

高浓度 CO₂ 和光周期对浒苔幼苗生长和光合生理的影响

周伟^{1,2,3}, 武卉², 黄晶晶², 赵希星², 王静文², 王津果^{1,2,3}

1. 江苏海洋大学/江苏省海洋生物资源与环境重点实验室/自然资源部滨海盐沼湿地生态与资源重点实验室, 江苏连云港 222005
2. 江苏省海洋生物技术重点实验室, 江苏连云港 222005
3. 江苏省海洋生物产业技术协同创新中心, 江苏连云港 222005

摘要: 浒苔 (*Ulva prolifera*) 幼苗是绿潮藻天然“种子库”的主要组成部分, 在绿潮发生发展过程中发挥重要作用。为揭示浒苔绿潮早期暴发的原因, 并为未来浒苔绿潮的预警防控提供基础数据, 选取2个CO₂浓度 [正常空气的CO₂浓度400 μatm (LC) 和加富后的CO₂浓度1 000 μatm (HC)] 和3个光周期 [短光照 (LL): 10 L : 14 D、正常光照 (ML): 12 L : 12 D和长光照 (HL): 14 L : 10 D], 探索其对浒苔幼苗的生长和光合生理的影响。结果显示, 高浓度CO₂和长光照显著促进了幼苗生长 ($P<0.05$); 相较ML培养条件下, 藻体在HL培养条件下显现出更高的生长速率和较低的呼吸速率; 光化学参数受高浓度CO₂和光照时间的影响不明显; 高浓度CO₂和长光照显著降低了叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素的含量 ($P<0.05$)。结果表明, CO₂和光周期对幼苗的生长及光合生理具有显著影响 ($P<0.05$), HC、HL促进了幼苗的快速生长, 增加了浒苔绿潮暴发的可能性, 研究结果为深入了解绿潮藻暴发的原因提供了基础数据。

关键词: 浒苔幼苗; 高浓度 CO₂; 光周期; 生长; 光合生理; 绿潮

中图分类号: S 917.3

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Effects of elevated CO₂ and photoperiod on growth and physiological performance of seedlings of *Ulva prolifera*

ZHOU Wei^{1,2,3}, WU Hui², HUANG Jingjing², ZHAO Xixing², WANG Jingwen², WANG Jinguo^{1,2,3}

1. Jiangsu Ocean University/Jiangsu Key Laboratory of Marine Bioresources and Environment/Key Laboratory of Coastal Salt Marsh Ecosystems and Resources, Ministry of Natural Resources, Lianyungang 222005, China
2. Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology, Lianyungang 222005, China
3. Co-Innovation Center of Jiangsu Marine Bio-industry Technology, Lianyungang 222005, China

Abstract: *Ulva prolifera* seedlings, which are the main component of the natural "seed bank" of green tide algae, play an important role in the occurrence and development of green tide. In order to understand the causes of the early outbreak of the green tide of *U. prolifera* and provide basic data for its early warning and prevention, we studied the growth and physiological responses of seedlings after the seedlings being cultured at two different CO₂ levels (LC: 400 μatm; HC: 1 000 μatm) in combination with three different photoperiods (LL: 10 L : 14 D; ML: 12 L : 12 D; HL: 14 L : 10 D). The relative growth rate of seedlings were significantly enhanced by elevated CO₂ under three light-dark regimes ($P<0.05$). The seedlings showed an obvious higher

收稿日期: 2021-09-26; 修回日期: 2021-12-24

基金项目: 江苏省自然资源发展专项资金项目 (JSZRHYKJ202001); 江苏省政策引导类计划 (苏北科技专项) (SZ-LYG202036); 江苏海洋大学人才引进科研基金项目 (KQ19068); 连云港市“花果山英才计划”-双创博士项目 (KK21054); 江苏省产学研合作项目 (BY2021356); 江苏省优势学科建设工程资助项目

作者简介: 周伟 (1985—), 男, 高级工程师, 博士, 从事水产育苗和养殖等研究。E-mail: wzhou@jou.edu.cn

通信作者: 王津果 (1989—), 女, 实验师, 博士, 从事海洋生物遗传育种研究。E-mail: 2020000035@jou.edu.cn

growth rate and a lower dark respiration rate (R_d) by HL treatment than by ML treatment. The impact of elevated CO₂ and illumination time on the photochemical performance was not obvious. Elevated CO₂ and longer illumination time had negative effects on chlorophyll *a* (Chl *a*), chlorophyll *b* (Chl *b*) and carotenoids (Car) content. The results suggest that the growth and physiological of seedlings are significantly influenced by elevated CO₂ and photoperiod ($P < 0.05$). HC and HL promoted the growth of its seedlings and increased the possibility of outbreak of green tide caused by *U. prolifera*. This study provides basic data for indepth understanding of the causes of green tide algae outbreak.

Keywords: *Ulva prolifera* seedlings; Elevated CO₂; Photoperiod; Growth; Physiological performance; Green tide

自 2007 年首次暴发以来, 浒苔 (*Ulva prolifera*) 绿潮已持续成为中国黄海海域的重大生态自然灾害, 其漂浮规模之大、持续时间之长、暴发频率之高、态势发展之恶劣、危害程度之深、治理费用之高, 已引起各界的广泛关注^[1]。研究其暴发机制及影响因素是防治绿潮暴发的必要前提。中国黄海绿潮藻优势种为浒苔, 通常具有营养繁殖、无性生殖和有性生殖 3 种繁殖方式^[2], 生活史中的任何一形态均可以单独发育为成熟藻体。其中, 四鞭毛孢子、两鞭毛孢子、两鞭毛雌配子、两鞭毛雄配子、合子、显微幼苗以及海水动力学下微观碎片等“微观繁殖体”, 构成了庞大的绿潮藻“种子库”^[3,5], 其在适应能力、生长速率、光合生理、生命周期等方面与绿潮藻成熟藻体间存在潜在差异, 是影响浒苔绿潮前期暴发的重要因素。

