

高浓度 CO₂ 培养条件下极大螺旋藻光抑制研究

夏建荣 高坤山

(汕头大学海洋生物广东省重点实验室, 汕头 515063; 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要: 以极大螺旋藻作为实验材料, 研究了不同 CO₂ 浓度培养对螺旋藻光抑制和恢复的影响, 结果表明由光抑制导致的光合速率下降, 高浓度 CO₂ 比低浓度 CO₂ 培养程度小, 在高浓度 CO₂ 条件下培养的极大螺旋藻, 虽然在强光下也表现出光抑制, 但与低浓度 CO₂ 相比, 光合速率下降得较慢。这种现象在强光与弱光培养均存在, 但强光培养时更明显。光抑制后的恢复实验表明, 不同 CO₂ 浓度培养的极大螺旋藻, 光系统 光化学活性 (F_v/F_m) 在弱光下恢复较好, 高光强、高浓度 CO₂ 培养的藻, 恢复速度稍快; 而在黑暗中, 几乎没有恢复; 在弱光和含氯霉素的条件下 F_v/F_m 均下降。由此可见, 高 CO₂ 浓度可减轻极大螺旋藻的光抑制, 但对其光抑制后的恢复影响不大。

关键词: 极大螺旋藻; CO₂; 光抑制; 恢复

中图分类号: Q949.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2002)01-0014-005

螺旋藻作为一种高蛋白的保健食品, 常常被作为大量培养的对象, 但当人们把实验室培养的产量与户外培养的产量相比较时发现, 户外培养的产量明显减少, 一个可能的解释是由于野外环境中光强有时远远大于螺旋藻的饱和光强, 产生了光抑制现象^[1]。作者在实验室的极大螺旋藻培养研究中发现, 在较高光强下, 通入高浓度 CO₂ 对极大螺旋藻的生长和光合作用有较大的促进作用^[2]。但在高浓度 CO₂ 培养条件下, 极大螺旋藻的光抑制和恢复的研究还未见报道。本文对高浓度 CO₂ 培养条件下极大螺旋藻的光抑制及其恢复现象进行了研究, 探讨了高浓度 CO₂ 对极大螺旋藻光敏感性的影响。

1 材料与方法

1.1 藻种 极大螺旋藻 (*Spirulina maxima* Setch et Gardn) 藻种由中国科学院典型培养物保藏委员会淡水藻种库提供。0.5% CO₂ 由汕头气体厂提供。

1.2 极大螺旋藻培养 极大螺旋藻的培养采用 Zarrouk's 培养基, 在温度 30, 低光 (100 μ mol m⁻² s⁻¹) 或高光强 (400 μ mol m⁻² s⁻¹)、光照周期 12:12 的条件下进行, 高光与低光条件下, 分别通低浓度 CO₂ (空气)、高浓度 CO₂ (含 0.5% CO₂ 的空气), 流量为 0.3—0.4 L · min⁻¹。

收稿日期: 1999-12-10; 修订日期: 2001-05-20

基金项目: 国家杰出青年基金(39625002); 国家自然科学基金重点项目(39830060); 中国科学院淡水生态与生物技术国家重点实验室基金资助

作者简介: 夏建荣(1968—), 男, 浙江省海宁市人; 博士; 从事藻类生理生化方面的研究

1.3 光抑制实验 将培养至对数期的极大螺旋藻过滤收获, 用新鲜培养基稀释至一定浓度(叶绿素浓度 $25\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 将 15mL 藻液放入反应槽, 水浴控温 30^o, 用碘钨灯照光, 光强为 $2000\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 并加磁力搅拌, 在不同时间吸取一定量藻液, 用新鲜培养液稀释 10 倍(叶绿素浓度为 $2.5\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 用氧电极法测定光合放氧量(光强 $600\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 温度 30^o)。暗适应 10min 后, 用植物效率仪(PEA, Hansatech, U.K)测定 F_v/F_m 值, 每组实验设置三个重复。

1.4 光抑制后恢复实验 按 1.3 光抑制实验, 经高光强照射 60min 后, 将加入新鲜培养液稀释 10 倍后的藻液分别放置在 1) 黑暗中; 2) 弱光下(光强为 $60\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$); 3) 在弱光下(光强为 $60\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$)。藻液中加入氯霉素($100\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 放置过程中用磁力搅拌器搅动, 温度控制在 30^o, 每隔一定时间用植物效率仪测定 F_v/F_m 值。

