

不同盐度、温度及光照对漂浮浒苔生理生态的影响

张珺¹,周瑞佳^{2,3},赵升^{2,3},李继业^{2,3},姚海燕^{2,3},徐东会^{2,3},韩龙江^{2,3}

(1. 国家海洋局北海标准计量中心 青岛 266033; 2. 国家海洋局北海环境监测中心 青岛 266033;

3. 国家海洋局溢油鉴别与损害评估技术重点实验室 青岛 266033)

摘要:为研究不同盐度、温度及光照对漂浮浒苔生理生态的影响,我们将实验室内培养的浒苔置于不同盐度、不同温度及不同光照强度条件下培养,测定藻体光合参数。不同盐度条件下,对浒苔叶绿素荧光参数测定结果表明,在盐度为0的条件下,浒苔样品实际量子效率 F_v/F_m 快速降低,随后 F_v/F_m 维持在较低水平,在盐度10%~40%范围内,在前5天各处理样品 F_v/F_m 没有明显变化,之后样品 F_v/F_m 有不同程度的降低。不同实验温度条件下,对浒苔叶绿素荧光参数测定结果表明,在5℃~25℃,浒苔 F_v/F_m 呈现先上升后下降趋势。不同光照条件下,对浒苔叶绿素荧光参数 F_v/F_m 进行测定,其数值都在第一天发生了显著降低,之后稍有波动。藻体 F_v/F_m 变化有所不同,处理的前2天中,所有条件下样品都有相同幅度的降低,处理第三天时,光强 $400 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下比其他光强下的要显著低14%~16%;到培养后期,则以 $160 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下要明显较高,即 $160 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下藻体 F_v/F_m 的降低总体较为平缓。光照实验表明,浒苔在低光照条件下的实际量子效率要高于高光照条件,且最大量子效率的测定也进一步证实了该结果,表明高光照条件会引起浒苔光合作用能力下降。

关键词:浒苔;盐度;温度;光照;生理生态

中图分类号:P76

文献标志码:A

文章编号:1005-9857(2021)03-0055-06

Research on the Effects of Different Salinity, Temperature and Illumination for *Enteromorpha prolifera* Physiological Ecology

ZHANG Jun¹, ZHOU Ruijia^{2,3}, ZHAO Sheng^{2,3}, LI Jiye^{2,3},

YAO Haiyan^{2,3}, XU Donghui^{2,3}, HAN Longjiang^{2,3}

(1. Beihai standard measurement center of State Oceanic Administration, Qingdao 266033, China; 2. North China Sea Environment Monitoring Center, SOA, Qingdao 266033, China; 3. Key Laboratory of Marine Spill Oil Identification and Damage Assessment Technology, SOA, Qingdao 266033, China)

Abstract: In order to study the effects of salinity, temperature and light on the floating algae physiology and ecology, *Enteromorpha prolifera* was laboratory cultured under different salinity, temperature and light intensity to algal photosynthetic parameters. The results showed that: in differ-

收稿日期:2020-04-07;修订日期:2021-02-24

基金项目:国家重大科技专项“黄海浒苔绿潮立体化监测和预警预报技术”(2016YFC1402103)。

作者简介:张珺,助理工程师,研究方向为海洋标准计量

通信作者:韩龙江,工程师,硕士,研究方向为海洋生态环境监测

ent salinity conditions, the determination results of *Enteromorpha prolifera* on chlorophyll fluorescence parameters showed that, when the salinity was 0, *Enteromorpha prolifera* sample actual quantum efficiency (Yield) value decreased rapidly, then it remained at a low level, when the salinity was from 10 to 40, in the former 5d treated samples, Yield value did not change obviously, but then the sample's value had different degrees of reduction. At different temperatures, the determination results showed that *Enteromorpha prolifera* on chlorophyll fluorescence parameters, when the temperature was between 5 and 25, the Yield value of samples increased gradually with the temperature increasing, then with the further increase of temperature the Yield value decreased rapidly. Under different illumination conditions, the chlorophyll fluorescence parameters of *Enteromorpha prolifera* Yield were measured, the value in the 1D was significantly decreased, then had a slight fluctuation. The algae F_v/F_m changed differently, during the former 2D, all the samples were decreased equally under the same conditions, the treatment of 3D, when the intensity was $400 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, light intensity had significantly lower 14%—16% than before; Till the later stage of culture, the light was obviously higher than before when it was $160 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, so the decrease of F_v/F_m was generally flat under this condition. The illumination experiments showed that, the actual quantum efficiency of *Enteromorpha prolifera* in low light conditions was higher than in high light, and the determination of the maximum quantum efficiency also further confirmed the results, high light condition caused the decline of *Enteromorpha prolifera*'s light efficiency.

