

# 青岛奥帆基地海域漂浮浒苔光合生理特点研究

王超<sup>1,2</sup>, 乔洪金<sup>1,2</sup>, 潘光华<sup>1</sup>, 张宝玉<sup>1</sup>, 牛建峰<sup>1</sup>, 王广策<sup>1</sup>, 孙松<sup>1</sup>, 周百成<sup>1</sup>

(1. 中国科学院海洋研究所, 山东青岛 266071; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘要:** 研究了青岛奥帆基地海域漂浮浒苔 *Enteromorpha prolifera* (Muell) J. Ag. 色素组成及含量、光合放氧及呼吸耗氧速率、 $P/R$ (净光合放氧速率/净呼吸耗氧速率)、抗氧呼吸等各项生理指标。结果表明, 该海域漂浮浒苔的各项生理指标都在正常范围内, 且有抗氧呼吸的存在, 生长状况良好。

**关键词:** 浒苔 *Enteromorpha prolifera* (Muell) J. Ag.; 氧电极;  $P/R$ (净光合放氧速率/净呼吸耗氧速率); 抗氧呼吸

中图分类号: Q945.11; Q945.19

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2008)08-0013-03

浒苔 (*Enteromorpha prolifera* (Muell) J. Ag.) 又称“苔条”, 属于绿藻门(Chlorophyta)、石莼目(Ulvales)、石莼科(Ulvaceae)、浒苔属(*Enteromorpha*)。该属中主要有条浒苔(*E. clathrata* (Roth) Greville)、肠浒苔(*E. intestinalis* (Linn.) Link)、扁浒苔(*E. compressa* (L.) Greville)、小管浒苔(*E. tubulosa* Kütz.)、浒苔等5种<sup>[1]</sup>。浒苔的藻体为管状中空、膜质, 高可达1~2 m, 粗约2 cm, 有明显的主枝和较多的细长分枝, 主枝的直径大于分枝。浒苔属是世界性的温带性海藻, 广泛分布于海洋沿岸低潮区的沙砾、岩石、滩涂和石沼中, 中国沿海也有分布。浒苔属海藻发育的早期固着丛生在岩石等基质上, 成长后可在水中自由漂浮。浒苔自然繁殖能力强, 生长旺盛期主要在12月至次年4月。有关研究表明, 浒苔于光照强度大于140  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  放置24 h 或者于光照强度小于80  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  放置48 h 仍能存活<sup>[2]</sup>。由于浒苔生长迅速, 抗逆能力强, 若生长在虾、贝类养殖池中, 会对虾、贝类养殖造成极大危害。在环境条件适宜的情况下, 海域也可以爆发大规模主要由浒苔引起的“绿潮”, 影响近海的生态景观。

2008年春末夏初, 青岛近海海域出现大面积的漂浮浒苔, 引起社会各界对漂浮浒苔高度关注。目前, 对这些漂浮浒苔的生理生化特性知之甚少, 尤其是这些海藻的光合作用参数尚未见报道。作者应用氧电极等方法对青岛奥帆基地水域漂浮浒苔的光合生理特点进行了研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 浒苔的来源

实验所用浒苔样品采自青岛奥帆基地水域。样品于海水中室温下复苏4~6 h 备用。

### 1.2 叶绿素光谱特性及含量的测定

取新鲜浒苔藻体, 滤纸洗干水分后称取0.5 g 放入研钵中, 加液氮研磨, 成粉末状后加少许石英砂和5 mL 丙酮研磨, 成匀浆状后加5 mL 80% 丙酮进行

抽提, 10 000 g 室温离心10 min, 弃沉淀, 上清用80% 丙酮定容至20 mL。

用UV757CRT紫外可见分光光度计进行光密度测定。取已提取好的色素溶液2 mL 于比色杯中, 80% 丙酮作为空白对照, 对样品进行350~800 nm 的扫描, 读取663 nm(叶绿素a 光吸收波长)和645 nm(叶绿素b 光吸收波长)处的光密度值。结果取3次以上测定的平均值。

叶绿素a 的浓度( $C_a$ )以及叶绿素b 的浓度( $C_b$ )分别按照公式  $C_a = 12.7A_{663} - 2.69A_{645}$ ,  $C_b = 22.9A_{645} - 4.68A_{663}$  计算。总叶绿素浓度( $C_T$ )按照公式  $C_T = C_a + C_b = 8.02A_{663} + 21.21A_{645}$ <sup>[3]</sup>。色素质量浓度单位为mg/L。再根据稀释倍数分别计算每克鲜质量藻体中色素的含量, 藻体中色素质量比单位为mg/g。

