

利用液相氧电极技术对鼠尾藻叶光合及呼吸作用的初步研究

梁洲瑞^{1,2}, 王飞久^{1*}, 孙修涛¹, 张立敬¹, 刘福利¹,
汪文俊¹, 丁昌玲¹, 李涛¹, 刘坤^{1,2}

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071;
2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 为了揭示鼠尾藻叶的生理生态适应性, 利用液相氧电极技术对鼠尾藻叶进行了光合及呼吸作用的初步研究: (1) 对鼠尾藻异形叶(阔叶、狭叶、气囊)的最大表观光合速率、饱和光强、光补偿点、初始量子效率、暗呼吸速率、色素含量、比叶面积和显微结构等进行了差异比较, 初步探讨了鼠尾藻产生叶形变化的可能原因; (2) 研究温度和盐度胁迫对鼠尾藻初生阔叶的表观光合速率(P_n)与暗呼吸速率(R_d)的影响, 初步分析了鼠尾藻初生阔叶的抗逆生理, 可为基于营养繁殖的鼠尾藻人工栽培提供参考。结果表明: 15~24℃是鼠尾藻初生枝条生长的适宜温度范围; 5℃或大于30℃的温度胁迫1h对初生阔叶的 P_n 有显著影响, 低温(10℃以下)或高温(大于30℃)胁迫1h对 R_d 也有显著影响, 但是恢复培养24h后, 低温胁迫组的 P_n 和 R_d 均可基本恢复正常; 短期的高盐或低盐胁迫对初生阔叶的 P_n 均有显著影响, 尤其是盐度0和盐度60组, 但是处理9h后恢复培养24h, 盐度0组的 P_n 可恢复正常, 而盐度60组的不能恢复; 在整个胁迫过程中, 盐度40和盐度50组均表现出较高的 R_d , 盐度0和盐度60胁迫对 R_d 均有显著影响($P<0.05$), 各个盐度处理组在处理9h后恢复培养24h, 其 R_d 均可恢复正常。

关键词: 鼠尾藻; 异形叶; 温度; 盐度; 光合作用; 呼吸作用

中图分类号: Q 945.79; S 917.3

文献标志码: A

鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)在分类学上隶属于褐藻门(Phaeophyta), 圆子纲(Cyclosporeae), 墨角藻目(Fucales), 马尾藻科(Sargassaceae), 马尾藻属(*Sargassum*), 是北太平洋西部特有的一种暖温性大型海洋褐藻^[1]。鼠尾藻具有渔业、医药、生态、营养等价值^[2-6]。鼠尾藻可以作为海参育苗及养殖的优质饲料^[7], 近年来随着中国海参养殖业的迅速发展, 鼠尾藻需求很大, 其需求的增长导致了中国北方沿岸的鼠尾藻自然资源的日渐枯竭。因此, 开展鼠尾藻的人工育苗与大规模养殖研究势在必行。虽然近年来这些方面的研究工作已广泛展开并取得了很大进展^[8-13], 但很少见鼠尾藻的光合特性相关的研究报道, 仅见少量的关于鼠尾藻叶绿素荧

光特性的研究^[14-15]。在褐藻门中, 有关羊栖菜、铜藻幼苗的温度、盐度和光照胁迫机制的研究已有一些报道^[16-18], 其它大型海藻(浒苔、条斑紫菜、龙须菜等)的光合生理研究也已有不少报道^[19-22]。光合特性的研究对鼠尾藻应用价值具有重大意义。

植物的叶片性状主要包括叶片最大光合速率、叶片呼吸速率、气孔导度等功能型性状及比叶面积、叶厚度、叶干重等结构型性状, 这些性状直接影响到植物的基本行为和功能, 是反映植物叶片生物化学结构特征和生长代谢过程的指标^[23-26]。有些植物常因发育时期的不同或环境条件的变化有不同形状的叶, 这种同一植株上具有不同叶形的现象被称为异形叶性(heterophylly)。通过研究叶片

收稿日期: 2012-03-31

修回日期: 2012-09-10

资助项目: 国家“八六三”高技术研究发展计划(2006AA10A416, 2012AA10A413); 公益性行业(农业)专项(200903030)

通讯作者: 王飞久, E-mail: wangfj@ysfri.ac.cn

性状阐明产生异形叶的规律, 可以达到正确认识植物和利用植物的目的^[27]。

由于不同发育时期所处生长环境的不同, 随着长期的适应, 鼠尾藻也产生了异形叶性。鼠尾藻生活周期可以划分为休止期、生长期、繁殖期和衰退期, 衰退期过后, 鼠尾藻并未直接进入休止期, 而是又经过一个生长期才进入次年的休止期^[28]。经过有性繁殖阶段后, 鼠尾藻枝条糜烂脱落, 假根基部有新生枝条长出, 开始新一轮的营养繁殖, 这种新生枝条上的叶片较宽(长是宽的 1~3 倍), 颜色较浅, 呈亮黄色(本实验称之为“初生阔叶”, 图 1-c)。

随着枝条的成长, 这种阔叶颜色逐渐变深, 在繁殖期呈深褐色(本实验称之为“繁殖期阔叶”, 图 1-a 和图 1-b)。上述阔叶主要分布在鼠尾藻的枝条下部、假根附近, 一般呈匙形、楔形、菱形(图 1-d)。鼠尾藻枝条中上部以狭叶(长是宽的 5 倍以上)为主, 呈针形、线形(图 2), 这种叶片在生长期大量出现, 繁殖期时部分衰败, 被一种特殊的叶——气囊(图 3)代替。在繁殖期时鼠尾藻叶以气囊为主。气囊呈窄纺锤形或倒卵形, 顶端尖, 有较长的柄部和膨大的囊部。

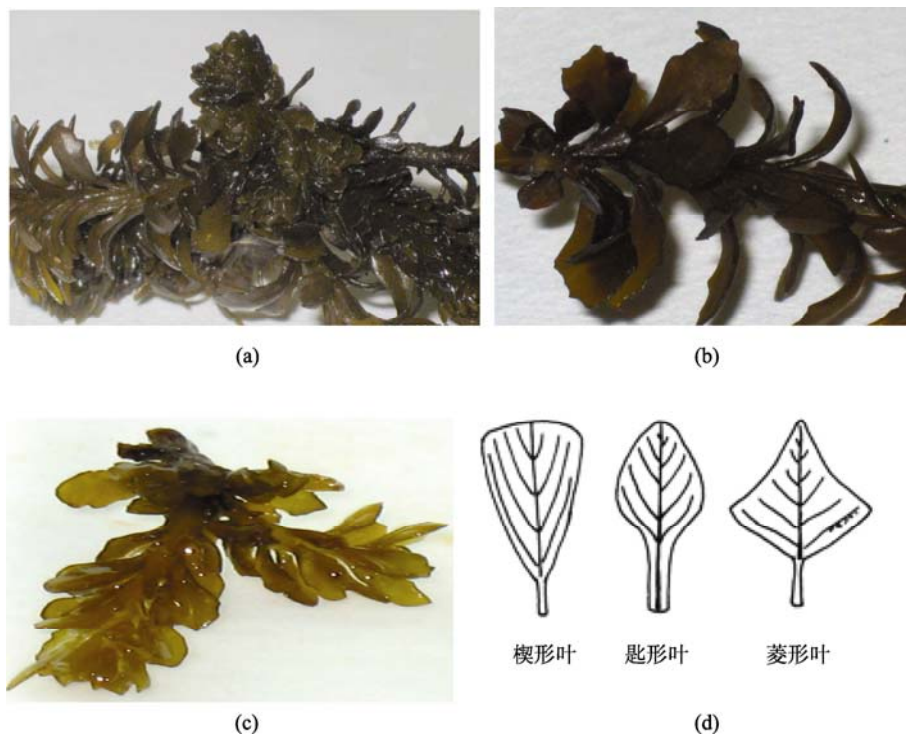


图 1 鼠尾藻初生阔叶(c)和繁殖期阔叶(a,b), 匙形、楔形、菱形叶的形态示意图(d)
Fig. 1 Broad leaves of newborn branch (c) and broad leaves of reproductive period (a,b) of *S. thunbergii*, and diagram of the configuration of spoon leaf, cuneate leaf and rhombic leaf (d)