工业革命以来, 随着化石燃料的大量使用, 大气中的 CO₂ 浓度由 280 μatm 增加到目前的 407 μatm ^[6], 海洋吸收了人类排放 CO₂ 量的 30% 以上, 使得表层海水碱性下降, 引起海洋酸化^[7]。按照这样的趋势, 预计在 21 世纪中下叶, 大气中 CO₂ 浓度将会达到 800~1 000 μatm ^[8-9], 海洋表层 pH 值下降 0.3~0.4, 依赖于海水化学环境的大型藻类将受到直接影响。光周期是调节藻类季节性变化的关键因素^[10], 日照长短会影响藻类对溶解性无机碳和细胞碳需求的亲和力, 进而调节藻体的 CO₂ 浓缩机制 (CCMs), 从而改变藻类生长速率^[11-12]。研究表明, 光照和 CO₂ 浓度是藻类生长和光合作用的重要影响因素^[10-13], 它们对藻类的影响具有种属差异性^[14-20]。绿潮暴发前期阶段, CO₂ 和光周期是浒苔微观繁殖体及其幼苗暴发性生长的重要影响因素, 但目前关于 CO₂ 浓度和光周期对浒苔幼苗生长和光合生理的影响尚待更深入的研究。本研究选取 CO₂ 和光周期两个关键因素, 探索其对作为“种子库”重要组成部分的浒苔幼苗生长及光合生理特性的影响, 以期揭示浒苔绿潮早期暴发的原

因, 为未来浒苔绿潮的预警防控提供基础数据和理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料及培养条件

浒苔样品采自浙江宁波象山东部海湾潮间带 (121°46'E, 29°33'N), 采集后将藻体清洗阴至半干, 置于低温保种箱带回实验室, 用灭菌海水浸洗干净, 挑选颜色鲜绿、生长健康的藻体用于实验。在 25 °C、光照强度 130~160 $\mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$ 、光周期 12 L : 12 D、盐度 30 的条件下预培养。每天定时将藻体置于显微镜下观察生长状况, 取长势良好的健康藻体, 将其剪成 2 cm 左右的小段, 置于加有 Provasoli 培养基的过滤灭菌海水中, 每 3 d 更换培养液。待藻段变为黄褐色后, 取出置于离心管中, 24 h 后加入灭菌海水, 待藻段颜色变白, 取出置于显微镜下观察并收集孢子/配子液。移取 1 mL 孢子/配子液置于培养皿中, 加入 20 mL 过滤灭菌并添加培养基的海水, 轻轻晃动使孢子/配子均匀分布于培养皿中, 置于 20 °C、光照强度为 100 $\mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$ 、光周期为 12 L : 12 D 的培养箱中充气培养, 每 2 d 添加 1 次培养基, 14 d 后长成 2 cm 左右的幼苗, 用于后续实验。

1.2 实验设计

选择 CO₂ 浓度和光周期 2 个环境因子, CO₂ 浓度设置 2 个梯度, 分别是正常空气的 CO₂ 浓度 400 μatm (Lower CO₂, LC) 和加富后的 CO₂ 浓度 1 000 μatm (Higher CO₂, HC), 每个 CO₂ 浓度下设置 10 L : 14 D (短光照, LL)、12 L : 12 D (正常光照, ML)、14 L : 10 D (长光照, HL) 3 个不同光周期, 即共 6 个 CO₂ 和光周期组合处理组, 每个组合设 3 个平行样。将 (0.20±0.01) g 的幼苗置于装有过滤灭菌海水并添加 Provasoli 培养基的 500 mL 通气培养瓶中, 在 20 °C、光照强度 100 $\mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$ 的 GXZ-500C 型智能光照培养箱中培养, 每 2 d 更换 1 次培养液。

为了将不同光周期处理下的培养基 pH 保持在 8.2 ± 0.05 (LC) 和 7.9 ± 0.05 (HC), 每 2 d 更换一次培养基。pH 的测定采用 pH 计 (Mettler-Toledo, F2-Standard, Switzerland), 总碱度根据 Gao 滴定法测定^[15]。根据总碱度和 pH 使用 CO2SYS 软件计算海水中的其他海水碳酸盐系统参数^[21]。

1.3 相对生长速率的测定

每 2 d 测定一次藻体质量, 先用镊子取出藻体, 用吸水纸轻轻吸干表面水分后, 称量湿质量。为减少操作误差, 每次称量均由同一个人操作, 每次都保持吸水纸层数和吸水时间一致, 尽量减少在空气中的干露, 以防损伤藻体生理活性^[6]。相对生长速率 (RGR, %·d⁻¹) 计算公式如下:

$$RGR = \ln(W_t/W_0) / t \times 100\% \quad (1)$$

式中: W_t 为第 t 天藻体的质量 (g); W_0 为藻体初始质量 (g); t 为培养天数 (d)。

1.4 叶绿素荧光参数的测定

采用 PAM 叶绿素手持荧光仪 (AquaPen AP-P 100 Chech) 测定叶绿素荧光参数。测定前, 样品在黑暗条件下处理 15 min, 于培养光强下测定荧光诱导曲线。在 8 种光化光强度 [0, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1 000 $\mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$] 下测定相对电子传递速率 (rETR)、快速光响应曲线 (RLC), 计算公式如下:

$$rETR = Y(\text{II}) \times 0.5 \times \text{PAR} \quad (2)$$

式中: $Y(\text{II})$ 为光系统 II 的有效光合量子产率; 0.5 为光系统 II 吸收的光量子占总量的比例; PAR 为光化光强 [$\mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$]。

快速光响应曲线根据 Eilers 等^[22] 进行拟合, 计算公式如下:

$$rETR = \text{PAR} / (a \times \text{PAR}^2 + b \times \text{PAR} + c) \quad (3)$$

式中: a 、 b 、 c 为拟合参数。

根据拟合参数计算最大相对电子传递速率 ($rETR_{\text{max}}$)、光能利用效率 (α) 及饱和光强 (E_k), 计算公式如下:

$$rETR_{\text{max}} = 1 / [b + 2(ac)^{1/2}] \quad (4)$$

$$\alpha = 1/c \quad (5)$$

$$E_k = rETR_{\text{max}} / \alpha \quad (6)$$

1.5 净光合速率和呼吸速率的测定

采用液相氧电极 (YSI 5300A, 美国) 进行净光合速率和呼吸速率的测定。实验前将藻体剪成 1 cm 长度的小段, 并置于培养条件下适应 1 h 以上以减少机械损伤。称取约 0.01 g 藻体置于含 8 mL

培养基的反应槽中, 由恒温循环器 (DHX-2005, 中国) 控制温度在 20 °C。暗适应 20 min, 黑暗条件下反应槽内 O_2 浓度的变化即为呼吸速率 (鲜质量, 下同) [R_d , $\mu\text{mol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$], 采用卤素灯提供外源光强, 通过调整卤素灯和反应槽的距离获得培养光强下的净光合速率 [P_n , $\mu\text{mol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$]。

