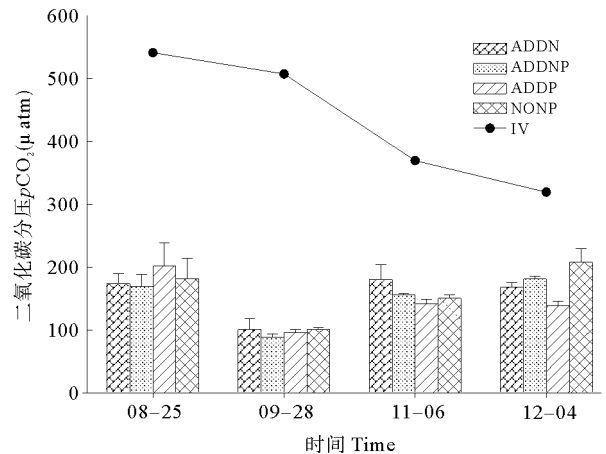


图 5 不同处理龙须菜光合作用 CO_2 分压的季节变化(IV 表示 $p\text{CO}_2$ 的初始值)
Fig. 5 The seasonal variation of $p\text{CO}_2$ of *G. lemaneiformis* under different conditions (IV is the initial value of $p\text{CO}_2$)

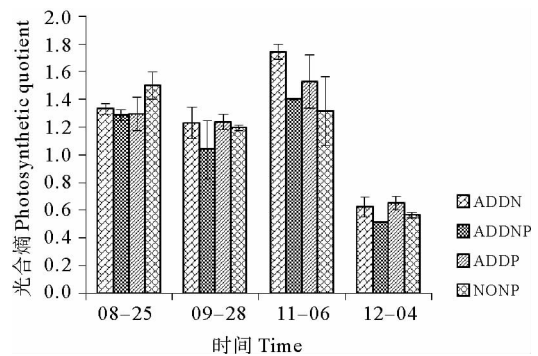


图 6 不同处理龙须菜光合作用光合熵的季节变化
Fig. 6 The seasonal variation of photosynthetic quotient of *G. lemaneiformis* under different conditions

碳体系各参数值,该方法基于对 pH 的精确测定。目前测定海水 DIC 的方法主要有重量法、平衡压力法、气相色谱法、红外分光光度法、电化学传感器法、库伦滴定法和碱度计算法(姬泓巍等 2002)。利用海水 pH 变化研究海水中溶解无机碳有很高的准确性和生态相关性(Axelsson 1988),李学刚等(2004)的研究表明,用上述几种方法测定 DIC 的差异不显著。目前对大型藻类光合固碳研究大都在实验室进行,现场研究能更加准确反映其光合特性,因碱度法需要的仪器设备相对简单,因此通过监测海水中 pH 变化研究大型藻类碳吸收机制被广泛采用(Moazami-Goudarzi *et al.* 2012)。用碱度计算法测定海水溶解无机碳具有操作方便、测定快速、试剂器材携带量少等优点,较适用于现场大型藻类光合固碳作用的研究。本研究中采用碱度计算法测得试验海区 8~12 月 DIC 浓度变化范围为 1 723.88~1 933.62 $\mu\text{mol/Lol}\cdot\text{L}$,略低于一般海水中溶解无机碳浓度(2 000 $\mu\text{mol/Lol}\cdot\text{L}$),这可能与实验地点长期开展大型藻类养殖有关。