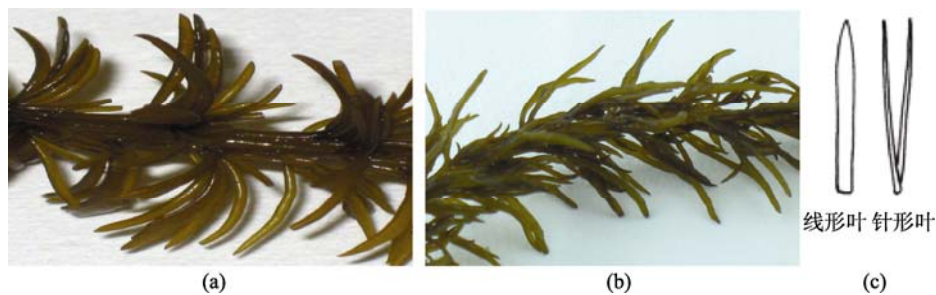


图 2 鼠尾藻狭叶(a,b), 针形、线形叶的形态示意图(c)
Fig. 2 Narrow leaves of *S. thunbergii* (a,b), and diagram of the configuration of acicular leaf and linear leaf (c)



图3 鼠尾藻气囊
Fig. 3 Pneumatode of *S. thunbergii*

比较鼠尾藻异形叶之间结构及生理生态特性的异同,能够从一定角度反应鼠尾藻的生态适应性,对全面研究其耐逆性及从根本上做好鼠尾藻的人工栽培均具有重要的理论和实践意义。在鼠尾藻人工养殖实践中,可利用其营养繁殖特性——固着器(假根)多年生,实行多茬养殖。因此,对鼠尾藻假根上的初生枝条的适宜生长条件有必要深入研究。本研究利用液相氧电极技术研究温度和盐度对鼠尾藻初生阔叶的光合与呼吸作用的影响,为基于营养繁殖的鼠尾藻人工栽培奠定理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

于2011年5月在青岛太平角潮间带礁石区采集鼠尾藻,置于GXZ智能型光照培养箱进行暂养一周,培养条件:温度18℃,光强为60~80 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,用灭菌海水(盐度33)作为培养液,并添加营养盐($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$: 0.3 mg/L, $\text{NO}_3^-\text{-N}$: 3 mg/L)和二氧化锗(2 mg/L,抑制硅藻繁殖)。使用液相氧电极(Hansatech Oxygraph,英国)法测定表观光合速率与暗呼吸速率,反应体系温度由恒温水浴控制,反应介质为灭菌天然海水,以空气饱和的蒸馏水标定液相氧电极的满刻度,通过加入少量 Na_2SO_3 粉末标定零刻度。实验分两部分:(1)取鼠尾藻植株的初生阔叶、繁殖期阔叶、枝条中上部狭叶(简称“狭叶”)和气囊进行鼠尾藻异形叶的生理生态差异性研究,其中狭叶和气囊均在繁殖期时取,并且选择较长的狭叶和较大的气囊;(2)对鼠尾藻初生阔叶进行温度和盐度胁迫的研究。除特别说明,以下每个测量实验重复3次。

1.2 实验方法

不同光强下鼠尾藻异形叶的表观光合速率测定 从鼠尾藻植株上剥离一定质量(0.020 ± 0.002) g

的异形叶放进液相氧电极反应杯(其中阔叶切掉叶柄;气囊也切掉柄部并将其再切成两半,使其能在反应杯中自然沉降)。反应杯中液体温度控制在18℃,以500 W碘钨灯做光源,通过移动光源距离调节光强,并用照度计(HANNA,意大利)测定,测定时将探头置于反应杯所在的中心位置,正对光源读数。为使测定值更接近反应杯中的实际光照度,根据反应杯壁的透光率对测定值作了校正。分别测出鼠尾藻异形叶在0、14、18、22、26、40、80、120、160、200、240、280、320、360、400、440、480、520、560、600 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 等光强下的表观光合速率,先在低光强下测量,当测量光强逐渐增大直至使鼠尾藻叶出现光抑制时,再继续3~4个更高光强水平下进行表观光合速率的测量。每个光强下需稳定60 min左右再测量,每次测定在10 min之内完成,取较为平滑曲线计算光合速率。阔叶和气囊需在反应介质中放置至少1 h [$80 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 18℃],以减小藻体损伤对光合作用所造成的影响。

鼠尾藻异形叶色素含量的测定 鼠尾藻色素主要包含叶绿素a和类胡萝卜素,测量方法参照文献[29-30],每个测量实验重复5次。

鼠尾藻异形叶的比叶面积的测定 比叶面积是指单位叶重量(干重或鲜重)的叶面积。本实验采用叶形纸称重法计算叶面积。取鼠尾藻叶($n=30\sim 50$),用吸水纸吸干水分,再用分析天平(精确度为0.000 1 g)准确称量其鲜重(fresh weight, FW)。选一张质地均匀的优质白纸,记录下长和宽,算出其面积,称其重量。用细铅笔沿叶片边缘仔细地画出称量后的所有鼠尾藻叶的叶形,剪去叶片轮廓纸并准确称重。叶面积=叶片轮廓纸的重量÷整张纸的重量×整张纸的面积。其中,在画气

囊的轮廓时, 需将气囊压扁后再描绘(其相应的轮廓纸质量需乘以 2 后再计算)。

鼠尾藻异形叶的组织切片实验及显微结构的观察 对鼠尾藻繁殖期阔叶、狭叶和气囊进行组织切片实验, 用 Davison's 固定液固定, 24 h 后转入 70%乙醇水溶液保存, 然后按照组织切片的常规方法切片, H.E 染色。该切片实验主要用到以下设备: Leica TP1020 脱水浸蜡机, Leica EG1160 包埋机, Leica RM2145 切片机和 Shandon varistain 24-4 脱蜡染色机等。用 Nikon eclipse E800 光学显微镜进行切片观察及照相。

不同温度和盐度下鼠尾藻初生阔叶表观光合与呼吸速率的测定 本次初生阔叶的温度和盐度胁迫实验均在光强为 $80 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下测定, 培养液中添加营养盐($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$: 0.3 mg/L, $\text{NO}_3^{-}\text{-N}$: 3 mg/L)。

温度实验 设置 7 个温度组(5、10、26、28、30、32、34 $^{\circ}\text{C}$)与对照组(18 $^{\circ}\text{C}$)。初生阔叶(0.020 ± 0.002) g 在设置的不同温度下培养 1 h, 然后在对应的温度下测定表观光合速率及暗呼吸速率。其中 5 $^{\circ}\text{C}$ 组在处理 1 h 后需置于温和条件下(18~25 $^{\circ}\text{C}$)恢复培养 1 h, 然后在 18 $^{\circ}\text{C}$ 下进行光合、呼吸速率的测定。因为在 5 $^{\circ}\text{C}$ 低温下初生阔叶的光合作用相关的酶可能已钝化, 若处理 1 h 后直接在 5 $^{\circ}\text{C}$ 下测定, 光合速率测不出或测出的数值很小。各个温度处理组在对照条件下恢复培养 24 h 后, 再次测定其表观光合速率及暗呼吸速率。