1.6 色素含量的测定

称取 0.05 g 藻体置于离心管中, 加入 5 mL 无水乙醇, 于 4 °C 冰箱中放置 12 h, 离心, 取上清液。分光光度计分别测定提取液在 666、653 nm 波长处的吸光值。根据以下公式计算叶绿素 a (Chl a)、叶绿素 b (Chl b)、类胡萝卜素 (Carotenoids, Car) 的质量分数 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)^[23]:

$$w_{\text{Chl } a} = 15.65A_{666} - 7.34A_{653} \quad (7)$$

$$w_{\text{Chl } b} = 27.05A_{653} - 11.21A_{666} \quad (8)$$

$$w_{\text{Car}} = (1\,000A_{470} - 2.86w_{\text{Chl } a} - 129.2w_{\text{Chl } b}) / 221 \quad (9)$$

式中: $w_{\text{Chl } a}$ 为叶绿素 a 的质量分数; $w_{\text{Chl } b}$ 为叶绿素 b 的质量分数; w_{Car} 为类胡萝卜素的质量分数; A_{666} 、 A_{653} 、 A_{470} 分别为 666、653、470 nm 波长处的吸光值。

1.7 数据分析

所得数据均以“平均值 \pm 标准差 ($\bar{X} \pm \text{SD}$)”表示, 使用 Origin 9.1 软件进行数据处理及作图。利用单因素方差 (One-way ANOVA) 分析及 Turkey's 多重比较检验处理组间海水碳酸盐系统参数、相对生长速率、有效光合量子产率、最大相对电子传递速率、光能利用效率、饱和光强、净光合速率、呼吸速率、叶绿素 a 、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量的差异显著性。利用双因素方差 (Two-way ANOVA) 分析 CO_2 和光周期对相对生长速率、有效光合量子产率、最大相对电子传递速率、光能利用效率、饱和光强、净光合速率、呼吸速率和叶绿素 a 、叶绿素 b 、类胡萝卜素含量的交互作用。

2 结果

2.1 海水碳酸盐系统参数

CO_2 和光周期均影响海水的碳酸盐系统参数, 且存在交互作用。高浓度 CO_2 降低了海水中的 CO_3^{2-} 浓度, 提高了 CO_2 分压 ($p\text{CO}_2$)、溶解性无机碳、 HCO_3^- 和 CO_2 浓度。在 LC 条件下, 光照时间延长对碳酸盐系统参数没有影响, 在 HC 条件下, 海水的 pH、 CO_3^{2-} 浓度均在 ML 处理下达到最高值, $p\text{CO}_2$ 、 CO_2 浓度则在 ML 处理下出现最低值 (表 1)。

表1 不同CO₂和光周期水平下海水的碳酸盐系统参数Table 1 Parameters of seawater carbonate system under different CO₂ and photoperiod conditions

| 组别 Group | pH | CO ₂ 分压 <i>p</i> CO ₂ | 溶解性无机碳 <i>b</i> (DIC)/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$) | <i>b</i> (HCO ₃ ⁻)/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$) |
|----------|------------------------|--|--|--|
| LCLL | 8.22±0.01 ^a | 361.92±12.43 ^a | 1992.63±20.00 ^a | 1801.45±21.33 ^a |
| LCML | 8.20±0.02 ^a | 387.10±23.49 ^a | 2026.25±33.93 ^a | 1838.76±36.64 ^a |
| LCML | 8.21±0.02 ^a | 374.86±19.66 ^a | 2012.20±37.71 ^a | 1822.57±36.83 ^a |
| HCLL | 7.86±0.02 ^b | 908.57±41.54 ^b | 2089.37±34.75 ^b | 1973.63±33.03 ^b |
| HCML | 7.93±0.01 ^c | 760.59±32.15 ^c | 2082.15±46.47 ^{ab} | 1956.44±44.46 ^b |
| HCHL | 7.87±0.03 ^b | 893.73±42.53 ^b | 2104.42±37.06 ^b | 1986.47±32.13 ^b |

| 组别 Group | <i>b</i> (CO ₃ ²⁻)/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$) | <i>b</i> (CO ₂)/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$) | 总碱度 <i>b</i> (TA)/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$) |
|----------|--|--|--|
| LCLL | 179.24±2.22 ^a | 11.94±0.41 ^a | 2251.60±16.65 ^a |
| LCML | 174.72±3.49 ^a | 12.78±0.78 ^a | 2276.87±27.12 ^a |
| LCML | 177.26±6.11 ^a | 12.37±0.65 ^a | 2267.25±38.27 ^a |
| HCLL | 85.76±3.50 ^b | 29.99±1.37 ^b | 2194.97±35.74 ^a |
| HCML | 100.61±2.63 ^c | 25.10±1.06 ^c | 2214.06±46.52 ^a |
| HCHL | 88.45±6.54 ^b | 29.50±1.40 ^b | 2214.06±46.52 ^a |

注: 不同字母表示不同处理间差异显著 ($P<0.05$)。表 4 同此。

Note: Different superscript letters represent significant difference ($P<0.05$). The same case in Table 4.

2.2 CO₂ 和光周期对浒苔幼苗相对生长速率的影响

由图 1 可以看出, LC 条件下, 光照时间延长显著促进了浒苔幼苗的生长 ($P<0.05$), HL 条件下相对生长速率高达 $(11.50\pm 0.13)\% \cdot \text{d}^{-1}$, 比 LL 条件下的高约 40.07%; HC 条件下, 幼苗的生长趋势与 LC 条件下相同, 随着光照时间的延长幼苗的生长速率增加, HL 条件下相对生长速率为 LL 条件下的近 1.6 倍。在不同的光周期条件下, HC 均呈现出显著促进幼苗生长的现象 ($P<0.05$), LL 条件下, HC 处理下相对生长速率为 $(9.21\pm 0.27)\% \cdot \text{d}^{-1}$, 比 LC 增加 12.18%; ML 培养时, LC 条件下的相对生长速率为 $(9.15\pm 0.20)\% \cdot \text{d}^{-1}$, 比 HC 降低 14.41%; HL 条件下, HC 比 LC 培养藻体的相对生长速率提高 27.91%。CO₂、光周期对浒苔幼苗的生长产生了极显著的影响, 且交互作用极显著 ($P<0.01$, 表 2)。

2.3 CO₂ 和光周期对浒苔幼苗光化学参数的影响

在 HC 处理下, 浒苔幼苗的有效光合量子产率随着光照时间的增加而显著升高 ($P<0.05$, 图 2), HL 培养下, 有效光合量子产率达到最大值 (0.68 ± 0.04) 。在 LC 培养下, 有效光合量子产率随光照时间的变化呈现增加的趋势, HL 条件下, 有效光合量子产率为 0.51 ± 0.01 , 和 ML 条件下的有效光合

