

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16379

不同光强处理对长茎葡萄蕨藻叶绿素荧光特性的影响

苏醒^{1,2}, 邹潇潇², 朱军², 黄惠琴², 刘若愚², 鲍时翔²

1. 海南大学 热带农林学院, 海南 海口 570228;
2. 中国热带农业科学院 热带生物技术研究所, 海南 海口 571101

摘要: 通过调制叶绿素荧光仪(MINI-PAM), 对长茎葡萄蕨藻(*Caulerpa lentillifera*)在 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下的叶绿素荧光特性进行了研究。结果表明: 随着光照强度从 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 上升到 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 长茎葡萄蕨藻最大光量子产量(F_v/F_m)、实际光量子产量、相对电子传递速率(rETR)、快速光曲线初始斜率均呈下降趋势; 用 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 和 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强处理的样品光化学猝灭(qP)较高, 而非光化学猝灭(NPQ)较低; 不同光强处理 4 h 和 8 h 时, 与 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 处理组相比, 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 处理组最大相对电子传递速率(rETR_{max})、半饱和光强(I_k)均显著上升, 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 处理组 I_k 显著上升, rETR_{max}明显降低; 在 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下处理 12 h 与处理 8 h 相比, 样品 rETR_{max}、 I_k 均显著降低。上述结果说明长茎葡萄蕨藻偏向适应 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的低光条件, 在 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 和 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的高光条件下能通过不同的方式提高对光强的耐受能力, 但是在 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下处理 12 h 会引起光氧化对光合结构造成破坏。

关键词: 长茎葡萄蕨藻; 光强; 光胁迫; 光合作用; 叶绿素荧光

中图分类号: S917 文献标志码: A 文章编号: 1005-8737-(2017)04-0783-08

长茎葡萄蕨藻(*Caulerpa lentillifera*)隶属于绿藻门(Chlorophyta)、羽藻纲(Bryopsodophyceae)、羽藻目(Bryopsodales)、蕨藻科(Caulerpaceae)、蕨藻属(*Caulerpa*), 主要分布于日本冲绳、马来西亚、菲律宾、越南等地^[1]。研究表明, 长茎葡萄蕨藻营养丰富, 含有人体必需的多种氨基酸、维生素、矿物质元素和不饱和脂肪酸^[2-3], 是潜在的高营养价值保健食品; 同时, 长茎葡萄蕨藻还含有蕨藻倍半萜和蕨藻多糖等生理活性物质, 在治疗 2 型糖尿病^[4]、诱导癌细胞凋亡^[5]等方面也具有很好的功效。

近年来, 中国已开始重视长茎葡萄蕨藻, 并尝试开展养殖条件、育苗技术等的相关研究^[6], 为进一步优化长茎葡萄蕨藻的人工养殖奠定了基础。光合作用是藻类赖以生存的关键, 而光照强

度是影响长茎葡萄蕨藻生长的重要环境因子, 因此, 作为一种新型经济海藻, 开展光照强度对长茎葡萄蕨藻光合作用影响的研究势在必行。

自 Kautsky 等^[7]发现叶绿素荧光诱导现象并将其与光合作用联系起来, 叶绿素荧光动力学技术经过数十年的发展, 已经成为准确、快速、无损伤地测定植物光合电子传递能力等“内在性”特征的有效探针, 在研究不同环境因子对光合作用的影响机制方面发挥着非常重要的作用^[8-9]。叶绿素荧光动力学技术现已广泛应用于高等植物 PSII 的原初反应和猝灭分析中^[9-10], 目前对海洋藻类的研究也有报道^[11-14], 但光照强度对大型海藻叶绿素荧光特性的研究还较少, 长茎葡萄蕨藻的光胁迫生理研究在国内外也未见报道, 因此, 研究

收稿日期: 2017-01-07; 修订日期: 2017-02-26.

基金项目: 海洋公益性行业科研专项(2014050402); 海洋经济创新发展区域示范项目(12PYY001SF08); 2014 年海南省科技兴海专项(XH201408); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(1630052015038); 热带海洋生物资源的研究与开发(1630052016011).

