

大气 CO₂ 浓度和温度变化对石莼生长及其叶绿素荧光特性的影响 *

Effect of CO₂ and Temperature Change on the Growth and Chlorophyll Fluorescence in *Ulva lactuca*

丁柳丽¹, 邓亚运¹, 邹定辉^{1,2**}

DING Liu-li¹, DENG Ya-yun¹, ZOU Ding-hui^{1,2}

(1. 华南理工大学环境与能源学院, 广东广州 510006; 2. 工业聚集区污染控制与生态修复教育部重点实验室, 广东广州 510006)

(1. College of Environment and Energy, South China University of Technology, Guangzhou, Guangdong, 510006, China; 2. The Key Lab of Pollution Control and Ecosystem Restoration in Industry Clusters, Ministry of Education, Guangzhou, Guangdong, 510006, China)

摘要:【目的】为了研究大型海藻在全球气候变化背景下的生态功能, 探讨大气 CO₂ 浓度升高和温度变化对石莼 (*Ulva lactuca*) 生长及其叶绿素荧光特性的影响。【方法】在 4 种条件(390 μL/L CO₂ + 15°C; 700 μL/L CO₂ + 15°C; 390 μL/L CO₂ + 25°C; 700 μL/L CO₂ + 25°C)下培养石莼, 10 d 后测定藻体生长、叶绿素荧光参数以及生化组分。【结果】经 10°C 低温 6 h 处理, 石莼受到光抑制; 经 35°C 高温 6 h 处理, 25°C 正常空气条件下生长的石莼表现出较高的最大光量子产量 (F_v/F_m), 光能利用效率 (α), 非光化学淬灭 (NPQ) 和光化学淬灭 (qP), 25°C 高 CO₂ 浓度条件下生长的石莼最大相对电子传递速率 ($rETR_{max}$) 和饱和电子传递速率 (E_k) 大于其他生长条件下的石莼; 经 40°C 高温处理 6 h, 15°C 生长的石莼光合机构受损; 相对于 25°C 与正常空气条件下生长的石莼, 25°C 与高 CO₂ 浓度条件下生长的石莼 F_v/F_m 、 α 、 NPQ 和 qP 的下降程度较小, 而且具有较高的 $rETR_{max}$ 和 E_k 。【结论】高 CO₂ 浓度促进石莼的生长, 但其对石莼可溶性蛋白 (SP)、可溶性碳水化合物 (SC)、叶绿素 a ($Chl a$) 和类胡萝卜素 (Car) 等生化组分含量影响具有温度依赖性。另外, CO₂ 浓度升高使得石莼抗高温的能力增强。

关键词: 石莼 CO₂ 温度 生长 生化组分 叶绿素荧光

中图分类号: S968.41 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-9164(2014)06-0587-09

Abstract:【Objective】The effects of CO₂ concentration and temperature on the growth and chlorophyll fluorescence of *Ulva lactuca* were investigated.【Methods】*Ulva lactuca* was cultured under the following four different conditions: (1) 390 μL/L CO₂ + 15°C; (2) 700 μL/L CO₂ + 15°C; (3) 390 μL/L CO₂ + 25°C; and (4) 700 μL/L CO₂ + 25°C. After cultured for 10 d, the growth, chlorophyll fluorescence and biochemical compositions were examined.【Results】The results showed that elevated CO₂ enhanced the growth of *U. lactuca*. The effects of CO₂ on soluble protein (SP), soluble carbohydrate (SC), chlorophyll a ($Chl a$) and carotenoid (Car) were temperature-dependent. After exposed to 10°C for 6 h, photoinhibition occurred in *U. lactuca*. After exposed to 35°C for 6 h, 25°C and normal air-grown algae displayed highest optimal photochemical quantum yield (F_v/F_m), photosynthetic light use efficiency (α) and non-photo-

收稿日期: 2014-11-10

修回日期: 2014-11-25

作者简介: 丁柳丽(1988-), 女, 硕士, 主要从事海洋环境生物学研究。

* 国家自然科学基金项目(41076094, 41276148)资助。

** 通讯作者: 邹定辉(1969-), 男, 博士, 教授, 主要从事海洋环境生物学研究, E-mail: dhzou@scut.edu.cn.

chemical quantum yield (F_v/F_m), photosynthetic light use efficiency (α) and non-photo-

chemical quenching (NPQ); while 25°C and high CO₂-grown algae exhibited highest maximum relative electron transport rate ($rETR_{max}$) and light saturation point (E_k). After exposed to 40°C for 6 h, photosynthetic apparatus of 15°C-grown algae were seriously destroyed; For 25°C growth condition, high CO₂-grown algae displayed lower decline degree in F_v/F_m , a , NPQ and photochemical quenching (qP) compared to normal air-grown. **【Conclusion】**Our results suggested that elevated CO₂ improved heat endurance in *U. lactuca*.

Key words: *U. lactuca*, CO₂, temperature, growth, biochemical composition, chlorophyll fluorescence

【研究意义】大型海藻构成近岸水域初级生产力的主要部分,具有很强的光合固碳能力,能显著增加海洋碳汇强度^[1~3],因此大型海藻大规模栽培在削减大气 CO₂ 甚至减缓全球变暖方面具有重大的意义。而大型海藻生长及其光合作用特性对 CO₂ 浓度升高的响应不尽相同。因此,大气 CO₂ 浓度升高对大型海藻生理生化的影响受到越来越多学者的关注。**【前人研究进展】**全球温度变化及栖息场所的特殊性使得海藻还会受到极端环境因素的影响。温度直接影响海藻光合和呼吸代谢中有关酶的活性、无机碳的扩散、细胞内 pH 值,从而影响光合作用底物 CO₂ 的供应^[4]。温度对海藻生理生化特性的影响已成为近年的研究热点^[5~7]。石莼 (*U. lactuca*) 具有较广的地理位置分布和生长温度范围,常分布于高潮带至低潮带,在 5~30°C 均可生长,其最适生长温度在 20~25°C^[8]。由于潮间带生境的特殊性,石莼会经历极端温度的变化。**【本研究切入点】**石莼在 CO₂ 浓度和温度变化下的生态功能研究少见报道。**【拟解决的关键问题】**以石莼为实验材料,研究 CO₂ 浓度升高和温度变化生长条件对石莼生长和生化组分含量的影响,并探讨不同生长条件下的石莼受短时低温或高温胁迫时的光合等生理特性响应,为大型海藻在全球气候变化背景下的生态功能变动提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

