

高浓度 CO₂ 对极大螺旋藻生长和光合作用的影响

夏建荣 高坤山

(汕头大学海洋生物实验室, 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, 研究了高 CO₂ 浓度对极大螺旋藻的生长和光合作用效应, 结果表明在高光强下 ($400\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), 高浓度 CO₂ 对其生长和光合作用有明显的影 响, 高浓度 CO₂ 培养下, 螺旋藻的比生长速率是低浓度 CO₂ 培养的 1.2 倍; 而在低光强下, 高 浓度 CO₂ 对其生长和光合作用无明显影响。两种不同 CO₂ 浓度和光强下培养的极大螺旋 藻, 在不同的生长时期, 分别测定其 P-I 曲线, 结果表明低光强下培养的极大螺旋藻, 在 5d、 8d、 11d, 两者的 I_k 、 α 值均无显著差异, P_{max} 在第 5d、11d 差异不显著, 但在第 8d 有显著差异。 而在高光强培养条件下, 第 8、11d 通高浓度 CO₂ 培养的极大螺旋藻, 其 P_{max} 、 α 值明显大于通 低浓度 CO₂ 培养的极大螺旋藻, 但两者在第 5d 无明显差异。

关键词: 极大螺旋藻; CO₂; 生长; 光合作用

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2001)05-0474-07

藻类与高等植物一样, 在细胞内利用核酮糖二磷酸羧化氧化酶固定 CO₂, 但其光合作 用的碳源并不限于 CO₂, 有些藻类具有利用 HCO₃⁻ 的能力, 即通常借助细胞表面的碳酸 酐酶将 HCO₃⁻ 转化为 CO₂, 并加以固定^[1]。由于 CO₂ 是光合作用的底物, 所以人们在藻 类培养过程中经常添加高浓度的 CO₂。小球藻培养液中添加高浓度 CO₂, 其生长明显加 快^[2]; 在条斑紫菜、江篱的培养过程中添加不同浓度的 CO₂ ($350-1600\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$), 添加浓度 越高, 紫菜、江篱的生长越快^[3,4]。林惠民等研究发现盐泽螺旋藻在培养液中添加 2.5% CO₂, 其世代时间明显缩短^[5]。但研究者又发现高浓度 CO₂ 培养条件下, 其光合生理特征 与通低浓度 CO₂ 相比, 有明显的变化, 主要表现在对 CO₂ 的亲合力下降, pH 补偿点下降 和 CO₂ 补偿点升高^[6]。

螺旋藻作为一种高蛋白的保健食品已经越来越受到人们的欢迎, 许多国家和地区纷 纷开展大规模的培养实验和商品性生产^[7,8]。在螺旋藻培养过程中, 供给充足的碳源对 于维持其快速生长非常重要。一般人工大量培养螺旋藻, 以 NaHCO₃ 的方式供给碳 源^[9,10], 但以此方式供给碳源, 培养成本偏高, 而若在培养过程中适当添加高浓度 CO₂, 既

收稿日期: 2000-03-17; 修订日期: 2001-04-02

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

作者简介: 夏建荣(1968—), 男, 浙江海宁人; 汕头大学海洋生物实验室助理研究员, 中国科学院水生生物研究所 在职博士生; 从事藻类生理生化方面的研究

可以大幅度降低成本, 又使碳源利用率得到提高^[11]。但有关螺旋藻培养液中添加高浓度 CO₂ 后对极大螺旋藻的光合生理效应的影响还未见详细报道, 本研究的目的是探讨添加高浓度 CO₂ 对极大螺旋藻生长和光合特征的影响, 因为在其它植物中低光强和高光强条件下有所不同, 所以设两种光强, 以观察 CO₂ 的真实效应。

