

不同盐度下水华束丝藻对 CO₂ 浓度倍增的生理响应

康丽娟^{1,2} 刘永梅^{1,3} 李敦海¹ 刘永定¹

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039; 3. 武汉大学药学院, 武汉 430072)

摘要: 本文研究了在盐度分别为 2‰ 和 4‰ 的条件下, CO₂ 浓度倍增对水华束丝藻 (*Aphanizomenon flos-aquae*) 生长速率、光合活性及光合色素比例与丙二醛含量的影响。结果表明随着盐度的增加水华束丝藻的生长速率和光合活性受到显著抑制, 叶绿素 *a* 与藻蓝素比例大幅降低, 丙二醛含量明显提高。在实验盐度范围内, CO₂ 浓度倍增显著促进水华束丝藻的生长速率和最大光合电子传递速率 (ETR_{max}) 与色素比例, 而且盐度越高促进效果越明显。此外 CO₂ 浓度倍增能显著降低丙二醛 (MDA) 含量。从而减少膜脂过氧化, 缓解盐度胁迫。

关键词: CO₂ 浓度倍增; 盐胁迫; 光合活性; 丙二醛

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2007)05-0671-04

大气中的二氧化碳 (CO₂) 浓度正日益升高, 它对全球气候变化的影响已引起了广泛的关注^[1]。水体作为一个非常大而强的蓄碳库, 大气 CO₂ 增加, 无论是正、负效应都将直接影响水生态系统。在正常或逆境胁迫条件下, 作为光自养生物的蓝藻, 其生长受能量和生理条件的制约^[2]。监测结果表明, 自然淡水水体盐度小于 3‰, 在某些封闭水体盐度剧增, 在某些淡水养殖水体盐度可以达到 20‰ 以上。滇池是我国著名的高原淡水湖泊, 随着工农业的发展, 废弃物过渡排放, 致使水体富营养化加剧, 水质恶化, 以藻类 (尤其是蓝藻) 为主的浮游植物大量繁殖, 形成蓝藻水华。浮游植物都生活在具有一定盐度的水环境中, 对盐度的变化有一定的适应范围和耐受极限^[3]。因此水体的盐度是水生生物生存的限制因子之一。Beardall J 等^[4,5] 研究表明盐度会影响蓝藻 CO₂ 的同化。如铜绿微囊藻在盐度大于 2 时生长和碳同化受到显著抑制^[6,7]。许多蓝藻生长受盐度增高的抑制, 但抑制程度有显著差异^[8,9]。盐胁迫既可以直接影响蓝藻的生长, 也可以通过抑制为生长提供物质基础的光合作用而间接影响生长, 且盐度越大、作用时间越长抑制作用就越明显^[10,11]。但对盐胁迫下植物光合作用下降的原因至今还未形成统一的认识^[12]。我们研究了盐胁迫与 CO₂ 浓度倍增下蓝藻一些生理指标的变化与

光合速率变化的关系。从而为探讨 CO₂ 浓度倍增与盐胁迫的协同效应提供依据。

1 材料与方法

实验用藻种水华束丝藻 (*Aphanizomenon flos-aquae*) 为本实验室保藏, 分离自云南滇池。将保藏的藻种经过扩大培养至对数期, 然后转接于 500 mL 玻璃三角瓶中, 每瓶含 350 mL BG11 培养基^[13], 用 NaCl 调节盐度, 盐度 2‰ 和 4‰, 分别标记为 T2 和 T4。培养温度 (25 ± 1) °C, 光强 35 μE/m²·s, 24h 连续光照。实验组 T2 + CO₂、T4 + CO₂ 通入含 CO₂ 浓度加倍的无菌空气, 对照组 T2 和 T4 通入相同气流量的无菌空气, 气流量均控制在 400 mL/min。

盐度用奥立龙 1500A 型电导率仪测定。

叶绿素含量的测定参照李合生主编《植物生理生化实验原理和技术》。用 80% 丙酮过夜抽提过夜, 计算公式见^[14]。

比生长速率按公式 $\ln x_2 - \ln x_1 / (t_2 - t_1)$ 计算。

光合活性用叶绿素 *a* 荧光表示, 叶绿素 *a* 荧光用浮游植物效率分析仪 (PHYTO-PAM, Walz GmbH, Germany) 测定。测定在室温下进行。ETR_{max}: PS 最大光合电子传递速率, 即 $ETR = \Delta F / F_m' \times PAR \times 0.5$, 其中 PAR 为光合有效辐射 (μmol/m²·s)。

