

文章编号: 1000-0615(2016)05-0731-09

DOI: 10.11964/jfc.20150709955

## 低盐胁迫下模拟酸雨对裂片石莼光合作用生理特性的影响

徐晓婷<sup>1,2</sup>, 李亚鹤<sup>1,2\*</sup>, 王东<sup>1,2</sup>, 徐年军<sup>1,2\*</sup>

(1. 宁波大学教育部应用海洋生物技术重点实验室, 浙江宁波 315211;

2. 浙江省海洋生物工程重点实验室, 浙江宁波 315211)

**摘要:** 为探讨低盐胁迫下模拟酸雨对裂片石莼光合作用、抗氧化活性等生理特性的影响, 实验设置3个盐度梯度、2个pH水平, 运用叶绿素荧光仪、液相氧电极等仪器测定叶绿素荧光参数和光合放氧速率, 采用氮蓝四唑法、考马斯亮蓝G250法及蒽酮硫酸比色法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性、可溶性蛋白和糖含量。结果发现: (1)模拟酸雨(pH 4.4)处理显著抑制了裂片石莼的生长, 且受盐度的影响。pH 8.1、盐度10处理的裂片石莼具有较高的生长速率; 盐度越高, 模拟酸雨的影响越大。(2)模拟酸雨(pH 4.4)处理显著抑制了裂片石莼的最大光合效率( $F_v/F_m$ )和有效光化学效率( $F_v'/F_m'$ ), 但受盐度的影响不显著; 模拟酸雨和低盐度协同降低了裂片石莼的最大相对电子传递速率( $rETR_{max}$ )。 (3)模拟酸雨(pH 4.4)降低了裂片石莼的暗呼吸和光合放氧速率, 但受盐度的影响不显著。(4)正常盐度及正常pH处理的裂片石莼SOD活性最高; 在盐度(10、25)处理下, 模拟酸雨抑制了裂片石莼的SOD活性; 而在盐度5处理时, 模拟酸雨提高了SOD活性。(5)相对于海水正常pH处理, 模拟酸雨显著降低了裂片石莼可溶性蛋白含量, 但其可溶性糖含量显著提高, 尤其是在低盐条件下。研究表明, 模拟酸雨对裂片石莼生长的影响受海水盐度的调控, 这在一定程度上也将影响近岸海域大型海藻的生态群落组成。

**关键词:** 裂片石莼; 低盐; 模拟酸雨; 光合作用; 抗氧化活性

**中图分类号:** S 968.4

**文献标志码:** A

近年来, 随着经济的快速发展, 工业污染逐渐加重, 酸雨已成为威胁人类活动的又一自然灾害<sup>[1-3]</sup>, 其对经济发展和生态系统的影响将是一个不容忽视的问题<sup>[4-5]</sup>。浙江地处华东沿海酸雨区的东南部, 酸雨频率、强度和范围都呈上升趋势<sup>[6]</sup>, 其中, 宁波地区酸雨的污染类型为硫酸与硝酸混合型, 出现频率非常高, pH年均值为4.4左右, 远低于对生态系统可以产生明显危害的pH临界值(pH 5.0)<sup>[7]</sup>。目前酸雨对陆地生态系统的影响和危害已受到广泛的关注<sup>[8-10]</sup>。酸雨进入水体后会引引起水体中氯离子和氢离子的浓度增加, 影响生活在其中的动植物的离子及渗

透压调节<sup>[11]</sup>, 影响浮游生物的叶绿素含量及其生物多样性<sup>[12-13]</sup>。然而, 对于酸雨是如何影响生活在潮间带的大型海藻光合生理的研究甚少。此外, 生活在潮间带的大型海藻经历着巨大的环境变化, 如温度、光照、失水、盐度等, 其中, 因受降雨量、径流、海水混合等因素的影响, 盐度的变化较大<sup>[14]</sup>。其他环境变化如温度升高、CO<sub>2</sub>浓度增加等, 可能导致局部地区的强降雨, 引起海水盐度和酸度的降低<sup>[15-16]</sup>。研究表明较低的海水盐度、pH会降低光合生物的光合作用<sup>[17-18]</sup>, 强碱性使鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)受到活性氧的损伤<sup>[19]</sup>。而低盐和酸雨是如何影响

收稿日期: 2015-07-07 修回日期: 2015-12-18

资助项目: 国家自然科学基金(41276122); 国家教育部博士点基金博导基金(20123305110002); 宁波大学科研启动项目(F01259144702); 宁波大学学科项目(XKL14D2085); 宁波大学“水产”浙江省重中之重学科开放基金(XKZSC1516); 浙江省自然科学基金青年项目(LQ15D060002)。

通信作者: 李亚鹤, E-mail: liyae1105@163.com; 徐年军, E-mail: xunianjun@nbu.edu.cn

大型海藻的光合生理作用仍需要深入的研究。

石莼(*Ulva*)属绿藻门、绿藻纲、石莼目、石莼科、石莼属,主要有石莼、孔石莼、裂片石莼等几种,生长在潮间带和海洋深水区,有着较大的药用价值<sup>[20]</sup>,是我国野生海藻中极为丰富的资源<sup>[21]</sup>,同时,石莼属海藻可以吸收大量的N、P等营养物质<sup>[22-23]</sup>,可用于处理养殖废水和改善养殖环境等<sup>[24]</sup>。本实验选取裂片石莼(*Ulva fasciata*)为材料,探讨在低盐胁迫下,模拟酸雨对其生长、光合作用、抗氧化活性等的影响,为研究浙江自然条件下酸雨对石莼等大型海藻生长的影响提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

