

# 外源一氧化氮对亚心形扁藻的生长效应及光谱研究

刘春颖, 张正斌, 李培峰, 皇华伟

(中国海洋大学化学化工学院海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室, 青岛 266003)

**摘要:** 对海洋绿藻亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*) 分别进行了不同一氧化氮(NO) 浓度和光照强度的培养实验, 并进行了叶绿素 a 和类胡萝卜素含量测定, 及室温吸收光谱和荧光光谱测定。结果表明, 不同 NO 浓度、不同加入方式对亚心形扁藻生长有明显不同的促进或抑制作用, NO 对亚心形扁藻生长的影响存在阈值。不同浓度 NO 在不同光照下对微藻生长的作用是一致的, 外源 NO 可以弥补弱光照对藻生长的限制。NO 对亚心形扁藻光合色素含量的影响和对藻密度的影响是一致的。NO 对藻细胞中叶绿素复合蛋白组成没有显著影响, 但对色素含量及其相对组成会产生一系列影响。NO 能使藻细胞激发能的传递效率提高, 从而提高光合作用速率, 表现为细胞生长加快, 藻细胞生物量增加。

**关键词:** 亚心形扁藻; 一氧化氮; 生长效应; 光谱

中图分类号: X55 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)06-1062-06

## Growth Effect of Exogenous Nitric Oxide on *Platymonas subcordiformis* and Spectrum Study

LIU Chun-ying, ZHANG Zheng-bin, LI Pei-feng, HUANG Hua-wei

(Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** Experiments on the effects of nitric oxide (NO) on the growth of marine green algae *Platymonas subcordiformis* were conducted, under the condition of different NO concentrations and illumination intensity respectively. The chlorophyll a (Chl a) and carotenoid contents of algae were measured, and the absorption spectrum and fluorescence spectrum under the room temperature were also determined. The results are as follows: The growth of *Platymonas subcordiformis* was obviously promoted or inhibited when different concentrations of NO was added only once or twice a day during the cultivation. So there are NO threshold concentrations for algae growth. Under the different illumination, the influence of different NO concentrations on the algae growth are identical. Exogenous NO can make up the algae growth degraded by low illumination. The influence of NO on the photosynthesis pigments content is consistent with that on algae density. The compound proteins constitute of Chl a did not emerge marked change when NO were added, but the contents of photosynthesis pigments and their relative compose were affected. NO can improve the transfer efficiency of cell exploding energy, and enhance the photosynthesis speed, so the algae cell growths are quickened, and the algae biomass are increased.

**Key words:** *Platymonas subcordiformis*; nitric oxide (NO); growth effect; spectrum

过去一氧化氮(nitric oxide, NO) 往往被看作是一种环境毒物, 因为它在空气中会被氧化, 进而形成酸雨, NO 也是破坏臭氧层的重要因素之一<sup>[1,2]</sup>。但是, 自 20 世纪 80 年代后期, 研究人员发现 NO 在生命过程中扮演着极为重要的角色。哺乳动物体内能产生内源的 NO, 它具有调节心血管, 参与传递神经信号, 抗血小板活性, 免疫调节, 抗溃疡, 调节性功能等重要的生理作用<sup>[3,4]</sup>。自 1996 年起 NO 在植物体内所起的生理作用越来越引起关注。植物体不仅自身能产生 NO, 而且能对大气中的 NO 产生反应。NO 对植物的呼吸作用、种子萌发、叶片和根的生长发育、果实等组织的成熟和衰老等一系列生理过程都起作用, 同时在植物抗病和防御反应中起着重要作用<sup>[5,6]</sup>。由于 NO 作用的广泛性和在各类细胞中作为生物信使因子和效应因子的独特性, 使之成为目

前生物学领域研究的热点之一。

在海洋研究中 NO 一直因其含量低, 性质不稳定和不易测定而被忽视。前期工作表明 NO 确实影响了海洋浮游植物的生长, 并且不同微藻具有不同的最佳 NO 影响浓度, NO 对赤潮藻和非赤潮藻生长的影响还大不相同<sup>[7,8]</sup>。本文对亚心形扁藻进行不同条件下外加 NO 的培养实验, 并对藻细胞进行色素含量和光谱研究, 有助于了解 NO 对浮游植物作用机制和它在海洋初级生产中的作用。

收稿日期: 2005-06-21; 修订日期: 2005-09-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(40076020, 40376022, 40490260); 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2001CB409700); 教育部博士点基金(20030423007)

作者简介: 刘春颖(1972~), 女, 博士研究生, 讲师, 主要研究方向为海洋化学和海洋生物地球化学。

## 1 材料与方法

### 1.1 NO 饱和溶液的制备

在 17 mL 的小玻璃瓶中加入 10 mL 用石英蒸馏器二次蒸馏的高纯水, 通高纯度氮气(99.999%)以除氧, 通氮气的时间为 30 min. 再通入高纯度 NO (99.9%) 气体, 30 min 后达到饱和. 此饱和溶液的浓度为  $1.4 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  [7-10].