生长的测定 设置 6 个温度处理组(12、15、18、21、24、和 27 $^{\circ}\text{C}$)。鼠尾藻初生枝条在各个温度处理下持续培养 10 d[光强为 $60\sim 80 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$], 培养液同“实验材料”中所述。实验起始时藻体的平均鲜重为(0.0857 ± 0.0144) g, 实验起始时各处理之间的鲜重差异不显著($P > 0.05$)。10 d 后称量一次鲜重, 计算相对生长率(relative growth rate, RGR), 每个处理组 3 个平行。相对生长率的计算公式如下: $RGR = [\text{Ln}(W_t/W_0)/t] \times 100\%$, 其中 W_0 为初始藻的鲜重(g), W_t 为实验结束时藻的鲜重(g), t 为实验持续的时间(d)。

盐度实验 设置 6 个盐度组(0、10、20、40、50 和 60)与对照组(盐度 33)。初生阔叶(0.020 ± 0.002) g 在设置的不同盐度下培养 1 h, 然后在对应

的盐度下测定表观光合速率及暗呼吸速率(测定温度为 18 $^{\circ}\text{C}$)。其中每个胁迫 9 h 组在对照条件下恢复培养 24 h 后, 再次测定其表观光合速率及暗呼吸速率。

1.3 数据处理

采用 SPSS 软件进行方差分析、多重比较, 以 $P < 0.05$ 作为显著性差异, 用 Excel 软件绘制图形。利用直角双曲线修正模型^[31]拟合鼠尾藻异形叶的光合-光响应曲线(采用 Statistica 软件), 求出鼠尾藻的光合参数——最大表观光合速率(maximal net photosynthetic rate, P_{nmax})、饱和光强(saturation irradiance, I_{sat})、光补偿点(light compensation point, I_c)、初始量子效率 α (initial quantum yield α)和暗呼吸速率(dark respiration rate, R_d)等。

2 结果

2.1 拟合鼠尾藻异形叶的光响应曲线后求出的光合参数

初生阔叶、繁殖期阔叶、狭叶和气囊的饱和光强依次升高, 分别为 164.14、265.97、344.02、482.18 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 说明气囊最能耐受强光。初生阔叶和狭叶的最大表观光合速(P_{nmax})相接近, 分别为 1 017.30、1 058.17 $\text{nmol O}_2/(\text{g} \cdot \text{min})$, 而繁殖期阔叶和气囊的 P_{nmax} 相接近, 分别为 1 913.52、1 918.59 $\text{nmol O}_2/(\text{g} \cdot \text{min})$ 。暗呼吸速率由小到大的顺序是狭叶、气囊、初生阔叶、繁殖期阔叶, 分别为 236.34、329.64、361.38、415.62 $\text{nmol O}_2/(\text{g} \cdot \text{min})$ (图 4)。

繁殖期阔叶、初生阔叶、狭叶和气囊的光补偿点依次升高, 分别为 15.07、16.61、25.64、31.51 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 初始量子效率由大到小的顺序是繁殖期阔叶、初生阔叶、气囊、狭叶(图 5)。

2.2 鼠尾藻异形叶色素含量与比叶面积

初生阔叶、繁殖期阔叶、狭叶和气囊的叶绿素 a 含量分别为 0.365、0.730、0.537、0.630 mg/g, 类胡萝卜素含量分别为 0.154、0.255、0.213、0.212 mg/g, 比叶面积分别为 25.14、20.16、22.81、61.01 $\text{cm}^2/\text{g FW}$ 。对于叶绿素 a 含量, 繁殖期阔叶明显大于初生阔叶($P < 0.05$), 而与气囊相当; 对于类胡萝卜素含量, 繁殖期阔叶最高, 狭叶和气囊相当; 对于比叶面积, 气囊明显大于其余三者($P < 0.05$)(图 6)。

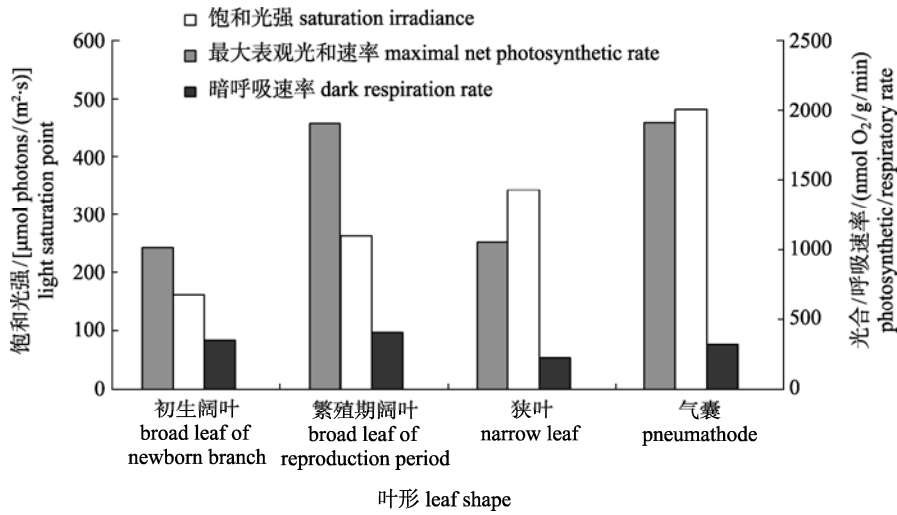


图 4 鼠尾藻异形叶的饱和光强、最大表观光合速率和暗呼吸速率

Fig. 4 The saturation irradiance, maximal net photosynthetic rates and dark respiration rates of heteromorphism leaf of *S. thunbergii*

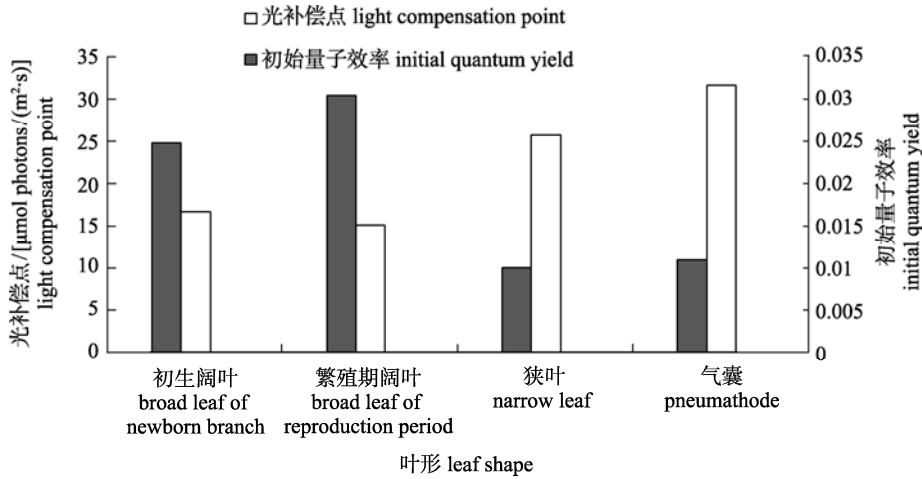


图 5 鼠尾藻异形叶的光补偿点和初始量子效率

Fig. 5 The light compensation point and initial quantum yield of heteromorphism leaf of *S. thunbergii*