裂片石莼于2015年4月采自浙江省象山县黄避岙乡附近海域(121.7°E, 29.5°N; 盐度为25)。采回实验室后,挑选健康的藻体,用灭菌海水进行多次冲洗,去除杂藻,培养于光照培养箱(GXZ, 宁波江南仪器厂)中,培养光强100  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ,培养温度为20 °C,光周期为12 h : 12 h。培养基采用过滤灭菌、使用Provasoli培养基加富的天然海水,培养基每两天更换一次,一周后用于实验。

### 1.2 模拟酸雨的配制

根据宁波近10年来酸雨污染特征和酸沉降水平<sup>[7]</sup>,采用1 mol/L的 $\text{H}_2\text{SO}_4$ 和1 mol/L的 $\text{HNO}_3$ 按照 $\text{SO}_4^{2-}$ 和 $\text{NO}_3^-$ 的摩尔比2 : 1配制成母液。

### 1.3 实验设计

选择适应状态良好的裂片石莼,剪成小片后在培养基中恢复1~2 h,而后等量培养于新鲜培养基中,初始浓度约为1.25 g/L。设置3个盐度梯度,分别为5、10、25(近海海水盐度)。以正常海水pH(约8.1~8.2,实验采用同一批海水,实验中标记为pH 8.1)为对照,根据宁波市酸雨年平均分布状况及裂片石莼大量繁殖时期酸雨的情况,设置模拟酸雨处理的pH为4.4。实验期间,每天摇瓶多次,并每天更换培养基,确保不同处理的盐度、pH维持稳定。

### 1.4 生长速率的测定

3天后分别取出不同处理的裂片石莼,用吸

水纸吸取干其表面的水分,测定藻体鲜重,并根据以下公式计算相对生长速率:

$\text{RGR}(\%/d) = 100(\ln W_t - \ln W_0)/(t - t_0)$ , 其中, $W_t$ 为第 $t$ 天的藻体鲜重, $W_0$ 为初始鲜重。

### 1.5 色素的提取及测定

取约0.025 g藻体放入离心管中,加入4 mL 100%甲醇,4 °C冰箱中过夜提取,而后离心,取上清液于酶标仪中进行全波段扫描。根据以下公式计算叶绿素a(*Chl. a*)、叶绿素b(*Chl. b*)的含量<sup>[25]</sup>。

$$\text{Chl. a} = 15.65 A_{666} - 7.34 A_{653}$$

$$\text{Chl. b} = 27.05 A_{653} - 11.21 A_{666}$$

### 1.6 叶绿素荧光参数的测定

在光周期中期快速取样(1~2 min),采用氙灯脉冲调制荧光仪(Water-PAM)进行包括最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、有效光化学效率( $F_v'/F_m'$ )和快速光响应曲线(RLC)的叶绿素荧光参数测定。

样品暗处理15 min后测定叶绿素荧光诱导曲线,光化光强度设置为培养光强。使用8个光强梯度[167、257、379、578、861、1218、1692和2746  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ]的光化光,每个光强处理时长设定为10 s,进行RLC的测定。相对电子传递速率( $r\text{ETR}$ )通过以下公式计算: $r\text{ETR} = F_v'/F_m' \times 0.5 \times \text{PFD}$ (photon flux density)式中, $F_v'/F_m'$ 代表光系统II的有效光化学效率,系数0.5代表光系统II吸收的光量子占总量的50%,PFD代表光化光的强度[ $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ]。RLC的拟合公式如下<sup>[26]</sup>: $r\text{ETR} = E/(aE^2 + bE + c)$ ,其中,E为光强[ $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ], $a$ 、 $b$ 和 $c$ 为拟合参数。

### 1.7 暗呼吸和光合放氧速率的测定

采用液相氧电极(Hansatech, 英国)测定裂片石莼的暗呼吸和光合放氧速率。氧电极在测定之前采用两点法进行校准,而后将总重约为0.02 g的裂片石莼小圆片放入2 mL的反应槽内,完全黑暗状态下测定暗呼吸速率。在温度20 °C、光强为100  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ (卤素灯作为光源)的条件下测定其光合放氧速率。

### 1.8 抗氧化活性、可溶性蛋白含量和可溶性糖的测定

采用氮蓝四唑法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性<sup>[27]</sup>。可溶性蛋白含量和可溶性糖含量分别用考马斯亮蓝G250法、蒽酮硫酸比色法测定。

1.9 数据分析

数据处理使用Origin 7.0软件, 采用One-Way ANOVA (Turkey)进行显著性分析, 显著水平设置为 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 不同处理下裂片石莼的生长和色素含量

相对于正常海水pH (pH 8.1), 模拟酸雨(pH 4.4)显著降低了裂片石莼的生长, 尤其是在盐度为10、25时( $P<0.05$ ), 抑制率分别为64.79%、152.67%, 而在盐度为5时, 抑制率为36.27% ( $P>0.05$ )。裂片石莼的生长也受盐度的影响。正常海水pH (pH 8.1)条件下, 相对于正常海水盐度, 盐度10、5处理显著促进了裂片石莼的生长, 其相对生长速率是盐度25的2.78( $P<0.05$ )、2.40( $P<0.05$ )倍。在pH 4.4处理下, 正常海水盐度(25)处理的裂片石莼出现负增长, 通过对培养液的显微镜观察发现有少量生殖细胞放散, 但放散细胞不活跃(图1)。