从汕头南澳岛潮间带采集新鲜无损的石莼藻体,放入装有少量新鲜海水的低温箱中(3~5°C)运回实验室。将藻体暂养在过滤的自然海水中,温度为 20°C,光强约 100 μmol/(m²·s),光周期为 12 h,光照时间为 9:00~21:00,保证营养盐终浓度为 100 μmol/L NaNO₃ 和 20 μmol/L NaH₂PO₄, 24 h 通气。

1.2 培养处理

以暂养 2~3d 后的石莼藻体为实验材料,进行不同 CO₂ 浓度和温度培养。4 种培养条件分别为(1) 390 μL/L, 15°C; (2) 700 μL/L, 15°C; (3) 390 μL/L,

25°C; (4) 700 μL/L, 25°C。具体方法如下:将植物培养箱的温度分别设定为 15°C 和 25°C,而光照及营养盐浓度等其他条件都与暂养条件一致。每个温度下放置 6 个装有过滤自然海水和藻样的三角烧瓶,培养密度为 0.5 g/mL,向 3 个瓶通入正常空气(CO₂ 浓度为 390 μL/L),另外 3 个玻璃容器通入高 CO₂ 浓度空气(CO₂ 浓度为 700 μL/L),24 h 通气,并保持通气量为 800 mL/min,每两天换 1 次海水。培养 6d 后开始进行相关生理特性测定。

1.3 培养液 pH 值的测定

用 pH 计测定不同培养条件下生长的海藻在 1 个光周期中 pH 值变化趋势。在培养的第 3 天早上 9:00 开始到第 4 天中午 12:00,白天每隔 3h 测定 1 次 pH 值,晚上每隔 4h 测定一次 pH 值,并绘制 pH 值在光周期内随时间的变化趋势图。

1.4 相对生长速率的测定

培养前,称量石莼鲜重(FW),记为 M_0 ,在培养期的第 2 天,第 4 天,第 6 天多次称重,记为 M_t 。每次称量前,用吸水纸擦干藻体。相对生长速率^[9]按照以下公式求得:

$$RGR (\% \cdot d^{-1}) = 100\% \times (\ln M_t - \ln M_0) / t。$$

1.5 叶绿素荧光参数的测定

从 4 个培养条件下(390 μL/L, 15°C; 700 μL/L, 15°C; 390 μL/L, 25°C; 700 μL/L, 25°C)生长的海藻中选出生长状态一致的海藻,每种培养条件下各选 6 片,进行 6 h 的 10°C 低温处理。将它们分别放在 10°C 的 4 个装有 1 L 海水的玻璃容器中,通入气体与各自培养时对应的 CO₂ 浓度气体相同,其他条件,如海水营养盐浓度,光照等都与培养时保持一致。在处理后的 0 h, 1 h, 3 h, 6 h 时利用 Junior-PAM 测定以下叶绿素荧光参数:最大光量子产量 (F_v/F_m), 光化学淬灭 (qP), 非光化学淬灭 (NPQ), 光能利用效率 (α), 最大相对电子传递速率 ($rETR_{max}$) 和饱和电子传递速率 (E_k)。对不同条件下生长的藻体进行 35°C 或 40°C 高温处理的方法与上述相同。

1.6 有关生化特征参数的测定

SP 的测定参照 Bradford, 采用考马斯亮蓝 G-

250 染料法^[10]; SC 的测定参照 Kochert^[11], 采用苯酚-硫酸法^[12]; *Chl a* 和 *Car* 两种色素的测定参照 Jensen^[13] 的方法。

1.7 数据统计和分析

以上实验测定均为 3 个或 3 个以上重复, 采用 Microsoft Excel 2003 和 Origin8.0 软件对数据进行处理和绘图, 采用 *t*-检验法或方差分析鉴定数据差异性, 设显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 培养液 pH 值变化

如图 1 所示, 测定初期, 通入正常空气的海水 pH 值约为 8.3, 通入高 CO₂ 浓度空气, 15℃ 和 25℃ 海水 pH 值分别为 8.12 和 8.07, 比通入正常空气海水 pH 值下降了约 0.2 个单位。光照周期内, 4 种条件下的海水 pH 值随着光照时间的延长均呈上升趋势; 进入黑暗状态内, 海水 pH 值随着时间的推移呈下降趋势; 当进入下个光周期时, 海水 pH 值上升。在整个测定过程中, 通入正常空气的海水 pH 值总是高于通入高 CO₂ 浓度空气的海水 pH 值。

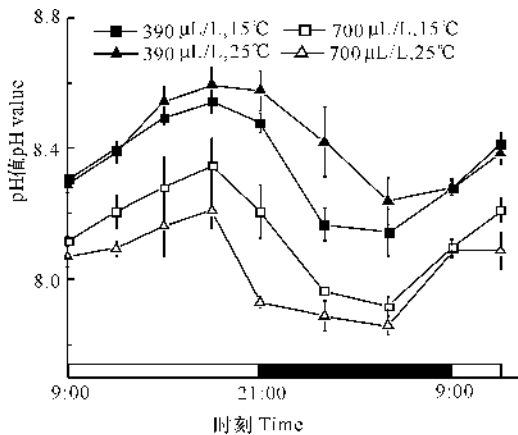


图 1 不同 CO₂ 浓度和温度培养条件下石莼培养介质中 pH 值随时间的变化

Fig. 1 Changes of pH values during one light-dark period in the growth media of *U. lactuca* cultured in different CO₂ concentrations and temperatures

2.2 相对生长速率

如图 2 所示, 各条件下生长的石莼 FW 随时间的延长总体呈上升趋势, 高 CO₂ 浓度生长的石莼 FW 在培养后期 (第 4 天至第 6 天) 显著高于正常空气下生长的石莼 ($P < 0.05$)。此外, 高 CO₂ 浓度下生长的石莼 RGR 显著高于正常空气下生长的石莼。同一 CO₂ 浓度下, 不同温度生长的石莼 RGR 之间没有显著差异。

