

赤潮藻中肋骨条藻的光合作用对海水 pH 和 N 变化的响应

陈雄文^{1,3} 高坤山²

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2 汕头大学海洋生物研究所, 汕头 515063;

3. 湖北师范学院生物系, 黄石 435002)

摘要: 为探讨赤潮发生时中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)的光合作用生理变化,研究了不同无机氮(N)水平上,海水 pH 值升高对其胞外碳酸酐酶(CA)和光合生理特性的影响。海水 pH 从 8.2 升至 8.7 时,中肋骨条藻胞外 CA 被诱导,细胞对无机碳的亲和力($1/K_m$)提高;在 pH 8.7 时,高 N 条件下的胞外 CA 活性是低 N 条件下的 3 倍, $1/K_m$ 值也提高了 80%。单位叶绿素 a 的最大净光合能力(P_m^a)在不同 pH 和 N 水平上没有显著差异;但单位细胞的最大净光合能力(P_m^c)提高了 100%。这些结果表明,赤潮发生时,中肋骨条藻通过启动无机碳浓缩机制(CCM),提高细胞对无机碳利用效率,使其在低 CO_2 (高 pH)环境下维持光合机构正常运行;充足的 N 源有利于提高 CCM 的效率,从而提高 CO_2 环境下的光合固碳能力。

关键词: 中肋骨条藻; 胞外碳酸酐酶; 赤潮; 光合作用; 无机碳亲和力

中图分类号: Q945.17 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-3207(2004)06-0635-05

富营养化是赤潮发生的物质基础。在富营养化的海区(如上升流,河口区以及人工增养殖区等)高浓度无机氮(N)和磷(P)往往是引发赤潮的主要原因之一。然而富营养化与赤潮的关系较复杂,不同赤潮生物其大量繁殖对 N, P 的需要呈明显不同^[1-3]。因此,研究富营养化(如 N, P)与赤潮生物生理生态特性的关系是十分必要的。

光合固碳是浮游植物物质产生的基础。其活性的大小对该生物的生长以及对环境变化的能力有重要影响。在海洋环境中, CO_2 是浮游植物无机碳主要利用形式^[4,5],在海水 pH 8.2 时, CO_2 分子占海水无机碳(2.0 mmol/L)的 0.5% (约为 10 μ mol/L),而在海水 pH 8.7 时,则仅有 0.12% (约 2.5 μ mol/L),为了提高利用 CO_2 的能力,浮游植物及大型藻类在长期进化中形成了主动运输 CO_2 ,或借助碳酸酐酶转化 HCO_3^- 为 CO_2 ,或直接吸收 HCO_3^- 的生理机制^[6-10]。

赤潮发生时,由于水体中赤潮生物大量繁殖导致该区域海水 pH 发生显著变化,海水 pH 从正常的 8.0—8.2 上升至 8.5—8.7,有些地区甚至可以达到 pH 8.9^[11]。伴随着海水 pH 急剧上升,海水无机碳形态发生改变,其中 CO_2 浓度将几倍的下降。因此赤

潮发生时,无机碳可利用性成为限制浮游植物生长的重要因素^[11]。赤潮生物光合生理如何适应这种显著变化是关系到赤潮生物生存的重要因子之一。

中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)是一种海洋浮游硅藻,它广泛分布于世界各大洋的近海海域。中肋骨条藻赤潮在我国黄,东,南海近海海域曾多次发生过^[2,12-14]。室内培养和现场监测实验表明,温度、光强和丰富的营养盐(N, P, Fe, Si)与中肋骨条藻赤潮密切相关^[13,14]。但对于在赤潮发生时中肋骨条藻的光合生理还缺乏研究。本文研究了在不同 N 水平上中肋骨条藻的光合生理与 pH 变化的关系。

1 材料与方法

1.1 细胞培养 中肋骨条藻(*S. costatum* (Greville) Cleve),菌株编号 2042,由中国科学院海洋研究所提供。细胞在温度为 20℃,光强为 210 μ mol $m^{-2} s^{-1}$ (光照周期为 12:12LD)的条件下静止培养,密度为 1—4 $\times 10^7$ cells/L。培养液为加富的天然海水。海水取自汕头南澳岛近海,其含 N 量约为 10 μ mol/L (主要为 NO_3^-),低 N 培养液用改良的 f/2 培养液(不含 N),高 N 培养液用含 300 μ mol/L KNO_3 的 f/2 培养液