作者简介: 苏醒(1992-), 男, 硕士研究生, 主要从事热带海洋藻类生物学研究. E-mail: 1073148033@qq.com

通信作者: 鲍时翔, 研究员, 博士生导师. E-mail: baoshixiang@itbb.org.cn

不同光强处理对长茎葡萄蕨藻叶绿素荧光特性的影响有着重要的理论与实践意义。

藻类对不良环境条件的胁迫响应机制通常是实现一种海藻的人工养殖所必须要了解的,为优化长茎葡萄蕨藻的人工养殖技术,有必要掌握其适宜的生长条件以采取相应的处理措施。长茎葡萄蕨藻对光照强度非常敏感,一旦外界光强过高其生长、叶绿素合成等生理过程均会明显受阻^[15],因此在长茎葡萄蕨藻的养殖过程中,需要严格控制光照条件。本研究以长茎葡萄蕨藻为材料,对不同光强处理后其叶绿素荧光特性进行了较为全面的研究,旨在深入了解长茎葡萄蕨藻在不同光照条件下的光合特性和适应机制,为优化长茎葡萄蕨藻的人工养殖技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

长茎葡萄蕨藻取自海南昌江海藻养殖基地(19°24'N, 108°47'E),材料取回后用软毛刷除去藻体表面附着的杂藻和石灰虫,再经灭菌过滤海水清洗数次,挑选健康完整的藻体预培养 2 d,培养液为灭菌过滤海水,培养温度 26°C,光强 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ (MQ-100 光量子测定仪, Apogee, USA),光暗周期 12 h : 12 h。

1.2 实验条件

根据预实验结果,将光强设定为 10、120、360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 3 个梯度,培养温度 26°C (PGX-450D 光照培养箱,宁波赛福实验仪器有限公司),每个光强梯度平行设置 3 个重复。

1.3 叶绿素荧光测定

1.3.1 实际光量子产量测定 叶绿素荧光参数用 MINI-PAM (Walz, Effeltrich, Germany) 进行测定,首先提供 0.3 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 测量光和 61 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光化光,测得该光化光条件下的稳态荧光值 F_t ;然后提供 0.8 s 约 4000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的饱和脉冲,测得该条件下的最大荧光值 F'_m 。PSII 实际光量子产量(yield, Y)由以下方程^[16]计算求得:

$$Y = \Delta F / F'_m = (F'_m - F_t) / F'_m$$

1.3.2 最大光量子产量测定 样品经暗适应处理后,首先打开测量光[约 0.3 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$],测得最小荧光值(F_0),然后提供 0.8 s 约 4000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的饱

和脉冲,测得最大荧光值(F_m)。最大光量子产量(F_v/F_m)由以下方程^[17]计算求得:

$$F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$$

1.3.3 光诱导曲线参数测定 样品经暗适应处理后,首先打开测量光[约 0.3 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$],测得最小荧光值(F_0),然后提供 0.8 s 约 4000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的饱和脉冲,测得最大荧光值(F_m),40 s 后打开光化光,之后每隔 20 s 照射一次饱和脉冲,直到该光化光下的最大荧光值(F'_m)达到稳定。光化学猝灭(qP)和非光化学猝灭(NPQ)由以下公式^[16]计算求得:

$$\text{qP} = (F'_m - F_t) / (F'_m - F_0)$$

$$\text{NPQ} = (F_m - F'_m) / F'_m$$

1.3.4 快速光曲线测定 样品处理 0 h, 4 h, 8 h, 12 h 后,进行快速光曲线的测定。对样品依次提供 0、18、61、123、215、325、453、678、927 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 共 8 个梯度的光化光,待不同强度光化光下的荧光值(F_t)达到稳定后(约 20 s),提供 0.8 s 约 4000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的饱和脉冲,测得该光化光下的最大荧光(F'_m)。由以下公式^[18]计算相对电子传递速率(rETR):

$$\text{rETR} = (F'_m - F_t) / F'_m \times \text{PAR} \times 0.84 \times 0.5$$

式中,PAR 表示照射到样品的光合有效辐射强度;0.84 表示样品的吸光系数;0.5 表示传递一个电子需要吸收 2 个光子,光合电子传递需要 2 个光系统的参与。以 PAR 为 X 轴,rETR 为 Y 轴绘制快速光曲线,采用 Eilers 和 Peeters 的公式^[19]对此曲线进行拟合,获得初始斜率(α)、最大相对电子传递速率(rETR_{max})、半饱和光强(I_k)等参数:

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

$$\alpha = 1/c$$

$$\text{rETR}_{\text{max}} = 1 / [b + 2(a \cdot c)^{1/2}]$$

$$I_k = c / [b + 2(a \cdot c)^{1/2}]$$

1.4 统计分析

实验数据采用 SPSS 22.0 和 Excel 2003 统计软件进行处理及分析,结果以平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm \text{SD}$)的形式表示,用单因素分析方法检验差异显著性,显著水平设为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同光强下长茎葡萄蕨藻实际光量子产量的变化

如图 1 所示,在 10、120、360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 3

种不同光强处理后, 长茎葡萄蕨藻实际光量子产量 (yield) 均表现随光照时间延长而逐步降低的趋势, 12 h 后与初始值相比分别下降了 23.69%、46.22%、74.54%。方差分析结果表明, 不同光强处理的长茎葡萄蕨藻 yield 之间均有极显著差异 ($P < 0.01$)。

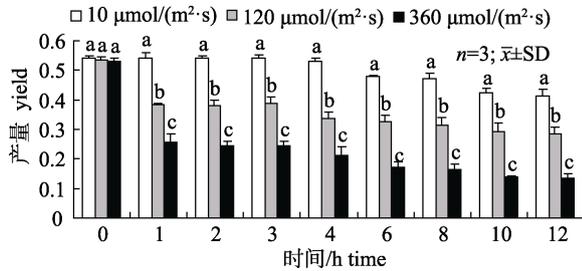


图 1 不同光强下长茎葡萄蕨藻实际光量子产量的变化
不同字母表示处理间差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

Fig. 1 Changes of the effective quantum yield of PSII of *Caulerpa lentillifera* under different light intensities
Different letters mean significant difference among treatments ($P < 0.05$).

2.2 不同光强下长茎葡萄蕨藻最大光量子产量的变化

如图 2 所示, 长茎葡萄蕨藻在 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下的最大光量子产量 (F_v/F_m) 无明显变化, 而在 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下 F_v/F_m 随光照时间延长逐渐降低, 12 h 后与初始值相比分别下降了 52.33%、83.10%。方差分析结果表明, 不同光强处理的长茎葡萄蕨藻 F_v/F_m 之间均有极显著差异 ($P < 0.01$)。

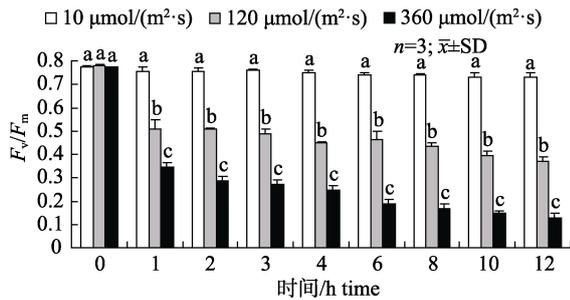


图 2 不同光强下长茎葡萄蕨藻最大光量子产量的变化
不同字母表示处理间差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

Fig. 2 Changes of the maximal quantum yield of PSII of *Caulerpa lentillifera* under different light intensities
Different letters mean significant difference among treatments ($P < 0.05$).