### 1.2 实验藻种与方案

#### 1.2.1 藻种与培养

实验所用亚心形扁藻 (*Platymonas subcordiformis*) 由中国海洋大学微藻中心提供. 培养所用海水采自鲁迅公园涨潮时(盐度约 32.00), 经  $0.45 \mu\text{m}$  醋酸纤维膜过滤、煮沸消毒, 待冷却后充分摇动以恢复溶解气体含量. 培养器皿为经高压灭菌的 250 mL 三角烧瓶. 按 f/2 或 f/50 加入营养物质, 调节 pH 值为  $8.10 \pm 0.05$ , 按 3:1 的比例加入藻液, 置于光照培养箱 (HPG-280B, 哈尔滨东联公司) 中静置培养. 培养条件为: 温度  $25^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ , 光暗周期为 14:10, 光照方式: 日光灯, 光照强度为 4500 lx, 连续定时取样测定 [7,8].

#### 1.2.2 实验方案

在 f/2 或 f/50 配方中接种微藻后, 按以下 2 种方式加入 NO 溶液: ①立即用微量注射器分别加入一定体积的 NO 饱和溶液, 使培养液中 NO 的起始浓度分别为 0 (即对照样), 14, 1.4, 0.14, 0.014, 0.0014, 0.00014  $\mu\text{mol/L}$ . ②每天 2 次定时(上午 10:00 和下午 16:00)用微量注射器加入一定体积的 NO 饱和溶液, 使培养液中的 NO 浓度分别为 0 (即对照样), 14, 1.4, 0.14, 0.014, 0.0014, 0.00014  $\mu\text{mol/L}$ . 在 f/2 配方中接种微藻后, 分别一次性加入 14, 1.4, 0.0014  $\mu\text{mol/L}$  或每天 2 次加入 0.0014  $\mu\text{mol/L}$  NO, 然后选择 3 种光照强度(4500 lx, 3000 lx, 1500 lx) 进行对比试验. 在 f/2 配方中接种微藻后, 按照上述 2 种方式分别加入不同浓度 ( $1.4 \times 10^{-5} \sim 1.4 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$ ) NO 进行对比培养实验. 培养至第 5d 取样测定叶绿素 a (ChF<sub>a</sub>) 和类胡萝卜素 (Car) 含量. 培养至静止期进行室温吸收光谱和荧光光谱测定.

### 1.3 测定方法

#### 1.3.1 细胞密度的测定

实验中藻细胞密度与其光密度值存在着良好的线性关系 [7,8]. 因此通过吸光值的测定来换算出藻密度. 以接种时刻为初始时间, 以后每次取出 8.00

mL 藻液, 立即加入 4.00 mL 15% 福尔马林溶液将其固定. 在 UV-1100 型紫外-可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司)上测定吸光值. 以蒸馏水为空白, 比色皿厚度为 3 cm, 在 500 nm 波长下测定. 作培养时间与藻细胞密度的关系图, 得到不同条件下藻的生长曲线.

#### 1.3.2 最大生长速率 $\mu_{\max}$ 的测定

选用 Logistic 生长模型来拟合藻的生长状况,

$$B_t = \frac{B_f}{1 + \frac{B_f - B_0}{B_0} e^{-\frac{4\mu_{\max}}{B_f} t}}, \text{ 其中 } B_t \text{ 为 } t \text{ 时刻生物量}$$

(cell/cm<sup>3</sup>),  $B_0$  为初始生物量 (cell/cm<sup>3</sup>),  $B_f$  为终止生物量 (cell/cm<sup>3</sup>),  $\mu_{\max}$  为最大生长速率,  $t$  为时间 (h). 应用非线性拟合技术 (Origin 6.0, Microcal Software, Inc.) 进行拟合可计算出微藻的最大生长速率  $\mu_{\max}$  和终止生物量  $B_f$ , 拟合的相关系数  $R^2$  为 0.932~0.998, 平均为 0.968.