Keywords: *Enteromorpha prolifera*, Salinity, Temperature, Illumination, Physiology and ecology

黄海海域自 2008 年至今已连续暴发了多次主要由石莼属 (*Ulva*) 大型海洋绿藻类漂浮聚集引发的绿潮 (green tides) 灾害, 对近海海洋生态系统健康和海洋经济发展产生了重大影响, 如不采取有效的防控措施, 黄海绿潮灾害的发生将呈现常态化趋势^[1]。现阶段, 对于浒苔生理学的研究多集中于外界环境变化对于藻体自身的影响方面^[2-3], 而并未从其机制方面对造成这些变化的原因进行深入剖析。本研究已经对黄海漂浮绿藻种类组成及时空分布做了相关的研究分析, 猜测黄海漂浮绿藻种群演替与时空分布的变化可能是由于不同地区的温度、盐度及光照的差异造成的, 然而影响绿潮暴发的因素多种多样, 因此, 对于绿藻的培养条件下, 温度、盐度及光照对浒苔的生理生态特征也应进行相关的论证。

本研究将使用叶绿素荧光测定仪 Phyto-pam (德国 walz), 利用叶绿素荧光的变化反映环境因子对藻类光合作用的影响^[4]。通过叶绿素荧光参数分

析, 反映 PS II 量子产量^[5], 一般情况下, 植物潜在的最大光化学量子产量 (F_v/F_m) 是一个很稳定的值, 反映 PS II 最大的光能转化效率。有学者认为绿藻的 F_v/F_m 介于 0.7~0.75 时, 其生理状态较为正常^[6], 因此该参数可以作为表征植物体生长状态的一个重要物理量。

1 材料与试剂

1.1 材料准备

培养试验所用的浒苔样品为 2018 年 5—8 月取自黄海断面调查样品, 经培养试验后, 浒苔样品在北海环境监测中心生态效应模拟实验室藻类培养室中进行了保种处理。

1.2 主要仪器与试剂

培养实验所需仪器等物品为北海环境监测中心生态效应模拟实验室藻类培养室提供。另外, 实验室内分析仪器如叶绿素荧光测定仪 Phyto-pam (德国 walz) 等也是由北海环境监测中心分子生物学实验室提供。

首先称取每个站位的底泥样品湿重 20 g, 放于 500 mL 灭菌的烧杯中, 加入灭菌海水 400 mL, 用玻璃棒充分搅拌, 静置 15~20 min。然后将烧杯上部较澄清的泥浆转移到另一个灭菌的烧杯中, 丢弃掉沉入底部的较大石粒和沙粒。用灭菌的海水补齐 500 mL, 再次充分搅拌后, 将 250 mL 的培养液转移到另一个已灭菌的烧杯中, 随后的培养方法参考海水样品的培养。通过统计培养出的幼苗数量, 可以确定 20 g 泥样中的绿藻显微繁殖体数量。

2 实验方法

绿藻生长过程中, 环境中海水盐度、营养成分的变化对其生长有着重要的影响。为研究不同营养条件(尤其是重要的营养成分氮和磷的浓度)、盐度、温度及光照对绿藻生长的影响, 对将实验室内培养的浒苔置于不同温度、不同盐度及不同光照强度条件下培养, 每个梯度实验设置 3 个平行样, 实验采用光照培养箱进行培养, 光照周期设为 12 h : 12 h, 采用叶绿素荧光测定仪 Phyto-pam 检测藻体光合参数。

盐度梯度为 0‰、10‰、20‰、30‰、40‰。

温度梯度为 5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃。

光照梯度为 40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、80 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、160 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

实验周期为 20 周, 每隔 5 天换一次水, 3 天添加一次营养盐并观察生长状况。

3 数据处理

实验数据分析采用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差(One-Way ANOVA)分析, 比较实验结果差异显著性, 结果以平均值±标准差(SD)表示。多重比较采用 Dunnett's 方法。