模拟酸雨(pH 4.4)对裂片石莼色素的影响与海水盐度相关。相对于正常海水pH, 模拟酸雨(pH 4.4)在盐度5处理时增加了Chl. a的含量, 增幅约为27%, 在盐度25处理时增幅约为23.8%, 而在盐度10处理时, 降低了Chl. a的含量。相对于正常海水pH, 模拟酸雨在盐度5、25处理的裂片石莼具有较高的Chl. b含量, 盐度10处理下的Chl. b的含量略微降低。但2个pH条件下Chl. a和Chl. b比值变化不显著(表1)。

2.2 不同处理下裂片石莼的光化学参数

相对于正常海水pH, 模拟酸雨(pH 4.4)处理显著降低了裂片石莼的最大光合效率( $F_v/F_m$ )、有效光化学效率( $F_v'/F_m'$ ); 但 $F_v/F_m$ 和 $F_v'/F_m'$ 受盐度的影响较小, 其值在正常海水盐度条件下略高

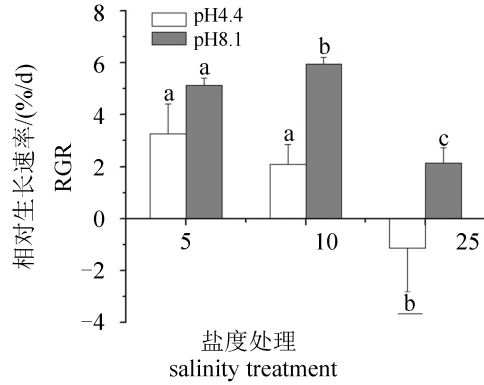


图1 不同盐度和pH处理后裂片石莼的相对生长速率

字母不同表示存在显著差异( $P<0.05$ ), 下同

Fig. 1 The relative growth rate (RGR) of *U. fasciata* under different salinity and pH treatments

The different letters mean the significant difference ( $P<0.05$ ). The same below

(图2)。

海水盐度和模拟酸雨协同处理降低了裂片石莼的相对电子传递速率(图3)。正常海水pH (pH 8.1)条件下, 盐度10处理的裂片石莼具有较高的相对电子传递速率; 模拟酸雨(pH 4.4)处理, 盐度为10时, 裂片石莼的相对电子传递速率最低。同时, 海水盐度和模拟酸雨增加了裂片石莼对高光的敏感性。

2.3 不同处理下裂片石莼的暗呼吸和光合放氧

在正常海水盐度(25)和正常海水pH 8.1处理的裂片石莼的暗呼吸和光合放氧速率都是最高的, 呼吸速率为 $18 \mu\text{mol O}_2/(\text{h}\cdot\text{g})$ , 光合放氧速率为 $125 \mu\text{mol O}_2/(\text{h}\cdot\text{g})$ 。正常海水pH 8.1条件下, 随着海水盐度的降低, 裂片石莼的暗呼吸速率略有降低, 盐度为10、5时, 降低幅度分别为12.18%、22.11%。而模拟酸雨(pH 4.4)处理下,

表1 不同盐度和pH处理后裂片石莼的色素含量  
Tab. 1 Chl. a, Chl. b and their ratio of *U. fasciata* under different salinity and pH treatments

n=3

	pH 4.4			pH 8.1		
	5	10	25	5	10	25
Chl. a	135.2±21.2	115.2±27.7	98.8±19.2	106.3±23.7	136.1±32.7	79.8±16.8
Chl. b	196.0±34.9	189.2±50.7	197.3±19.8	163.0±51.1	199.3±17.9	164.3±33.5
Chl. a/ Chl. b	0.70±0.14	0.61±0.05	0.50±0.05	0.69±0.23	0.58±0.18	0.49±0.06

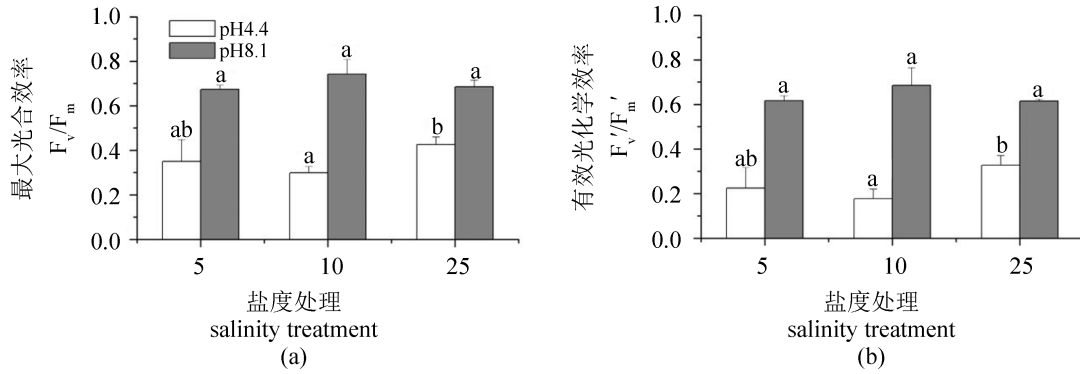


图2 不同盐度和pH处理后裂片石莼的最大光化学效率(a)和有效光化学效率(b)