1 材料与方法

1.1 材料 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 生物量测定 将培养至对数期的等量藻种(生物量密度 0.089mg•L⁻¹), 分别接入 2 个 1000mL 培养瓶, 置于 30℃ 的培养箱中, 光暗周期= 12: 12, 实验分两组: 1) 光强 100μmol m⁻²s⁻¹, 分别通低浓度 CO₂(空气) 和高浓度 CO₂(含 0.5% CO₂ 的空气), 流量为 0.3—0.4Lmin⁻¹。2) 光强 400μmol m⁻²s⁻¹, 低浓度 CO₂(空气) 和高浓度 CO₂(含 0.5% CO₂ 的空气), 流量为 0.3—0.4Lmin⁻¹。每隔 1d 取 10mL 藻液, 过滤, 在 80℃ 的烤箱烤 24h, 测定干重(DW)(每组三个重复)。

比生长速率(μ) = (log₂DW_{t2} - log₂DW_{t1}) / t₂ - t₁

1.3 P- I 曲线的测定 将等量的藻种分别接入 2 个 200mL 培养瓶, 在以上 1.2 的条件下培养, 分别在第 5d、8d、11d, 取一定量的藻液过滤, 在藻泥中加入新鲜培养基, 使藻液的叶绿素浓度达到 2.5μ gmL⁻¹。光合速率测定在反应槽中进行, 水温 30℃, 不同的光强下(光照由碘钨灯提供, 光强通过调节光源与反应槽的距离来控制), 用氧电极测定光合放氧量。按 MacKinney^[12] 方法测定叶绿素 a。

2 结果

2.1 高浓度 CO₂ 对极大螺旋藻生长的影响

从图 1、表 1 可知, 低光强下, 培养 12d 后, 通低浓度 CO₂ 和高浓度 CO₂ 培养的藻的生物量密度分别为 2.18g (DW) L⁻¹ 和 2.33g (DW) L⁻¹, 比生长速率分别为 0.294d⁻¹ 和 0.319d⁻¹, 两者无明显差异 (P> 0.05)。而在高光强下, 培养 12d 后, 两者的生物量密度分别为 2.69g (DW) L⁻¹、4.32g (DW) L⁻¹, 后者是前者的 1.6 倍, 比生长速率分别为 0.394d⁻¹ 和 0.475d⁻¹, 两者有显著差异 (P< 0.05)。由此可见, 高光强下, 培养液中通入高浓度的 CO₂, 对极大螺旋藻的生长有很大的促进作用, 而低光强下, 高浓度 CO₂ 培养对极大螺旋藻生长的影响不大。

表 1 不同培养条件下极大螺旋藻比生长速率

Tab. 1 Specific growth rate of <i>S. maxima</i> in different culture conditions		
Parameter	μ (specific growth rate)	μ (specific growth rate)
Light intensity	(100μmol m ⁻² s ⁻¹)	(400μmol m ⁻² s ⁻¹)
0.035% CO ₂	0.294±0.044	0.394±0.079
0.5% CO ₂	0.319±0.048	0.475±0.075
T - test (n= 3)	P> 0.05	P< 0.05

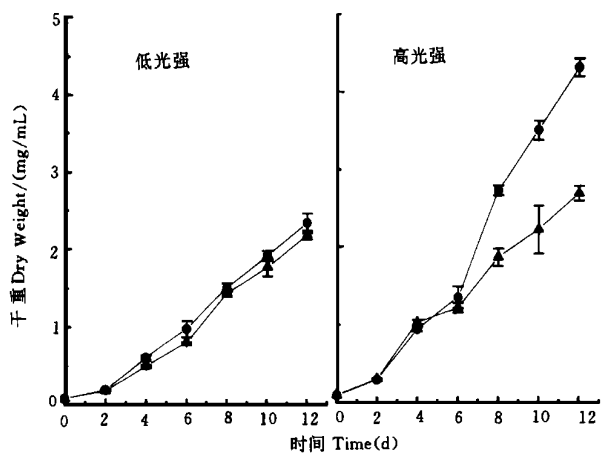


图 1 低光与高光强条件下, 高浓度 CO₂ 对极大螺旋藻生长的影响(0.5% CO₂(●), 0.035% CO₂(▲))