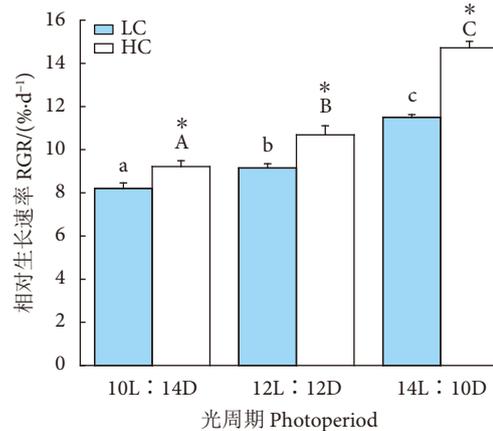


图1 不同CO₂和光周期水平下浒苔幼苗相对生长速率变化

注: 不同小写字母表示在 LC 条件下不同处理间差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母表示在 HC 条件下不同处理间差异显著 ($P<0.05$); *表示同一光周期下不同 CO₂ 水平间差异显著 ($P<0.05$); 后图同此。

Fig. 1 Relative growth rate of *U. prolifera* seedlings under different CO₂ and photoperiod conditions

Note: Different lowercase letters represent significant difference among different treatments under lower CO₂ condition ($P<0.05$), and different uppercase letters represent significant difference among different treatments under high CO₂ condition ($P<0.05$). Asterisk represent significant difference between low and high CO₂ conditions within a photoperiod treatment ($P<0.05$). The same case in the following figures.

量子产率 (0.40 ± 0.01) 没有显著性差异 ($P>0.05$)。在不同光照时间培养下, HC 显著提高了培养藻体的

表2 CO₂和光周期对浒苔幼苗相对生长速率的双因素方差分析

Table 2 Two-way ANOVA analysis for effect of CO₂ and photoperiod on relative growth rate of *U. prolifera* seedlings

| | 自由度 <i>df</i> | <i>F</i> | 显著性 Sig. |
|---|---------------|------------|----------|
| 光周期 Photoperiod | 2 | 400.896 68 | <0.001 |
| CO ₂ | 1 | 214.697 48 | <0.001 |
| 光周期×CO ₂ Photoperiod×CO ₂ | 2 | 25.877 27 | <0.001 |
| 误差 Error | 12 | | |

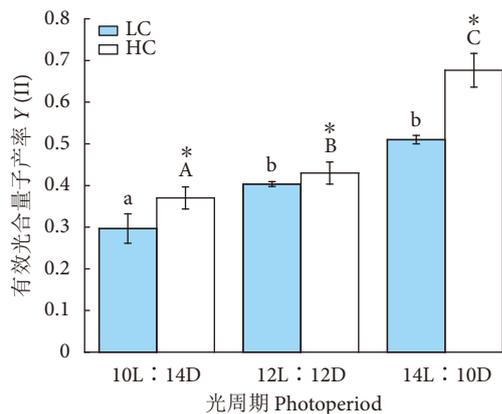


图2 不同CO₂和光周期水平下浒苔幼苗有效光合量子产率变化

Fig. 2 Variation in yield of *U. prolifera* seedlings under different CO₂ and photoperiod conditions

有效光合量子产率 ($P<0.05$)。CO₂、光周期极显著影响浒苔幼苗的有效光合量子产率,且有极显著的交互作用 ($P<0.01$, 表3)。

浒苔幼苗的相对电子传递速率随着光强的增加逐渐上升而后趋于平稳,且在HL条件下较高(图3)。根据图3计算出的最大相对电子传递速率、光能利用效率、饱和光强见表4,饱和光强在不同处理间差异不显著 ($P>0.05$),但HL对幼苗的最大相对电子传递速率和光能利用效率均有显著的促进作用 ($P<0.05$)。

通过对不同处理下浒苔幼苗快速光响应曲线最佳拟合参数最大相对电子传递速率、光能利用效率、饱和光强的双因素方差分析可知,光周期的变

表3 CO₂和光周期对浒苔幼苗有效光合量子产率的双因素方差分析

Table 3 Two-way ANOVA analysis for effect of CO₂ and photoperiod on yield of *U. prolifera* seedlings

| | 自由度 <i>df</i> | <i>F</i> | 显著性 Sig. |
|---|---------------|------------|----------|
| 光周期 Photoperiod | 2 | 64.212 12 | <0.001 |
| CO ₂ | 1 | 203.757 58 | <0.001 |
| 光周期×CO ₂ Photoperiod×CO ₂ | 2 | 12.757 58 | 0.001 1 |
| 误差 Error | 12 | | |

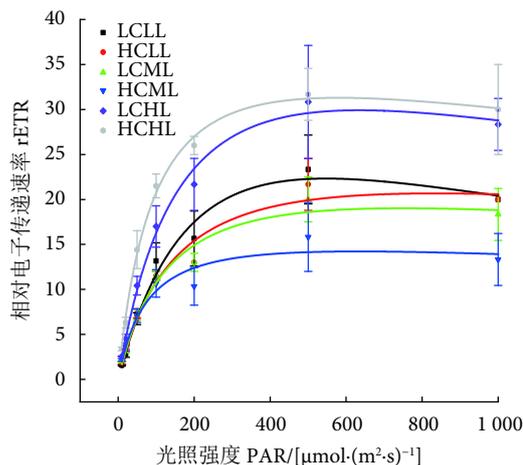


图3 不同CO₂和光周期条件下浒苔幼苗的相对电子传递速率(rETR)

Fig. 3 rETR values of *U. prolifera* seedlings under different CO₂ and photoperiod conditions

化会对幼苗的最大相对电子传递速率、光能利用效率产生极显著影响 ($P<0.01$);不同CO₂浓度会对幼苗的最大相对电子传递速率产生极显著影响 ($P<0.01$),且显著影响幼苗的光能利用效率 ($P<0.05$);光周期和CO₂对幼苗的光能利用效率有显著交互作用 ($P<0.05$),而对最大相对电子传递速率、饱和光强无显著交互作用 ($P>0.05$, 表5)。