4 结果

4.1 盐度对绿藻生长生理特征影响的研究

在室内不同环境条件下培养 2~3 天后, 藻体的光合放氧速率在盐度为 0‰ 下显著降低, 比其他盐度下的要低了 59%~64%, 其他各盐度间(10‰~40‰)以及与初始值(图 1 虚线)间则都无明显差异; 培养 8 天后, 盐度为 0‰ 下, 浒苔藻体的光合放氧速

率降为负值, 其他各盐度间则没有显著差异(图 1)。

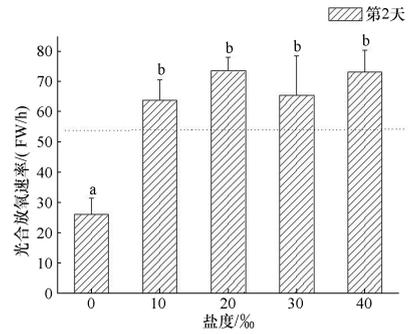


图 1 盐度对浒苔光合生理特征影响

不同盐度条件下, 对浒苔叶绿素荧光参数测定结果表明, 在盐度为 0‰ 的条件下, 浒苔 F_v/F_m 快速降低, 在处理第一天便下降了 50% 以上, 随后 F_v/F_m 维持在较低水平, 胁迫处理 6 天后, F_v/F_m 无法测定。盐度在 10‰~40‰ 时, 在前 5 天各处理样品 F_v/F_m 没有明显变化, 均维持在 0.5~0.6, 之后样品 F_v/F_m 有不同程度的降低, 其中盐度为 30‰ 时, 处理样品 F_v/F_m 降低较为明显。

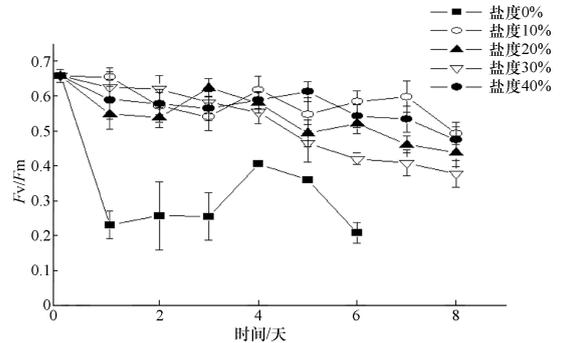


图 2 不同盐度条件下, 浒苔 F_v/F_m 变化

4.2 温度对绿藻生长生理特征影响的研究

对浒苔样本的室内实验显示, 35℃ 下培养的藻体几乎全变白, 只有部分藻体为淡绿色, 光合放氧速率也迅速降为负值, 而其他不同温度(5℃~30℃)条件下, 则都未发生显著变化(图 3)。

不同实验温度条件下, 对浒苔叶绿素荧光参数测定结果表明, 在 5℃~25℃, 样品实际量子效率 F_v/F_m 随温度的上升而逐步升高, 之后随着温度的进一步升高而快速降低。

对材料进行连续培养并测定 F_v/F_m 的结果可知, 在 5℃、10℃、15℃ 下, 浒苔样品 F_v/F_m 在处理

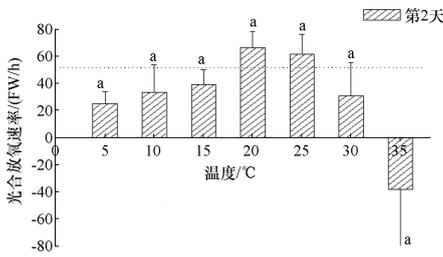
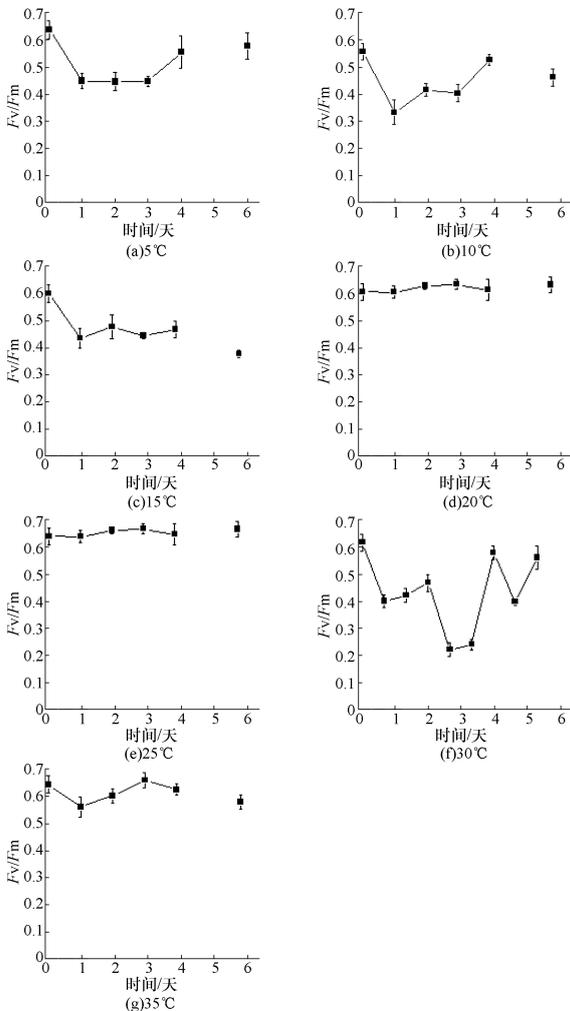
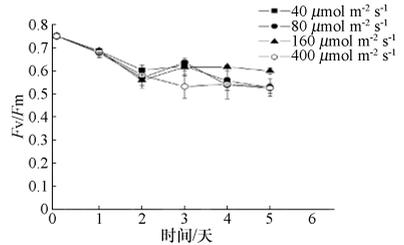