#### 1.3.3 叶绿素 a 和类胡萝卜素的测定

ChF<sub>a</sub> 和 Car 含量测定参照 Jensen [10] 方法进行, 用 90% 丙酮提取, 在 UV-1100 型紫外-可见分光光度计上测定.

#### 1.3.4 室温吸收光谱测定

吸收光谱用 UV-1100 型紫外-可见分光光度计测定, 完整细胞的活体吸收光谱以新鲜的培养基作参比液, 测定其在 400~700 nm 范围内的吸收光谱. 同时将另一部分细胞悬液离心, 用 90% 丙酮提取, 于  $4^\circ\text{C}$  下在暗处放置 24 h, 8000 r/min 离心 15 min 除去细胞, 然后以丙酮为空白, 测定其在 400~700 nm 范围内的吸收光谱 [11].

#### 1.3.5 室温荧光光谱测定

室温荧光光谱用日立 F-4500 荧光分光光度计测定, 发射波长为 685 nm (狭缝 5.0 nm). 荧光激发光谱扫描范围在 550~750 nm, 测定荧光发射光谱时, 荧光激发波长为 450 nm (狭缝 5.0 nm), 荧光发射波长范围为 400~600 nm. 扫描速度为 1200 nm/min [11].

## 2 结果与讨论

亚心形扁藻属绿藻门、绿藻纲、团藻目、衣藻科、扁藻属, 最适温度范围大约在  $20 \sim 28^\circ\text{C}$ , 最适光照强度约在 5000~10000 lx, 最适 pH 范围约在 7.5~8.5.

在显微镜下观察, 外加 NO 对亚心形扁藻的细胞形态结构未产生明显的影响, 而对微藻的生物量

产生了不同程度的影响,并对藻细胞的生长速率有明显影响。

## 2.1 2 种不同的 NO 加入方式对亚心形扁藻生长的影响

无论是  $f/2$  还是  $f/50$  配方液,一次性加入不同浓度( $1.4 \times 10^{-5} \sim 1.4 \times 10^{-10}$  mol/L) NO 对亚心形扁藻的生长有不同程度影响(见图 1): ① $1.4 \times 10^{-5}$  mol/L NO 的促进作用均最为显著,微藻的最大生长速率  $\mu_{\max}$  分别提高了 76.9% 和 157.1%,终止生物量  $B_f$  分别增加了 53.8% 和 29.1%; ② $1.4 \times 10^{-6}$  mol/L NO 的促进作用较明显,  $\mu_{\max}$  分别提高了 63.6% 和 106.0%,  $B_f$  分别增加了 31.8% 和 22.6%; ③ $1.4 \times 10^{-7} \sim 1.4 \times 10^{-9}$  mol/L NO 也有一定的促进作用,但不如上面 2 种浓度显著,而  $1.4 \times 10^{-10}$  mol/L 对藻细胞的影响不太明显。比较图 1 (a) 和 (b), 可以看到低营养盐条件下 ( $f/50$  配方) 的亚心形扁藻生长状况普遍较差,藻密度明显低于  $f/2$  配方培养液,但不同浓度的 NO 对亚心形扁藻的促进作用是一致的。

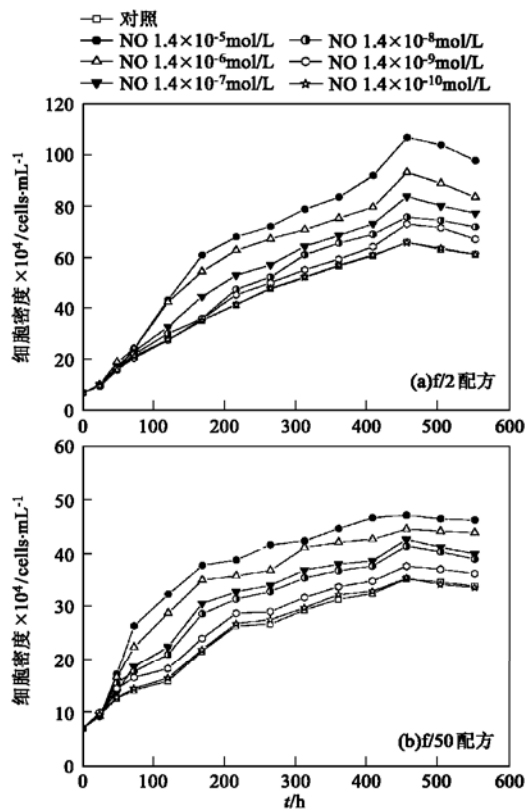


图 1 一次性加入不同浓度 NO 对亚心形扁藻生长的影响  
Fig. 1 Growth curves of *Platymonas subcordiformis* in adding different NO concentrations only once