采用Hitachi F4500 荧光分光光度计测定浒苔样品的荧光发射光谱。荧光发射光谱设定激发波长为420 nm, 扫描范围为640~740 nm。对提取的浒苔色素样品进行测量。

### 1.3 呼吸速率、光合放氧速率、 $P/R$ 值及抗氧呼吸参数的测定

#### 1.3.1 呼吸速率测定

样品于20℃恒温水浴中温浴15 min, 暗适应20 min。取0.06 g 鲜质量(FW) 预处理的样品, 用氧电极Oxygraph(Hansatech)测定其呼吸耗氧速率, 反应介质为20℃消毒海水。呼吸速率单位为每单位叶绿素含量的耗氧速率( $\text{nmol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ )。

#### 1.3.2 光合放氧速率测定

样品于20℃恒温水浴中温浴15 min。取0.06 g FW 预处理的样品用氧电极Oxygraph(Hansatech)测定其光合放氧速率, 反应介质为20℃消毒海水, 光

收稿日期: 2008-07-10; 修回日期: 2008-07-18

作者简介: 王超(1983), 女, 山东烟台人, 硕士研究生, 主要从事藻类生理生化研究。电话: 0532-82898575, E-mail: wangchao6903199@163.com; 王广策, 通讯作者, E-mail: gcwang@ms.qdio.ac.cn

照强度为  $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  饱和光强。光合速率单位为每单位叶绿素含量的放氧速率 ( $\text{nmol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ )。 $P/R$  为净光合放氧速率与净呼吸耗氧速率的比值。

### 1.3.3 抗氰呼吸参数的测定

样品于  $20^\circ\text{C}$  恒温水浴中温浴 15 min, 暗适应 20 min。取 0.02 g FW 预处理的样品用氧电极 Oxygraph (Hansatech) 测定其抗氰呼吸各参数, 反应介质为  $20^\circ\text{C}$  消毒海水, 分别测定无呼吸抑制剂时的总呼吸活性 ( $V_t$ ), 加入 100 mmol/L 呼吸抑制剂 KCN 和 100 mmol/L 水杨基氧肟酸 (SHAM) 的剩余呼吸 ( $V_{res}$ ), 加入 KCN 时测定的呼吸活性减去  $V_{res}$  即为抗氰呼吸容量 ( $V_{at}$ )<sup>[4]</sup>。抗氰呼吸单位为每单位叶绿素含量耗氧速率 ( $\text{nmol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ )。

## 2 结果

### 2.1 叶绿素吸收光谱和荧光发射光谱

图 1 为浒苔样品提取色素的吸收光谱, 叶绿素 *a* 的最大吸收波长在 436 nm 和 663 nm, 叶绿素 *b* 的最大吸收波长在 463 nm 和 645 nm。如图 2 所示, 提取的浒苔色素样品的最大发射波长在 680 nm 处。由此可见, 青岛漂浮浒苔含有正常的叶绿素 *a* 和叶绿素 *b*。

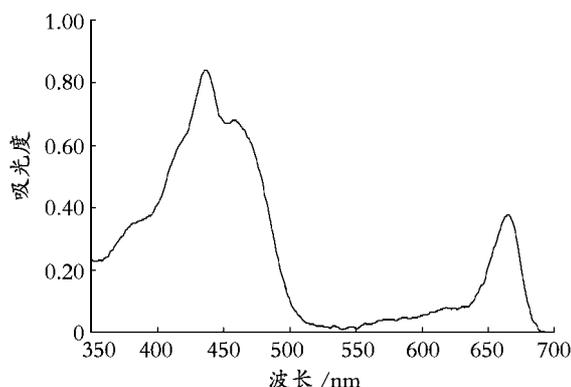


图 1 浒苔提取色素的可见光吸收光谱

Fig. 1 The Absorption spectra of the chlorophyll extracted from *Enteromorpha prolifera*

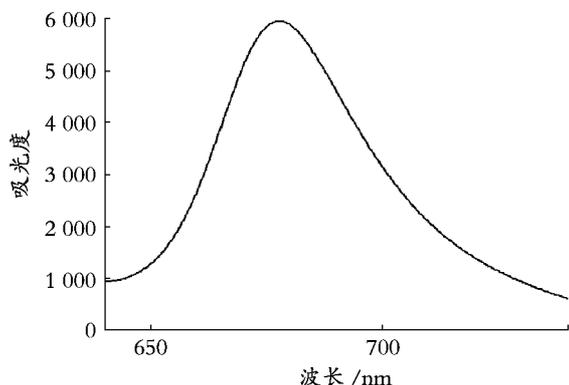


图 2 浒苔提取色素的荧光发射光谱

Fig. 2 The Emission spectra of the chlorophyll extracted from *Enteromorpha prolifera*