2 结果

2.1 高光强下($2000\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), 光合放氧随时间的变化

低光强下, 分别通高、低浓度 CO₂ 培养的极大螺旋藻, 暴露在 $2000\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 光强下, 光合放氧量变化如图 1A 所示, 随暴露时间的延长, 光合放氧量明显减少。暴露 75min 后, 高、低浓度 CO₂ 培养的极大螺旋藻, 其光合放氧量分别为初始时的 62% 和 53% (图 1B), 两者有显著差异(t -test, $P < 0.05$); 高光强下培养的极大螺旋藻, 暴露在相同时间下, 其光合放氧量分别为初始时的 58% 和 75%, 两者差异显著(t -test, $P < 0.05$)。

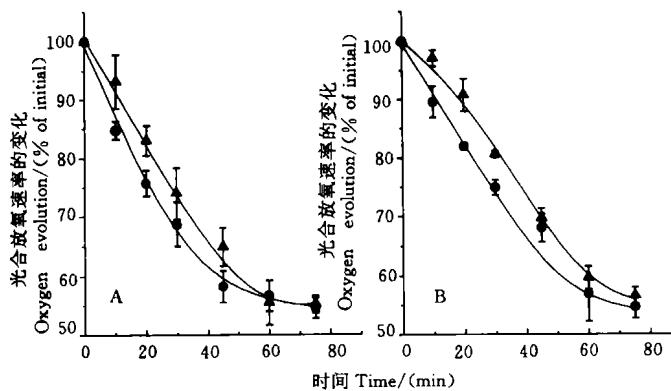


图 1 高光强下不同 CO₂ 浓度培养极大螺旋藻光合放氧的变化 (A: 低光强
B: 高光强, 0.5% CO₂(●), 0.035% CO₂(○))

Fig. 1 Photosynthetic O₂ evolution as a function of exposure time to high PFD in *Spirulina maxima* grown in different CO₂ concentration (A: grown in low light intensities B: grown in high light intensities)

2.2 高光强下($2000\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), F_v/F_m 值随时间的变化

两种不同培养条件下生长的极大螺旋藻, 当暴露在高光强下时, 其光系统 光化学活性(F_v/F_m)都明显下降(图 2), 在 75min 时, 在低光强下, 低、高 CO₂ 浓度培养的极大螺旋藻, 其 F_v/F_m 值分别为初始的 54.6%、56.4%。而在高光强下, 低、高 CO₂ 浓度培养的极大螺旋藻, 其 F_v/F_m 值分别为初始的 54.5%、55.1%, 两种情况下均无明显差异(t -test, $P > 0.05$)。

$P > 0.05$), 但高浓度 CO_2 培养的极大螺旋藻其 F_v/F_m 的下降速度较慢。

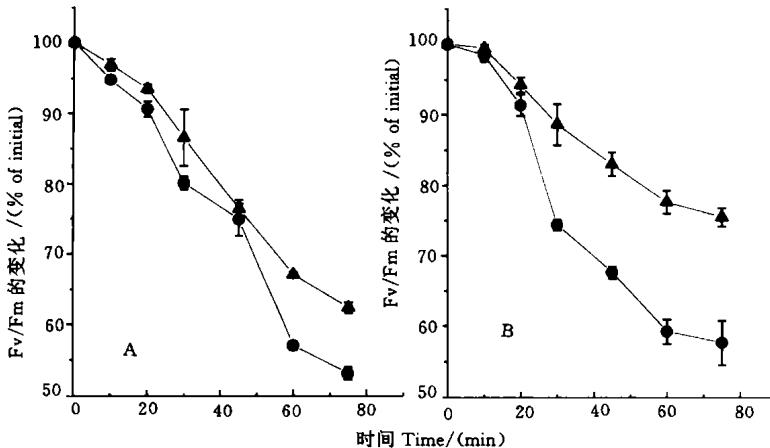


图 2 不同 CO_2 浓度培养的极大螺旋藻在高光强下 F_v/F_m 值随时间的变化 (A: 低光强生长 B: 高光强下生长, 0.5% CO_2 (●), 0.035% CO_2 (○))