藻蓝素含量测定采用离心收集一定量的藻细

收稿日期: 2006-01-04; 修订日期: 2006-12-11

基金项目: 国家自然科学基金资助

作者简介: 康丽娟 (1979—), 女, 汉族, 河南许昌人; 博士研究生; 主要从事藻类环境生物学方面的研究。E-mail: lijunkan@tom.com

通讯作者: 刘永定, E-mail: liuyd@ihb.ac.cn

胞,重悬浮与 0.2mol/L 的磷酸缓冲液,反复冻融破碎细胞,离心后测定上清吸收光谱,根据 Siegelman^[15]的计算公式得到。

丙二醛(MDA)测定参见文献[14]。

2 结果

2.1 CO₂倍增对不同盐度下水华束丝藻生长的影响

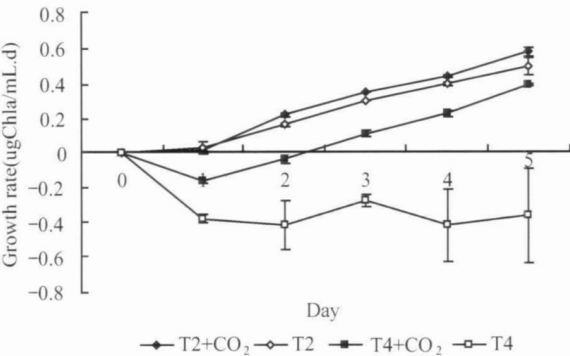


图1 不同盐度下 CO₂倍增对水华束丝藻生长速率的影响
Fig. 1 Specific growth rate of *Aphanizomenon flos-aquae* in different culture condition

盐度增加水华束丝藻的生长受到显著抑制,盐度升高到 4 时,水华束丝藻由于盐度的胁迫生长受到强烈抑制,呈现负增长。不同盐度下,CO₂倍增对水华束丝藻的生长速率有不同程度的促进。在盐度为 2 时,CO₂倍增对水华束丝藻的生长有显著促进作用,盐度为 4 时 CO₂倍增对水华束丝藻生长的促进作用非常显著,使水华束丝藻能很快克服盐度的胁迫恢复生理活性。

2.2 CO₂倍增对不同盐度下水华束丝藻 PS II 活性的影响

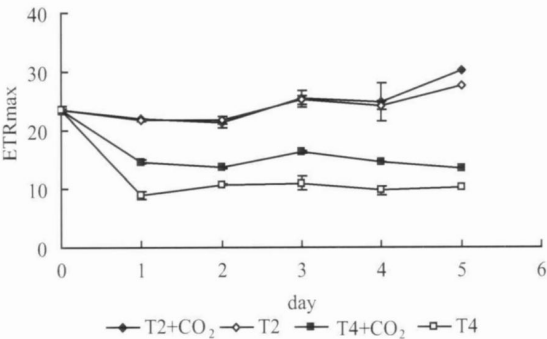


图2 不同盐度下 CO₂倍增对水华束丝藻 ETRmax 的影响
Fig. 2 Photosynthetic parameter ETR of *Aphanizomenon flos-aquae* in different conditions

ETR 是表观光合电子传递速率,即 $ETR = \Delta F/F_m \times PAR \times 0.5$,其中 PAR 为光合有效辐射 ($\mu\text{mol}/\text{m} \cdot \text{s}$)^[16]。ETR 代表 PS II 光合作用强度,盐度

升高对水华束丝藻 PS II 的 ETRmax 有显著影响,由图可知盐度增加,ETRmax 显著降低。同时增加 CO₂ 浓度水华束丝藻的光合作用强度得到不同程度的提高,而且盐度越高促进效果越明显,最高可达 1.6 倍。盐度为 2 时,CO₂倍增对水华束丝藻 ETRmax 在处理的前 4 天影响不显著,在第 5 天表现出促进作用。可能是因此盐度是野外淡水普遍的盐度,比较适合水华束丝藻,CO₂倍增对其光合作用的促进效应只有在快速生长对碳源的需求激增时表现出来。

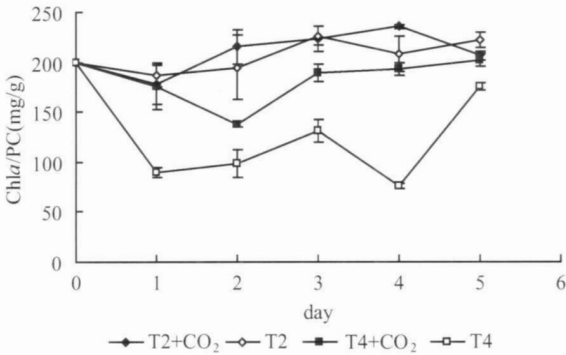


图3 不同盐度下 CO₂倍增对水华束丝藻 Chl a/ PC 的影响
Fig. 3 The ratio of photosynthetic pigment chlorophyll a to phycocyanin of *Aphanizomenon flos-aquae* in different conditions