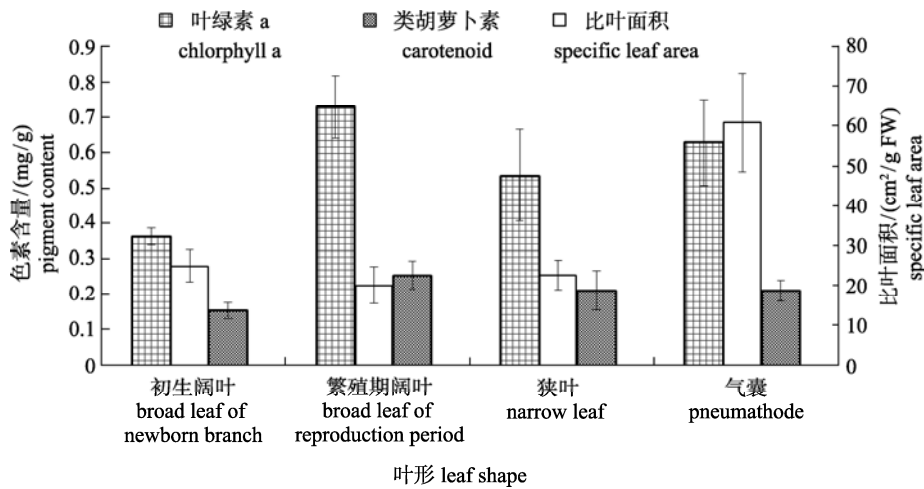


图 6 鼠尾藻异形叶色素含量与比叶面积

Fig. 6 Pigment content and specific leaf area of heteromorphism leaf of *S. thunbergii*

2.3 鼠尾藻异形叶显微结构的观察

阔叶 横切面观: 外壁被蜡质薄膜, 表皮细胞圆形或椭圆形(3~8 层), 排列紧密, 细胞内含载色体; 叶片外边缘表皮细胞层数较多(图 7)。

狭叶 狭叶表皮细胞类长方形(1~3 层), 呈栅栏状排列, 细胞内含载色体较少, 叶肉细胞排列疏松(图 8)。

气囊 气囊表皮由类长方形细胞组成, 呈栅栏状紧密排列, 1~5 层, 细胞内含大量载色体; 皮层细胞形状不规则, 排列疏松, 胞间隙大, 类似海绵组织; 内侧为颓废的细胞碎片(图 9)。

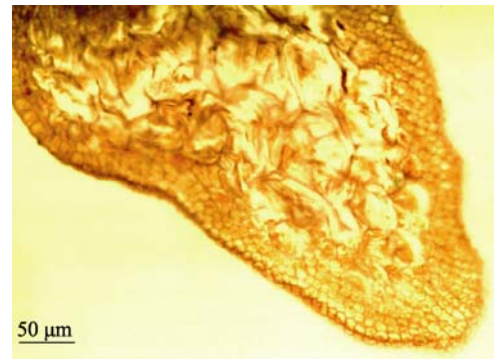


图 7 鼠尾藻阔叶横切面观

Fig. 7 Cross section view of broad leaf of *S. thunbergii*

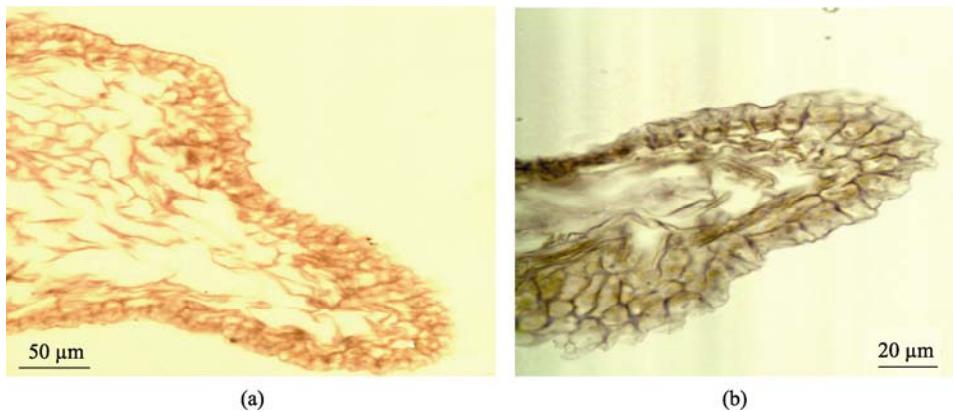


图 8 鼠尾藻狭叶横切面观

Fig. 8 Cross section view of narrow leaf of *S. thunbergii*

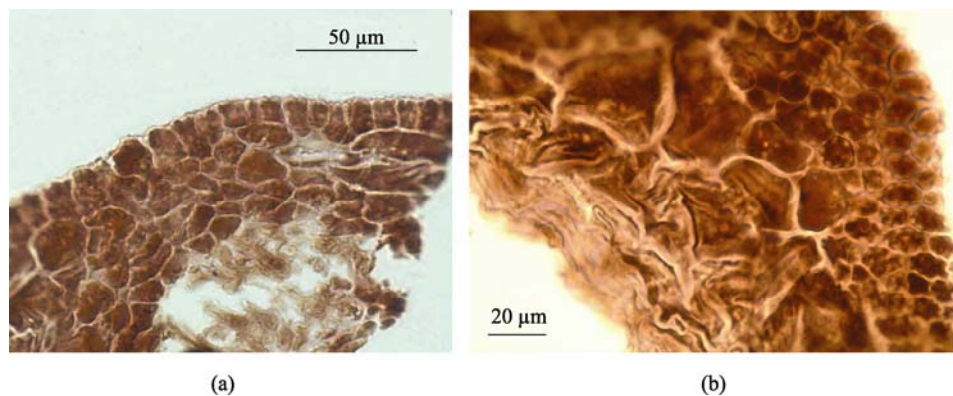


图 9 鼠尾藻气囊横切面观

Fig. 9 Cross section view of pneumothode of *S. thunbergii*

2.4 温度对鼠尾藻初生阔叶表观光合速率与暗呼吸速率的影响

5、32 和 34 °C 组在处理 1 h 后表观光合速率(P_n)与对照组(18 °C)间差异显著($P < 0.05$), 而其它处理组在处理 1 h 后 P_n 与对照组间差异不显著($P > 0.05$)。在恢复培养 24 h 后, 32 °C 和 34 °C 组的 P_n 与对照组间差异显著($P < 0.05$), 而 5 °C 和 30 °C

组的 P_n 可基本恢复正常($P > 0.05$)(图 10)。

5、10、32 和 34 °C 组在处理 1 h 后暗呼吸速率(R_d)与对照组间差异显著($P < 0.05$), 而 26、28 和 30 °C 在处理 1 h 后 R_d 与对照组间差异不显著($P > 0.05$)。在恢复培养 24 h 后, 32 和 34 °C 组的 R_d 与对照组间差异显著($P < 0.05$), 而其它温度处理组的 R_d 与对照组间差异不显著($P > 0.05$)(图 11)。