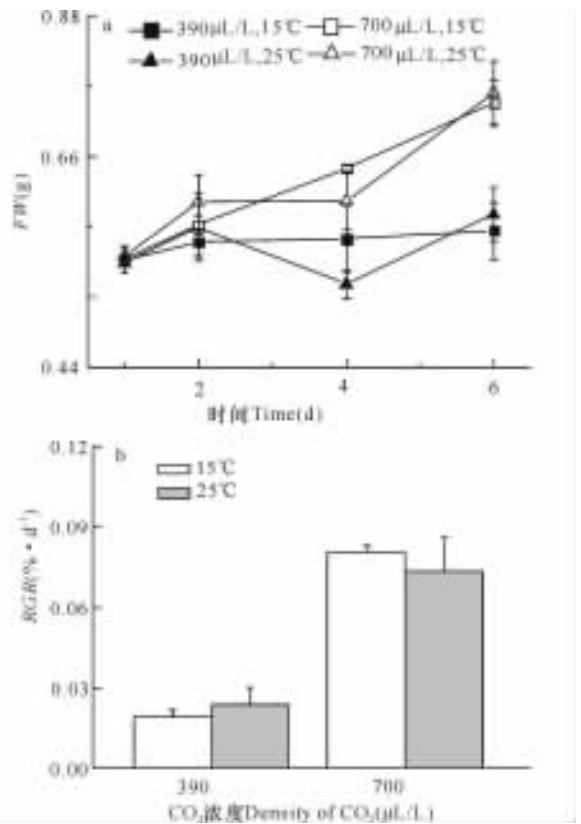


图 2 不同生长条件对石莼鲜重(a)和相对生长速率(b)的影响

Fig. 2 Effects of different growth conditions on the FW (a) and RGR (b) of *U. lactuca*

2.3 叶绿素荧光参数

由图 3 可知, 不同条件下生长石莼的 F_v/F_m 和 α 值在处理过程中未表现出显著差异 ($P > 0.05$), 其中 F_v/F_m 下降程度 30%~35%, α 下降程度 33%~41%。15℃ 生长下, 正常空气和高 CO₂ 浓度培养的石莼 NPQ 在处理 1 h 后明显上升, 在处理 6 h 后分别上升了 26.06% 和 16.87%, qP 分别上升 18.68% 和 43.94%。25℃ 生长下, 正常空气和高 CO₂ 浓度培养的石莼 NPQ 在处理 6 h 后的变化趋势不同, 前者上升了 51.46%, 而后者基本不变, 两者 qP 均下降 25% 以上。

由图 4 可知, 4 种培养条件下 $rETR_{max}$ 均有所下降, 其中 15℃ 生长的石莼下降程度小于 25℃ 生长的石莼 (15℃ 正常空气和高 CO₂ 浓度下 $rETR_{max}$ 分别下降 30.83% 和 20.22%, 25℃ 正常空气和高 CO₂ 浓度 $rETR_{max}$ 分别下降 56% 和 60.46%)。15℃ 生长的石莼 Ek 呈上升趋势, 正常空气和高 CO₂ 浓度下 Ek 分别上升 9% 和 37.36%。而 25℃ 下的石莼 Ek 则下降 16% 以上 (正常空气和 CO₂ 浓度 Ek 下降 16.2%

和 24.01%)。整个过程中, 15°C 生长的石莼 $rETR_{max}$ 和 E_k 显著高于 25°C 生长的石莼 ($P < 0.05$)。

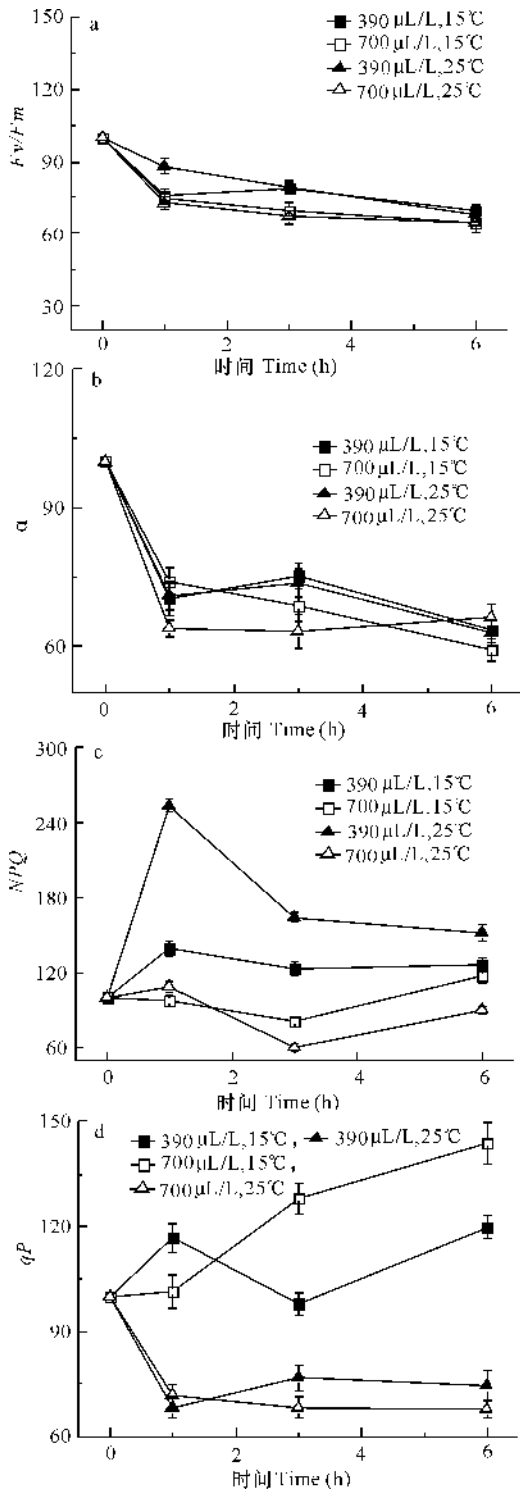


图 3 10°C 低温胁迫对 4 种不同 CO₂ 浓度和温度处理条件下培养的石莼的 F_v/F_m (a), α (b), NPQ (c) 及 qP (d) 的影响