Fig. 2 F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> (a) and F<sub>v</sub>'/F<sub>m</sub>' (b) of *U. fasciata* under different salinity and pH treatments

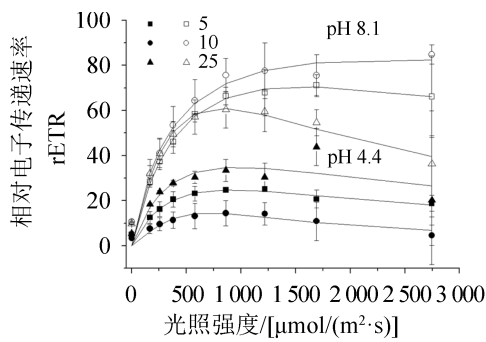


图3 不同盐度pH和光照强度处理后裂片石莼的相对电子传递速率

Fig. 3 The relative electron transport rates of *U. fasciata* under different salinity and pH treatments

盐度对裂片石莼的暗呼吸影响不显著( $P>0.05$ ),暗呼吸速率基本维持在14 μmol O<sub>2</sub>/(h·g)(图4-a)。

相比于pH 8.1处理,模拟酸雨(pH 4.4)显著降低了裂片石莼的光合放氧速率,盐度5、10和25处理下,抑制率分别为30.41%、47.62%和

41.79%。而同一pH处理下盐度对裂片石莼的光合放氧速率影响不显著( $P>0.05$ )(图4-b)。

### 2.4 不同处理下裂片石莼的抗氧化活性

在盐度为10、25条件下,模拟酸雨(pH 4.4)处理降低了裂片石莼超氧化物歧化酶(SOD)活性,抑制率分别为50.26%( $P<0.05$ )、18.24% ( $P>0.05$ ),但在盐度5处理下其活性则显著提高,增长率约为95.34%( $P<0.05$ )。在同一pH处理下,SOD活性也受盐度的影响,且盐度较低时SOD活性较低(图5)。

### 2.5 不同处理下裂片石莼的可溶性蛋白和可溶性糖含量

相对于正常海水pH(pH 8.1)处理,模拟酸雨(pH 4.4)显著降低了裂片石莼的可溶性蛋白含量( $P<0.05$ )(图6-a)。正常海水pH条件下,盐度10处理下的裂片石莼的可溶性蛋白含量最高,约为35 μg/g,相比正常海水盐度(25)处理约增加21.92%

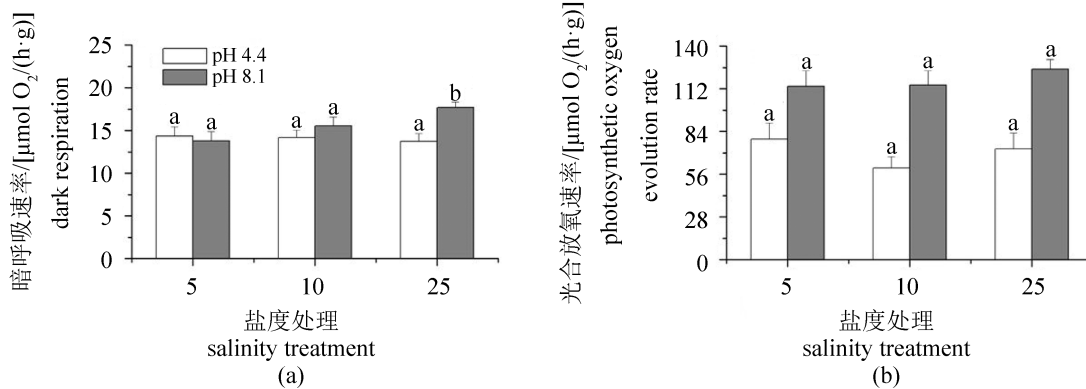


图4 不同盐度和pH处理后裂片石莼的暗呼吸速率(a)和光合放氧速率(b)

Fig. 4 Dark respiration rate (a) and photosynthetic oxygen evolution rate (b) of *U. fasciata* under different salinity and pH treatments

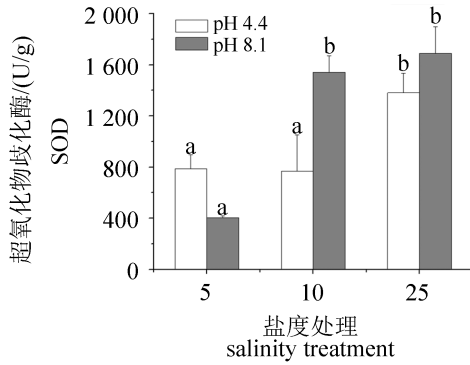
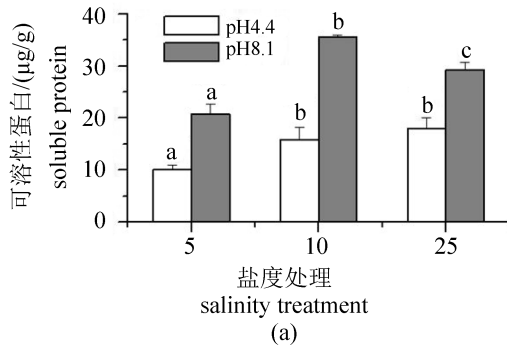