图3 温度对浒苔光合生理特征影响

第一天便明显降低,随后几天稳定在 0.4~0.5。在 20℃和 25℃下,样品 F_v/F_m 在 6 天的培养时间未发生明显变化,均维持在 0.6 左右。30℃处理样品 F_v/F_m 在处理第一天有所降低,但随后逐步恢复到 0.6 左右。35℃处理样品 F_v/F_m 明显受到温度的影响,在处理第一天后便下降 30%以上,之后随处理时间的延长而进一步降低,在处理 6 天后 F_v/F_m 处于一定范围的波动(图 4)。

图4 不同温度下培养浒苔 F_v/F_m 变化

不同光照条件下,藻体 F_v/F_m 变化有所不同,处理的前 2 天中,所有条件下样品都有相同幅度的降低,处理第三天时,光强 $400 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下比其他光强下的要显著低 14%~16%;到培养后期,则以 $160 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下要明显较高,即 $160 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下藻体 F_v/F_m 的降低总体较为平缓(图 5)。

图5 不同光照条件下,浒苔 F_v/F_m 值变化

光照实验表明,浒苔在低光照条件下的实际量子效率要高于高光照条件,且最大量子效率的测定也进一步证实了该结果,表明高光照条件会引起浒苔光能利用效率的下降。但光照强度的上升对净光合放氧速率有促进作用,说明尽管高光照强度会导致浒苔对光能利用效率的降低,但是藻体所吸收利用的光能仍处于较高水平且促进了光合放氧量的上升,在本实验设定的光照范围内,绿藻藻体随光照强度上升而降低对所吸收光能的利用效率,但净光合放氧速率则表现出随光照强度的提高而上升的趋势。

5 讨论

浒苔藻体的生长需要较强的光照和适宜的盐度、温度。PSII 的最大光量子产量(F_v/F_m),是一个比较稳定的值,在非环境胁迫条件下极少变化,当藻类在不适宜的光照照射时,其自身的光系统会发生不同程度的损伤,最终造成光合作用的下降,因此,可以作为表征浒苔对外界环境因子适用性的一个指标,指示浒苔生理状态^[5]。针对幼苗的生长阶段,盐度可以直接产生影响,高盐条件会显著降低浒苔所有受试群体幼苗的生长速率,在两个近缘种之间具有明显的差异。Shimada 等^[7]对整个日本沿海石莼属绿藻的研究也关注到浒苔与缘管浒苔间地理分布的差异,发现浒苔主要分布在盐度较低

的河口,而缘管浒苔生活在盐度较高的沿海区域,认为浒苔的物种形成是对低盐适应性进化的结果。Cai等^[8]进一步考察了不同盐度梯度对石莼属绿藻分布与季节变化规律的影响,同样发现浒苔主要分布在低盐海区,并且不同地理居群对盐度的适应范围不同。