Fig. 1 Effects of high CO₂ concentration on the growth of *S. maxima* under low and high light

2.2 P- I 曲线

2.2.1 低光强下培养的极大螺旋藻的 P- I 曲线 从图 2 和表 2 可以看出, 极大螺旋藻光合作用光饱和起始点约为 $250\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 在光强达到 $1000\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 时未出现光抑制现象。在光强 $100\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 两者的光合速率相似。不管是高浓度 CO₂ 培养还是低 CO₂ 浓度培养, P_{max} 值在第 8d 达到最大, 分别为 615.8 和 $552.9\mu\text{molO}_2\text{mgchla}^{-1}\text{h}^{-1}$ 。在同一天的取样测定中, 高 CO₂ 浓度培养, 其 P_{max} 值均略大于低浓度 CO₂ 培养的, 在第 8d 两者差异明显 ($P < 0.05$), 而 α 值和 I_k 值均无明显差异。由此可见, 在低光强培养条件下, 高浓度 CO₂ 培养对 α 和 I_k 值影响不大。

表 2 低光强下生长的极大螺旋藻在不同培养时间的 P- I 曲线的各项参数(P_{max}: 最大光合速率($\mu\text{molO}_2\text{mgchla}^{-1}\text{h}^{-1}$)) α : 光合作用效率($\mu\text{molO}_2\text{mgchla}^{-1}\text{h}^{-1}/\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) I_k : 光合作用饱和光强($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)

Tab. 2 Photosynthetic parameter of *S. maxima* grown in low light conditions (P_{max}: Maximum photosynthetic rate, α : Initial slope, I_k : Saturating irradiance level)

day	5		8		11	
Parameters	0.5%CO ₂	0.035% CO ₂	0.5% CO ₂	0.035%CO ₂	0.5% CO ₂	0.035% CO ₂
P _{max} (n= 3)	540.5±9.3	524.7±7.3	615.8±6.8	552.9±3.9	581.0±9.0	542.0±6.8
α (n= 3)	2.17±0.03	2.28±0.08	2.40±0.02	2.33±0.05	2.41±0.04	2.35±0.10
I_k (n= 3)	253±6	235±11	264±2	245±4	246±6	248±13

2.2.2 高光强培养条件下极大螺旋藻的 P- I 曲线 在高光强培养条件下, 不同的生长时期(第 5、8、11d), 其光合作用 P- I 曲线的各项参数如图 3、表 3 所示, 在测定光强为

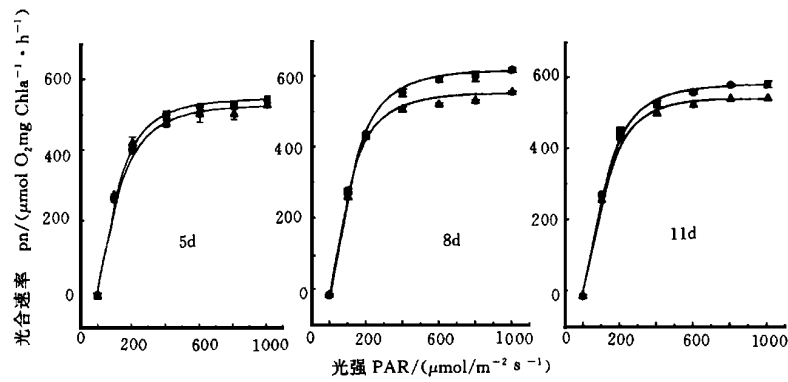


图2 低光强下生长的极大螺旋藻在不同培养时间的 P- I 曲线(0.5%CO₂(●), 0.035% CO₂(▲))

Fig. 2 Light- depending photosynthetic oxygen evolution of *Spirulina maxima* grown in low light conditions