Fig. 2 F_v/F_m as a function of exposure time to high PFD in *Spirulina maxima* grown in different CO_2 concentration (A: grown in low light intensities B: grown in high light intensities)

2.3 不同条件下, 光抑制后的恢复过程

两种不同培养条件下生长的极大螺旋藻, 暴露在高光强下 60min 后, 恢复的实验结果如图 3 所示, 低光强下, 低、高 CO_2 浓度下生长的极大螺旋藻, 暴露在弱光下 1h, F_v/F_m 值分别恢复到初始时的 83%、84%; 在黑暗中两者几乎没有恢复; 在弱光下, 含氯霉素的培养液中 F_v/F_m 反而下降。高光强下, 低、高 CO_2 浓度下生长的极大螺旋藻, 表现了与低光强下培养相似的恢复特征; 在弱光下, 高浓度 CO_2 培养的恢复速度稍快, 但无明显差异, 表明了高浓度 CO_2 培养对极大螺旋藻的光抑制后的恢复影响不大。

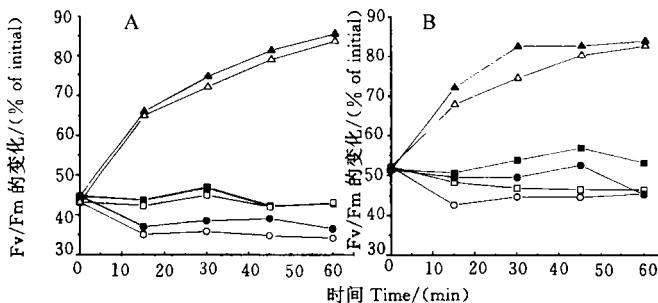


图 3 光抑制后恢复过程中 F_v/F_m 的变化 (A: 低光强下生长 B: 高光强下生长; 0.5% CO_2 (▲), 0.035% CO_2 (△), 弱光下恢复(■), 黑暗中恢复(○), 弱光+ 氯霉素下恢复(●))

Fig. 3 F_v/F_m during recovery from photoinhibition of *Spirulina maxima* in different conditions (A: grown in low light intensities, B: grown in high light intensities; 0.5% CO_2 (▲), 0.035% CO_2 (△), dim light(■), darkness(○), dim light+ chloramphenicol(●))

3 讨论

极大螺旋藻暴露在高光强下, 其光合速率明显下降, 表现了与其它植物类似的光抑制现象^[3, 4], 主要是由于光合系统吸收了超过光合作用所能利用的光能而引起 PSII 过量激发。不同植物对高光强的反应是不同的, 有的比较敏感, 有的不敏感, 这取决于 D1 蛋白在高光强下的降解程度。从图 1、2 可以看出, 以高浓度 CO₂ 培养的螺旋藻, 暴露在 2000 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 光强下 75min, 其光合速率的降低明显地比低 CO₂ 浓度培养的要慢。表明高浓度 CO₂ 培养的极大螺旋藻对高光强的耐受力得到了明显的增强。适应了高浓度 CO₂ 培养的螺旋藻细胞体内可能有抑制 D1 蛋白降解速度的机制。Powles 发现在光抑制过程中叶绿素可变荧光出现部分丧失。本研究中在高光强下 F_v/F_m 值明显下降, 表明光系统受到伤害, 然而, 不管低浓度 CO₂ 还是高浓度 CO₂ 培养的极大螺旋藻, 在强光照射 75min 后的 F_v/F_m 与初始 F_v/F_m 的比率已无显著差异, 表明螺旋藻细胞体内存在一种光保护机制。F_v/F_m 下降包含两重意思: PSII 反应中心的光化学伤害和系统提高热耗散, 后者实际上是一种保护机制。

Greer 和 Ohad、Samuelsson 等对高等植物与藻类的光抑制后的恢复进行了研究, 发现它们都具有一定的恢复能力, 只是在不同条件下恢复能力不同^[5, 6]。本研究结果表明, 不管是高浓度还是低浓度 CO₂ 培养, 极大螺旋藻经光抑制后, 在弱光下 1h 后, F_v/F_m 值均能恢复到原来的 85% 左右, 没有时滞期, 但高浓度 CO₂ 培养的极大螺旋藻的恢复速度稍快; 而在黑暗中几乎没有恢复; 在弱光下加入氯霉素(一种蛋白合成的抑制剂), 其光系统