图 2 为每天 2 次加入不同浓度 ( $1.4 \times 10^{-5} \sim$

$1.4 \times 10^{-10}$  mol/L) NO 对亚心形扁藻生长的影响曲线。无论是  $f/2$  还是  $f/50$  配方液: ① $1.4 \times 10^{-5}$  mol/L NO 对藻细胞生长有明显的抑制作用,已不能形成指数生长; ②在培养前期的 5~6d,  $1.4 \times 10^{-6}$  mol/L NO 对藻的促进作用最为明显,而到了中后期微藻生长明显受到抑制; ③ $1.4 \times 10^{-7}$  mol/L NO 有明显的促进作用,  $\mu_{\max}$  分别提高了 52.0% 和 59.6%,  $B_f$  分别增加了 34.2% 和 38.9%; ④ $1.4 \times 10^{-8} \sim 1.4 \times 10^{-10}$  mol/L NO 对藻的促进作用在培养初期不如  $1.4 \times 10^{-6}$  mol/L 明显,也不如  $1.4 \times 10^{-7}$  mol/L 明显,但藻细胞数量慢慢增加,终止生物量远高于对对照,接近甚至高于  $1.4 \times 10^{-7}$  mol/L,它们的生长周期也相对延长了,  $1.4 \times 10^{-9}$  和  $1.4 \times 10^{-10}$  mol/L NO 表现尤为明显。由图 2 还可看出,低营养盐条件下 ( $f/50$  配方) 藻密度明显低于高营养 ( $f/2$  配方) 培养液,生长周期也明显缩短。

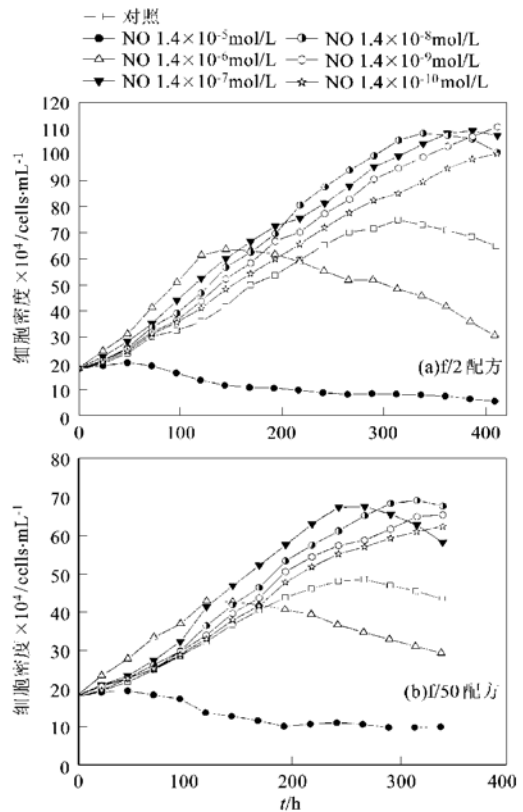


图 2 每天 2 次加入不同浓度 NO 对亚心形扁藻生长的影响  
Fig. 2 Growth curves of *Platymonas subcordiformis* in adding different NO concentrations twice a day

选择其它不同门类的海洋微藻进行不同 NO 浓度、不同加入方式的培养实验。实验表明, NO 对赤潮藻和非赤潮藻生长的影响有明显不同,并且不同浓度 NO 所起的作用明显不同。因此推测 NO 对浮

游植物生长的影响具有一个阈值, NO 阈可以分为 2 种: 一为促进浮游植物生长的 NO 阈值, 此数值较低, 约为  $10 \sim 1 \text{ nmol}$  级甚至更低; 另外一种则是抑制浮游植物生长的 NO 阈值, 此数值在高浓度范围内, 达  $\mu\text{mol}$  级或更大<sup>[8]</sup>. 从图 2 可以看出, NO 浓度为  $1.4 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  时, 最初的 5~6d 中, 表现出对亚心形扁藻生长的促进作用, 但随着培养时间的增加, 逐渐表现为抑制作用. 而较低浓度  $1.4 \times 10^{-8} \sim 10^{-10} \text{ mol/L}$  NO 对于藻类生长慢慢表现出较强的促进作用, 并且延长了微藻的生长周期, 这与文献报道的低浓度可延长高等植物的寿命是一致的<sup>[12]</sup>.