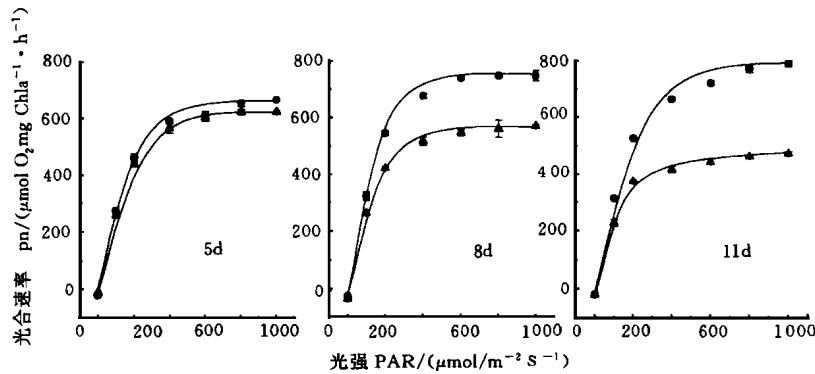


图3 高光强下生长的极大螺旋藻在不同培养时间的 P- I 曲线(0.5%CO₂(●), 0.035% CO₂(▲))

Fig. 3 Light- depending photosynthetic oxygen evolution of *S. maxima* grown in high light conditions

表3 高光强下生长的螺旋藻在不同培养时间的 P- I 曲线的各项参数[P_{max}:最大光合速率(μmolO₂mgchla⁻¹h⁻¹)α: 光合作用效率(μmolO₂mgchla⁻¹h⁻¹/μmol m⁻²s⁻¹) I_k: 光合作用饱和光强(μmol m⁻²s⁻¹)]

Tab. 3 Photosynthetic parameter of *S. maxima* grown in high light conditions (P_{max}: Maximum photosynthetic rate α: Initial slope, I_k: Saturating irradiance level)

Day	5		8		11	
Parameter	0.5%CO ₂	0.035% CO ₂	0.5% CO ₂	0.035%CO ₂	0.5% CO ₂	0.035% CO ₂
P _{max} (n= 3)	662.4±5.3	619.1±4.2	746.5±18.0	568.8±5.7	790.1±10.5	472.6±10.5
α(n= 3)	2.52±0.09	2.34±0.01	2.86±0.01	2.18±0.01	2.97±0.02	2.42±0.02
I _k (n= 3)	275±9	274±4	263±8	255±4	269±5	241±4

400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 条件下, 高浓度 CO_2 培养的明显高于低浓度 CO_2 培养的。低浓度 CO_2 培养的极大螺旋藻随时间的推移, $P_{\max}$ 值逐渐减小; 而高浓度 CO_2 培养下, 其 $P_{\max}$ 值却逐渐增加, 在第 11d 最大为 790. 1 $\mu\text{mol O}_2 \text{mg chl a}^{-1} \text{h}^{-1}$, 其中在高 8d、11d, 低、高 CO_2 浓度培养的极大螺旋藻, 两者的 $P_{\max}$ 、 α 差异显著 ($P < 0.05$)。第 8d、11d 两者 α 值差异明显, 而 I_k 值均无显著差异。由此可见, 在高光强培养条件下, 添加高浓度 CO_2 对 $P_{\max}$ 、 α 值有较大的影响, 但对 I_k 值几乎没有影响。

3 讨论

一般藻类培养基只含有少量的碳源, 而培养极大螺旋藻所用的培养基为高 pH 值 (9.5 左右) 的 Zarrouk 培养基, 含有大量的无机碳源 ($0.2 \text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{HCO}_3^-$), 其培养液中存在 CO_2 、 HCO_3^- 、 CO_3^{2-} 3 种主要的碳源形式相互转变的化学反应的动态平衡:



当培养液中通入高浓度的 CO_2 时, CO_2 浓度增大导致化学反应 (1) 向生成 H^+ 和 HCO_3^- 的方向进行, H^+ 和 HCO_3^- 浓度的改变, 打破了化学反应 (2) 的平衡, 达到新的动态平衡, 最终被培养液吸收的 CO_2 转变为其它形式的碳源, 由于极大螺旋藻培养液的高 pH 值, 所以它所转变成的无机碳源主要是 HCO_3^- 和 CO_3^{2-} 。