2.4 CO₂和光周期对浒苔幼苗净光合速率和呼吸速率的影响

CO₂和光周期对浒苔幼苗的净光合速率和呼吸速率均有极显著影响 ($P<0.01$),对净光合速率无显著交互作用 ($P>0.05$),对呼吸速率则有显著交互作

表4 不同CO₂和光周期条件下浒苔幼苗的相对电子传递速率(rETR)与光强关系的最佳拟合参数

Table 4 Best fitted parameters of relationship between rETR and light intensity of *U. prolifera* seedlings under different CO₂ and photoperiod conditions

| | LCLL | LCML | LCHL | HCLL | HCML | HCHL |
|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 最大相对电子传递速率 rETR _{max} | 22.59±3.18 ^{ab} | 19.25±2.79 ^a | 30.49±5.06 ^b | 21.68±1.28 ^a | 13.56±3.59 ^a | 36.69±3.97 ^b |
| 光能利用效率 α | 0.16±0.00 ^a | 0.19±0.05 ^{ab} | 0.26±0.03 ^b | 0.18±0.05 ^a | 0.23±0.07 ^a | 0.41±0.05 ^c |
| 饱和光强 E_k | 138.81±20.64 ^a | 109.04±43.75 ^a | 120.90±29.12 ^a | 131.90±47.43 ^a | 69.36±34.08 ^a | 91.41±20.22 ^a |

表5 CO₂和光周期对浒苔幼苗快速光响应曲线最佳拟合参数的双因素方差分析

Table 5 Two-way ANOVA analysis for effect of CO₂ and photoperiod on best fitted parameters derived from light response curve of *U. prolifera* seedlings

| | 自由度 <i>df</i> | <i>F</i> | 显著性 Sig. |
|---|---------------|-----------|----------|
| 最大相对电子传递速率 rETR _{max} | | | |
| 光周期 Photoperiod | 2 | 19.590 67 | 0.001 00 |
| CO ₂ | 1 | 9.788 51 | 0.008 71 |
| 光周期×CO ₂ Photoperiod×CO ₂ | 2 | 3.743 84 | 0.054 52 |
| 误差 Error | 12 | | |
| 光能利用效率 α | | | |
| 光周期 Photoperiod | 2 | 9.216 37 | 0.003 76 |
| CO ₂ | 1 | 5.973 77 | 0.030 92 |
| 光周期×CO ₂ Photoperiod×CO ₂ | 2 | 5.946 1 | 0.016 05 |
| 误差 Error | 12 | | |
| 饱和光强 E _k | | | |
| 光周期 Photoperiod | 2 | 2.799 56 | 0.100 49 |
| CO ₂ | 1 | 2.477 03 | 0.141 50 |
| 光周期×CO ₂ Photoperiod×CO ₂ | 2 | 0.361 05 | 0.704 27 |
| 误差 Error | 12 | | |

表6 CO₂和光周期对浒苔幼苗净光合速率和呼吸速率的双因素方差分析

Table 6 Two-way ANOVA analysis for effect of CO₂ and photoperiod on net photosynthetic rate and dark respiration rate of *U. prolifera* seedlings

| | 自由度 <i>df</i> | <i>F</i> | 显著性 Sig. |
|---|---------------|-----------|----------|
| 净光合速率 P _n | | | |
| 光周期 Photoperiod | 2 | 68.179 51 | <0.001 |
| CO ₂ | 1 | 76.312 00 | <0.001 |
| 光周期×CO ₂ Photoperiod×CO ₂ | 2 | 3.605 82 | 0.059 39 |
| 误差 Error | 12 | | |
| 呼吸速率 R _d | | | |
| 光周期 Photoperiod | 2 | 32.090 00 | <0.001 |
| CO ₂ | 1 | 52.590 09 | <0.001 |
| 光周期×CO ₂ Photoperiod×CO ₂ | 2 | 8.720 18 | 0.004 59 |
| 误差 Error | 12 | | |

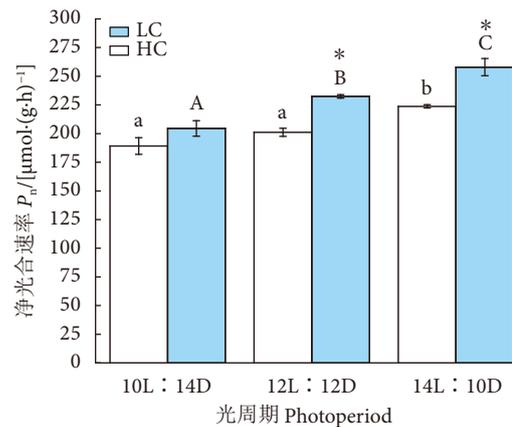


图4 不同CO₂和光周期水平下浒苔幼苗净光合速率变化
Fig. 4 Net photosynthetic rate of *U. prolifera* seedlings under different CO₂ and photoperiod conditions

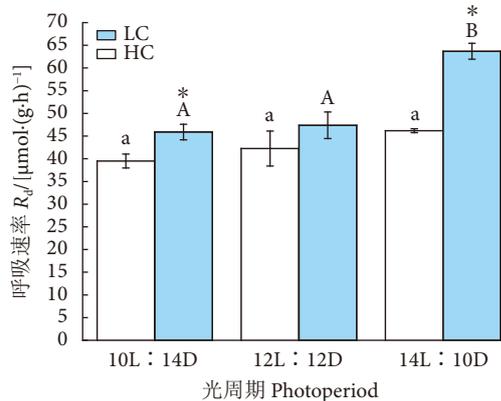
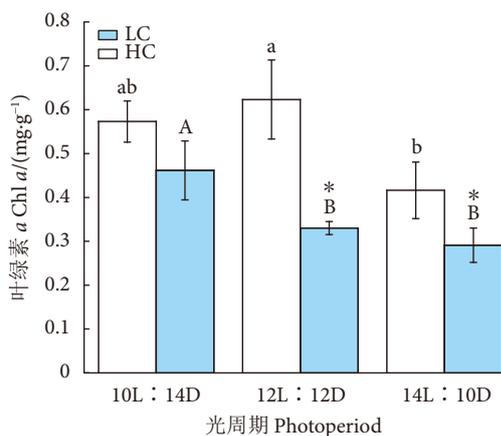
用 ($P < 0.05$, 表 6)。净光合速率随着光照时间的延长逐渐增加 (图 4)。在 LC 条件下, LL 和 ML 光照组的净光合速率无显著性差异 ($P > 0.05$), 分别为 (189.14 ± 7.24) 和 $(201.14 \pm 3.57) \mu\text{mol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$, 明显低于 HL 培养藻体的净光合速率 $[(223.77 \pm 1.46) \mu\text{mol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}]$ 。HC 条件下, HL 光照组净光合速率高达 $(257.92 \pm 7.46) \mu\text{mol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$, 比 LL、ML 时的分别增加 26.13%、10.95% ($P < 0.05$)。HC 培养藻体的净光合速率均高于 LC 培养藻体的, 并在 ML、HL 光照培养时表现出显著性差异 ($P < 0.05$)。