2.3 CO₂倍增对不同盐度水华束丝藻色素比例的影响

光合色素是反映植物利用光合有效辐射能力的重要指标,常用以判断植物光合生理能力和反映环境胁迫状况。盐度增加 Chl a/ PC 显著降低,第 1 天就有 187.3 下降到 89.9,在第 4 天下降幅最大,下降值达到 132.5。盐度为 2 时 CO₂倍增对水华束丝藻光合色素比例影响不显著。盐度为 4 时 CO₂倍增显著提高光合色素比例,最高可达 2.6 倍。

2.4 CO₂倍增对不同盐度下水华束丝藻 MDA 含量的影响

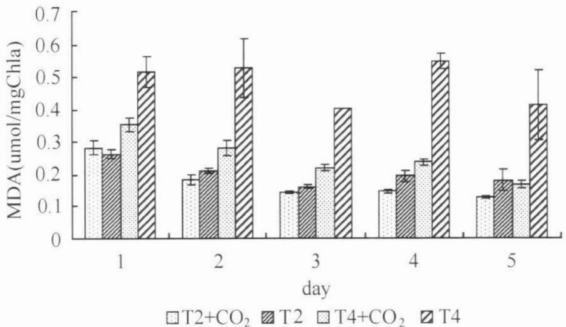


图4 不同盐度下 CO₂倍增对水华束丝藻 MDA 的影响
Fig. 4 Effect of doubled CO₂ concentration and salinity on MDA content in *Aphanizomenon flos-aquae*

由图可知藻细胞的 MDA 含量随着盐度增加而显著增加,盐度为 2 时,CO₂倍增藻细胞 MDA 含量差别不显著,盐度为 4 时,CO₂倍增 MDA 含量显著降低,而且在实验期间呈逐渐降低趋势。其降低值幅度可达到 59%,盐度高时 CO₂倍增对膜脂过氧化的缓解效应显著。

3 讨 论

本研究中盐度增加,水华束丝藻生长和光合活性受到抑制,Chl *a*/PC 比例下降,并导致膜脂过氧化,引起 MDA 含量增加,而 CO₂浓度倍增能缓解盐度的胁迫效应。因为在高盐逆境胁迫条件下,植物细胞产生的 O²⁻、OH⁻ 等自由基增多,自由基启动膜脂过氧化作用,导致膜的损伤和破坏从而积累 MDA。MDA 含量是判断膜脂过氧化程度的重要指标^[17]。MDA 含量上升,影响细胞膜的结果与正常的代谢功能。刘家尧^[18]等的研究表明,CO₂倍增时滨藜的生长状况有所改善,且盐处理时无盐时明显。CO₂倍增可缓解盐胁迫对植物的抑制作用^[19,20],因为盐胁迫条件下植物细胞要消耗同化产物去适应高盐环境的耗能^[21],因此提高 CO₂浓度可明显增强植物的生长。本实验结果表明 CO₂倍增显著降低了藻细胞的 MDA 含量,减轻了盐胁迫对藻细胞的氧化损伤,促进了水华束丝藻的生长,说明 CO₂倍增能缓解盐胁迫对水华束丝藻生长的抑制。

Zeng^[22]等认为盐度增加可导致蓝藻光抑制程度增加,引起最大光合速率下降。惠红霞^[23]等的研究表明,盐胁迫下枸杞 PS 光能利用效率下降。Sebastiano Delfino^[24]等通过对菠菜的研究认为,盐度增加通过影响叶片气孔和叶内可利用的 CO₂减少,进而抑制 Rubisco 活性,导致光合活性的降低。而且盐处理还可使叶绿素含量下降^[18],使得细胞捕获光能的能力下降,碳同化能力的下降。增加 CO₂浓度可以在碳利用率下降的情况下维持碳同化速率^[21]。本实验发现在滇池分离的水华束丝藻藻株中也存在类似情况,随培养液初始盐度增加,水华束丝藻的 ETR_{max} 下降,Chl *a*/PC 比例下降,CO₂的倍增可改善或削弱这种抑制或伤害,与对照组相比,能显著提高水华束丝藻的 ETR_{max} 值与色素比例。高浓度的 CO₂能提高受盐胁迫植物的光合电子传递速率,光合电子传递总是与形成 ATP 的光合磷酸化相耦联,而且非环式电子传递链又是 NADP⁺ 为最终电子受体,因此光合电子传递速率的提高有利于形成更多 ATP 和 NADPH,可为光合碳同化提供更充足的能量(ATP)和还原能力