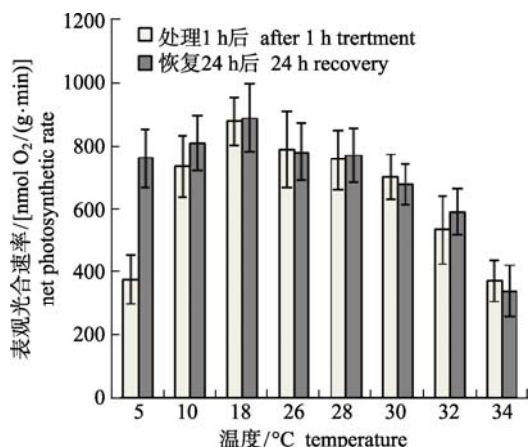


图 10 不同温度处理 1 h 及恢复培养 24 h 后鼠尾藻初生阔叶的表观光合速率

Fig. 10 The net photosynthetic rates of broad leaves of newborn branch of *S. thunbergii* after exposure to different temperatures for 1 h and the corresponding values 24 h after recovered culture

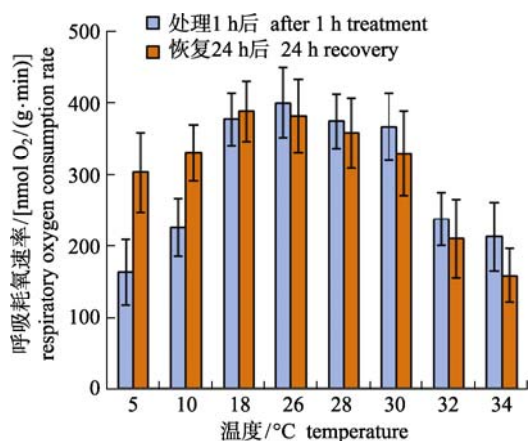


图 11 不同温度处理 1 h 及恢复培养 24 h 后鼠尾藻初生阔叶的暗呼吸速率

Fig. 11 The dark respiration rates of broad leaves of newborn branch of *S. thunbergii* after exposure to different temperatures for 1 h and the corresponding values 24 h after recovered culture

由图 12 看出, 21 °C 温度组的相对生长速率最大, 15、18 和 24 °C 这三个温度组与其相比无显著性差异 ($P > 0.05$), 12 和 27 °C 温度组与其相比有显著性差异 ($P < 0.05$), 由此可知在本实验条件下, 15~24 °C 是鼠尾藻初生枝条生长的适宜温度范围。

2.5 盐度对鼠尾藻初生阔叶光合速率与暗呼吸速率的影响

由图 13 看出, 盐度 60、50 和 40 这几个高盐处理组在处理 4 h 内表观光合速率 (P_n) 呈降低的趋势, 分别在处理 1 h、2 h、4 h 后, P_n 与对照组间差异显著 ($P < 0.05$), 4 h 后高盐处理组的 P_n 均呈升高

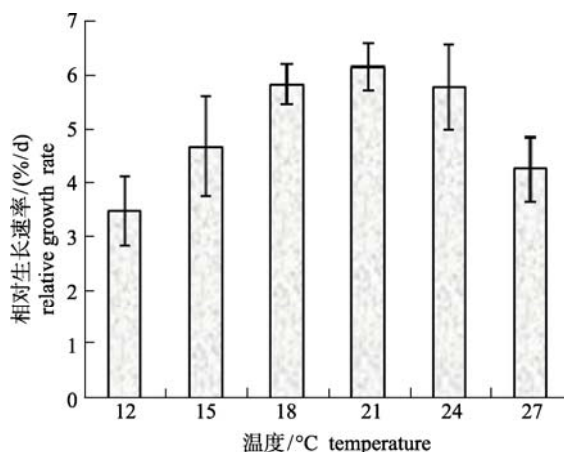


图 12 不同温度条件下处理 10 d 后鼠尾藻初生枝条的相对生长速率

Fig. 12 The relative growth rates of newborn branches of *S. thunbergii* treated with different temperatures for 10 d of cultivation

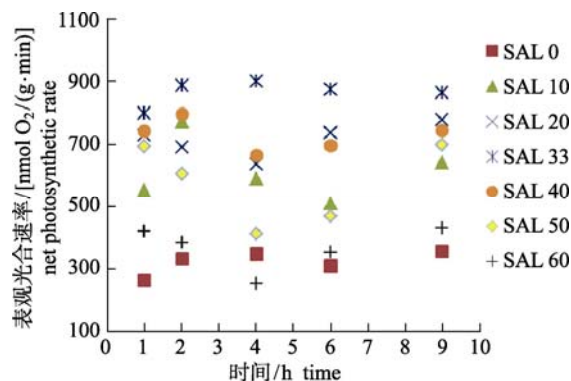


图 13 不同盐度处理 1、2、4、6 及 9 h 后鼠尾藻初生阔叶的表观光合速率

Fig. 13 The net photosynthetic rates of broad leaves of newborn branch of *S. thunbergii* after exposure to different salinities for 1, 2, 4, 6 and 9 h respectively

的趋势。盐度 20 组的 P_n 变化趋势与盐度 40 组的相似。盐度 10 与盐度 0 组在处理 1 h 后 P_n 与对照组间差异显著 ($P < 0.05$)。盐度 0 组在整个处理过程中一直保持着低 P_n ; 而盐度 10 组在处理 2 h 时 P_n 有短暂的上升, 随后在 2~6 h 内逐渐下降, 9 h 时的 P_n 表现出比 6 h 时的高。

盐度 50 和 40 处理组在整个处理过程中均表现出较高的暗呼吸速率 (R_d), 与对照组间差异不显著 ($P > 0.05$) (图 14)。0、10 和 60 这几个盐度组在处理 1 h 后 R_d 与对照组间差异显著 ($P < 0.05$)。盐度 0 组在整个处理过程中一直保持着低 R_d ; 盐度 10 组在处理 4 h 内 R_d 呈降低的趋势, 随后 R_d 逐渐上升; 盐度 60 组在处理 2 h 时 R_d 有短暂的上升, 4 h 时 R_d 呈现出最低值, 随后 R_d 又呈升高的趋势。盐度 20

组的 R_d 变化趋势与盐度 60 组的相似, 但该组的 R_d 在前 2 h 内与对照组间差异不显著 ($P>0.05$)。

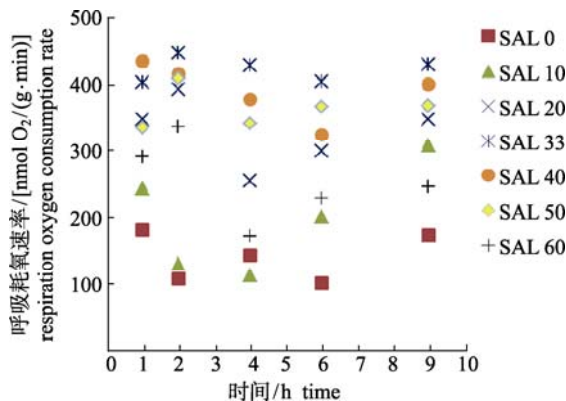


图 14 不同盐度处理 1、2、4、6 及 9 h 后鼠尾藻初生阔叶的暗呼吸速率

Fig. 14 The dark respiration rates of broad leaves of newborn branch of *S. thunbergii* after exposure to different salinities for 1, 2, 4, 6 and 9 h respectively