图5 不同盐度和pH处理后裂片石莼的超氧化物歧化酶(SOD)活性

Fig. 5 SOD activity of *U. fasciata* under different salinity and pH treatments

( $P < 0.05$ ), 但在低盐5处理下, 可溶性蛋白含量显



著降低( $P < 0.05$ )。而模拟酸雨(pH 4.4)处理时, 盐度5处理显著降低了可溶性蛋白含量( $P < 0.05$ ), 但盐度10和正常海水盐度处理间差异不显著( $P > 0.05$ )。

不同盐度处理下, 模拟酸雨显著增加了裂片石莼的可溶性糖含量, 盐度为5、10和25时, 可溶性糖含量的增幅分别为144.75%( $P < 0.05$ )、98.39%( $P < 0.05$ )、59.06%( $P > 0.05$ )(图6-b)。但在相同pH处理下, 不同盐度对可溶性糖含量的影响不显著, 尤其是在正常海水pH处理下。

### 3 讨论

#### 3.1 模拟酸雨对裂片石莼的影响

酸雨严重影响着植物的生长和光合作用, 当

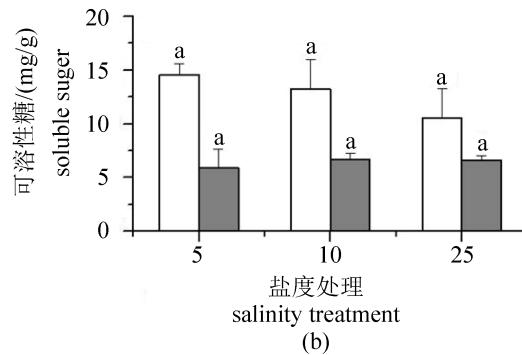


图6 不同盐度和pH处理后裂片石莼的可溶性蛋白含量(a)和可溶性糖含量(b)

Fig. 6 The content of soluble protein (a) and soluble sugar (b) of *U. fasciata* under different salinity and pH treatments

酸雨的酸度低至一定阈值时, 将降低植物光合效率<sup>[9]</sup>, 腐蚀植物的叶肉组织, 抑制植物的生长, 使作物减产<sup>[10]</sup>。关于酸雨的研究多集中在农作物及环境绿化等方面<sup>[9, 10, 28]</sup>, 研究表明, 酸雨对植物叶片、生长和生物量影响的临界点不同, 这主要由其生物学特性和形态结构决定<sup>[28]</sup>。然而, 关于酸雨对大型海藻影响的研究甚少。事实上, 宁波市酸雨出现的频率居高不下, 并逐渐由硫酸型酸雨向硫酸硝酸型转变<sup>[7]</sup>, 这对于生活在潮间带的大型海藻的影响还需要进一步研究。本研究结果表明, 在盐度5、25处理下, 模拟酸雨增加了裂片石莼单位鲜重的Chl. a含量, 但其生长、最大光化学效率及有效光化学效率和相对电子传递速率显著降低。叶绿素含量在一定程度上决定着植物吸收光能和转化光能的能力<sup>[29]</sup>, 本实验中尽管在模拟酸雨条件下裂片石

莼的Chl.a含量增加, 但其光合放氧能力降低, 电子传递速率降低, 最终表现为生长受到抑制。

可溶性蛋白、可溶性糖是植物细胞内重要的渗透调节物质, 可以维持细胞的渗透压, 稳定生物大分子的结构和功能<sup>[30]</sup>。可溶性糖还可在一定程度上保护细胞膜、原生质体和酶类。研究表明, 模拟酸雨提高了裂片石莼可溶性糖的含量, 这在一定程度上有利于裂片石莼应对酸雨胁迫, 而植物可溶性蛋白含量和SOD活性在模拟酸雨条件下出现降低的趋势表明本实验模拟酸雨胁迫显著抑制了裂片石莼的可溶性蛋白含量和SOD活性, 对裂片石莼产生了不良影响。

#### 3.2 盐度对裂片石莼的影响

裂片石莼等大型海藻生活在潮间带等盐度变化较大的区域<sup>[14]</sup>。此外, 酸雨的频繁发生在降

低海水pH值的同时降低了海水盐度。随着海水养殖的快速发展,利用包括石莼在内的大型海藻进行养殖废水的处理逐渐引起广泛的关注<sup>[31]</sup>,同时,石莼也具有一定的营养价值<sup>[20,32]</sup>,故开展石莼的适盐机制研究具有重要意义。海水盐度对藻类的影响具有种间差异,盐度适应范围及适应机制各有不同<sup>[33]</sup>。本研究结果表明,裂片石莼在盐度10处理下具有较高的生长速率和色素含量,即使在盐度5的条件下,其相对生长速率也高于正常海水盐度(25)下的生长,原因可能是短期盐度处理时,低盐作为外界刺激因素,诱导裂片石莼的瞬时应激反应,表现为较高的生长速率,即相对低盐更适合裂片石莼短期生长,但对低盐长期的适应性还需进一步研究。