## 2.2 不同光照下 NO 对亚心形扁藻生长的影响

从图 3(a), (b) 和 (c) 可以看出, 一次性加入 14,

1.4, 0.0014  $\mu\text{mol/L}$  或每天 2 次加入 1.4 nmol/L NO 对 1 500 3 000 和 4 500 lx 下培养的亚心形扁藻都起到了不同程度的促进作用. 在这 3 种光照强度下添加不同浓度 NO 对微藻生长的影响与 2.1 中的实验是一致的. 尽管添加相同浓度 NO 的亚心形扁藻在弱光照 3 000 lx 和 1 500 lx 下培养的终止生物量和最大生长速率都低于强光照 4 500 lx, 但它们相对于各自对照样的增幅却高于 4 500 lx. 以每天 2 次加入 1.4 nmol/L NO 为例(见图 3d), 1 500 3 000 和 4 500 lx 下培养的亚心形扁藻它们的  $B_f$  分别增加了 142%, 187% 和 121%, 也就是说该浓度 NO 对 3 000 lx 下培养的促进作用最佳, 而并非光照较适合时. 结果表明, 外加 NO 可以弥补弱光照对藻细胞生长的限制.

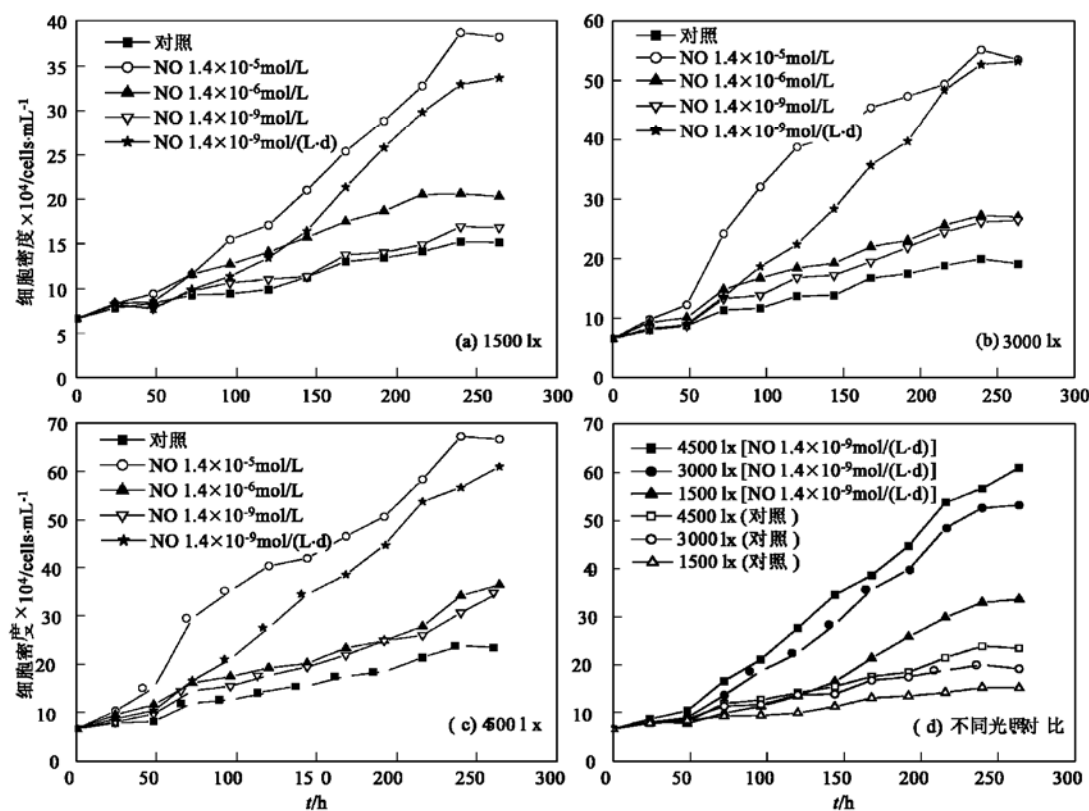


图 3 不同光照下不同浓度 NO 对亚心形扁藻生长的影响

Fig. 3 Growth curves of *Platymonas subcordiformis* in adding different NO concentrations under different illumination