收稿日期: 2003-06-11; 修订日期: 2004-05-20

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(39830060)资助

作者简介: 陈雄文(1970—),男,湖北省黄梅县人,博士,主要从事藻类光合生理研究

通讯作者: 高坤山, E-mail: Kgao@stu.edu.cn

加富。培养液的 pH 值用 HCl 或 NaOH 调节至 8.2 或 8.7, 培养液 24h 更换一次(用细菌过滤器过滤细胞再用新鲜培养液悬浮)。在光照 3—6h 内搜集对数期的细胞用于实验分析。

1.2 碳酸酐酶活性测定 按照 Wilber 和 Anderson 的方法^[15]用 pH 电极测定碳酸酐酶活性。胞外碳酸酐酶的测定用活体完整细胞。活性测定在温度为 4℃ 的电极反应槽中进行。搜集的细胞洗涤、悬浮在 20mmol/L 巴比妥缓冲的海水中(pH8.2)。取 0.5mL 细胞悬浮液(约含 $1-2 \times 10^7$ cells)加入到 4mL 20mmol/L 巴比妥缓冲的海水中(pH8.2), 再加入 2mL CO₂ 饱和的、0℃ 的蒸馏水后, 记录 pH 计读数从 8.2 下降到 7.2 所需的时间。酶的活性用公式 $EU = 10^* (T_o / T - 1)$ 求出, T_o 和 T 分别代表加入细胞悬浮液和细胞悬浮液 + 100μmol/L AZ 时 pH 下降的反应时间。AZ(Acetazolamide)是非膜透性的胞外碳酸酐酶专一性抑制剂^[16]

1.3 细胞计数和叶绿素含量测定 细胞数目在显微镜下用血球计数板计数。叶绿素 a 含量用 90% 丙酮抽提, 用分光光度计按照 Jeffrey 和 Humphrey 方法^[17]测定并计算。

1.4 光合放氧测定 光合放氧的测定装置为 Clark-型氧电极(YSI 5300, 美国)。收集的藻细胞悬浮在 20mmol/L Tris HCl 缓冲液中(pH8.2)。取 5mL 悬浮液(约 $1-2 \times 10^7$ 个细胞)转移至电极反应槽, 反应槽的温度控制在 20℃。通过改变灯与反应槽之间的距离获得不同的光照强度, 光源为卤素灯(500W)。

光合参数(P_m , R_d , α)由光强依赖的光合放氧反应曲线按照 Jassby 和 Platt 方程^[18]拟合求得:

$$P = P_m * \tanh(\alpha * I / P_m) + R_d,$$

I , 光照强度; P , 净光合速率; P_m , 饱和光强下的最大净光合速率; α , 表观光量子效率; R_d , 暗呼吸速率。

1.5 无机碳依赖的光合放氧测定 为了测定光合作用速率与海水无机碳(DIC)的关系, 参照 Gao 等的方法^[19]制备了无碳海水(含 20mmol/L Tris, pH8.2)。将细胞悬浮在无碳海水后, 取 5mL 置于反应槽中。在 $400\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 光强下, 让细胞耗竭细胞内无机碳源(净放氧速率达到 0), 然后, 加入不同量的 NaHCO₃ 调整 DIC 浓度, 并测定其放氧速率。 $K_m\text{DIC}$ 或 $K_m\text{CO}_2$ (达到最大净光合速率一半时的 DIC 或 CO₂ 浓度)根据 Michaelis-Menten 方程拟合求得:

$$V = V_m * [s] / (K_m + [s]),$$

$[s]$, DIC 或 CO₂ 浓度; V , 一定无机碳浓度下的净光合放氧速率; V_m , 饱和无机碳浓度下的净光合放氧速率。一定 DIC 浓度条件下的 CO₂ 浓度按照陈镇东的方法^[20]计算。

2 结果

2.1 胞外碳酸酐酶活性及其诱导过程

在 pH8.7 水平上, 高 N 条件下中肋骨条藻胞外碳酸酐酶活性最高($0.12 \pm 0.01 \text{ EU} / 10^6 \text{ cells}$), 低 N 条件下其活性降低了 70%; 在 pH8.2 时, 低 N 条件下其活性仅占 pH8.7+ 高 N 最大活性的 3% (图 1)。当细胞从 pH8.2 转至 pH8.7 时, 其胞外 CA 被诱导, 且其活性变化速度在高 N 比低 N 条件下快(图 2)。