Fig. 3 The effect of 10°C -stress on F_v/F_m (a), α (b), NPQ (c) and qP (d) of *U. lactuca* cultured in different CO₂ concentrations and temperatures

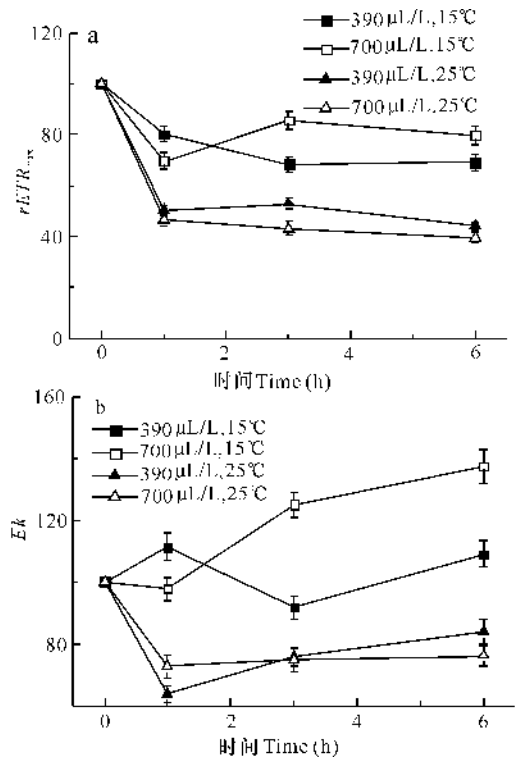


图 4 10°C 低温胁迫对 4 种不同 CO₂ 浓度和温度处理条件下培养的石莼的 $rETR_{max}$ (a) 和 E_k (b) 的影响

Fig. 4 The effect of 10°C-stress on $rETR_{max}$ (a) and E_k (b) of *U. lactuca* cultured in different CO₂ concentrations and temperatures

由图 5 可知, 25°C 正常空气下生长的石莼 F_v/F_m 和 α 均呈明显上升趋势, 分别上升 20.45% 和 25.87%, 而其他 3 种条件下生长的石莼 F_v/F_m 和 α 基本不变。此外, 25°C 下的石莼 NPQ 上升 90% 以上 (正常空气和高 CO₂ 浓度下分别上升 210.77% 和 91.28%), qP 下降率在 40% 以内 (正常空气和高 CO₂ 浓度下 qP 分别下降 38.67% 和 25.85%), 而 15°C 下的石莼 NPQ 上升率在 65% 以内 (正常空气和高 CO₂ 浓度下 NPQ 分别上升 63.99% 和 60.69%), qP 下降率在 50% 以上 (正常空气和高 CO₂ 浓度下 qP 分别下降 50% 和 64.41%)。整个 35°C 高温胁迫处理过程中, 25°C 正常空气下生长的石莼 F_v/F_m , α , NPQ 显著高于其他条件下生长的石莼 ($P < 0.05$)。

由图 6 可知, 各条件下生长的石莼 $rETR_{max}$ 和 E_k 均呈下降趋势, 其中 25°C 高 CO₂ 浓度下生长的石莼下降率最低, 分别为 29.67% 和 25.73%。整个处理过程中, 25°C 高 CO₂ 浓度下生长的石莼 $rETR_{max}$ 和 E_k 大于其他条件下生长的石莼 ($P < 0.05$)。

由图 7 可知, 各条件下生长的石莼 F_v/F_m 和 α 均大幅度下降。25°C 高 CO₂ 浓度条件生长的石莼 F_v/F_m 和 α 分别下降 35.52% 和 46.09%, 其下降程度明显低于其他 3 种条件下生长的石莼 (15°C 正常空

气、15℃高 CO₂ 浓度以及 25℃ 正常空气下, F_v/F_m 分别下降 70.33%、61.9% 和 77.53%, α 分别下降 78.46%、58.12% 和 84.37%。NPQ 均表现出较大程度的下降, 其中 25℃ 高 CO₂ 浓度条件生长的石莼下降 56.43%, 而其他条件下生长的石莼下降率在 75% 以上。除 25℃ 高 CO₂ 浓度生长的石莼外, 其他条件下的石莼 qP 均下降。

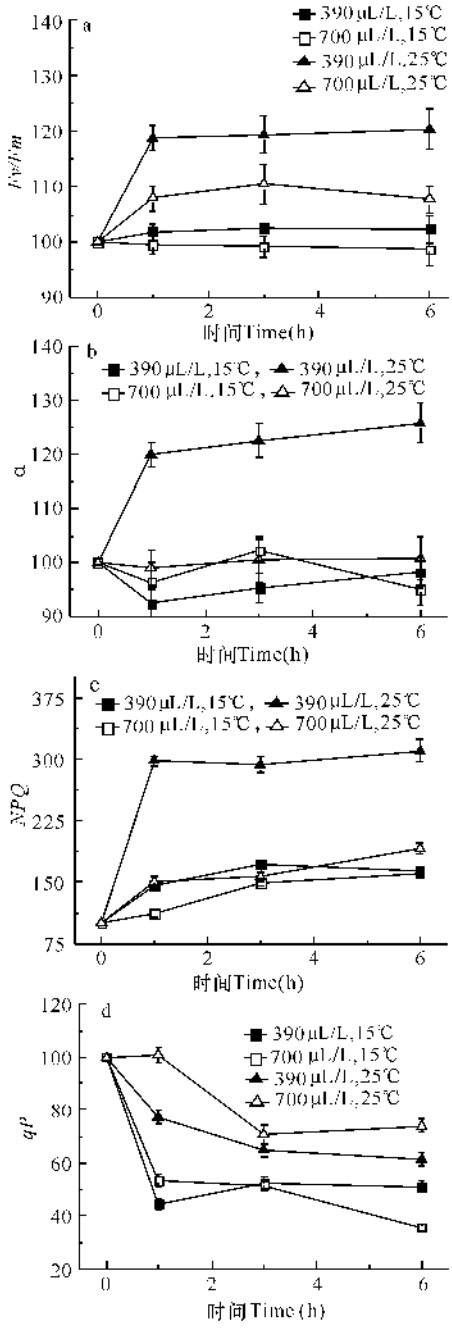


图 5 35℃ 高温胁迫对 4 种不同 CO₂ 浓度和温度处理条件下培养的石莼的 F_v/F_m (a), α (b), NPQ (c) 及 qP (d) 的影响