## 2.3 不同浓度 NO 对亚心形扁藻光合色素含量的影响

实验结果(图 4)表明, 一次性加入  $1.4 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$  NO 对亚心形扁藻光合色素含量的影响最明显, Chl a 和 Car 分别提高了 59.48% 和 61.73%.  $1.4 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  NO 对光合色素含量的影响次之, Chl a 和 Car 分别提高了 8.52% 和 29.63%.  $1.4 \times 10^{-7} \sim 1.4 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$  NO 对 Chl a 和 Car 的影

响越来越不明显. 一次性加入不同浓度 NO 对光合色素含量的影响与前述 2.1 中对藻密度和最大生长速率的影响是一致的. 而此时每天 2 次加入  $1.4 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$  NO 的微藻培养液中已检测不出色素含量;  $1.4 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  NO 对光合色素含量的促进作用最显著, Chl a 和 Car 分别提高了 30.95% 和 58.24%;  $1.4 \times 10^{-7} \sim 1.4 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$  NO 对光合色素含量也有不同程度的促进作用, 浓度越高作

用越明显;这也与图 2 中培养前期 NO 对藻密度的影响是一致的。

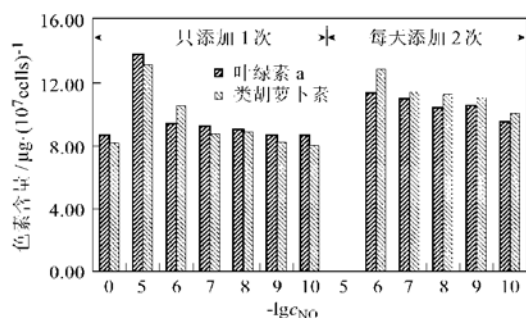


图 4 不同浓度 NO 对亚心形扁藻光合色素含量的影响

Fig. 4 Effect of different NO concentrations on photosynthesis pigments of *Platymonas subcordiformis*

## 2.4 不同 NO 浓度下亚心形扁藻的光谱变化

### 2.4.1 室温吸收光谱

在亚心形扁藻培养液中一次性加入不同浓度 NO, 活体细胞的吸收光谱与对照样的形状基本一致, 只是在所测波长范围内细胞的相对吸收有差异, 加入 14  $\mu\text{mol/L}$  NO 藻细胞吸收最高, 其次是 1.4 和 0.14  $\mu\text{mol/L}$  NO, 而加入 0.0014  $\mu\text{mol/L}$  NO 的藻细胞吸收与对照样差别不大, 见图 5(a). 每天 2 次加入不同浓度 NO, 活体细胞的吸收光谱与对照样的形状也基本一致, 加入 0.0014, 0.014  $\mu\text{mol/L}$

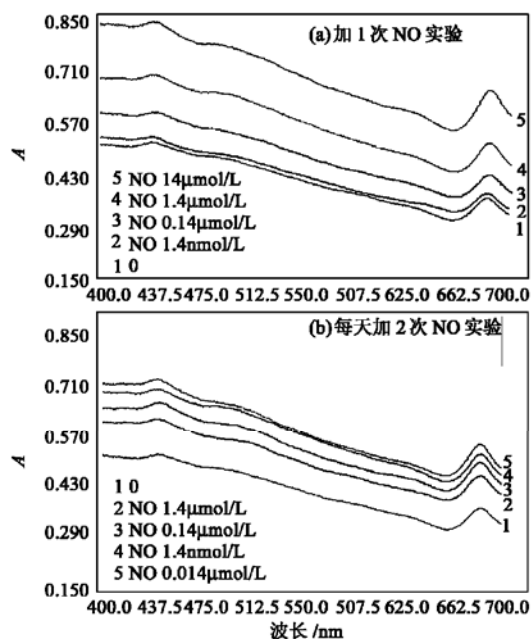


图 5 不同 NO 浓度下亚心形扁藻活体细胞的吸收光谱

Fig. 5 In vivo absorption spectra of *Platymonas subcordiformis* cells under different NO concentrations

NO 的藻细胞吸收最高, 其次是 0.14  $\mu\text{mol/L}$  和 1.4  $\mu\text{mol/L}$  NO, 见图 5(b). 这表明细胞中叶绿素复合蛋白组成没有显著变化<sup>[13]</sup>.