化学活性下降, 甚至低于黑暗处理, 与 Vonshak 报道的钝顶螺旋藻光抑制后的恢复动态相似, 表明恢复过程是一个需要光能的、伴随蛋白合成的过程, 而高浓度 CO₂ 培养下的极大螺旋藻蛋白的合成速度可能稍快。Falk 和 Samuelsson 发现在衣藻受光抑制后, 在弱光下加入氯霉素后, 仍有部分的恢复^[7], 可见真核藻类与原核藻类可能存在不同的恢复机制, 对此有待于进一步的研究。

参考文献:

- [1] Vonschak A, Guy R, Photoadaptation, photoinhibition and productivity in the blue-green alga, *Spirulina platensis* grown outdoors [J]. *Plant Cell Environ.* 1992, **15**: 613—616
- [2] 夏建荣、高坤山. 高浓度 CO₂ 对极大螺旋藻生长和光合作用的影响 [J]. 水生生物学报, 2001, **25** (5): 474—480
- [3] Whitelam GC, Codd GA, Photoinhibition of photosynthesis in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* [J]. *Planta*, 1984, **157**: 561—566
- [4] Powles SB, Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light [J]. *Annu. Rev. Plant. physiol.*, 1984, **35**: 15—44
- [5] Greer DH, Berry JA, Photoinhibition of photosynthesis in intact bean leaves: environmental responses of recovery [J]. *Planta*, 1986, **168**: 253—260
- [6] Samuelsson G, Lonneborg A, Gustafsson P et al, The susceptibility of photosynthesis to photoinhibition and the capacity of recovery in high and low light grown cyanobacteria, *Anacystis nidulans* [J]. *Plant physiol.* 1987, **83**: 438—441
- [7] Falk S, Samuelsson, G. Recovery of photosynthesis and photosystem II fluorescence in *Chlamydomonas reinhardtii* after exposure to three levels of high light [J]. *Physiologia planarum*, 1992, **85**: 61—68

STUDIES ON PHOTOOHIBITION OF *SPIRULINA MAXIMA* GROWN IN HIGH CO₂ CONCENTRATION

XIA Jian-rong and GAO Kun-shan

(Key laboratory of marine biology of Guangdong province, Shantou University, Shantou 515063;

Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

Abstract: The photoinhibition and its recovery were studied in *Spirulina maxima* grown in high CO₂ concentration. *S. maxima* grown in high CO₂ concentration showed photoinhibition when exposed to high PFD, but the decrease in net photosynthesis was smaller compared to that grown in low CO₂. *S. maxima* grown in low CO₂ concentration appeared more sensitive to the high PFD treatment as compared with that grown in high CO₂ concentration. The recovery of *S. maxima* grown in different CO₂ concentrations was very similar when placed under low PFD, while no recovery was observed in the dark or under the low PFD with the presence of chloramphenicol.

Key words: *Spirulina maxima*; CO₂; Photoinhibition; Recovery

中国科学技术信息研究所统计

1999 年按被引频次和影响因子排序的前 20 名生物学类期刊

名次	期刊名称	被引频次	名次	期刊名称	影响因子
1	植物学报	1639	1	植物学报	0.809
2	植物生理学通讯	1132	2	遗传学报	0.723
3	植物生理学报	741	3	植物生态学报	0.620
4	生物化学与生物物理进展	646	4	植物生理学报	0.604
5	遗传学报	644	5	实验生物学报	0.556
6	植物生态学报	615	6	生物化学与生物物理学报	0.464
7	生物化学与生物物理学报	461	7	生物工程学报	0.452
8	昆虫学报	447	8	人类学学报	0.446
9	动物学报	413	9	生物多样性	0.415
10	植物分类学报	409	10	水生生物学报	0.391
11	微生物学报	401	11	微生物学报	0.381
12	云南植物研究	400	12	生物物理学报	0.380
13	中国生物化学与分子生物学报	385	13	动物学报	0.377
14	水生生物学报	378	14	中国生物化学与分子生物学报	0.372
15	生理学报	355	15	植物生理学通讯	0.365
16	生物工程学报	345	16	云南植物研究	0.363
17	遗传	323	17	生理学报	0.360
18	微生物学通报	300	18	细胞生物学杂志	0.344
19	动物学研究	299	19	植物分类学报	0.313
20	昆虫知识	295	20	动物学研究	0.311