3.2 龙须菜光合作用对无机碳体系的影响及其响应机制

大型藻类通过光合作用将海水中的溶解无机碳转化为有机碳,从而使水中的 CO_2 分压降低,在其初级生产过程中,还需从海水中吸收溶解的营养盐如硝酸盐、磷酸盐,这使得表层水的碱度升高,将进一步降低水体中 CO_2 分压,从而促进大气 CO_2 向海水中扩散。本研究表明,龙须菜能明显改变培养基中无机碳体系中各参数的浓度(表 3)。水体中加入龙须菜之后,整个二氧化碳体系发生了明显的变化(表 4), $p\text{CO}_2$ 下降最为明显,不同月份存在明显差异,9 月降低 81%。相对于 HCO_3^- , CO_2 浓度下降更为明显。对 38 种红藻的碳利用机制探究表明,潮间带种类能够利用溶解 CO_2 和 HCO_3^- ,潮下带种类通常仅限于利用 DIC 中的溶解 CO_2 (Murru *et al.* 2004)。龙须菜自然生长在潮间带下部沙沼中到潮下带,可能同时具有利用 CO_2 和 HCO_3^- 的能力。室内研究表明龙须菜依赖胞外碳酸酐酶将 HCO_3^- 作为光合作用的碳源(Zou *et al.* 2004)。岳国峰等(2000)的研究也表明,大型海藻条斑紫菜具有依赖胞外 CA 对 HCO_3^- 间接吸收的能力,又具有依赖膜 ATP 酶对 HCO_3^- 的直接转运能力。

表 3 实验结束后介质中无机碳体系各参数浓度变化($\mu\text{mol/L}$)

Table 3 Variation of CO_2 components concentration in seawater by the end of experiment

时间 Date	总无机碳浓度 [DIC]	碳酸氢根浓度 [HCO_3^-]	碳酸根浓度 [CO_3^{2-}]	二氧化碳浓度 [$\text{CO}_2(\text{T})$]	二氧化碳分压 $p\text{CO}_2(\mu\text{atm})$
08-25	1 611.00	1 454.50	151.14	5.36	181.42
09-28	1 615.12	1 373.21	238.98	2.94	96.37
11-06	1 710.05	1 572.00	131.99	6.06	156.74
12-04	1 639.78	1 538.37	93.62	7.78	173.67
平均 Mean	1 643.99	1 484.52	153.93	5.54	152.05

表 4 龙须菜光合作用介质中无机碳体系各组分下降百分比(%)

Table 4 Decline percentages of CO_2 components after *G. lemaneiformis* was cultured in seawater

时间 Date	总无机碳浓度 [DIC]	碳酸氢根浓度 [HCO_3^-]	碳酸根浓度 [CO_3^{2-}]	二氧化碳浓度 [$\text{CO}_2(\text{T})$]	二氧化碳分压 $p\text{CO}_2(\mu\text{atm})$
08-25	9.61	14.36	-122.67	66.46	66.47
09-28	16.47	25.26	-195.86	80.97	81.00
11-06	7.23	10.64	-89.04	57.53	57.56
12-04	4.88	6.88	-62.49	45.62	45.59
平均 Mean	9.71	14.52	-123.02	63.10	64.98

本研究龙须菜 9 月光合固碳速率最高(以总无机碳 DIC 计),这可能与该月具有较高的 DIC 浓度(1 933.6 $\mu\text{mol/L}$)有关,Zou 等(2004)对龙须菜的研究表明,自然海水中的无机碳(2.2 mmol/L)能够满足龙须菜最大

光合作用的需要。尽管 11 月海水的 DIC 浓度高于 8 月,但 R_{DIC} 却低于 8 月,这可能与海区温度和营养盐水平有关。8 月的水温和氮磷营养盐水平远高于其他月份,比较适合龙须菜的生长,所以也具有较高的 DIC 吸收能力;高温和氮磷营养盐水平的 8 月 R_{DIC} 低于 9 月,分析原因可能是 9 月的温度和营养盐水平并不是龙须菜光合作用的限定条件,比较而言在 11 月和 12 月,较低的温度和氮磷营养盐水平可能是引起低 DIC 吸收率的主要原因,尤其是 12 月海区营养盐水平较低,添加氮磷营养盐龙须菜光合固碳速率具有显著差异,说明该季节氮磷是影响 R_{DIC} 的主要因素。