### 2.2 浒苔叶绿素的含量

实验测得每克鲜质量浒苔中叶绿素 *a* 的含量为  $0.210 \text{ mg} \pm 0.065 \text{ mg}$ , 叶绿素 *b* 的含量为  $0.123 \text{ mg} \pm 0.037 \text{ mg}$ , 总叶绿素的含量为  $0.333 \text{ mg} \pm 0.102 \text{ mg}$ 。

### 2.3 呼吸速率、光合放氧速率以及 $P/R$ (净光合放氧速率/净呼吸耗氧速率)

从图 3 中可以看出青岛奥帆基地水域漂浮浒苔单位叶绿素含量光合放氧速率为  $5.9790 \times 10^{-1} \text{ nmol}/(\text{g} \cdot \text{h}) \pm 0.1406 \text{ nmol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ , 单位叶绿素含量呼吸耗氧速率为  $9.4435 \times 10^{-2} \text{ nmol}/(\text{g} \cdot \text{h}) \pm 0.0224 \text{ nmol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ 。从而得出  $P/R$  值为 6.331。

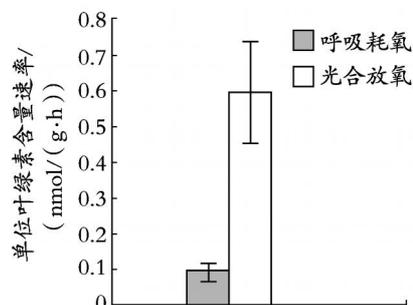


图 3 青岛奥帆基地水域漂浮浒苔每单位叶绿素含量光合放氧速率及呼吸速率

Fig. 3 The rate of photosynthesis and respiration (per unit of chlorophyll) of floating *Enteromorpha prolifera* collected from Qingdao Olympic sailing center

### 2.4 抗氰呼吸各项参数

实验测得, 无呼吸抑制剂时浒苔样品单位叶绿素含量总呼吸活性 ( $V_t$ ) 为  $1.0940 \times 10^{-1} \text{ nmol}/(\text{g} \cdot \text{h}) \pm 0.0276 \text{ nmol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ , 同时加入呼吸抑制剂 KCN (100 mmol/L) 和 SHAM (100 mmol/L) 后测得剩余呼吸 ( $V_{res}$ ) 为  $1.372 \times 10^{-3} \text{ nmol}/(\text{g} \cdot \text{h}) \pm 4.04 \times 10^{-5} \text{ nmol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ 。通过计算得出抗氰呼吸容量 ( $V_{at}$ ) 为  $1.019 \times 10^{-2} \text{ nmol}/(\text{g} \cdot \text{h}) \pm 0.0020 \text{ nmol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ , 抗氰呼吸容量占总呼吸活性的比率 ( $V_{at}/V_t$ ) 约为 9.42%。

## 3 讨论

从浒苔样品的吸收光谱中色素的最大吸收波长以及荧光发射光谱的最大发射波长可以看出, 浒苔的色素中含有叶绿素 *a* 和叶绿素 *b*, 且色素的含量在正常范围之内, 其种类及含量没有任何异常。

净光合放氧速率与净呼吸耗氧速率的比值  $P/R$  是衡量细胞内物质积累的一个重要参数<sup>[5]</sup>, 它受众多因素影响, 如细胞生长状态<sup>[6]</sup>、营养环境<sup>[7]</sup>等。对于绿藻来讲, 当细胞处于正常光合作用下,  $P/R$  值大约在 4 左右<sup>[8]</sup>,  $P/R$  值越高, 说明光合作用活性越强。浒苔通常为固着生长, 但经过数天至数周时间