浒苔幼苗的呼吸速率随光照时间延长及 CO₂ 浓度的升高而增加 (图 5)。LC 培养下, 藻体的呼吸速率在不同光周期处理间无显著性差异 ($P > 0.05$), 最高值出现在 HL 培养条件下 $[(46.19 \pm 0.42) \mu\text{mol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}]$ 。HC 条件下, 呼吸速率呈现出相同的变化趋势, 在 HL 处理下达到最大值 $[(63.68 \pm 1.75) \mu\text{mol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}]$, 显著高于 ML 的 $(47.37 \pm 2.93) \mu\text{mol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 、LL 的 $(45.89 \pm 1.70) \mu\text{mol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ ($P < 0.05$)。呼吸速率随着 CO₂ 浓度的升高而增加, 分别在 LL 和 HL 培养时表现出显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.5 CO₂ 和光周期对浒苔幼苗光合色素的影响

浒苔幼苗的 Chl *a* 质量分数随着光照时间的延长呈现下降趋势 ($P < 0.05$, 图 6)。LC、HC 处理下, Chl *a* 质量分数在 ML 培养时分别为 (0.62 ± 0.09) 、 $(0.33 \pm 0.02) \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 比 LL 培养的分别增加 9%、降低 42%, HL 培养藻体的 Chl *a* 质量分数低于 LL, 分别为 (0.42 ± 0.06) 和 $(0.29 \pm 0.04) \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。HC 降低了 Chl *a* 质量分数, 且在 ML、HL 培养条件下差异显著 ($P < 0.05$)。

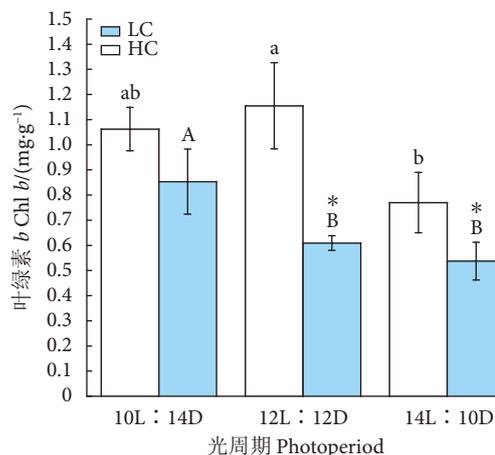
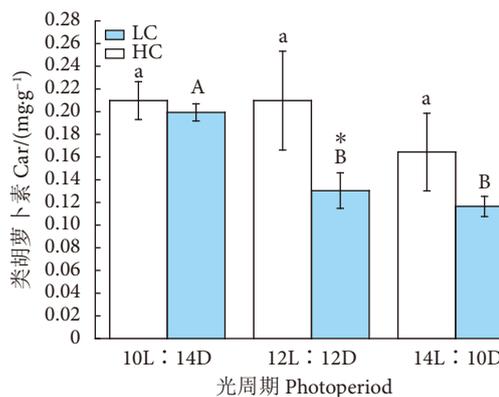
如图 7 所示, 随着光照时间的增加, 浒苔幼苗 Chl *b* 质量分数总体上呈逐渐降低的变化趋势 ($P < 0.05$)。在 LC 培养条件下, Chl *b* 质量分数最高值出现在 ML 处理组 $[(1.16 \pm 0.17) \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}]$, 是

图5 不同CO₂和光周期水平下浒苔幼苗呼吸速率变化Fig. 5 Dark respiration rate of *U. prolifera* seedlings under different CO₂ and photoperiod conditions图6 不同CO₂和光周期水平下浒苔幼苗叶绿素a质量分数变化Fig. 6 Chl a mass fractions of *U. prolifera* seedlings under different CO₂ and photoperiod conditions

HL 处理组的 1.5 倍；在 HC 培养条件下，Chl *b* 质量分数最高值出现在 LL 处理组 $[(0.85\pm 0.13)\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}]$ ，是 HL 处理组的 1.6 倍。Chl *b* 质量分数在高浓度 CO₂ 及长光照处理下显著下降 ($P<0.05$)。

在 LC、HC 培养条件下，浒苔幼苗 Car 质量分数随着光照时间的增加表现出整体下降的变化趋势 (图 8)，这种下降趋势在 LC 处理下并不显著 ($P>0.05$)，Car 质量分数高低顺序为 LL $[(0.21\pm 0.02)\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}]\approx$ ML $[(0.21\pm 0.04)\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}]>$ HL $[(0.16\pm 0.03)\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}]$ 。HC 处理下的 Car 质量分数均低于 LC 处理下的，且在 ML 培养时表现出显著性差异 ($P<0.05$)。

在整个实验过程中，浒苔幼苗的光合色素 Chl *a*、Chl *b* 和 Car 含量随着光照时间的延长均呈现逐渐下降的趋势 (图 6—图 8)，这种趋势在 HC 培养条件下更为明显，且 HC 降低了光合色素 Chl *a*、Chl *b* 和 Car 含量。光周期和 CO₂ 的变化均

图7 不同CO₂和光周期水平下浒苔幼苗叶绿素b质量分数变化Fig. 7 Chl b mass fractions of *U. prolifera* seedlings under different CO₂ and photoperiod conditions图8 不同CO₂和光周期水平下浒苔幼苗类胡萝卜素质量分数变化Fig. 8 Car contents of *U. prolifera* seedlings under different CO₂ and photoperiod conditions

会对幼苗的光合色素产生极显著影响 ($P<0.01$)；光周期和 CO₂ 对幼苗的 Chl *a*、Chl *b* 含量均有显著交互作用 ($P<0.05$)，而对 Car 无显著交互作用 ($P>0.05$ ，表 7)。

3 讨论

本研究结果显示，随着光照时间的延长，浒苔幼苗的相对生长速率呈增加趋势，这与缘管浒苔 (*U. linza*) 成熟藻体、脐形紫菜 (*Porphyra umbilicalis*) 的研究结果一致^[14,18,20]。已有研究表明，延长光照时间可能会影响无机碳的捕获和固定能力，从而促进藻体生长^[24]。本研究中光照时间延长提高了浒苔幼苗的有效光合量子产率，也与之前的研究相一致。另外，在短光照 (8L:16D) 培养条件下弯枝藻 (*Compsopogon coeruleus*) 的相对生长速率最