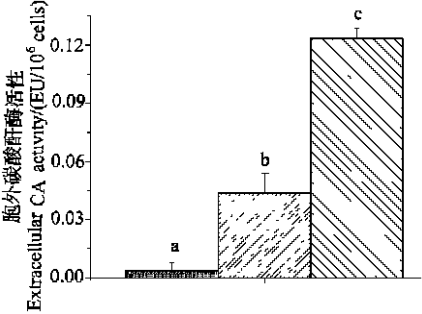


图 1 在 pH8.2+ 低 N、pH8.7+ 低 N 和 pH8.7+ 高 N 条件下培养的中肋骨条藻的胞外 CA 活性(n= 3)
a. pH8.2+ 低 N; b. pH8.7+ 低 N; c. pH8.7+ 高 N
Fig 1 Extracellular CA activities of *S. costatum* grown at pH8.2+ low N (a), pH8.7+ low N (b) and pH8.7+ high N (c)

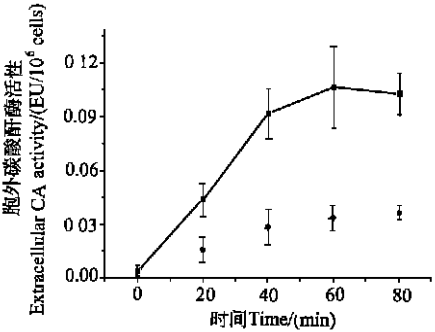


图 2 在 pH8.2+ 低 N 条件下培养的中肋骨条藻细胞转入 pH8.7+ 低 N (●—●) 或 pH8.7+ 高 N (■—■) 条件下培养时, 其胞外 CA 活性的变化(n= 3)
Fig 2 Changes of extracellular CA activities during acclimation of *S. costatum* cells grown at pH8.2+ low N to pH8.7+ low N or pH8.7+ high N

2.2 净光合作用速率对光与无机碳浓度变化的响应 单位叶绿素 a 的最大净光合速率(P_m^a)和表观量子效率(α^a)在三种培养条件下均无显著差异($P > 0.5$), 但暗呼吸速率(R_d^a)在 pH8.7+ 高 N 条件下显

著降低(图 3a 和表 1); 而从单位细胞的最大净光合速率来看, 三种培养条件下细胞的 R_d^a ($P > 0.5$) 和 α^c ($P > 0.1$) 均无显著变化, 但单位细胞的最大光合能力(P_m^c) 在 pH8.7+ 高 N 条件下是低 N+ pH8.2 和 pH8.7 条件下的 2 倍(图 3b 和表 1)。

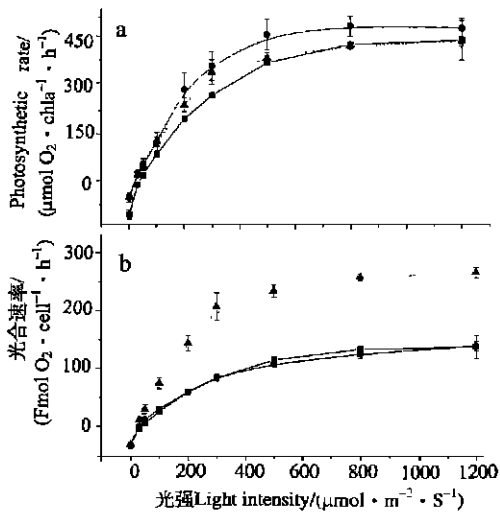


图 3 中肋骨条藻光合作用对光强的响应曲线 a) 单位叶绿素 a 的光合放氧速率; b) 单位细胞的光合放氧速率(n=3)

Fig 3 Photosynthetic oxygen evolution as a function of irradiance for *S. costatum* grown at pH8.2+ low N(—■—) and pH8.7+ low N(—●—) and pH8.7+ high N(—▲—). a) Chl a specific photosynthetic rate, b) Cell specific photosynthetic rate