研究表明,盐度会降低大型海藻的最大光化学效率及有效光化学效率<sup>[34-35]</sup>,主要原因是盐胁迫损伤光合生物的光系统Ⅱ,阻碍光合电子的传递<sup>[36]</sup>。本研究结果表明,正常海水pH条件下,盐度对裂片石莼的最大光化学效率及有效光化学效率的影响不显著,即低盐没有对裂片石莼的光能电子传递造成胁迫,这也从另一方面解释了在低盐条件下裂片石莼具有较高的生长速率。同时,低盐提高了裂片石莼对高光的适应能力,表现为高光条件下,裂片石莼具有较高的相对电子传递速率(图3)。此外,本实验选取的3个盐度梯度对裂片石莼的暗呼吸和光合放氧速率的影响也不显著,即3个盐度处理均在裂片石莼的适盐范围内,没有构成严重的盐胁迫。

盐度在一定程度上影响藻类的渗透压<sup>[37]</sup>。植物通过改变可溶性蛋白和可溶性糖的含量来感应外界环境变化并调节自身的渗透压<sup>[38]</sup>。本实验中盐度对可溶性糖的影响不显著,但在中等盐度条件下,其可溶性蛋白的含量显著增加。

频繁的酸沉降会导致水体酸化,甚至导致生态系统结构和功能的紊乱。酸雨作用下植物的生长和光合作用会受到影响,长期将会导致整个生态系统生产力的衰退<sup>[39]</sup>,而不同海藻对海水盐度的耐受性也具有种间差异<sup>[17,34,37]</sup>。当酸雨和盐度胁迫共同发生时,海藻群落所产生的变化仍需进一步研究。

#### 参考文献:

[1] Felten V, Tixier G, Guérol F. Acid rain ecotoxicity

[M]//Férard J F, Blaise C. Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology. The Netherlands: Springer, 2013: 1-14.

[2] 王文兴,许鹏举.中国大气降水化学研究进展[J].化学进展,2009,21(2/3):266-281.

Wang W X, Xu P J. Research progress in precipitation chemistry in China[J]. Progress in Chemistry, 2009, 21(2/3): 266-281 (in Chinese).

[3] Zhang X Y, Jiang H, Jin J X, *et al.* Analysis of acid rain patterns in northeastern China using a decision tree method[J]. Atmospheric Environment, 2012, 46: 590-596.

[4] 鲁美娟.模拟酸雨对浙江省3种重要树种幼苗生长与光合生理的影响[D].重庆:西南大学,2010.

Lu M J. Effect of simulated acid rain on the growth and physiological photosynthesis of seedlings of three important tree species in Zhejiang province[D]. Chongqing: Southwest University, 2010 (in Chinese).

[5] Schindler D W. Effects of acid rain on freshwater ecosystems[J]. Science, 1988, 239(4836): 149-157.

[6] 宋晓东,江洪,余树全,等.浙江省酸雨的空间分布格局及其未来变化趋势预测[J].环境污染与防治,2009,31(1):13-16.

Song X D, Jiang H, Yu S Q, *et al.* Spatial distribution and forecast of acid rain in Zhejiang province[J]. Environmental Pollution & Control, 2009, 31(1): 13-16 (in Chinese).

[7] 罗益华,励珍.宁波市近十年酸雨污染趋势分析[J].环境科学与技术,2011,34(12H):252-253.

Luo Y H, Li Z. Trend analysis of acid rain pollution for ten years in urban of Ningbo[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 34(12H): 252-253 (in Chinese).

[8] 童贯和,梁惠玲.模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗体内可溶性糖和含氮量的影响[J].应用生态学报,2005,16(8):1487-1492.

Tong G H, Liang H L. Effects of simulated acid rain and its acidified soil on soluble sugar and nitrogen contents of wheat seedlings[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2005, 16(8): 1487-1492 (in Chinese).

[9] 李德成,徐彬彬,石晓日,等.模拟酸雨对水稻叶片荧光光谱特性的影响[J].中国环境科学,1998,18(6):498-500.

Li D C, Xu B B, Shi X R, *et al.* Influence of simulated acid rain on properties of fluorescence spectra of rice leaves[J]. China Environmental Science, 1998, 18(6):