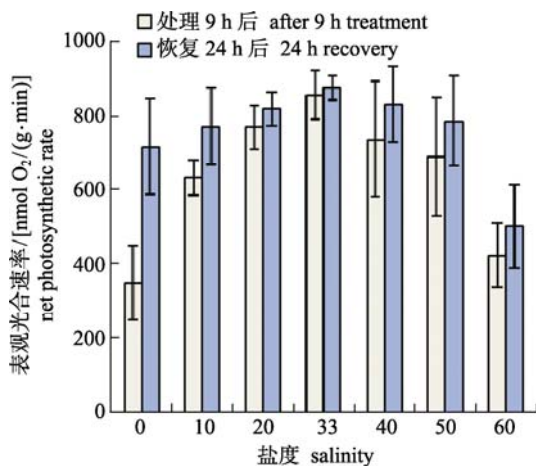


图 15 不同盐度处理 9 h 和恢复培养 24 h 后鼠尾藻初生阔叶的净光合速率

Fig. 15 The net photosynthetic rates of broad leaves of newborn branch of *S. thunbergii* after exposure to different salinities for 9 h and the corresponding values 24 h after recovered culture

盐度 60 组在处理 9 h 后恢复培养 24 h, 其净光合速率 (P_n) 与对照组间差异显著 ($P<0.05$), 而其它组的 P_n 均可基本恢复正常 ($P>0.05$) (图 15)。各个盐度处理组在处理 9 h 后恢复培养 24 h, 其暗呼吸速率与对照组间差异均不显著 ($P>0.05$) (图 16)。

3 讨论

初生阔叶和繁殖期阔叶均具有较低的 I_{sat} 和 I_c 及较大的初始量子效率 α , 说明阔叶不能耐受强

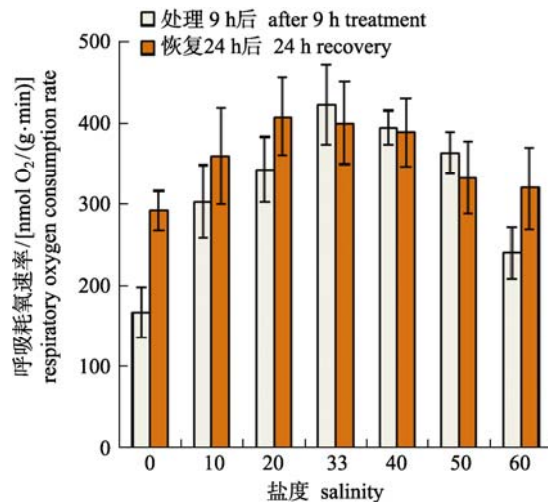


图 16 不同盐度处理 9 h 和恢复培养 24 h 后鼠尾藻初生阔叶的暗呼吸速率

Fig. 16 The dark respiration rates of broad leaves of newborn branch of *S. thunbergii* after exposure to different salinities for 9 h and the corresponding values 24 h after recovered culture

光, 但能耐受弱光。阔叶主要分布在鼠尾藻的枝条下部、假根附近, 而野生鼠尾藻喜丛生在礁石上, 那么阔叶就容易受到上部枝条的遮挡, 光照易受到限制, 所以其难受弱光特性与其生长位置及周围环境是相适应的。

随着初生枝条的生长, 枝条上叶子的叶形由阔叶变为狭叶, 在生长期 (4 月初至 6 月中旬) 大量出现狭叶。海水退潮时, 中低潮处的鼠尾藻的枝条上部叶子就很可能暴露于空气中, 所以鼠尾藻的这种由宽到窄的叶形变化, 可能原因是为了最大限度地减少叶子的蒸腾面积, 防止失水过多。狭叶的 I_{sat} 高于初生阔叶, 这也是鼠尾藻为了适应外界环境光照的逐渐增强。

气囊在水中有浮力, 可能是为了抵消生殖托发育带来的生物量大增并产生相应的浮力使藻枝漂浮于水体中便于生长发育、精卵分散和受精等的完成^[32]。气囊除了有较大浮力这个明显的特征外, 本实验发现气囊有较大的 I_{sat} 、 P_{nmax} 和较小的 R_d , 说明其具有较高的光合作用效率。但气囊的 I_c 较高及初始量子效率 α 较小, 说明其不能耐受弱光。鼠尾量, 而在繁殖期时 (6 月中旬至 7 月下旬), 外界光照强度高, 藻体本身生长发育也需要大量的能量, 这时鼠尾藻叶以气囊为主, 这可能与气囊的高饱和光强与高效光合特性相关。

与绿藻不同, 褐藻不含叶绿素 b, 藻体多为褐

色;鼠尾藻中的类胡萝卜素主要包含叶黄素、墨角藻黄素和 β -胡萝卜素;墨角藻黄素含量是鼠尾藻藻体颜色的决定因素,因此其含量下降就会导致颜色逐渐变浅^[29]。本实验中,繁殖期阔叶的类胡萝卜素含量最高,其呈现的颜色也最深。初生阔叶的类胡萝卜素含量最低,而狭叶与气囊的类胡萝卜素含量相近。依赖于叶黄素循环的热耗散被认为是光保护的主要途径^[33],在植物遭受水分、干旱、盐渍、高低温等逆境胁迫时,光合器官通过叶黄素循环可增强处理过剩光能的能力^[34], β -胡萝卜素也是光保护作用的重要物质之一。因此,虽然繁殖期阔叶的饱和光强比较低,但其具有高含量的类胡萝卜素从而有较强的光保护能力,这可能是其对外界的高光照环境的适应。

叶绿素在光合作用中起吸收和传递光量子的作用,其含量的变化可以反映植物叶片光合作用功能的强弱。在本实验中,鼠尾藻异形叶的叶绿素 a 含量与 P_{nmax} 呈正相关。繁殖期阔叶叶绿素 a 含量最高,有利于提高其对弱光的利用率。而枝条中上部的狭叶的叶绿素 a 含量有所降低,原因可能是它不像枝条下部的阔叶那样易受到遮挡,那么它通过形态调节和减少色素含量来减少对光能的捕获从而避免出现光抑制。虽然繁殖期阔叶与气囊的叶绿素 a 含量均较高,但繁殖期阔叶的饱和光强明显比气囊的低,表明饱和光强的高低除了与叶绿素 a 含量有关外,还可能与其它因素相关,如光合酶的含量、活性,叶绿体的数量、结构等。繁殖期阔叶的叶绿素 a 含量明显比初生阔叶大,表明阔叶色素含量有逐渐积累的过程,这也是为了适应外界的高光强环境。色素含量的自我调节使鼠尾藻在不同季节、不同潮间带位置的光合作用效率保持同一正常水平,维持自身生长的稳定性,进而适应瞬息变化的海洋环境^[29]。

比叶面积(specific leaf area, SLA)是评价植物叶片功能特性的重要参数^[35]。本实验用叶形纸称重法计算比叶面积,这种方法不受叶片短时失水的影响,能克服称叶样时因失水造成的误差,只要纸质地均匀,描绘叶形仔细,称量准确,就可获得很高的精度。具有高 SLA 的叶子,其光捕获面积、单位重量的叶氮含量较高,并由此具有较高的表观光合速率;而 SLA 较低的植物,叶中很大一部分物质用于构建保卫构造(防虫食、防止过度失水

等)或者增加叶肉细胞密度^[36-39]。阔叶与狭叶的 SLA 均较低,可能是由于潮间带的强光环境抑制叶面积的生长引起的,而气囊的 SLA 较高,那么鼠尾藻繁殖期时气囊的大量出现就增加了单位质量藻体的叶总面积,有利于捕获更多光能,从而在有限的繁殖季节积累更多的光合产物以满足鼠尾藻发育与繁殖的能量需求。