的漂浮生长后, 浒苔样品的  $P/R$  测得值为 6.331, 说明该海域漂浮浒苔的光合作用及呼吸作用正常, 仍保持良好的生理状态。

大多数生物包括部分植物的有氧呼吸会被一些能与细胞色素氧化酶中的铁原子结合的阴离子(如氰化物和叠氮物)强烈地抑制。对于一些植物组织, 在细胞色素氧化酶抑制剂存在时呼吸作用仍然进行, 这时的呼吸作用称为抗氰呼吸, 是植物线粒体的重要特征之一。现已知它在高等植物、真菌、藻类、酵母和原生动物中均有存在<sup>[3]</sup>。抗氰呼吸从泛醌分叉, 电子不经过细胞色素系统直接通过交替氧化酶传递到分子氧, 形成的 ATP 少。植物抗氰呼吸的发生及强度, 与植物的自身发育和内在生理状态有关<sup>[9]</sup>。高等植物的抗氰呼吸途径对总呼吸的实际贡献一般为 30% 以上<sup>[10]</sup>, 实验测得浒苔样品的抗氰呼吸途径对总呼吸的实际贡献约为 9.42%, 远低于高等植物。本实验所得的抗氰呼吸参数表明青岛水域漂浮浒苔存在抗氰呼吸途径, 但呼吸途径绝大部分以细胞色素途径为主。因此从呼吸角度来看, 该水域漂浮浒苔的生理状况仍是正常的。据报道, 植物在逆境条件下抗氰呼吸容量会增加, 例如不同的低温胁迫处理能显著诱导高等植物抗氰呼吸途径容量增加<sup>[11]</sup>。而本实验中浒苔的低抗氰呼吸容量值说明青岛海域环境对漂浮浒苔生长可能无胁迫作用, 此有待于进一步研究。

#### 参考文献:

[1] 王建伟, 林阿朋, 李艳燕, 等. 浒苔(*Enteromorpha prolifera*)藻体发育的显微观察[J]. 生态科学, 2006, 25

(5): 400-404.

- [2] 吴洪喜, 徐爱光. 浒苔实验生态的初步研究[J]. 浙江海洋学院学报, 2000, 19(3): 230-233.
- [3] Arnon D I. Cooper enzymes in isolated chloroplast polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* [J]. **Plant Physiology**, 1949, 24: 1-15.
- [4] 吴强, 冯汉青, 李红玉, 等. 条锈病侵染对小麦抗氰呼吸和活性氧代谢的影响[J]. 植物病理学报, 2006, 36(1): 49-56.
- [5] Humphrey G F. The photosynthesis: respiration ratio of some unicellular marine algae [J]. **J Exp Mar Biol Ecol**, 1975, 18: 111-119.
- [6] Ryther J H. The ratio of photosynthesis to respiration in marine plankton algae and its effect on the measurement of productivity [J]. **Deep Sea Res**, 1954, 2: 134-139.
- [7] Mcallister C D, Shaw N, Strickland J D. Marine phytoplankton photosynthesis as a function of light intensity: A comparison of methods [J]. **J Fish Res Bd Can**, 1964, 21: 159-181.
- [8] Melis A, Melnicki M R. Integrated biological hydrogen production [J]. **Int J Hydrogen Energ**, 2006, 31: 1563-1573.
- [9] 周功克, 孔英珍, 李红玉, 等. 烟草愈伤组织在热胁迫过程中活性氧与抗氰呼吸变化的关系[J]. 植物生理学报, 2000, 26(3): 241-246.
- [10] 梁五生, 梁厚果. 用于测定抗氰呼吸途径活性的氧同位素分馏法和氧肟酸抑制法的比较[J]. 植物生理学报, 1999, 25(3): 287-292.
- [11] 晏婴才, 林宏辉, 梁厚果, 等. 不同低温胁迫对烟草愈伤组织抗氰交替途径诱导和交替氧化酶表达影响的比较[J]. 植物学通报, 2004, 21(3): 296-305.

## Studies on the parameters of physiology of *Enteromorpha prolifera* collected from the Qingdao Olympic sailing center

WANG Chao<sup>1,2</sup>, Qiao Hong-jin<sup>1,2</sup>, PAN Guang-hua<sup>1</sup>, ZHANG Bao-yu<sup>1</sup>, NIU Jian-feng<sup>1</sup>, WANG Guang-ce<sup>1</sup>, SUN Song<sup>1</sup>, ZHOU Bai-cheng<sup>1</sup>

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Received: Jul., 10, 2008

**Key words:** *Enteromorpha prolifera*; oxygen;  $P/R$ ; cyanide resistant respiration

**Abstract:** In this study some physiological parameters of *Enteromorpha prolifera* collected from the Qingdao Olympic sailing center were investigated, including the content of chlorophyll, the rate of photosynthesis and respiration and the ratio between them ( $P/R$ ). Besides, parameters of cyanide resistant respiration were also acquired. The results showed that all the physiological parameters were under normal range and cyanide resistant respiration existed in *E. prolifera*, which indicated that the thalli were in appropriate condition.

(本文编辑: 梁德海)