表 1 中肋骨条藻生长在 pH8.2+ 低 N, pH8.7+ 低 N 和 pH8.7+ 高 N 条件下, 其光合作用特性的主要参数(n=3)

Tab. 1 The main parameters of photosynthetic characteristics for <i>S. costatum</i> grown at pH8.2+ low N, pH8.7+ low N and pH8.7+ high N			
光合参数	pH8.2+ 高 N	pH8.7+ 低 N	pH8.7+ 高 N
Photosynthetic parameters	pH8.2+ high N	pH8.7+ low N	pH8.7+ high N
P_m^a	445±64 ^a	463±26	442±16
P_m^c	(136±20) ^b	(137±8)	(246±10)
R_d^a	-107±15 ^a	-110±7	-51±8
R_d^c	(-33±5) ^b	(-32±2)	(-31±5)
α^a	1.5±0.1 ^a	1.5±0.1	1.7±0.2
α^c	(0.8±0.1) ^b	(0.9±0.1)	(1.0±0.1)

注: ^a 以叶绿素 a 为单位; ^b 以细胞数为单位

在 pH8.2+ 低 N, pH8.7+ 低 N 和 pH8.7+ 高 N 条件下生长的中肋骨条藻, 其 DIC 的半饱和常数 K_m DIC 分别为 252 ± 50 , 151 ± 17 和 $84 \pm 17 \mu\text{mol/L}$; 其 CO_2 的半饱和常数 $K_m \text{CO}_2$ 分别为 1.5 ± 0.3 , 0.9 ± 0.1 和 $0.5 \pm 0.1 \mu\text{mol/L}$, 表明细胞对 DIC 或 CO_2 的亲和力在 pH8.7+ 高 N 条件下最高, 与 pH8.7+ 低 N 和 pH8.2+ 低 N 条件下相比分别提高了 80% 和 200% (图 4)。

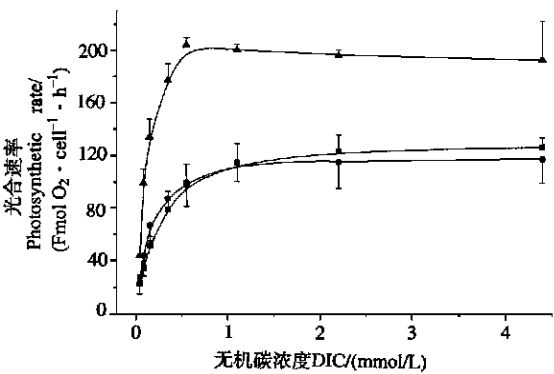


图 4 培养在 pH8.2+ 低 N, pH8.7+ 低 N 和 pH8.7+ 高 N 条件下的中肋骨条藻光合作用对无机碳浓度的响应曲线(n=3-4)

Fig 4 Photosynthetic oxygen evolution as a function of DIC for *S. costatum* grown at pH8.2+ low N(—■—), pH8.7+ low N(—●—) and pH8.7+ high N(—▲—)

2.3 细胞叶绿素 a 含量

中肋骨条藻生长在 pH8.2+ 低 N 条件下其叶绿素 a (chl a) 含量为 $0.31 \pm 0.04 \mu\text{g chl a } 10^6 \text{ cell}^{-1}$ 。pH8.7+ 低 N 和高 N 条件下分别为 0.29 ± 0.06 和 $0.60 \pm 0.05 \mu\text{g chl a } 10^6 \text{ cell}^{-1}$ 。低 N 条件下细胞叶绿素 a 含量为高 N 条件下的 50%。