不同 NO 浓度下经丙酮提取的藻细胞色素吸收光谱也观察到上述趋势(图 6), 不同之处在于与活体细胞相比, 所有的吸收峰都发生了向蓝漂移, 叶绿素 a 在红光区的吸收峰由 684 nm 漂移到 665 nm, 叶绿素 a 在蓝光区的吸收峰由 444 nm 漂移到 435 nm, 由于丙酮提取液中细胞和类囊体膜都被破坏, 细胞色素层叠效应消失, 因而丙酮提取液吸收的任何变化都由细胞内色素组成变化引起, 而集光色素的种类没有发生变化. 加入不同浓度 NO 后, 丙酮提取色素的吸收光谱在扫描范围内明显有不同程度增加, 图 6 表明添加 NO 对色素含量及其相对组成会产生一系列影响, 这与前面的实验结果是一致的。

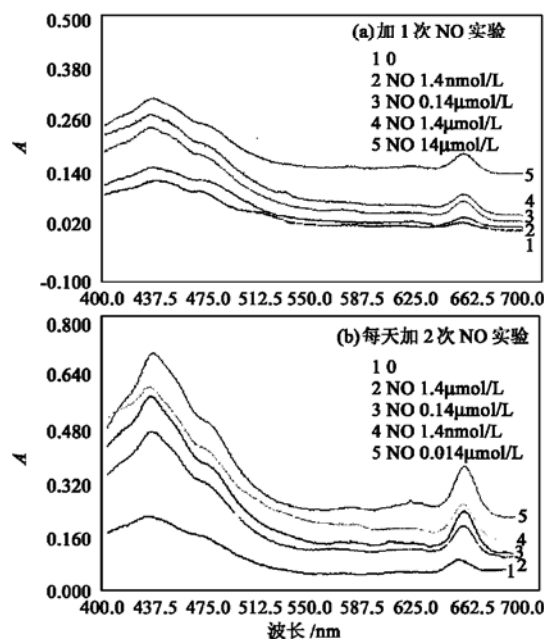


图 6 不同 NO 浓度下经丙酮提取的亚心形扁藻色素吸收光谱

Fig. 6 Absorption spectra of *Platymonas subcordiformis* cells after extracted with acetone under different NO concentrations

### 2.4.2 室温荧光光谱

由室温荧光发射光谱(图 7)看到, 在 685 nm 附近产生一个较宽的最大吸收峰, 而在红光区无明显峰. 该发射光谱的最大特点是, 在添加不同浓度 NO 后发射峰的相对高度存在差异, 与对照样相比, 一次性加入 0.0014 和 1.4  $\mu\text{mol/L}$  NO 细胞在 685 nm 处的荧光得率分别有不同程度增加. 这表明在 NO 作用下, 藻细胞中含有高荧光的色素蛋白复合物. 据报道在 685 nm 和 695 nm 处的发射峰分别由 PS II 的

中心天线色素蛋白 CP43 和 CP47 发出<sup>[14, 15]</sup>. 表明在 NO 作用下 PS II 反应中心激发能传递效率提高, 这与光合作用效率提高的结果相吻合. 由图 8 荧光激发光谱(400~ 600 nm) 可见, 加入 NO 的藻细胞单位吸收的荧光值都比对照样的细胞高. 这表明在 NO 作用下, 藻细胞从叶绿素和类胡萝卜素传递的激发能增加, 从天线色素到反应中心的能量传递效率也提高, 这与荧光发射光谱是一致的.

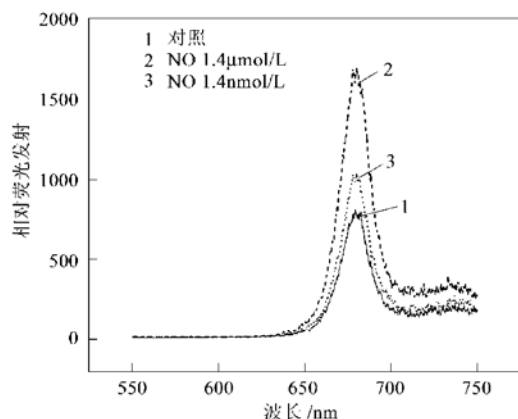


图 7 不同 NO 浓度下荧光发射光谱(激发波长为 450 nm)