- 498-500 (in Chinese).
- [10] 徐芬芬, 王爱斌, 韩金多, 等. 模拟酸雨对花生种子萌发及胚生长的影响[J]. 种子, 2015, 34(3): 89-90.  
Xu F F, Wang A B, Han J D, *et al.* Effects of simulated acid rain on seed germination and embryo growth of peanut[J]. Seed, 2015, 34(3): 89-90 (in Chinese).
- [11] Gensemer R W, Playle R C. The bioavailability and toxicity of aluminum in aquatic environments[J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 1999, 29(4): 315-450.
- [12] Raur R, Sharma S, Bajracharya R M. Biotic response to acidification of lakes-a review[J]. Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology, 2012, 8(1): 171-184.
- [13] 李伟, 杨雨玲, 黄松, 等. 产毒与不产毒铜绿微囊藻对模拟酸雨及紫外辐射的生理响应[J]. 生态学报, 2015, 35(23): 7615-7624.  
Li W, Yang Y L, Huang S, *et al.* Physiological responses of toxigenic and non-toxigenic strains of *Microcystis aeruginosa* to simulated acid rain and UV radiation[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(23): 7615-7624 (in Chinese).
- [14] Davison I R, Pearson G A. Stress tolerance in intertidal seaweeds[J]. Journal of Phycology, 1996, 32(2): 197-211.
- [15] Groisman P Y, Karl T R, Easterling D R, *et al.* Changes in the probability of heavy precipitation: Important indicators of climatic change[J]. Climatic Change, 1999, 42(1): 243-283.
- [16] Intergovernmental panel on climate change (IPCC). Climate change 2013: The physical science basis. Working Group I Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change[M]. USA: Cambridge University Press, 2013.
- [17] 王永川, 黄良民. 细基江蓠的光合作用及生产力与温、盐度的关系[J]. 水产学报, 1985, 9(2): 155-163.  
Wang Y C, Huang L M. Effects of temperature and salinity on photosynthesis and productivity of *Gracilaria tenuistipit* at A C. F. Chang Et Xia (Rhodophyta)[J]. Journal of Fisheries of China, 1985, 9(2): 155-163 (in Chinese).
- [18] Biebl R, McRoy C P. Plasmatic resistance and rate of respiration and photosynthesis of *Zostera marina* at different salinities and temperatures[J]. Marine Biology, 1971, 8(1): 48-56.
- [19] 马兴宇, 刘福利, 梁洲瑞, 等. pH与盐度胁迫对鼠尾藻光合作用及抗氧化系统的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23(2): 208-214.  
Ma X Y, Liu F L, Liang Z R, *et al.* Effects of pH and salinity stress on photosynthesis and antioxidant system of *Sargassum thunbergii*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2014, 23(2): 208-214 (in Chinese).
- [20] Chakraborty K, Lipton A P, Raj R P, *et al.* Antibacterial labdane diterpenoids of *Ulva fasciata* Delile from southwestern coast of the Indian Peninsula[J]. Food Chemistry, 2010, 119(4): 1399-1408.
- [21] 杨君, 黄芳芳, 秦敏朴, 等. 裂片石莼多糖超滤分离及其保润应用研究[J]. 云南农业大学学报, 2015, 30(1): 58-63.  
Yang J, Huang F F, Qin M P, *et al.* Polysaccharide isolated from *Ulva fasciata* by ultrafiltration and its application in moisture retention[J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2015, 30(1): 58-63 (in Chinese).
- [22] Coutinho R, Zingmark R. Interactions of light and nitrogen on photosynthesis and growth of the marine macroalga *Ulva curvata* (Kützinger) De Toni[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1993, 167(1): 11-19.
- [23] 程丽巍, 邹定辉, 郑青松, 等. 光照和温度对氮饥饿及饱和营养条件下石莼(*Ulva lactuca*)的硝态氮吸收动力学影响[J]. 生态学杂志, 2010, 29(5): 939-944.  
Cheng L W, Zou D W, Zheng Q S, *et al.* Effects of temperature and light intensity on the nitrate uptake kinetics of nitrogen starved and replete *Ulva lactuca*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2010, 29(5): 939-944 (in Chinese).
- [24] Bucholc K, Szymczak-Żyła M, Lubecki L, *et al.* Nutrient content in macrophyta collected from southern Baltic Sea beaches in relation to eutrophication and biogas production[J]. Science of the Total Environment, 2014, 473-474: 298-307.
- [25] 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]. Journal of Plant Physiology, 1994, 144(3): 307-313.
- [26] Eilers P H C, Peeters J C H. A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in

- phytoplankton[J]. *Ecological Modelling*, 1988, 42(3-4): 199-215.
- [27] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 267-268.
- Li H S. Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 267-268 (in Chinese).
- [28] 陶巧静, 付涛, 项锡娜, 等. 模拟酸雨对西洋杜鹃生理生态特性的影响[J]. *生态学报*, 2014, 34(8): 2020-2027.
- Tao Q J, Fu T, Xiang X N, *et al.* Effects of simulated acid rain on the physiological and ecological characteristics of *Rhododendron hybridum*[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(8): 2020-2027 (in Chinese).
- [29] Havaux M, Tardy F. Thermostability and photostability of photosystem II in leaves of the Chlorina-f2 barley mutant deficient in light-harvesting chlorophyll *a/b* protein complexes[J]. *Plant Physiology*, 1997, 113(3): 913-923.
- [30] Heuer B. Influence of exogenous application of proline and glycinebetaine on growth of salt-stressed tomato plants[J]. *Plant Science*, 2003, 165(4): 693-699.
- [31] Troell M, Halling C, Nilsson A, *et al.* Integrated marine cultivation of *Gracilaria chilensis* (Gracilariales, Rhodophyta) and salmon cages for reduced environmental impact and increased economic output[J]. *Aquaculture*, 1997, 156(1-2): 45-61.
- [32] 叶方方, 吴后波, 向文洲, 等. 裂片石莼营养价值的评价及其多糖制备的初步研究[J]. *海洋科学*, 2015, 39(3): 33-41.
- Ye F F, Wu H B, Xiang W Z, *et al.* Nutritional evaluation of *Ulva fasciata* and polysaccharide extraction from *U. fasciata*[J]. *Marine Sciences*, 2015, 39(3): 33-41 (in Chinese).
- [33] Parida A K, Das A B. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, 60(3): 324-349.
- [34] 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.
- Gao B B, Zheng C F, Xu T J, *et al.* Physiological responses of *Enteromorpha linza* and *Enteromorpha prolifera* to seawater salinity stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(7): 1913-1920 (in Chinese).
- [35] Luo M B, Liu F. Salinity-induced oxidative stress and regulation of antioxidant defense system in the marine macroalga *Ulva prolifera*[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2011, 409(1-2): 223-228.
- [36] Yeo A. Molecular biology of salt tolerance in the context of whole plant physiology[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1998, 49(323): 915-929.
- [37] Chu S H, Zhang Q S, Tang Y Z, *et al.* High tolerance to fluctuating salinity allows *Sargassum thunbergii* germlings to survive and grow in artificial habitat of full immersion in intertidal zone[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2012, 412: 66-71.
- [38] 朱政, 蒋家月, 江昌俊, 等. 低温胁迫对茶树叶片 SOD、可溶性蛋白和可溶性糖含量的影响[J]. *安徽农业大学学报*, 2011, 38(1): 24-26.
- Zhu Z, Jiang J Y, Jiang C J, *et al.* Effects of low temperature stress on SOD activity, soluble protein content and soluble sugar content in *Camellia sinensis* leaves[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2011, 38(1): 24-26 (in Chinese).
- [39] 吴飞华, 裴真明, 郑海雷. 环境酸化引起钙失衡的生理生态学效应[J]. *生态学杂志*, 2009, 28(7): 1373-1380.
- Wu F H, Pei Z M, Zheng H L. Eco-physiological effect of calcium imbalance caused by environmental acidification: A review[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2009, 28(7): 1373-1380 (in Chinese).