从切片显微结构看出,繁殖期阔叶与气囊的表皮细胞层数较多,排列紧密,细胞内含大量载色体,这可能是它们有较大 P_{nmax} 原因之一。植物的栅栏组织细胞内富含叶绿体,且叶绿体可随光照条件而移动(光强时,叶绿体贴近细胞侧壁,减少受光面积,以免过度发热;光弱时,叶绿体分散在细胞质内,以充分利用散射光),使自身既免遭强光破坏又可充分接受光能^[40]。鼠尾藻的狭叶和气囊的表皮细胞呈栅栏状紧密排列,这可能是它们具有高饱和光强的原因之一。

对鼠尾藻初生阔叶的表观光合速率(P_n)与暗呼吸速率(R_d)的温度胁迫实验结果显示,5 °C 或大于 30 °C 的温度胁迫 1 h 对初生阔叶的 P_n 有显著影响,低温(10 °C 以下)或高温(大于 30 °C)胁迫 1 h 对 R_d 也有显著影响,但是恢复培养 24 h 后,低温胁迫组的 P_n 和 R_d 均可基本恢复正常。这表明短时间的低温胁迫对鼠尾藻初生阔叶的光合和呼吸作用没有大的破坏性,而大于 30 °C 时却对初生阔叶造成了不可逆的损伤。研究表明,光合系统的活性在高温时受到抑制,它是最易热敏感的色素蛋白复合体之一^[41-42]。类囊体膜对高温也非常敏感,其含有光合色素和电子传递链组分,高温可导致其结构的改变^[43]。

短期的高盐或低盐胁迫对鼠尾藻初生阔叶的 P_n 均有显著影响,尤其是盐度 0 和盐度 60 组,但是处理 9 h 后恢复培养 24 h,盐度 0 组的 P_n 可恢复正常,而盐度 60 组的不能恢复。这表明短时间的低盐胁迫可能导致了初生阔叶光合系统的可逆性损伤,而盐度过高可能导致了初生阔叶光合系统的不可逆破坏。有文献报道,盐胁迫会导致叶绿素的降解,影响类囊体膜的稳定性^[44],从而降低叶绿体对光能的吸收,影响光能在两个光系统之间的合理分配,进而降低光合速率^[45]。对于藻细胞而言,在高盐度下生长需要更多能量,作为细胞内储存物质的脂肪的含量相应增加^[46]。在整个胁迫过程

中, 盐度 40 和盐度 50 组均表现出较高的 R_d , 原因可能是在这两种盐度下初生阔叶产生了应激性, 需要更多能量以抗高盐。盐度 0 和盐度 60 胁迫对 R_d 均有显著影响, 但各个盐度处理组在处理 9 h 后恢复培养 24 h, 其 R_d 均可恢复正常。这暗示着鼠尾藻初生阔叶可能具有较强大的 Na^+ 传递系统。有文献指出, Na^+ 传递系统是藻类耐盐的最重要决定因素, Na^+ 转运 ATP 酶在藻细胞质离子动态平衡中起着关键作用^[47-48]。

总之, 鼠尾藻初生阔叶易受高温、高盐胁迫。所以在养殖过程中, 鼠尾藻初生枝条生长阶段应采取降温等措施, 若要除去对低盐敏感的附生生物, 可用淡水冲洗或浸泡数小时。

参考文献:

- [1] 曾呈奎, 张德瑞, 张峻甫, 等. 中国经济海藻志[M]. 北京: 科学出版社, 1962.
- [2] 包杰, 田相利, 董双林, 等. 温度、盐度和光照强度对鼠尾藻氮、磷吸收的影响[J]. 中国水产科学, 2008, 15(2): 293-300.
- [3] 韩晓弟, 李岚萍. 鼠尾藻特征特性与利用[J]. 特种经济动植物, 2005, 8(1): 27.
- [4] 魏玉西, 于曙光. 两种褐藻乙醇提取物的抗氧化活性研究[J]. 海洋科学, 2002, 26(9): 49-51.
- [5] 吴海歌, 于超, 姚子昂, 等. 鼠尾藻营养成分分析[J]. 大连大学学报, 2008, 29(3): 84-86.
- [6] 吴海一, 詹冬梅, 刘洪军, 等. 鼠尾藻对重金属锌、镉富集及排放作用的研究[J]. 海洋科学, 2010, 34(1): 69-74.
- [7] 刘朝阳, 孙晓庆, 范士亮. 当前刺参养殖面临的主要困境及发展策略[J]. 饲料工业, 2006, 27(22): 28-30.
- [8] 潘金华, 张全胜, 许博. 鼠尾藻有性繁殖和幼孢子体发育的形态学观察[J]. 水产科学, 2007, 26(11): 589-592.
- [9] 孙修涛, 王飞久, 汪文俊, 等. 基于有性繁殖的鼠尾藻规模化繁育试验[J]. 渔业科学进展, 2010, 31(3): 84-91.
- [10] 王飞久, 孙修涛, 李锋. 鼠尾藻的有性繁殖过程和幼苗培育技术研究[J]. 海洋水产研究, 2006, 27(5): 1-6.
- [11] 詹冬梅, 李美真, 丁刚, 等. 鼠尾藻有性繁育及人工育苗技术的初步研究[J]. 海洋水产研究, 2006, 27(6): 55-59.
- [12] 张泽宇, 李晓丽, 韩余香, 等. 鼠尾藻的繁殖生物学及人工育苗的初步研究[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(4): 255-259.
- [13] 邹吉新, 李源强, 刘雨新, 等. 鼠尾藻的生物学特性及筏式养殖技术研究[J]. 齐鲁渔业, 2005, 22(3): 25-29.
- [14] 梁洲瑞, 王飞久, 孙修涛, 等. 环境因子对鼠尾藻幼苗叶绿素荧光参数的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(8): 1225-1232.
- [15] 梁洲瑞, 王飞久, 孙修涛, 等. 利用叶绿素荧光技术揭示光照、温度和盐度对鼠尾藻嫩芽的影响[J]. 海洋科学, 2011, 35(12): 21-27.
- [16] Pang S J, Zhang Z H, Zhao H J, *et al.* Cultivation of the brown alga *Hizikia fusiformis* (Harvey) Okamura: stress resistance of artificially raised young seedlings revealed by chlorophyll fluorescence measurement[J]. Journal of Applied Phycology, 2007, 19(5): 557-565.
- [17] Pang S J, Jin Z H, Sun J Z, *et al.* Temperature tolerance of young sporophytes from two populations of *Laminaria japonica* revealed by chlorophyll fluorescence measurements and short-term growth and survival performances in tank culture[J]. Aquaculture, 2007, 262(2): 493-503.
- [18] 张玉荣, 刘峰, 单体锋, 等. 利用叶绿素荧光技术揭示人工培育的铜藻幼苗对胁迫温度、光照和盐度的反应[J]. 南方水产, 2009, 5(2): 1-9.
- [19] Lin A P, Shen S D, Wang G C, *et al.* Comparison of chlorophyll and photosynthesis parameters of floating and attached *Ulva prolifera*[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2011, 53(1): 25-34.
- [20] Lin A P, Wang G C, Shen S D, *et al.* Two specific causes of cell mortality in freeze-thaw cycle of young thalli of *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Journal of Phycology, 2010, 46(4): 773-779.
- [21] Wang Z Y, Wang G C, Niu J F, *et al.* Optimization of conditions for tetraspore release and assessment of photosynthetic activities for different generation branches of *Gracilaria lemaneiformis* Bory[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2010, 28(4): 738-748.
- [22] 汤文仲, 李信书, 黄海燕, 等. 不同光强和温度对长石莼(缘管浒苔)光合作用和叶绿素荧光参数的影响[J]. 水产学报, 2009, 33(5): 762-769.
- [23] 蒋礼学, 李彦. 三种荒漠灌木根系的构形特征与叶性因子对干旱生境的适应性比较[J]. 中国沙漠, 2008, 28(6): 1118-1124.
- [24] 刘金环, 曾德慧, Don K L. 科尔沁沙地东南部地区主要植物叶片性状及其相互关系[J]. 生态学杂志, 2006, 25(8): 921-925.
- [25] Kazakou E, Vile D, Shipley B, *et al.* Co-variations in litter decomposition, leaf traits and plant growth in species from a Mediterranean old-field succession[J]. Functional Ecology, 2006, 20(1): 21-30.
- [26] Kikuzawa K. A cost-benefit analysis of leaf habit and leaf longevity of trees and their geographical pattern[J]. The American Naturalist, 1991, 138(5): 1250-1263.
- [27] 赵良田, 孙金根. 异形叶性与植物识别[J]. 生物学通报, 1989, (11): 8-9.
- [28] 王志芳, 张全胜, 潘金华. 烟台芦洋湾鼠尾藻种群生物量结构的季节变化[J]. 中国水产科学, 2008, 15(6): 992-998.
- [29] 王丽梅, 李世国, 柴雨, 等. 鼠尾藻幼苗的室内培养及有性生殖同步化[J]. 水产学报, 2011, 35(3): 395-404.