在低光强下, 不同 CO_2 浓度添加对极大螺旋藻的生长无明显影响, 表明在低、高 CO_2 浓度培养条件下, 培养液中无机碳浓度可能是饱和的。尽管通高浓度 CO_2 的培养液中无机碳浓度高于通低 CO_2 浓度, 但在低光强下, 培养液中碳的固定速率受到限制。而在高光强条件下, 高 CO_2 浓度培养, 对极大螺旋藻的生长有明显的促进作用, 表明在此培养条件下, 无机碳浓度可能已成为光合作用的限制因子。充足的光能提供和较高的无机碳浓度, 有利于提高碳的固定速率, Gao 等在紫菜添加 CO_2 的研究中发现, 高浓度 CO_2 培养的紫菜, 其光呼吸速率下降。这种现象的出现被认为可能是培养液内 CO_2 的分压增加和较高的无机碳浓度, 使细胞内 CO_2/O_2 的比例提高, 有利于 Rubisco 酶起羧化酶作用, 同时抑制光呼吸, 导致了光合作用效率的提高^[4]。

Kaplan 发现钝顶螺旋藻在培养液中 CO_2 枯竭的情况下, 具有利用 HCO_3^- 的能力^[13], 其它蓝藻利用 HCO_3^- 也有很多的报道^[14-16]。但当藻类在高 CO_2 (0.5—5%) 培养条件下, 其光合生理特征发生明显的变化, 其对无机碳的亲合力明显下降, CO_2 补偿点升高, HCO_3^- 的利用受到抑制^[6]。而本实验结果表明, 低光强下在不同生长时期 (5d、8d、11d) 的 $P_{\max}$, 高 CO_2 浓度培养略大于低 CO_2 浓度培养; 高光强下, 高 CO_2 浓度培养的极大螺旋藻其 $P_{\max}$ 、 α 明显高于低 CO_2 培养的, 表明高浓度 CO_2 培养使其对 HCO_3^- 的利用未受到抑制 (在封闭系统中测定光合速率时, 其无机碳源主要是 HCO_3^-), 这与 Coleman 和 Raven 的在其它藻类研究中的报道是不一致的^[17,18], 在他们的实验过程中, 高浓度 CO_2 通入, 使培养液的 pH 一般在 6.5 左右, 培养液中含有较多的 CO_2 , 而极大螺旋藻本身生长的培养基含高浓度的无机碳和高的 pH 值, 尽管通入高浓度 CO_2 , 我们发现其在培养至第 5d

时, pH 值约为 8.5, 在培养液中 CO₂ 浓度很低, 由于适应不同 CO₂ 浓度的培养环境, 所以两者出现了相反的结果。同时在不同光强下, 高浓度 CO₂ 的通入, 使培养过程中培养液中无机碳浓度和无机碳的组成形式不同, 而极大螺旋藻适应了这种无机碳和光强的环境, 表现出高光强培养与低光强培养不同的光合生理特征, 这也可能是高光强下, 高浓度 CO₂ 培养的螺旋藻, 其 $P_{\max}$ 、 α 具有较大差异, 而在低光强下, 高浓度 CO₂ 培养的螺旋藻的 $P_{\max}$ 、 α 值差异不明显的主要原因。

总之, 在极大螺旋藻的培养过程中, 添加高浓度 CO₂ 的同时, 若能适当提高光强, 将有利于提高螺旋藻产量。

参考文献:

- [1] Raven JA. Photosynthetic and non- photosynthetic roles of carbonic anhydrase in algae and cyanobacteria [J]. *Phycologia*, 1995, **34**(2): 93—101
- [2] Nobutaka H, Toshifumi T, Yoshiharu F et al. Tolerance of microalgae to high CO₂ and high temperature [J]. *Phytochemistry*, 1992, **31**(10): 3345—3348
- [3] Gao K, Aruga Y, Asada K, et al. Enhanced growth of the red alga *Porphyra yezoensis* Ueda in high CO₂ concentrations [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1991, **3**: 355—362
- [4] Gao, K. Y. Aruga, K. Asada et al. Influence of enhanced CO₂ on growth and photosynthesis of the red algae *Gracilaria* sp and *G. chilensis* [J]. *Journal of Applied phycology*. 1993, **5**: 563—571
- [5] Raven JA. Physiology of inorganic C acquisition and implications for resource use efficiency by marine phytoplankton: relation to increased CO₂ and temperature [J]. *Plant Cell Environment*. 1991, **14**: 779—794
- [6] 林惠民, 盐泽螺旋藻与其它螺旋藻的比较研究 [J]. 水生生物学报, 1991, **15**(1): 27—34
- [7] Beck EW, Venkataraman LV. Production and utilization of blue- green alga *Spirulina* in india [M]
- [8] Orio Ciferri. *Spirulina*, the edible microorganism [J]. *Microbiological Reviews*, 1983, **47**(4): 63—80
- [9] Vonshak A, Richmond A. Mass production of the blue- green alga *Spirulina*: an overview [J]. *Biomass*, 1984, **4**: 105—125
- [10] Vonshak A, Boussiba S, Abellovich A, et al. Production of *Spirulina* biomass: maintenance of monoalgal culture outdoors [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1983, **25**: 341—349
- [11] 李夜光, 胡鸿钧. 螺旋藻培养液吸收 CO₂ 特性研究 [J]. 武汉植物学研究, 1996, **14**(3): 253—260
- [12] Mackinney G. Absorption of light by chlorophyll solutions [J]. *J Biol Chem* 1941, **140**: 315—317
- [13] Kaplan A. Photoinhibition in *Spirulina platensis*: Response of photosynthesis and HCO₃⁻ uptake capability to CO₂ - depleted condition [J]. *J Exp Bot*, 1981, **32**: 669—677
- [14] Pierce J, Omata T. Uptake and utilization of inorganic carbon by cyanobacteria [J]. *Photosynthesis Research*, 1988, **16**: 141—154
- [15] Volokita M, Zenvirth D, Kaplan A et al. Nature of the inorganic carbon species actively taken up by the cyanobacterium *Anabaena variabilis* [J]. *Plant physiol*, 1984, **76**: 599—602
- [16] George SE, Anthony GM, David TC. High affinity transport of CO₂ in the cyanobacterium *Synechococcus* UTEX 625 [J]. *Plant Physiol*, 1991, **97**: 943—953
- [17] Coleman JR, The molecular and biochemical analyses of CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria and microalgae [J]. *Plant Cell Environment*, 1991, **14**: 861—867
- [18] Raven JA, Physiology of inorganic C acquisition and implications for resource use efficiency by marine phytoplankton: relation to increased CO₂ and temperature [J]. *Plant Cell Environment* 1991, **14**: 779—794

EFFECTS OF HIGH CO₂ CONCENTRATION ON GROWTH AND PHOTOSYNTHESIS OF *SPIRULINA MAXIMA*

XIA Jianrong and GAO Kunshan

(Key Laboratory of Marine Biology of Guangdong Province, Shantou University, Shantou 515063;
Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

Abstract: Growth and photosynthesis of *Spirulina maxima* grown in different CO₂ concentrations and light intensities had been studied. In low light intensity, no significant differences were observed in specific growth rate when the algae were cultured in different CO₂ concentration, and so were the $P_{\max}$, α and I_k . But in high light intensity, the algae grew faster in high CO₂ concentration compared to low CO₂ concentration, the specific growth rate being 0.394d^{-1} , 0.475d^{-1} , respectively. No significant differences were observed in $P_{\max}$, α and I_k in the fifth day. However, significant differences in $P_{\max}$, α were found in the eighth and eleventh day.

Key words: *Spirulina maxima*; CO₂ concentration; Growth; Photosynthesis