## Effects of simulated acid rain on the photosynthetic physiological characteristics in *Ulva fasciata* under salt stress

XU Xiaoting<sup>1,2</sup>, LI Yahe<sup>1,2\*</sup>, WANG Dong<sup>1,2</sup>, XU Nianjun<sup>1,2\*</sup>

(1. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology of Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2. Key Laboratory of Marine Biotechnology of Zhejiang Province, Ningbo 315211, China)

**Abstract:** *Ulva fasciata*, an extremely rich wild seaweed in natural resources, has a high agricultural and medicinal value. They can also absorb large amounts of nitrogen, phosphorus and other nutrients, and can be used for aquaculture wastewater treatment and the culture environment improvement. With the rapid economic development, industrial pollution gradually increased, the effects of acid rain on terrestrial ecosystems and their harm have received widespread concern, while the effects of acid rain on the photosynthetic physiology of macroalgae in the intertidal zone have barely been studied. This study was to examine the effects of simulated acid rain on the physiological characteristics, including growth rate, chlorophyll content, chlorophyll fluorescence parameters, soluble protein and carbohydrate contents, and antioxidant activities, in hyposaline-grown alga *Ulva fasciata*. Three salinities (5, 10 and 25) and two levels of pH (4.4, 8.1) were set in the experiment. The water-pulse amplitude modulated fluorometer, liquid oxygenelectrode, and NBT, coomassie brilliant blue G250 and anthrone colorimetric method were used to determine the combined effects of simulated acid rain and salinity on the macroalgae *U. fasciata*. (1) The growth of *U. fasciata* was significantly inhibited by simulated acid rain (pH 4.4), and also affected by salinity of seawater. *U. fasciata* grown under moderate hyposaline (salinity 10) and normal pH (pH 8.1) showed the highest growth rate. The suppressive effect of simulated acid rain was enhanced by higher salinity. (2) Simulated acid rain (pH 4.4) significantly inhibited the maximum photosynthetic efficiency ( $F_v/F_m$ ) and the effective photochemical efficiency ( $F_v'/F_m'$ ) of *U. fasciata*, but the salinity showed no significant effects. The inhibitory effects of simulated acid rain and hyposalinity on the maximum relative electron transfer rate (rETRmax) of *U. fasciata* have had also been observed. (3) Simulated acid rain (pH 4.4) reduced the dark respiration and photosynthesis oxygen release rate of *U. fasciata*, but showed no significant difference between salinity treatments. (4) Under normal salinity (25) and pH (pH 8.1) conditions, *U. fasciata* showed the highest SOD activity. Under relatively high salinity (10, 25) treatment, simulated acid rain inhibited the SOD activity of *U. fasciata*, while under salinity 5 treatment, simulated acid rain increased the SOD activity. (5) Compared with the treatment of pH 8.1, simulated acid rain significantly reduced the soluble protein content of *U. fasciata*, but the soluble polysaccharide content increased significantly, especially under hyposaline conditions. The effects of simulated acid rain on the physiology of *U. fasciata* were regulated by seawater salinity. Under the global climate change scenario, the increase of acid rain and salinity might influence the ecosystem of macroalgae grown in the intertidal niches, nearshore ponds and the estuaries.

**Key words:** *Ulva fasciata*; hyposalinity; simulated acid rain; photosynthesis; antioxidant activity

**Corresponding author:** LI Yahe. E-mail: yahe1105@163.com; XU Nianjun. E-mail: xunianjun@nbu.edu.cn

**Funding projects:** National Natural Science Foundation of China (41276122); National Ministry of Education Doctoral Station Fund and Doctoral Advisor Fund (20123305110002); Scientific Research Project of Ningbo University (F01259144702); Subject Project of Ningbo University (XKL14D2085); Ningbo University "Fisheries" Priority Subject Open Fund of Zhejiang Province (XKZSC1516); Nature science Foundation of Zhejiang Province (LQ15D060002)