3 讨论

胞外碳酸酐酶是存在于胞质空间(细胞质膜与细胞壁之间)碳酸酐酶(CA)。它催化 HCO_3^- 脱水形成 CO_2 , CO_2 经过扩散或主动运输进入细胞。在微藻中胞外 CA 经常是在碳限制条件下诱导形成, 是为适应环境变化而长期进化的结果^[11, 21, 22]。本文实验结果表明, 中肋骨条藻在海水 pH 从 8.2 升至 8.7 时, 其胞外 CA 被诱导, 但高 N 比低 N 条件下其诱导速度快, 达到稳定时其胞外 CA 活性高。海水 pH 从 8.2 升至 8.7 时, 其总无机碳(DIC)和重碳酸盐($\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-}$)无明显变化(约为 2.0 mmol/L), 但 CO_2 浓度却从 $10 \mu\text{mol/L}$ 下降至 $2.5 \mu\text{mol/L}$ 。这表明中肋骨条藻胞外 CA 活性诱导受 CO_2 , 以及 N 浓度影响。同样, 图 4 的结果表明细胞对外源无机碳的亲合力($1/K_m$)也受 CO_2 和 N 的浓度影响。胞外 CA 是无机碳浓缩机制(CCM)的重要组成部分, 其活性大小与 $1/K_m$ 值密切相关^[9]。当细胞从 pH8.2 转入 pH8.7 时, 由于胞外 CA 的诱导合成, 增加了 CO_2 可利用性, 故提高了 $1/K_m$ 值。

光合作用光响应曲线参数是衡量光合生理特性的重要指标^[23, 24]。细胞从 pH8.2 转入 pH8.7 时, 无论高 N 还是低 N 条件下, 其单位 chl a 的最大光合能

力(P_m^a)和表观光量子效率(α^a)均无明显变化,表明细胞有较强的适应低 N 能力。在低 N 条件下,通过减少 chl a 的合成,降低其含量,达到减少对光能的吸收,防止过量光能对光合机构的破坏,从而维护其光合机构正常运行。但低 N 条件下,由于单位细胞中 chl a 含量下降,因此单位细胞的最大光合能力(P_m^c)下降,这表明低 N 条件下细胞的实际光合固碳量减少。

赤潮发生时,由于适宜的环境条件(如光照充足,较高的温度和营养盐)浮游植物开始大量繁殖,光合作用的固碳作用导致表层海水中无机碳浓度下降^[13,25]。而平静的海面(赤潮发生时海面一般风力较小)降低了水气界面 CO₂ 的通量,这进一步加剧了表层海水中无机碳的下降^[26]。随着赤潮的发展,海水 pH 显著升高,海水无机碳形态发生变化,其中 CO₂ 下降最为显著。当海水从 pH8.2 升至 pH8.7 时 CO₂ 浓度下降了 4 倍。因此一些不能适应低无机碳,特别是低 CO₂ 环境的浮游植物其光合能力下降,生长受到抑制。而能够快速适应这种环境的浮游植物其光合能力和生长得以维持。中肋骨条藻具有适应低 CO₂ 浓度(高 pH)机制。当海水从 pH8.2 升至 8.7(CO₂ 浓度从 10 μ mol/L 下降至 2.5 μ mol/L)时,通过启动 CCM,提高细胞对外源无机碳的亲合力,从而能够有效地克服低 CO₂ 环境,维持细胞的正常光合作用,这将使得它在竞争中确立优势,形成中肋骨条藻赤潮。同时本文结果还表明,N 的浓度对中肋骨条藻的适应机制有重要影响。在低 N 条件下,细胞的胞外 CA 活性和无机碳亲合力与高 N 条件下相比明显下降,从而导致细胞的光合固碳能力(P_m^c)明显下降。

在海水中,除 N 源以外,磷(P),铁(Fe)等营养盐与中肋骨条藻赤潮发生也密切相关^[13,14]。P 是光合磷酸化不可缺少的元素。Fe 是光合机构中一些重要酶的辅基^[27]。合适的 N/P 比例有利于海洋浮游植物的生长^[8]。Fe 的缺乏往往导致浮游植物光合能力下降,不能充分利用海水中的 N 源,如赤道太平洋高氮低叶绿素(HNLC)海域^[28]。因此进一步研究这些营养盐在赤潮发生时对中肋骨条藻光合生理的影响,有利于充分了解富营养化在中肋骨条藻赤潮发生时的作用机理。

参考文献:

[1] Millie D F, Dionigi C P, Schofield O, *et al.* The importance of understanding the molecular, cellular, and ecophysiological bases of harmful algal blooms[J]. *J. Phycol.*, 1999, **35**: 1353—1355

[2] Zhou M J, Zhu M Y, Zhang J. Status of harmful algal blooms and related research activities in China [J]. *Chin. Bull. Life Sci.*, 2001, **13**(2): 54—59[周名江,朱明远,张经.中国赤潮的发生趋势和研究进展.生命科学,2001, **13**(2): 54—59]