表7 CO₂和光周期对浒苔幼苗光合色素 (Chl a, Chl b, Car) 的双因素方差分析Table 7 Two-way ANOVA analysis for effect of CO₂ and photoperiod on Chl a, Chl b and Car of *U. prolifera* seedlings

| | 自由度 <i>df</i> | <i>F</i> | 显著性 Sig. |
|---|---------------|-----------|----------|
| 叶绿素 a Chl a | | | |
| 光周期 Photoperiod | 2 | 12.627 45 | 0.001 12 |
| CO ₂ | 1 | 40.655 96 | <0.001 |
| 光周期×CO ₂ Photoperiod×CO ₂ | 2 | 4.440 73 | 0.036 02 |
| 误差 Error | 12 | | |
| 叶绿素 b Chl b | | | |
| 光周期 Photoperiod | 2 | 12.135 15 | 0.001 31 |
| CO ₂ | 1 | 39.309 47 | <0.001 |
| 光周期×CO ₂ Photoperiod×CO ₂ | 2 | 4.276 84 | 0.039 61 |
| 误差 Error | 12 | | |
| 类胡萝卜素 Car | | | |
| 光周期 Photoperiod | 2 | 9.957 24 | 0.002 83 |
| CO ₂ | 1 | 15.286 19 | 0.002 07 |
| 光周期×CO ₂ Photoperiod×CO ₂ | 2 | 2.880 35 | 0.095 13 |
| 误差 Error | 12 | | |

高^[19], 脐形紫菜在正常光照 (12L : 12D) 和长光照 (16L : 8D) 处理下相对生长速率最高^[20], 20L : 4D 比 16L : 8D 培养的小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 相对生长速率低^[25]。由此可见, 光周期对藻类的影响具有种属特异性。

在不同的光照时间培养下, 高浓度 CO₂ 提高了净光合速率, 促进了浒苔幼苗的生长。浒苔属物种具有高效的 CO₂ 浓缩机制, 但是高浓度 CO₂ 培养依然会促进其生长^[26-29]。这可能是因为 CO₂ 浓度升高一方面会提高培养水体中无机碳浓度, 促进光合固碳作用, 另外一方面会导致藻体无机碳浓缩机制下调, 节省的能量则用于藻体生长^[28,30-32]。高浓度 CO₂ 显著降低了浒苔幼苗的 Chl a、Chl b 和 Car 的含量, 也证实了上述观点。CO₂ 浓度升高导致藻类无机碳浓缩机制下调, 色素合成减少, “光合色素经济性”节省的能量则用于其他代谢和生物合成途径, 进而促进藻体的生长^[32]。例如, 高浓度 CO₂ 提高了可溶性碳水化合物、可溶性蛋白质含量和硝酸还原酶等活性^[6,18]。然而, 高浓度 CO₂ 在促进浒苔幼苗净光合速率的同时, 协同引起呼吸速率的增加, 可能是因为海水酸性的增加作为一种环境胁迫, 会在一定程度上抑制藻体对光胁迫的耐受能力, 增加光抑制, 导致呼吸作用增强^[28], 而对生长的影响取决于 CO₂ 浓度升高与酸化“双

刃剑”效应的平衡^[33]。CO₂ 浓度升高促进呼吸速率的现象在温州羊栖菜 (*Hizikia fusiforme*)^[34]、三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*)^[35] 和海洋球石藻 (*Emiliana huxleyi*)^[36] 中也有发现。

CO₂ 浓度和光周期对色素含量和光化学参数均具有显著影响, 且存在明显的协同作用。在高浓度 CO₂ 和长光照 (14L : 10D) 条件下, 藻体色素含量下降, 色素对能量的利用效率却明显提高。本研究中藻体生长速率加快, 可能是光系统 II 的电子传递速率和光能利用效率随着 CO₂ 浓度升高和光照时间延长而明显升高, CO₂ 和光周期的耦合作用提高了色素对能量的利用效率, 从而有利于光系统 II 有效光合量子产率的增加。随着光照时间的延长, 藻体最大相对电子传递速率和光能利用效率均呈现逐渐增加趋势, 说明浒苔幼苗的生长和光合作用在响应 CO₂ 浓度和光周期变化过程中存在紧密联系。但 Yue 等^[14] 的研究发现 CO₂ 对缘管浒苔成体藻生长的影响取决于光周期的变化, 在短光照 8L : 16D 条件下 CO₂ 促进其生长, 在正常光照 12L : 12D 条件下 CO₂ 对其生长无影响, 在长光照 16L : 8D 处理下 CO₂ 抑制其生长, 这与本研究的结果不一致, 可能是由浒苔和缘管浒苔的不同生理特性所致。

本研究首次尝试阐明 CO₂ 和光周期之间的相互作用对浒苔幼苗的生长和光合生理的影响。结果显示, 随着 CO₂ 浓度的增加, 浒苔幼苗的生长加快, 并且这种增加随着日照时间的延长而增强。历年绿潮藻浒苔暴发期均集中在 5—8 月, 此时温度升高, 日照时间延长, 为浒苔暴发创造了必要条件。同时伴随着未来海洋酸化进程, 暴发浒苔绿潮的可能性增加。本研究结果为深入了解绿潮藻暴发的原因提供了基础数据, 其他环境因素如温度、营养盐等对浒苔幼苗的影响还需要进一步研究, 以便更深入地了解未来海洋绿潮发生的前期条件。

参考文献:

- [1] ZHANG C, LU J, WU J, et al. Removal of phenanthrene from coastal waters by green tide algae *Ulva prolifera*[J]. *Sci Total Environ*, 2017, 609: 1322-1328.
- [2] LIN A P, SHEN S D, WANG J W, et al. Reproduction diversity of *Enteromorpha prolifera*[J]. *J Integr Plant Biol*, 2008, 50(5): 622-629.
- [3] GAO S, CHEN X Y, YI Q Q, et al. A strategy for the proliferation of *Ulva prolifera*, main causative species of green tides, with formation of sporangia by fragmentation[J]. *PLOS ONE*, 2010, 5(1):