盐度处理结果说明,在盐度为0‰的条件下,浒苔对光能的利用能力下降显著,漂浮浒苔对低盐胁迫很敏感;之前有学者指出,浒苔在盐度为0‰的条件下光合活性大幅减弱,不能正常生长,甚至很快死亡^[9]。本试验中漂浮浒苔在低盐度条件下,PS II活性较低,当盐度恢复到其生长环境的正常值后,其PS II活性也都能很快回升。而在盐度10‰~40‰的条件下,浒苔 F_v/F_m 未发生非常明显的变化,说明浒苔对盐度的适应能力很强,在较大的盐度变化范围内,其均能够维持一定的光能利用能力。高盐度条件下, F_v/F_m 呈迅速降低趋势,有研究发现,这是因为在高盐胁迫下,浒苔内一系列机体变化,致使体内蔗糖及脯氨酸生成量增加,增加的蔗糖及脯氨酸又起到了高渗调节作用,使浒苔藻体保持了较高的光和活性^[10]。受长江冲淡水的影响,江苏海域盐度较山东海域偏低,这与浒苔和缘管浒苔分别在江苏与青岛沿海优势分布的调查结果相符^[11-12]。上述研究均未涉及盐度影响分布的方式与机制,本研究的发现可为相关深入研究提供线索。

盐度在一定程度上影响藻细胞的渗透压、漂浮性、营养盐吸收及光合放氧等,过高或过低的盐度均会对藻细胞造成伤害^[13-14],并进一步影响海藻的生长^[15],生活在盐度不同的近海、河口等的海藻对盐度的响应也各有差异。浒苔是一种广盐性绿藻,适盐范围约为7‰~53‰^[16],并在盐度为0‰的条件下可存活2~3周^[17]。近期的研究表明,相比于缘管浒苔,浒苔的适盐范围略广^[18]。在不损伤细胞膜的前提下浒苔细胞可反复进行质壁分离,以适应高盐、低盐的环境^[19]。刘榆莎等^[19]研究的结果显示,浒苔生长等生理特性对盐度的响应受温度的影响,具体表现在:在低温15℃下,盐度从10‰增加至25‰对浒苔生长的影响不显著,而在正常温度

(22℃)下,盐度增加促进了浒苔的生长。一般认为盐度变化影响细胞的渗透平衡,但其对藻体的光合色素的影响也有较多的研究^[20-22],盐胁迫能够破坏植物叶绿体的膜结构,叶绿素含量将随叶绿体膜结构的解体而降低,进而降低植物的光合能力。有研究表明,藻体光合色素含量的下调可在一定程度上避免过多光能对藻体造成损伤^[23],而光能利用效率的提高在一定程度上可以平衡因为色素含量的降低对生长的影响,环境胁迫会破坏光合生物的光合结构,损伤光系统II(PS II)的反应中心,降低电子传递速率,并进一步抑制PS II的潜在活性^[23]。相比于温度,盐度对浒苔叶绿体光合结构未造成显著影响,表现为同一温度下,两个盐度处理的浒苔具有相似的光系统II的潜在活性而 F_v/F_m 的降低显示其电子传递速率的降低。温度实验结果表明,在20℃~30℃范围内浒苔样品 F_v/F_m 较高,绿藻能够保持较高的光能利用效率,尤其25℃时 F_v/F_m 达到最大,当温度低于20℃时,浒苔对光能的利用能力随温度的降低而呈逐渐减弱的趋势,说明浒苔样品受到了低温胁迫导致了光合作用利用率下降。而当温度高于30℃时,浒苔同样受到不利的影 响,对光能的利用效率也明显降低,通过温度的实验,认为20℃~30℃范围是浒苔对光能有较高利用效率的温度范围。

光照实验结果显示,浒苔在60~140 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的条件下能较好地维持自身的光能转化效率,显示较强的光照和温度能够促进藻体的生长,浒苔对光强有广泛的适应性,其中120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 最适合其孢子萌发生长,高光化学量子产量能够反映藻体处于较高的光合作用水平,可以产生更多利于生长的化学因子^[6]。方差分析显示光照对藻体最大光化学量子产量的影响显著。

参考文献

- [1] 刘峰. 黄海绿潮的成因以及绿潮浒苔的生理生态学和分子系统学研究[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2010.
- [2] BOLTON J J, ROBERTSON-ANDERSSON D V, SHUULUKA D, et al. Growing Ulva(Chlorophyta) in integrated systems as a commercial crop for abalone feed in South Africa: a SWOT analysis[J]. Journal of Applied Phycology, 2009, 21: 575-583.