Fig. 5 The effect of 35°C-stress on F_v/F_m (a), α (b), NPQ (c) and qP (d) of *U. lactuca* cultured in different CO₂ concentrations and temperatures

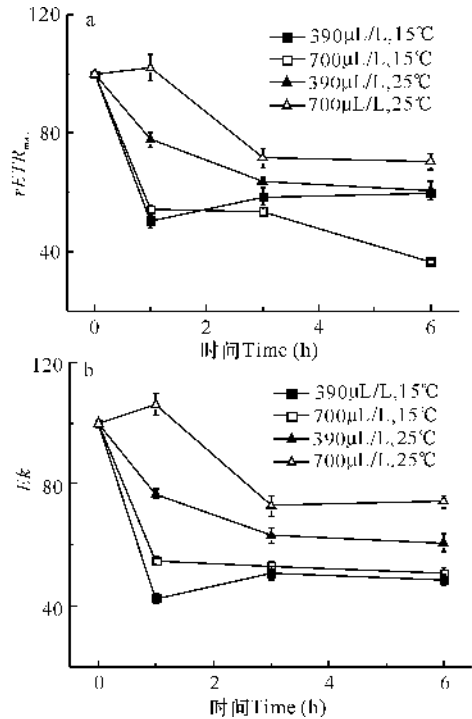


图 6 35℃ 高温胁迫对 4 种不同 CO₂ 浓度和温度处理条件下培养的石莼的 $rETR_{max}$ (a) 和 E_k (b) 的影响

Fig. 6 The effect of 35°C-stress on $rETR_{max}$ (a) and E_k (b) of *U. lactuca* cultured in different CO₂ concentrations and temperatures

由图 8 可知, 25℃ 生长的石莼 $rETR_{max}$ 在高温处理 1 h 后有显著上升趋势。在胁迫 6 h 后, 25℃ 高 CO₂ 浓度生长的石莼基本不变, 其他 3 种石莼均大幅下降 (15℃ 正常空气、15℃ 高 CO₂ 浓度和 25℃ 正常空气下的石莼 $rETR_{max}$ 下降率分别为 81.11%、52.56% 和 68.45%)。 E_k 呈上升趋势。

2.4 有关生化特征参数的变化

如表 1 所示, 在 15℃ 生长条件下, 高 CO₂ 浓度培养的石莼 SC 含量显著低于正常空气下的石莼, 而两种 CO₂ 浓度生长条件下石莼的 SP、Chl a 和 Car 含量并无显著差异 ($P > 0.05$)。在 25℃ 生长条件下, 高 CO₂ 浓度生长的石莼 SP、SC、Chl a 和 Car 含量均显著低于正常空气下的石莼 ($P < 0.05$)。在同一 CO₂ 浓度生长条件下, 高温生长与低温生长石莼的生化组分含量均未表现出明显差异 ($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 培养液 pH 值变化

通常, 开放系统中的水体 CO₂ 浓度受大气 CO₂ 分压及水体 CO₂ 溶解度的影响, 而温度是影响气体在水中的溶解度的主要因素之一。当通入空气时, CO₂ 不断向海水中溶解同时引起海水 pH 值下降, 通入高 CO₂ 浓度的空气时, 气相中 CO₂ 分压大于正常空气中 CO₂ 分压, 因此通入高 CO₂ 浓度空气时 pH 值

表 1 CO₂ 浓度和温度变化对石莼生化指标的影响

Table 1 Biochemical compositions of *Ulva lactuca* cultured under different conditions

项目 Items	培养条件 Culture conditions			
	390 μL/L, 15°C	700 μL/L, 15°C	390 μL/L, 25°C	700 μL/L, 25°C
可溶性蛋白 SP (mg/g)	8.37±1.45	11.03±1.82	11.34±1.56	7.80±1.52
可溶性糖 SC (mg/g)	27.73±3.65	16.08±0.75	22.40±3.33	14.14±3.59
叶绿素 a Chl a (mg/g)	0.83±0.15	0.63±0.16	1.05±0.37	0.59±0.05
类胡萝卜素 Car (mg/g)	0.56±0.09	0.42±0.14	0.71±0.23	0.39±0.05

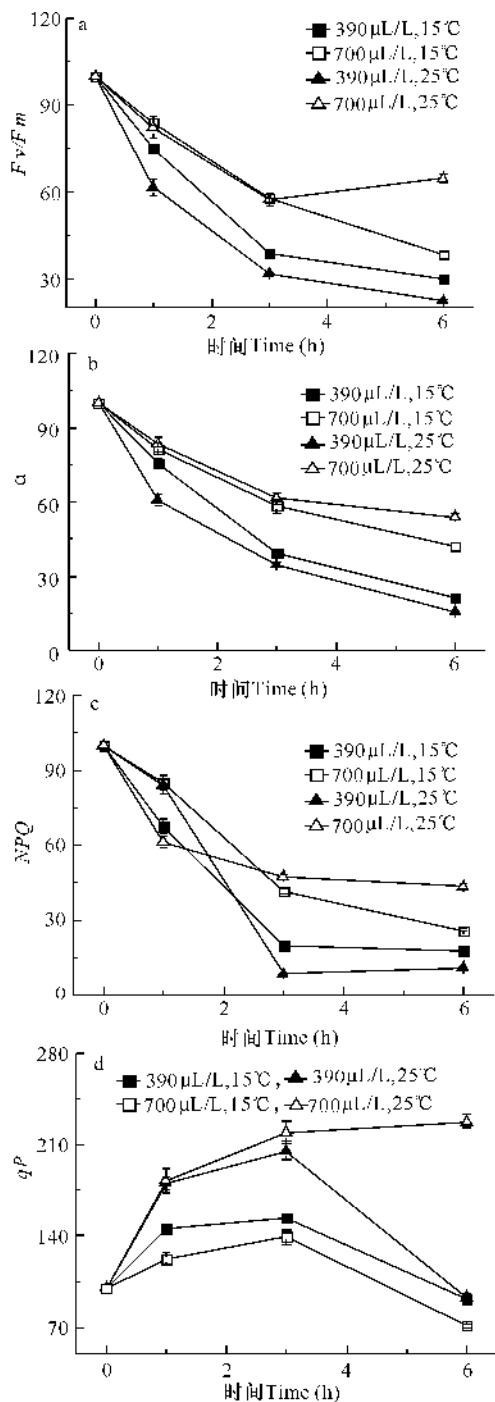


图 7 40°C 高温胁迫对 4 种不同 CO₂ 浓度和温度处理条件下培养石莼的 F_v/F_m (a), α (b), NPQ (c) 及 q_p (d) 的影响