3.3 影响龙须菜光合作用的因素

温度是控制植物光合作用利用无机碳速率的主要因子(Davison 1991)。温度影响光合作用碳固定关键酶 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶活性(Stitt 1986)。褐藻 *Laminaria saccharina* 如果底物不足或半饱和时,随着温度的降低,Rubisco 的底物亲和性升高,通过减少该反应对温度的依赖来抵消酶促反应最大反应速率(V_{max})的降低(Davison *et al.* 1987)。温度升高时 Rubisco 催化加氧的 K_m 增加程度低于羧化的 K_m ,结果导致随着温度的升高光呼吸增加不利于固碳。温度影响碳酸酐酶活性,碳酸酐酶催化 CO_2 或 HCO_3^- 在细胞膜和叶绿体膜的转运(Davison 1991)。本研究中龙须菜光合产氧速率和光合固碳速率变化保持一致性,9 月最高,12 月最低,而实验海区的水温在实验期间基本呈现逐渐下降趋势。

光合熵是反映大型藻类光合生理特性的重要指标。本研究中,PQ 对添加氮磷比较敏感,尤其在 9 月和 12 月,加磷组 PQ 都较高。磷限制能够降低龙须菜 CO_2 浓缩过程中对溶解无机碳的亲水性(Xu *et al.* 2010)。大型藻类对氮的吸收和同化是一个主动耗能的过程,这一过程需要消耗大量的 ATP,从某种程度上说影响了大型藻类的光合固碳能力。8 月 PQ 值在 1.29~1.49 之间,不加氮磷组 PQ 值最高,这可以与 8 月海区具有较高的氮磷水平有关(表 1)。研究证明,高浓度 N、P 组合处理对龙须菜 PSII 光化学效率的抑制作用最强(彭长连等 2007)。11 月 PQ 值在 1.31~1.74 之间,不加氮磷组最低,加氮组最高。有研究表明,当大型藻类的生长处于或者接近光合有效辐射底限时,藻类的生长需要依赖于 CO_2 不通过酸性和碱性区域的扩散,此时利用的氮源是 NH_4^+ ,而不是 NO_3^- (Raven *et al.* 2012)。

4 结论

- 1) 本研究表明,龙须菜光合作用能够明显提高海区的溶解氧(DO)水平,在低温、低氮磷条件下加氮和加磷能显著提高龙须菜光合产氧速率。
- 2) 在海水中可利用性无机碳总量一定的情况下,龙须菜光合作用能够改变海区无机碳体系各组分的含量。
- 3) 光合熵(PQ)较为敏感,可以作为衡量大型藻类固碳能力的动态参数。

参 考 文 献

- 毛玉泽,杨红生,周毅,胡宗福,袁秀堂,游奎,王如才. 2006. 龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)的生长、光合作用及其对扇贝排泄氮磷的吸收. 生态学报,26(10): 3 225-3 231
- 刘思俭. 2001. 我国江蕨的种类和人工栽培. 湛江海洋大学学报,21(3): 71-79
- 刘慧,唐启升. 2011. 国际海洋生物碳汇研究进展. 中国水产科学,18(3): 695-702
- 汤坤贤,游秀萍,林亚森,陈敏儿,沈东煜,林泗彬. 2005. 龙须菜对富营养化海水的生物修复. 生态学报,25(11): 3 044-3 051
- 李学刚. 2004. 近海环境中无机碳的研究. 见:中国科学院海洋研究所博士研究生学位论文
- 李枫,邹定辉,刘兆普,赵耕毛,程丽巍,朱喜锋,陈伟洲. 2009. 氮磷水平对龙须菜生长和光合特性的影响. 植物生态学报,33(6): 1 140-1 147
- 杨宇峰,费修缙. 2003. 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(自然科学版),33(1): 53-57
- 岳国峰,周百成. 2000. 条斑紫菜对无机碳的利用. 海洋与湖沼,31(3): 246-251
- 欧俊新,严正凛. 2011. 南方鲍藻混养技术研究及其效益分析. 集美大学学报(自然科学版),16(3): 172-177
- 赵先庭,刘云凌,张继辉,曲克明,马德林. 2007. 龙须菜处理海水养殖废水的初步研究. 海洋水产研究, 28(2): 23-27
- 姬淑巍,徐环,辛惠蓁,宁霞. 2002. 海水中溶解无机碳 DIC 的分析方法. 海洋湖沼通报, (4): 16-24
- 徐军田,高坤山. 2010. 二氧化碳和阳光紫外辐射对龙须菜生长和光合生理的影响. 海洋学报, 32(5): 144-151