(NADPH)^[25,27]。ATP 和 NADPH 的合成量增加将有助于植物光合作用和产量的提高。

综上所述,水华束丝藻对盐度有一定的耐受性;CO₂倍增可促进水华束丝藻的生长,增加藻细胞的抗盐能力,提高水华束丝藻光系统的光化学活性,增加其生物量,可能是束丝藻水华和其他一些蓝藻水华暴发的原因之一。

参考文献:

- [1] Schimel D, et al. Climate change 1995 [A]. In: Houghton J T, et al. (Eds.), The science of climate change [M]. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 1996, 65—131
- [2] Chen Y, Fang D W. Effect of low temperature on nitrogen fixation by blue-green algae under osmotic stress [J]. *Plant Physiology Communication*, 1994, 30: 174 [陈因, 方大惟. 低温对渗透胁迫下蓝藻固氮的影响. 植物生理学通讯, 1994, 30: 174]
- [3] Oren A. Salts and brines [A]. In: Whitton B A, Potts M (Eds.), The ecology of cyanobacteria [M]. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 2000, 281—306
- [4] Beardall J, Gordan M. Ecological implications of microalgal and cyanobacterial CCMs and their regulation [J]. *Funct. Plant Biol.*, 2002, 29: 335—347
- [5] Beardall J, Johnston A M, Raven J A. Environmental regulation of the CO₂ concentrating mechanism in cyanobacteria and microalgae [J]. *Can. J. Bot.*, 1998, 76: 1010—1017
- [6] Paerl H W, Bland P T, Tucker J, Blackwell J. The effects of salinity on the potential of a blue-green algal (*Microcystis aeruginosa*) bloom in the Neuse River Estuary. NC. NC Sea Grant Report, 1983, 1—83, 84
- [7] Sellner K G, Lacouture R V, Parrish C R. Effects of increasing salinity on a cyanobacteria bloom in the Potomac River estuary [J]. *Plankton Res.*, 1988, 10: 49—61
- [8] Blumwald E, Tel-Or E. Osmoregulation and cell composition in salt adaptation of *Nostoc muscorum* [J]. *Arch Microbiol*, 1982, 132: 168—172
- [9] Brabban A D, Orcutt E N, Zinder S H. Interactions between nitrogen fixation and osmoregulation in the methanogenic Archaeon *Methanosarcina barkeri* 227 [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65: 1222—1227
- [10] Bethke P C, Drew M C. Stomatal and nonstomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of *Capsicum annuum* during progressive exposure to NaCl salinity [J]. *Plant Physiol.*, 1992, 99: 219—226
- [11] Sultana N, Ikeda T, Itoh R. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains [J]. *Environ Exp Bot*, 1999, 42: 211—220
- [12] Zhu X G, Zhang Q D. Advances in the research on the effects of NaCl on photosynthesis [J]. *Chin Bull Bot*, 1999, 16(4): 332—338 [朱新广, 张其德. NaCl 对光合作用影响的研究进展. 植物学通报, 1999, 16(4): 332—338]