Fig. 7 The effect of 40°C-stress on F_v/F_m (a), α (b), NPQ (c) and q_p (d) of *U. lactuca* cultured in different CO₂ concentrations and temperatures

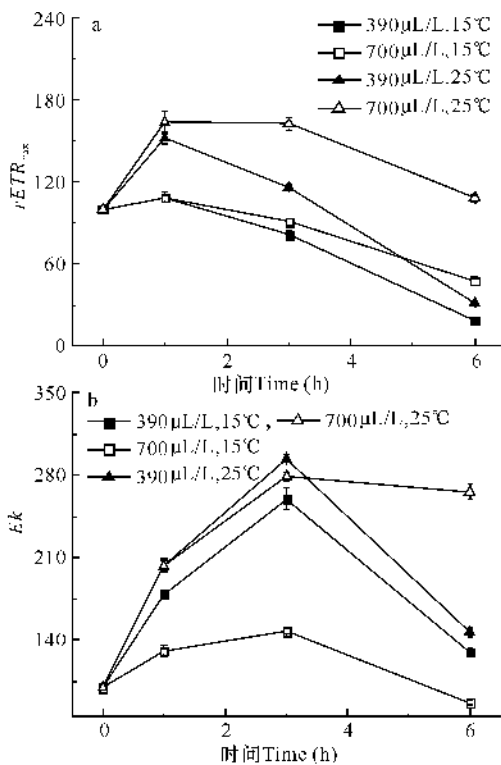


图 8 40°C 高温胁迫对 4 种不同 CO₂ 浓度和温度处理条件下培养的石莼的 rETR_{max} (a) 和 Ek (b) 的影响

Fig. 8 The effect of 40°C-stress on rETR_{max} (A) and Ek (B) of *U. lactuca* cultured in different CO₂ concentrations and temperatures

总是低于通入正常空气海水的 pH 值。此外,培养介质海水的温度对其 pH 值并未表现出明显的影响。已有研究表明,石莼有很强的利用 HCO₃⁻ 的能力。海水作为藻体培养介质,在光照条件下 pH 值上升,而黑暗条件下 pH 值又下降,这种周期性的波动可能与光合作用无机碳的利用和通气作用有关^[14]。石莼在光照条件下利用海水中的无机碳进行光合作用,海水中的 HCO₃⁻ 经胞外 CA 酶催化形成 CO₂ 和 OH⁻, CO₂ 作为 Rubisco 酶的底物进入胞内并被固定, OH⁻ 则被留在海水中,而不断向海水中通入空气或 CO₂ 加富空气使得 CO₂ 不断向水中溶解,形成的 H₂CO₃ 去质子化形成 HCO₃⁻ 或 CO₃²⁻ 和 H⁺,当光合作用利用无机碳而产生 OH⁻ 的速率高于通气产生的 H₂CO₃ 去质子化速率时, pH 值升高,当光合作用利用无机碳而产生 OH⁻ 的速率低于通气产生的

H₂CO₃去质子化速率时,pH值降低。

3.2 相对生长速率

实验结果表明,高CO₂浓度能促进石莼生长。这与早期研究报道一致,高CO₂浓度对嗜氮石莼(*Ulvarigida* C. Agardh)的生长起促进作用^[15]。高CO₂浓度对海藻生长的影响与海藻无机碳利用及海水中无机碳浓度是否能满足其光合作用有关。石莼具有较强的HCO₃⁻利用能力,而且海水中无机碳浓度能满足其光合作用需求,但CO₂浓度升高仍能促进其生长,Gordillo等^[16]认为这可能是由于CO₂浓度升高引起的氮吸收增加而导致,或者HCO₃⁻吸收速率下降而导致的能量损耗减少所致^[15]。然而,也有研究表明,高CO₂浓度对石莼(*Ulva lactuca*)生长速率影响不显著^[17]。说明,海藻生长在高CO₂浓度下所表现出的差异性与多方面因素有关,例如海藻种类及生活环境,实验条件如CO₂浓度和培养时间等,以及其他条件如生长密度、氮磷营养盐等有关^[18]。

3.3 叶绿素荧光参数

低温和高温胁迫会对植物电子传递的光量子产量产生不利影响,使其光合作用器官受氧化的风险增强,这种氧化作用将导致PSII的慢性损伤,主要表现为F_v/F_m的下降。有研究表明,低温会引起光合电子传递活性或CO₂同化速率下降,从而降低植物利用光能的能力,造成PSII累积过剩的光能而发生光抑制甚至损伤光合系统^[19];低温还会导致参与天线激发能热耗散的玉米黄质的合成受阻,或者降低叶绿体编码和D1蛋白降解酶的活性从而使PSII的修复受阻,从而使光抑制程度加剧。大量研究表明光抑制的来源主要有两方面的原因^[20~23]:(1)光合作用机构的破坏尤其是PSII反应中心的破坏;(2)天线或反应中心热耗散的增加。本实验中,石莼在10℃低温处理下,F_v/F_m和α均下降了30%~40%,表明石莼受到低温胁迫。同时,石莼NPQ的上升和rETR_{max}的下降,说明其在胁迫下通过增加热耗散来保护光合器官且光合电子传递受阻。从以上现象来看,石莼在低温10℃胁迫下发生了光抑制现象,而且该光抑制现象并未涉及到光合机构的破坏。此外,15℃生长下的石莼qP和Ek上升,表明其在低温胁迫时仍然能维持较高的光合活性和光强耐受能力;25℃生长下的石莼则与之相反,这些都表明15℃生长的藻在低温下具有更好的光合状态。在整个低温处理过程中,生长CO₂浓度的高低不影响石莼光合状态对低温的响应。