- e8571.
- [4] TAYLOR R, FLETCHER R L, RAVEN J A. Preliminary studies on the growth of selected "green tide" algae in laboratory culture: effects of irradiance, temperature, salinity and nutrients on growth rate[J]. *Bot Mar*, 2001, 44(4): 327-336.
- [5] 刘峰, 逢少军, 单体锋, 等. 一种新的海水中石莼属海藻显微阶段个体定量方法及在黄海绿潮爆发过程中的应用 [J]. *科学通报*, 2010, 55(6): 468-473.
- [6] GAO G, BEARDALL J, BAO M L, et al. Ocean acidification and nutrient limitation synergistically reduce growth and photosynthetic performances of a green tide alga *Ulva linza*[J]. *Biogeosciences*, 2018, 15(11): 3409-3420.
- [7] GATTUSO J P, MAGNAN A, BILLÉ R, et al. Contrasting futures for ocean and society from different anthropogenic CO₂ emissions scenarios[J]. *Science*, 2015, 349(6243): 45-55.
- [8] ZEEBE R E, WOLF-GLADROW D. CO₂ in seawater: equilibrium, kinetics, isotopes[J]. *J Mar Syst*, 2002, 36(3): 269-270.
- [9] CALDEIRA K, WICKETT M E. Oceanography: anthropogenic carbon and ocean pH[J]. *Nature*, 2003, 425(6956): 365.
- [10] DRING M J. Photocontrol of development in algae[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 1988, 39(1): 157-174.
- [11] ROST B, RIEBESELL U, SULTEMEYER D. Carbon acquisition of marine phytoplankton: effect of photoperiod length[J]. *Limnol Oceanogr*, 2006, 51(1): 12-20.
- [12] ROST B, RIEBESELL U, BURKHARDT S, et al. Carbon acquisition of bloom-forming marine phytoplankton[J]. *Limnol Oceanogr*, 2003, 48(1): 55-67.
- [13] GIORDANO M, BEARDALL J, RAVEN J A. CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2005, 56(1): 99-131.
- [14] YUE F R, GAO G, MA J, et al. Future CO₂-induced seawater acidification mediates the physiological performance of a green alga *Ulva linza* in different photoperiods[J]. *PeerJ*, 2019, 7(1): 1-19.
- [15] GAO G, QU L M, XU T P, et al. Future CO₂-induced ocean acidification enhances resilience of a green tide alga to low-salinity stress[J]. *ICES J Mar Sci*, 2019(7): 2437-2445.
- [16] BARAKAT K M, EL-SAYED H S, KHAIRY H M, et al. Effects of ocean acidification on the growth and biochemical composition of a green alga (*Ulva fasciata*) and its associated microbiota to the ocean acidification[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2021, 28(1045): 5106-5114.
- [17] CHEN B B, LIN L D, MA Z L, et al. Carbon and nitrogen accumulation and interspecific competition in two algae species, *Pyropia haitanensis* and *Ulva lactuca*, under ocean acidification conditions[J]. *Aquacult Int*, 2019, 27: 721-733.
- [18] LI Y H, ZHONG J L, ZHENG M S, et al. Photoperiod mediates the effects of elevated CO₂ on the growth and physiological performance in the green tide alga *Ulva prolifera*[J]. *Mar Environ Res*, 2018, 141: 24-29.
- [19] ZUCCHI M R, NECCHI O. Effects of temperature, irradiance and photoperiod on growth and pigment content in some freshwater red algae in culture[J]. *Phycol Res*, 2001, 49(2): 103-114.
- [20] GREEN L A, NEEFUS C D. Effects of temperature, light level, and photoperiod on the physiology of *Porphyra umbilicalis* Kützing from the Northwest Atlantic, a candidate for aquaculture[J]. *J Appl Phycol*, 2016, 28: 1815-1826.
- [21] CHU Y, LIU Y, LI J, et al. Effects of elevated pCO₂ and nutrient enrichment on the growth, photosynthesis, and biochemical compositions of the brown alga *Saccharina japonica* (Laminariaceae, Phaeophyta)[J]. *PeerJ*, 2019, 7(4): e8040.
- [22] EILERS P, PEETERS J. A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton[J]. *Ecol Model*, 1988, 42(3/4): 199-215.
- [23] WELLBURN A R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution[J]. *J Plant Physiol*, 1994, 144(3): 307-313.
- [24] KHOYI Z, SEYFABADI J, RAMEZANPOUR Z. Effects of light intensity and photoperiod on the growth rate, chlorophyll *a* and β -carotene of freshwater green micro alga *Chlorella vulgaris*[J]. *Comp Biochem Phys A*, 2009, 153(2): S215.
- [25] KENDIRLIOGLU G, AGIRMAN N, CETIN A K. The effects of photoperiod on the growth, protein amount and pigment content of *Chlorella vulgaris*[J]. *Turk J Sci Technol*, 2015, 10(2): 7-10.
- [26] GAO G, CLARE A S, ROSE C, et al. Eutrophication and warming-driven green tides (*Ulva rigida*) are predicted to increase under future climate change scenarios[J]. *Mar Pollut Bull*, 2017, 114(1): 439-447.
- [27] YOUNG C S, GOBLER C J. Ocean acidification accelerates the growth of two bloom-forming macroalgae[J]. *PLOS ONE*, 2016, 11(5): e0155152.
- [28] 张磊, 李航霄, 吴敏, 等. 不同温度下海水酸化对中肋骨条藻光合生理特性的影响 [J]. *江苏海洋大学学报 (自然科学版)*, 2020, 29(1): 1-7.
- [29] GAO G, LIU Y M, LI X S, et al. Expected CO₂-induced ocean acidification modulates copper toxicity in the green tide alga *Ulva prolifera*[J]. *Environ Exp Bot*, 2016, 135: 63-72.
- [30] GAO K S, XU J T, GAO G, et al. Rising CO₂ and increased light exposure synergistically reduce marine primary productivity[J]. *Nat Clim Change*, 2012, 2(7): 519-523.
- [31] RAVEN J A, JOHN B, PATRICIA S B. The possible evolution and future of CO₂-concentrating mechanisms[J]. *J Exp Bot*, 2017, 68(14): 3701-3716.
- [32] GAO G, LIU Y M, LI X S, et al. An ocean acidification acclimatized green tide alga is robust to changes of seawater carbon chemistry but vulnerable to light stress[J]. *PLOS ONE*, 2016, 11(12): e0169040.
- [33] 高坤山. 海洋酸化正负效应: 藻类的生理学响应 [J]. *厦门大学学报 (自然科学版)*, 2011, 50(2): 411-417.
- [34] ZOU D H. Effects of elevated atmospheric CO₂ on growth, photosynthesis and nitrogen metabolism in the economic brown seaweed, *Hizikia fusiforme* (Sargassaceae, Phaeophyta)[J]. *Aquaculture*, 2005, 250(3/4): 726-735.
- [35] WU Y P, GAO K S, RIEBESELL U. CO₂-induced seawater acidification affects physiological performance of the marine diatom *Phaeodactylum tricornerutum*[J]. *Biogeosciences*, 2010, 7(9): 2915-2923.
- [36] JIN P, WANG T F, LIU N N, et al. Ocean acidification increases the accumulation of toxic phenolic compounds across trophic levels[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8714.