- [3] QIAO F, WANG G, LU X, et al. Drift characteristics of green macroalgae in the Yellow Sea in 2008 and 2010[J]. Chinese Science Bulletin, 2011, 56: 2236—2242.
- [4] HIRAOKA M, DAN A, SHIMADA S, et al. Different life histories of *Enteromorpha prolifera* (Ulvales, Chlorophyta) from four rivers on Shikoku Island, Japan[J]. Phycologia, 2003, 42(3): 275—284.
- [5] LIN A P, SHEN S, WANG J, et al. Reproduction diversity of *Enteromorpha prolifera* [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2008, 50: 622—629.
- [6] SOUSA A I, MARTINS I, LILLEBØ A I, et al. Influence of salinity, nutrients and light on the germination and growth of *Enteromorpha*, sp. spores[J]. Journal of Experimental Marine Biology & Ecology, 2007, 341(1): 142—150.
- [7] SHIMADA S, YOKOYAMA N, ARAI S, et al. Phylogeography of the genus *Ulva* (Ulvoephyceae, Chlorophyta), with special reference to the Japanese freshwater and brackish taxa[J]. Journal of Applied Phycology, 2008, 20(5): 979—989.
- [8] CAI C, WANG L, ZHOU L, et al. Complete chloroplast genome of green tide algae *Ulva flexuosa* (Ulvoephyceae, Chlorophyta) with comparative analysis[J]. Plos One, 2017, 12(9).
- [9] 姜红霞, 王云霞, 许璞. 江苏海域沿岸不同居群浒苔生长特性比较[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(6): 315—317.
- [10] 齐明燕. 浒苔(*Ulva prolifera*)及缘管浒苔(*Ulva linza*)对不同形态氮营养盐的吸收利用研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
- [11] 丁兰平, 孙国栋, 黄冰心, 等. 温度和盐度对刺枝鱼栖苔(*Acanthophora spicifera*) (红藻门, 松节藻科) 生长及其几种光合色素的影响[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(4): 913—918.
- [12] 杨震, 王悠, 董开升, 等. 青岛潮间带大型底栖海藻群落的研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2009, 39(4): 647—651.
- [13] CHOI T S, KANG E J, KIM J, et al. Effect of salinity on growth and nutrient uptake of *Ulva pertusa* (Chlorophyta) from an eelgrass bed[J]. Algae, 2010, 25(1): 17—26.
- [14] PANCHA I, CHOKSHI K, MAURYA R, et al. Salinity induced oxidative stress enhanced biofuel production potential of microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077 [J]. Bioresource Technology, 2015, 189: 341—348.
- [15] LU N, WEI D, JIANG X L, et al. Regulation of lipid metabolism in the snow alga *Chlamydomonas nivalis* in response to NaCl stress: an integrated analysis by cytomic and lipidomic approaches [J]. Process biochemistry, 2012, 47(7): 1163—1170.
- [16] 王建伟, 阎斌伦, 林阿朋, 等. 浒苔(*Enteromorpha prolifera*) 生长及孢子释放的生态因子研究[J]. 海洋通报, 2007, 26(2): 60—65.
- [17] EDWARDS D M, REED R H, STEWART W D P. Osmoacclimation in *Enteromorpha intestinalis*: long-term effects of osmotic stress on organic solute accumulation [J]. Marine Biology, 1988, 98(4): 467—476.
- [18] 高兵兵, 郑春芳, 徐军田, 等. 缘管浒苔和浒苔对海水盐度胁迫的生理响应[J]. 应用生态学报, 2012, 23(7): 1913—1920.
- [19] 刘榆莎, 王东, 徐晓婷, 等. 温度和盐度对浒苔生长和光合生理特性的影响[J]. 水生生物学报, 2016, 40(6): 1227—1233.
- [20] RITCHIE R J, LARKUM A W D. The ionic relations of small-celled marine algae. Prog [J]. Phycol. Res, 1987, 5: 179—222.
- [21] DING L P, SUN G D, HUANG B X, et al. EFFECTS OF TEMPERATURE AND SALINITY ON GROWTH AND PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS OF MARINE RED ALGA ACANTHOPHORA SPICIFERA [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013(4): 12.
- [22] 吴海一, 丁刚, 徐智广. 不同氮浓度下盐胁迫对坛紫菜(*Pyropia haitanensis*) 生长和光合作用的影响[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(5): 1210—1217.
- [23] GORDILLO F J L, FIGUEROA F L, NIELL F X. Photon- and carbon-use efficiency in *Ulva rigida* at different CO₂ and N levels [J]. Planta, 2003, 218(2): 315—322.