石莼在35℃高温处理下,F_v/F_m和α基本不

变, NPQ有不同程度的上升,而qP,rETR_{max}及Ek均下降,表明石莼在35℃下具有正常的光合状态,其通过增加热耗散来维持藻体正常的光合状态,同时光合活性以及最大相对电子传递速率和强光耐受性也相应下降。相对于15℃生长的石莼而言,25℃生长的石莼NPQ表现出更大的上升程度,而qP则表现出更小的下降程度,这表明25℃下生长的石莼具有更强的热耗散保护机制和更高的光合活性,其通过光保护反应机制使藻体免受光损伤。整个35℃处理过程中,正常空气25℃生长的石莼F_v/F_m,α和NPQ显著大于其他3种条件下生长的石莼,且高CO₂浓度25℃下生长的石莼qP显著高于其他石莼,即高CO₂浓度生长使石莼在经受短时35℃高温时具有较高的光合活性。高温40℃处理下,15℃生长的石莼F_v/F_m,α, NPQ和qP均大幅度下降其中,表明藻体光合机构已受高温破坏;25℃培养条件下,高CO₂浓度生长的石莼F_v/F_m,α, NPQ和qP下降程度明显小于正常空气下生长的石莼,而且高CO₂浓度生长的石莼具有较高的rETR_{max}和Ek,可见高CO₂浓度在一定程度上增强了石莼光合器官在高温胁迫下的稳定性。Taub等^[24]研究表明,高CO₂浓度生长能提高植物光合器官的耐热能力,而这种PSII光合机制耐热性能的提高可能是植物体内保护PSII免受损伤的一系列变化的综合作用。CO₂浓度的升高可通过改变光合器官的结构来提高光能转换效率和电子传递速率,从而促进植物光合作用^[25]。

此外,不同温度下生长的藻在低温或高温胁迫下所表现出来的叶绿素荧光差异性主要和藻体对生长温度的适应性有关。植物光合作用对生长温度的变化具有适应性,使其能在一定温度范围内有最佳的光合状态。光合作用的热适应在一定程度上缓冲了温度变化对其光合作用的影响。因而,相对于25℃生长的藻而言,15℃生长的藻在低温10℃胁迫下具有更高的光合活性和光合电子传递速率以及高光强耐受能力,而在高温35℃和40℃胁迫时对叶绿素荧光参数的不利影响程度更大。对低温的适应主要涉及到酶水平上的变化,例如光合作用关键酶的数量和活性,以及有利于提高关键酶动力学特性的构象变化和化学修饰等;对高温的适应主要涉及到光能捕获效率的增加^[26]。

3.4 有关生化特征参数的变化

光合色素是藻类植物吸收光能的主要物质,也是其进行光保护的重要成分之一。以往研究结果表明高CO₂浓度使得Chl a的含量下降或者对其无影响^[27~29]。还有研究表明大型海藻能够自我调控藻

体内色素的含量或海藻的形态来适应环境因子的改变^[30,31]。本研究结果表明,25℃高温生长下使得石莼 *SP*, *SC*, *Chl a* 和 *Car* 含量全部下降,这种改变可能是石莼为了适应环境因子改变而做出的生理调节。此外,本实验还表明,高 CO₂ 浓度对石莼生化组分含量的影响大于温度的影响。而高 CO₂ 浓度在 15℃ 低温生长下使得 *SC* 下降而不影响其他生化组分,可见 CO₂ 浓度对生化组分含量的影响具有温度依赖性。

综上所述,高 CO₂ 浓度在 15℃ 低温和 25℃ 高温条件下均能促进石莼的生长。CO₂ 浓度对石莼生化组分含量的影响与温度有关,在 15℃ 低温条件下,高 CO₂ 浓度生长使石莼 *SC* 含量下降;在 25℃ 高温条件下,高 CO₂ 浓度生长使石莼 *SP*, *SC*, *Chl a* 和 *Car* 含量均显著下降。对石莼进行短时温度胁迫处理结果表明:在 10℃ 低温处理 6h,石莼发生光抑制现象, *Fv/Fm* 和 α 均下降 30%~40%。相对与 25℃ 生长的石莼,15℃ 生长下的石莼 *qP* 和 *Ek* 上升,其在低温胁迫时仍然能维持较高的光合活性和高光强耐受能力。在 35℃ 高温处理 6 h 后,相对于 15℃ 生长的石莼,25℃ 正常空气生长的石莼表现出较高的 *Fv/Fm*, α , *NPQ* 和 *qP* 值,25℃ 高 CO₂ 浓度下生长的石莼 *rETR_{max}* 和 *Ek* 大于其他条件下生长的石莼。在 40℃ 高温处理 6 h 后,15℃ 生长的石莼光合机构受损;25℃ 高 CO₂ 浓度条件生长的石莼 *Fv/Fm*, α , *NPQ*, *qP* 的下降程度均小于其他条件下生长的石莼,而且具有较高的 *rETR_{max}* 和 *Ek*。高 CO₂ 浓度使得石莼抗高温的能力增强。总之,15℃ 低温生长的石莼叶绿素荧光参数受 10℃ 低温胁迫的影响更小,25℃ 高温生长的石莼受高温 35℃ 和 40℃ 胁迫的影响程度比低温生长的小,而且高 CO₂ 浓度生长能提高石莼耐受短时高温的能力。

参考文献:

[1] Kooten O, Snel J F. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology[J]. *Photosynthesis Research*, 1990, 25(3):147-150.

[2] 宋金明,李学刚,袁华茂,等. 中国近海生物固碳强度与潜力[J]. *生态学报*, 2008, 28(2):551-558.

Song J M, Li X G, Yuan H M, et al. Carbon fixed by phytoplankton and cultured algae in China coastal seas [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(2):551-558.

[3] Beer S, Eshel A. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extracts of red algae[J]. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 1985, 13:133-141.

[4] Zou D H, Gao K S. Effects of desiccation and CO₂ con-

centrations on emersed photosynthesis in *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta), a species farmed in China [J]. *European Journal of Phycology*, 2002, 37(4):587-592.