Fig. 7 Fluorescence emission spectra under different NO concentrations

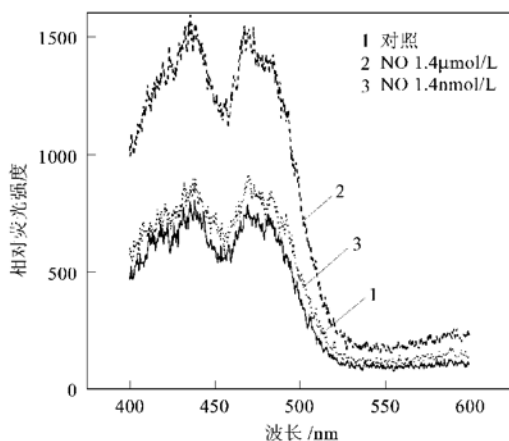


图 8 不同 NO 浓度下荧光激发光谱(激发波长为 685 nm)

Fig. 8 Spectra of excitation Fluorescence under different NO concentrations

### 3 结论

外源 NO 对亚心形扁藻的生长起到明显不同的促进或抑制作用, 这与 NO 浓度和加入方式密切相关, NO 对亚心形扁藻及其它微藻的生长影响存在阈值. NO 在不同光照下对微藻生长的作用是一致

的, 外加 NO 可以弥补弱光照对藻细胞生长的限制. NO 对微藻光合色素含量的影响和对藻密度是一致的. NO 对藻细胞叶绿素复合蛋白组成没有显著影响, 但对色素含量及其相对组成会产生一系列影响. NO 会使藻细胞激发能的传递效率提高, 从而提高微藻光合作用速率.

#### 参考文献:

- [1] Lee D S, Kohler J, Grobler E. Estimates of global NO<sub>x</sub> emissions and their uncertainties [J]. Atmos. Environ., 1997, **31**(12): 1735~ 1749.
- [2] 刘春颖, 张正斌, 邢磊, 等. 一氧化氮的海洋生物地球化学 [J]. 中国海洋大学学报, 2004, **34**(增刊): 16~ 22.
- [3] Furchgott R F, Zawadzki J V. The obligatory role of the endothelial cells on the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine [J]. Nature, 1980, **288**: 373~ 376.
- [4] Palmer R M J, Ferrige A G, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor [J]. Nature, 1987, **327**: 524~ 526.
- [5] Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide: a nontraditional regulator of plant growth [J]. Trends in Plant Science, 2001, **6**(11): 508~ 509.
- [6] Kopyra M, Gwozdz E D. Nitric oxide stimulate seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus* [J]. Plant Physiology and biochemistry, 2003, **41**: 1011~ 1017.
- [7] Zhang Zhengbin, Lin Cai, Liu Chunying, et al. The effect of nitric oxide on the growth of marine phytoplankton [J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 2003, **2**(2): 185~ 188.
- [8] Zhang Zhengbin, Lin Cai, Liu Chunying, et al. Study on the laws and chemical characteristics of the NO effect on the growth of marine phytoplankton [J]. Science in China, 2004, **34**(5): 393~ 401.
- [9] Zhang Zhengbin, Xing Lei, Jiang Liqing, et al. The Electrochemical Determination of Nitric Oxide in Seawater Media with Microelectrodes [J]. Sensors, 2003, **3**: 304~ 313.
- [10] Jensen A. Handbook of Physiological Methods [M]. New York: Cambridge University Press, 1978. 59~ 70.
- [11] 李东侠, 从威, 蔡昭铃, 等. 赤潮异弯藻在铁限制条件下的光谱特性 [J]. 应用生态学报, 2003, **14**(7): 1181~ 1184.
- [12] Leshem Y Y, Willis R B H, Ku V V. Evidence for the function of the free radical gas-nitric oxide (NO) as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants [J]. Plant Physiol. Biochem., 1998, **36**: 825~ 833.
- [13] 管英富, 邓麦村, 金美方, 等. 无硫培养对扁藻的氢代谢及其吸收光谱的影响 [J]. 植物生理学通讯, 2003, **39**(6): 605~ 608.
- [14] Krause G H, Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis the basics [J]. Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol., 1991, **42**: 313~ 349.
- [15] 曾呈奎, 周百成. 海藻光合作用和进化 [M]. 北京: 科学出版社, 1984. 202~ 207.