- [30] Chouhan A, Iqbal S, Maheshwari R S, *et al.* Study of effect of air pollution on photosynthetic pigment of some plants growing in pithampur industrial area, Dhar (M.P.)(J). *International Journal of Current Scientific Research*, 2011, 1(4): 187–190.
- [31] 叶子飘, 王建林. 植物光合-光响应模型的比较分析[J]. *井冈山学院学报:自然科学版*, 2009, 30(4): 9–13.
- [32] 孙修涛, 王飞久, 张立敬, 等. 鼠尾藻生殖托和气囊的形态结构观察[J]. *海洋水产研究*, 2007, 28(3): 125–131.
- [33] 林荣呈, 许长成, 李良璧, 等. 叶黄素循环及其在光保护中的分子机理研究(英文)[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2002, 44(4): 379–383.
- [34] 董高峰, 陈贻竹, 蒋跃明. 植物叶黄素循环与非辐射能量耗散[J]. *植物生理学通讯*, 1999, 35(2): 141–144.
- [35] Roche P, Natalia D B, Gachet S. Congruency analysis of species ranking based on leaf traits: which traits are the more reliable[J]. *Plant Ecology*, 2004, 174(1): 37–48.
- [36] Reich P B, Uhl C, Walters M B, *et al.* Leaf lifespan as a determinant of leaf structure and function among 23 amazonian tree species[J]. *Oecologia*, 1991, 86(1): 16–24.
- [37] Reich P B, Walters M B, Ellsworth D S. Leaf life-span in relation to leaf, plant, and stand characteristics among diverse ecosystems[J]. *Ecological Monographs*, 1992, 62(3): 365–392.
- [38] Wright I J, Reich P B, Westoby M. Strategy shifts in leaf physiology, structure and nutrient content between species of high- and low-rainfall and high- and low-nutrient habitats[J]. *Functional Ecology*, 2001, 15(4): 423–434.
- [39] 张林, 罗天祥. 植物叶寿命及其相关叶性状的生态学研究进展[J]. *植物生态学报*, 2004, 28(6): 844–852.
- [40] 金银根. 植物学[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [41] Morgan-kiss R, Ivanov A G, Williams J, *et al.* Differential thermal effects on the energy distribution between photosystem II and photosystem I in thylakoid membranes of a psychrophilic and mesophilic alga[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2002, 1561(2): 251–265.
- [42] Wen X, Gong H, Lu C. Heat stress induces an inhibition of excitation energy transfer from phycobilisomes to photosystem II but not to photosystem I in a cyanobacterium *Spirulina platensis*[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2005, 43(4): 389–395.
- [43] 郭延平, 周慧芬, 曾光辉, 等. 高温胁迫对柑橘光合速率和光系统活性的影响[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(6): 867–870.
- [44] Aro E M, Mccaffery S, Anderson J M. Photoinhibition and D1 protein degeradation in peas acclimated to different growth irradiances[J]. *Plant Physiology*, 1993, 103(3): 835–843.
- [45] 惠红霞, 许兴, 李守明. 盐胁迫抑制枸杞光合作用的可能机理[J]. *生态学杂志*, 2004, 23(1): 5–9.
- [46] Kuwada Y, Ohta Y. Effect of salinity on hydrogen production and growth of *Lyngbya* sp.[J]. *Journal of the Faculty of Applied Biological Science*, 1994, 30(1): 13–18.
- [47] Balnokin Y U, Popova L, Gimmler H. Further evidence for an ATP-driven sodium pump in the marine alga *Tetraselmis (Platymonas) viridis*[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1997, 150(3): 264–270.
- [48] Serrano R, Mulet J M, Rios G, *et al.* A glimpse of the mechanisms of ion homeostasis during salt stress[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1999, 50(special issue): 1023–1036.

Primary investigations on the photosynthesis and respiration of leaves of *Sargassum thunbergii* using liquid-phase oxygen measurement system

LIANG Zhou-rui^{1,2}, WANG Fei-jiu^{1*}, SUN Xiu-tao¹, ZHANG Li-jing¹, WANG Wen-jun¹,
LIU Fu-li¹, DING Chang-ling¹, LI Tao¹, LIU Kun^{1,2}

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture,
Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: For clarifying the physiological and ecological adaptability of leaves of *Sargassum thunbergii*, the photosynthesis and respiration were investigated by using liquid-phase oxygen measurement system. The major results included two aspects: (1) The differences of maximal net photosynthetic rate (P_{nmax}), saturation irradiance (I_{sat}), light compensation point (I_c), initial quantum yield α , dark respiration rate (R_d), pigment content, specific leaf area and microstructure of heteromorphism leaf (broad leaf, narrow leaf, pneumathode) were analyzed to reveal the probable reason about the change of leaf shape of *S. thunbergii*. (2) Effects of different temperatures and different salinities stress on P_n and R_d of broad leaves of newborn branch of *S. thunbergii* were researched. The preliminary analysis of the newborn branch about resistance physiology could provide reference for the artificial cultivation of *S. thunbergii* based on vegetative reproduction. The results are shown as follows: The optimum temperature for growth of newborn branch is 15-24 °C under the experimental conditions in this paper. P_n had significant reduction when temperature was 5 °C or higher than 30 °C and R_d was significantly affected by low temperature (10 °C or below) or high temperature (higher than 30 °C) stress for one hour treatment. However, P_n or R_d of low temperature stress groups could nearly recover to normal level after 24 h under standard culture condition. Short-term high or low salinity tests, especially salinity 0 and salinity 60 stress, had significant influence on P_n of broad leaves. However, P_n of salinity 0 group could recover to normal level after a 24 h recovery period, but P_n could not recover after exposure to salinity 60 for 9 h. During the whole stress process, R_d of salinity 40 and salinity 50 treatments both showed high values. And salinity 0 and salinity 60 stress both had significant influence on R_d . However, R_d could recover to normal level after a 24 h recovery period after exposure to different salinities for 9 h.

Key words: *Sargassum thunbergii*; heteromorphism leaf; temperature; salinity; photosynthesis; respiration

Corresponding author: WANG Fei-jiu. E-mail: wangfj@ysfri.ac.cn