[5] Castenholz R W. Thermophilic blue-green algae and the thermal environment[J]. *Bacteriological Reviews*, 1999, 33(4):476.

[6] Kübler J E, Dudgeon S R. Temperature dependent change in the complexity of form of *Chondrus crispus* fronds [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1996, 207(1):15-24.

[7] Raven J A, Geider R J. Temperature and algal growth [J]. *New Phytologist*, 1988, 110(4):441-461.

[8] 郭赣林,董双林,董云伟. 温度及其波动对孔石莼生长及光合作用的影响[J]. *中国海洋大学学报:自然科学版*, 2006, 36(6):941-945.

Guo G L, Dong S L, Dong Y W. Effects of constant and diel fluctuating temperatures on growth and photosynthesis of the macroalgae *Ulva Pertusa Kijllem* [J]. *Journal of Ocean University of China: Natural Sciences*, 2006, 36(6):941-945.

[9] Zou D H, Gao K S. Effects of elevated CO₂ on the red seaweed *Gracilaria lemaneiformis* (Gigartinales, Rhodophyta) grown at different irradiance levels[J]. *Phycologia*, 2009, 48:510-517.

[10] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(2):248-254.

[11] Beer S, Eshel A. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extracts of red algae[J]. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 1985, 36(6):785-792.

[12] Jensen A. Chlorophylls and Carotenoids [M]// Hellebust J A, Craigie J S (eds.). *Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1978: 61-69.

[13] Kochert G. Carbohydrate determination by phenol-sulfuric acid method [M]// Hellebust J A, Craigie J S (eds.). *Handbook of Physiological and Biochemical Methods*. London: Cambridge University Press, 1978: 95-97.

[14] Zou D H. Effects of elevated atmospheric CO₂ on growth, photosynthesis and nitrogen metabolism in the economic brown seaweed, *Hizikia fusiforme* (Sargassaceae, Phaeophyta) [J]. *Aquaculture*, 2005, 250(3): 726-735.

[15] Zou D H, Gao K S. Acquisition of inorganic carbon by

- Endarachne binghamiae* (Scytosiphonales, Phaeophyceae)[J]. *European Journal of Phycology*, 2010, 45(1):117-126.
- [16] Gordillo F J, Niell F X, Figueroa F L. Non-photosynthetic enhancement of growth by high CO₂ level in the nitrophilic seaweed *Ulva rigida* C. Agardh (Chlorophyta)[J]. *Planta*, 2001, 213(1):64-70.
- [17] 邹定辉, 高坤山, 阮祚禧. 高 CO₂ 浓度对石莼光合作用及营养盐吸收的影响[J]. *青岛海洋大学学报*, 2001, 31(6):877-882.
- Zou D H, Gao K S, Ruan Z X. Effects of elevated CO₂ concentration on photosynthesis and nutrients uptake of *Ulva lactuca* [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2001, 31(6):877-882.
- [18] Zou D H, Gao K S, Xia J R. Photosynthetic utilization of inorganic carbon in the economic brown alga, *Hizikia fusiforme* (Sargassaceae) from the south China sea[J]. *Journal of Phycology*, 2003, 39:1095-1100.
- [19] Davison I R. Environmental effects on algal photosynthesis: Temperature[J]. *Journal of Phycology*, 1991, 27(1):2-8.
- [20] Aro E M, Tyystjärvi E, Nurmi A. Temperature dependent changes in Photosystem II heterogeneity of attached leaves under high light[J]. *Physiologia Plantarum*, 2005, 79(4):585-592.
- [21] Sage R F, Sharkey T D, Seeman J R. Acclimation of photosynthesis to elevated CO₂ in five C₃ species[J]. *Plant Physiol*, 1989, 89:590-596.
- [22] Pettersson R, McDonald A J S. Effects of nitrogen supply on the acclimation of photosynthesis to elevated CO₂[J]. *Photosynthesis Research*, 1994, 39:389-400.
- [23] Levavasseur G, Edwards G E, Osmond C B. Inorganic carbon limitation of photosynthesis in *Ulva rotundata* (Chlorophyta)[J]. *Journal of Phycology*, 1991, 27:667-672.
- [24] Taub D R, Seemann J R, Coleman J S. Growth in elevated CO₂ protects photosynthesis against high-temperature damage [J]. *Plant Cell and Environment*, 2000, 23(6):649-656.
- [25] Lin W, Bai K, Kuang T. Effects of elevated CO₂ and high temperature on single leaf and canopy photosynthesis of rice[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 1999, 41(6):624-628.
- [26] Eggert A, Visser R J, Van Hasselt P R. Differences in acclimation potential of photosynthesis in seven isolates of the tropical to warm temperate macrophyte *Valonia utricularis* (Chlorophyta) [J]. *Journal Information*, 2006, 45(5):546-556.
- [27] Zou D H, Gao K S. Effects of elevated CO₂ on the red seaweed *Gracilaria lemaneiformis* (Gigartinales, Rhodophyta) grown at different irradiance levels[J]. *Phycologia*, 2009, 48(6):510-517.
- [28] Mercado J M, Javier F, Gordillo L, et al. Effects of different levels of CO₂ on photosynthesis and cell components of the red alga *Porphyra leucosticta* [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1999, 11:455-461.
- [29] 张鑫, 邹定辉, 徐智广. 大气 CO₂ 浓度升高和氮加富对羊栖菜生理生化特征的影响[J]. *南方水产*, 2007, 3(3):35-40.
- Zhang X, Zou D H, Xu Z G. Effects of increased atmospheric CO₂ and N supply on some physiological and biochemical traits in the economic brown seaweed, *Hizikia fusiformis* (Sargassaceae, Phaeophyta) [J]. *South China Fisheries Science*, 2007, 3(3):35-40.
- [30] Henley W J, Dunton K H. Effects of nitrogen supply and continuous darkness on growth and photosynthesis of the arctic kelp *Laminaria solidungula*[J]. *Limnology Oceanography*, 1997, 42(2):209-216.
- [31] Miller S M, Wing S R, Hurd C L. Photoacclimation of *Ecklonia radiata* (Laminariales, Heterokontophyta) in Doubtful Sound, Fjordland, Southern New Zealand[J]. *Phycologia*, 2006, 45(1):44-52.

(责任编辑:尹 闯)