- 彭长连,温 学,林植芳,周厚诚,陈少薇,林桂珠. 2007. 龙须菜对海水氮磷富营养化的响应. 植物生态学报, 31(3): 505-512
- 程丽巍,邹定辉,刘兆普,赵耕毛,李 枫,郑青松. 2011. 不同 N, P 水平对龙须菜生长及生理生化特性的影响. 海洋环境科学, 30(2): 211-215
- Axelsson L. 1988. Changes in pH as a measure of photosynthesis by marine macroalgae. Mar Biol 97(2): 287-294
- Davison IR. 1991. Environmental effects on algal photosynthesis: temperature. J Phycol 27(1): 2-8
- Davison IR, Davison JO. 1987. The effect of growth temperature on enzyme activities in the brown alga *Laminaria saccharina*. British Phycological Journal 22(1): 77-87
- Dickson AG, Sabine CL, Christian JR (Eds.). 2007. Guide to best practices for ocean CO₂ measurements. PICES special publication. 3
- Hepburn CD, Pritchard DW, Cornwall CE and 4 others. 2011. Diversity of carbon use strategies in a kelp forest community: implications for a high CO₂ ocean. Global Change Biol 17(7): 2488-2497
- Hönisch B, Ridgwell A, Schmidt DN and 19 others. 2012. The geological Record of ocean acidification. Science 335(6072): 1058-1063
- Melillo JM, Callaghan TV, Woodward FI, Salati E, Sinha SK. 1990. Effects on ecosystems. Climate change: The IPCC scientific assessment: 283-310
- Moazami-Goudarzi M, Colman B. 2012. Changes in carbon uptake mechanisms in two green marine algae by reduced seawater pH. J Exp Mar Biol Ecol 413: 94-99
- Murru M, Sandgren C. 2004. Habitat matters for inorganic carbon acquisition in 38 species of red macroalgae (Rhodophyta) from Puget Sound, Washington, USA. J Phycol 40(5): 837-845
- Nellemann C, Corcoran E, Duarte CM and 4 others (Eds). 2009. Blue Carbon. A Rapid Response Assessment. United Nations Environment Programme, GRID-Arendal, www.grida.no
- Raven JA, Hurd CL. 2012. Ecophysiology of photosynthesis in macroalgae. Photosynth Res 113: 105-125
- Stitt M. 1986. Limitation of photosynthesis by carbon metabolism: I. Evidence for excess electron transport capacity in leaves carrying out photosynthesis in saturating light and CO₂. Plant Physiol 81(4): 1115
- Tang QS, Zhang JH, Fang JG. 2011. Shellfish and seaweed mariculture increase atmospheric CO₂ absorption by coastal ecosystems. Mar Ecol Prog Ser 424: 97-104
- Xu Z, Zou D, Gao K. 2010. Effects of elevated CO₂ and phosphorus supply on growth, photosynthesis and nutrient uptake in the marine macroalga *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta). Bot Mar 53(2): 123-129
- Zheng Y, Gao K. 2009. Impacts of solar UV radiation on the photosynthesis, growth, and UV-absorbing compounds in *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) grown at different nitrate concentrations. J Phycol 45(2): 314-323
- Zou D, Gao K. 2009. Effects of elevated CO₂ on the red seaweed *Gracilaria lemaneiformis* (Gigartinales, Rhodophyta) grown at different irradiance levels. Phycologia 48(6): 510-517
- Zou D, Xia J, Yang Y. 2004. Photosynthetic use of exogenous inorganic carbon in the agarophyte *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta). Aquaculture 237(1): 421-431