[3] Paerl H W. Coastal eutrophication and harmful algal blooms: importance of atmospheric deposition and groundwater as “new” nitrogen and other nutrient sources [J]. *Limnol. Oceanogr.*, 1997, **42**: 1154—1165

[4] Riebesell U, Wolf Gadow D A, Smetacek V. Carbon dioxide limitation of marine phytoplankton growth rates[J]. *Nature*, 1993, **361**: 249—251

[5] Hein M, Jensen K S. CO₂ increases oceanic primary production[J]. *Nature*, 1997, **388**: 526—527

[6] Raven J A, Johnston A M. Mechanisms of inorganic carbon acquisition in marine phytoplankton and their implications for the use of other resources [J]. *Limnol. Oceanogr.*, 1991, **36**: 1701—1714

[7] Badger M R, Price G D. The role of carbonic anhydrase in photosynthesis [J]. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1994, **45**: 369—392

[8] Tortell P D, Reinfelder J R, Morel F M M. Active uptake of bicarbonate by diatoms [J]. *Nature*, 1997, **390**: 243

[9] Kaplan A, Reinhold L. CO₂ concentrating mechanisms in photosynthetic microorganisms [J]. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1999, **50**: 539—570

[10] Zou D, Gao K. Photosynthetic bicarbonate utilization in *Porphyra taiwanensis* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. *Chin. Sci. Bull.*, 2002, **47**(19): 1629—1634

[11] Hobson L A, Hanson C E, Holdon C. An ecological basis for extracellular carbonic anhydrase in marine unicellular algae [J]. *J. Phycol.*, 2001, **37**: 717—723

[12] Liang S, Qian H L, Qi Y Z. Problem on the red tide in Coastal China Sea [J]. *Ecologic Science*, 2000, **19**(4): 44—50[梁松,钱宏林,齐雨藻.中国沿海的赤潮问题.生态科学,2000, **19**(4): 44—50]

[13] Huo W Y, Yu Z M, Zou J Z, *et al.* Outbreak of *Sketonema costatum* red tide and its relations to environmental factors in Jiao Zhou Bay [J]. *Oceanologia. Limnologia. Sinica.*, 2001, **32**(3): 311—318[霍文毅,俞志明,邹景忠,等.胶州湾中肋骨条藻赤潮与环境因子的关系.海洋与湖沼,2001, **32**(3): 311—318]

[14] Hong J C, Huang X Q, Jiang X S, *et al.* Analysis of environmental factors during occurrence of *Sketonema costatum* red tide in Changjiang river Estuary the nutrient state [J]. *Oceanologia. Limnologia. Sinica.*, 1994, **25**(2): 179—185[洪君超,黄秀清,蒋晓山,等.长江口中肋骨条藻赤潮发生过程环境要素分析—营养盐状况.海洋与湖沼,1994, **25**(2): 179—185]

[15] Wilbur K M, Anderson N G. Electrometric and colorimetric determination of carbonic anhydrase [J]. *J. Biol. Chem.*, 1948, **176**: 147—154

[16] Moroney J V, Bartlett G, Samuelsson G. Carbonic anhydrase in plant and algae [J]. *Plant Cell Environ.*, 2001, **24**: 141—153

[17] Jeffrey S W, Humphrey G F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c₁ and c₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton [J]. *Biochem. Physiol. der Pflanzen*, 1975, **167**: 191—194

[18] Jassby A D, Platt T. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton [J]. *Limnol.*