- [13] Stanier R Y, *et al.* Purification and properties of unicellular blue-green algae (Order Chroococcales) [J]. *Bacteriol. Rev.*, 1971, **35**: 171—205
- [14] Li H S. Principles and techniques of plant physiology and biochemistry [M]. Beijing: High Education Press. 2000, 135 [李合生.《植物生理生化实验原理和技术》. 北京: 高等教育出版社. 2000, 135]
- [15] Siegelman H W, Chapman D J, Cole W J. The bile pigments of plants [J]. *Biochem. Soc. Symp.*, 1968, **28**: 107—120
- [16] Zhang G S, Wang L H, Li Y L, *et al.* Effects of severing stolon on chlorophyll fluorescence characteristics of *Sabina vulgaris* [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2004, **40**(3): 60—65 [张国盛, 王林和, 李玉灵, 等. 切断匍匐茎对臭柏叶绿素荧光特性的影响. 林业科学, 2004, **40**(3): 60—65]
- [17] Zhan Y, Fang L, Li T F, *et al.* Effect of Ca^{2+} on activities of some enzymes in tobacco seedlings under cold stress [J]. *Chin Bull Bot*, 2002, **19**(3): 342—347 [张燕, 方力, 李天飞, 等. 钙对低温胁迫的烟草幼苗某些酶活性的影响. 植物学通报, 2002, **19**(3): 342—347]
- [18] Liu J R, Zhang Q D, Zhao K F, *et al.* Effect of doubled CO_2 and salinity on ion levels and chlorophyll a fluorescence induction kinetics in halophyte (*Atriplex Centralasiatica*) [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1998, **18**(5): 533—538 [刘家尧, 张其德, 赵可夫, 等. 大气 CO_2 倍增和盐度对滨藜离子水平和叶绿素荧光诱导动力学的效应. 环境科学学报, 1998, **18**(5): 533—538]
- [19] Liu J R, Yi Y J, Bai K Z, *et al.* Variation of respiratory enzyme activities of wheat seedling under CO_2 / Salinity [J]. *Acta Botanica Sinica*, 1996, **38**(8): 641—646 [刘家尧, 衣艳君, 白克智, 等. CO_2 盐冲击对小麦幼苗呼吸酶活性的效应. 植物学报, 1996, **38**(8): 641—646]
- [20] Lenssen G M, Lamers J, Stroetenga M, *et al.* Interactive effects of atmospheric CO_2 enrichment, salinity and flooding on growth of C_3 (*Elymus athericus*) and C_4 (*Spartina anglica*) salt marsh species [J]. *Vegetatio*, 1993, **104/ 105**: 379—388
- [21] Chwarz M, Gale J. Maintenance respiration and carbon balance of plants at low levels of sodium chloride salinity [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1981, **32**: 33—41
- [22] Zeng M T, Vonshak A. Adaptation of *Spirulina platensis* to salinity stress [J]. *Comp Bioch Physiol*, 1998, **120a**: 113—118
- [23] Hui H X, Xu X, Li S M. Possible mechanism of inhibition on photosynthesis of *Lycium barbarum* under salt stress [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2004, **23**(1): 5—9 [惠红霞, 许兴, 李守明. 盐胁迫抑制枸杞光合作用的可能机理. 生态学杂志, 2004, **23**(1): 5—9]
- [24] Sebastiano D, Arturo A, *et al.* Restrictions to carbon dioxide conductance and photosynthesis in spinach leaves recovering from salt stress [J]. *Plant Physiology*, 1999, **119**: 1101—1106
- [25] Morgan J A, Hont H W, Monz C A, Lecain D R. Consequences of growth at two carbon dioxide concentration and two temperature for leaf gas exchange in *Paspopyrum smithii* (C_3) and *Bouteloua gracilis* (C_4) [J]. *Plant, Cell and Environment*, 1994, **17**: 1023—1033
- [26] Lawlor D M, Mitchell R A C. The effects of increasing CO_2 on crop photosynthesis and productivity: A review of field studies [J]. *Plant, Cell and Environment*, 1991, **14**(8): 807—818
- [27] Pettersson R, McDonald A J S. Effects of elevated carbon dioxide concentration on photosynthesis and growth of small birch plant (*Betula pendula*) at optimal nutrition [J]. *Plant, Cell and Environment*, 1992, **15**: 911—919

CO₂ EFFECT OF DOUBLED CO₂ AND SALINITY ON SOME PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF APHANIZOMENON FLOS-AQUAE

KANG Li-Juan^{1,2}, LIU Yong-Mei^{1,3}, LI Durr-Hai¹ and LIU Yong-Ding¹

(1. Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072;

2. Graduate school of the Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100039;

3. College of Pharmacy Wuhan University, Wuhan 430072)

Abstract : *Aphanizomenon flos-aquae* bloom appears regularly nearly at March in recent years. In order to investigate the response of the cyanobacterium *A. flos-aquae* to the combination of doubled CO_2 concentration and salinity, an experiment was carried out. Growth rate, photosynthesis, maximal electron transport rate (ETR_{max}), the ratio of photosynthetic pigment chlorophyll a to phycocyanin (Chl a/PC) and malondialdehyde (MDA) levels of *A. flos-aquae* were analyzed. The results demonstrated that salt stress caused decrease in *A. flos-aquae* growth by disrupting physiological processes, especially photosynthesis. Increased salinity lowered ETR_{max}. MDA content was increased when salinity elevated. And higher salinity has more distinct effect. Growth rate, ETR_{max} and Chl a/PC could be enhanced by elevated CO_2 concentration, while doubled CO_2 reduced MDA content.

Key words : Doubled CO_2 ; Salinity; ETR_{max}; MDA