- Oceanogr.*, 1976, **21**: 540—547
- [19] Gao K, Anuga Y, Asada K, *et al.* Calcification in the articulated coralline alga *Corallina pilulifera*, with special reference to the effect of elevated CO₂ concentration[J]. *Mar. Biol.*, 1993, **117**: 129—132
- [20] Zhang Z B, Chen Z D, Liu L S, *et al.* Principles and application of marine chemistry Marine chemistry in the coastal water of China[M]. Beijing: Marine Press, 1999, 106—111[张正斌, 陈镇东, 刘莲生, 等. 海洋化学原理和应用 中国近海的海洋化学. 北京: 海洋出版社, 1999, 106—111]
- [21] Tortell P D. Evolutionary and ecological perspectives on carbon acquisition in phytoplankton[J]. *Limnol. Oceanogr.*, 2000, **45**: 744—750
- [22] Wu T, Song L, Liu Y. Characterization of carboxysomal carbonic anhydrase in cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC7120[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1999, **23**(5): 409—413[吴天福, 宋立荣, 刘永定. 蓝藻 *Anabaena* sp. PCC7120 羧体碳酸酐酶的鉴定. 水生生物学报, 1999, **23**(5): 409—413]
- [23] MacIntyre H L, Kana T M, Anning T, *et al.* Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria[J]. *J. Phycol.*, 2002, **38**: 17—38
- [24] Xia J, Gao K. Effects of high CO₂ concentration on growth and photosynthesis of *Spirulina maxima* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, **25**(5): 474—480[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. 水生生物学报, 2001, **25**(5): 474—480]
- [25] Ibelings B W, Maberly S C. Photoinhibition and the availability of inorganic carbon restrict photosynthesis by surface blooms of cyanobacteria [J]. *Limnol. Oceanogr.*, 1998, **43**: 408—419
- [26] Portielje R, Lijklema L. Carbon dioxide fluxes across the air water interface and its impact on carbon availability in aquatic systems[J]. *Limnol. Oceanogr.*, 1995, **40**: 690—699
- [27] Falkowski P G, Raven J A. Aquatic photosynthesis[M]. Malden: Blackwell Science 1997, 128—162
- [28] Sunda W G, Huntsman S A. Interrelated influence of iron, light and cell size on marine phytoplankton growth[J]. *Nature*, 1997, **390**: 389—391

RESPONSE OF PHOTOSYNTHESIS OF THE BLOOM FORMING MARINE DIATOM *SKELETONEMA COSTATUM* TO CHANGES IN pH AND INORGANIC NITROGEN CONCENTRATIONS IN SEAWATER

CHEN Xiong-Wen^{1,3} and GAO Kun-Shan²

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

2. Marine Biology Institute, Shantou University, Shantou 515063

3. Department of Biology, Hubei Normal University, Huangshi 435002)

Abstract: The bloom forming marine diatom *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve (strain No. 2042) was cultured under different levels of pH and inorganic nitrogen (N) at 20°C and 210 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (12: 12/L: D) and its extracellular carbonic anhydrase (CA) and photosynthetic O₂ evolution were investigated in order to see its physiological response to changes in pH under high N (300 $\mu\text{mol/L}$) and low N (10 $\mu\text{mol/L}$) levels during *S. costatum* bloom. The extracellular CA activity was assayed by the potentiometric method, and the photosynthetic O₂ evolution was determined by a Clark-type Oxygen Electrode. When pH in seawater rose from 8.2 to 8.7, the extracellular CA activity was induced and photosynthetic CO₂ affinity ($1/K_m$) increased, and, at pH 8.7, the extracellular CA activity and photosynthetic CO₂ affinity at the high N level were 2-times and 80% higher than those at the low N level, respectively. The chl *a* specific light-saturated photosynthetic rates (P_m^a) were no significant differences under different pH and N levels, but the cell specific light-saturated photosynthetic rates (P_m^c) was 100% higher at the high N level than at the low N level; By contrast, the cell specific dark respiratory rates (R_d^c) were insignificant differences among the different pH and N levels, but the chl *a* specific dark respiratory rates (R_d^a) were 1-fold higher at the low N level than at the high N level. The apparent photosynthetic efficiencies (α) were not significantly different for the alga grown among the different pH and N levels. The cellular chl *a* content was 1-fold higher at high-N-grown cells than at low-N-grown cells, but it was not affected by the pH changes. It was concluded that the alga increased the activities of extracellular CA and photosynthetic CO₂ affinity with the rise of pH in seawater (or the decrease of CO₂ in seawater), but their activities were higher at high N level than at low N level, suggesting that, during occurrence of the bloom, *S. costatum* could develop the inorganic carbon concentration mechanism (CCM) to elevate the efficiency of inorganic carbon utilization, and to maintain the photosynthetic activity under low CO₂ condition. The depleted N was benefited to improve the efficiency of CCM and then enhance the capacity of photosynthetic CO₂ fixation under low CO₂ (high pH) condition.

Key words: *Skeletonema costatum*; Bloom; Extracellular carbonic anhydrase; Photosynthetic CO₂ affinity; Photosynthesis