2.3 不同光强下长茎葡萄蕨藻光诱导曲线相关参数的变化

同一光化光强度下, 长茎葡萄蕨藻非光化学猝

灭 (NPQ) 随处理光强的升高显著降低 (表 1)。光化学猝灭 (qP) 的结果与 NPQ 相反, 当用 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强处理后, 样品 qP 有上升趋势; 当用 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强处理后, 样品 qP 显著升高 (表 2)。由表 3 可知, 与 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 处理组相比, 当用 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强处理后长茎葡萄蕨藻的相对电子传递速率 (rETR) 显著降低。

表 1 不同光强下长茎葡萄蕨藻非光化学猝灭 (NPQ) 的变化

Tab. 1 Changes of non-photochemical quenching (NPQ) of *Caulerpa lentillifera* under different light intensities
 $n=3; \bar{x} \pm \text{SD}$

处理时间/h treatment time	光强/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$ light intensity		
	10	120	360
0	0.244 \pm 0.029 ^a	0.245 \pm 0.014 ^a	0.242 \pm 0.024 ^a
1	0.253 \pm 0.020 ^a	0.092 \pm 0.008 ^b	0.047 \pm 0.002 ^c
2	0.242 \pm 0.008 ^a	0.099 \pm 0.011 ^b	0.048 \pm 0.004 ^c
3	0.237 \pm 0.011 ^a	0.095 \pm 0.004 ^b	0.041 \pm 0.007 ^c
4	0.234 \pm 0.011 ^a	0.095 \pm 0.008 ^b	0.038 \pm 0.003 ^c
6	0.229 \pm 0.024 ^a	0.094 \pm 0.015 ^b	0.044 \pm 0.012 ^c
8	0.242 \pm 0.018 ^a	0.105 \pm 0.014 ^b	0.040 \pm 0.002 ^c
10	0.242 \pm 0.033 ^a	0.107 \pm 0.002 ^b	0.043 \pm 0.016 ^c
12	0.242 \pm 0.013 ^a	0.094 \pm 0.005 ^b	0.040 \pm 0.009 ^c

注: 不同字母表示处理间差异水平显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different letters mean significant difference among treatments ($P < 0.05$).

表 2 不同光强下长茎葡萄蕨藻光化学猝灭 (qP) 的变化

Tab. 2 Changes of photochemical quenching (qP) of *Caulerpa lentillifera* under different light intensities
 $n=3; \bar{x} \pm \text{SD}$

处理时间/h treatment time	光强/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$ light intensity		
	10	120	360
0	0.742 \pm 0.029 ^a	0.744 \pm 0.019 ^a	0.744 \pm 0.034 ^a
1	0.782 \pm 0.020 ^a	0.789 \pm 0.061 ^a	0.814 \pm 0.030 ^a
2	0.754 \pm 0.018 ^a	0.815 \pm 0.059 ^a	0.863 \pm 0.024 ^b
3	0.771 \pm 0.024 ^a	0.830 \pm 0.040 ^a	0.925 \pm 0.030 ^b
4	0.743 \pm 0.004 ^a	0.788 \pm 0.057 ^a	0.890 \pm 0.039 ^b
6	0.683 \pm 0.015 ^a	0.733 \pm 0.011 ^a	0.950 \pm 0.048 ^b
8	0.670 \pm 0.017 ^a	0.763 \pm 0.038 ^a	1.017 \pm 0.091 ^b
10	0.623 \pm 0.013 ^a	0.788 \pm 0.060 ^a	0.977 \pm 0.062 ^b
12	0.618 \pm 0.013 ^a	0.815 \pm 0.017 ^a	1.094 \pm 0.096 ^b

注: 不同字母表示处理间差异水平显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different letters mean significant difference among treatments ($P < 0.05$).

表 3 不同光强下长茎葡萄蕨藻相对电子传递速率的变化
Tab. 3 Changes of the relative electron transport rate of *Caulerpa lentillifera* under different light intensities
 $n=3; \bar{x} \pm SD$

处理时间/h treatment time	光强/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$ light intensity		
	10	120	360
0	13.94±0.22 ^a	13.74±0.32 ^a	13.65±0.25 ^a
1	13.97±0.46 ^a	9.86±0.08 ^b	6.56±0.75 ^c
2	13.91±0.22 ^a	9.78±0.42 ^b	6.27±0.36 ^c
3	13.97±0.24 ^a	9.97±0.57 ^b	6.28±0.40 ^c
4	13.61±0.37 ^a	8.66±0.53 ^b	5.44±0.72 ^c
6	12.33±0.13 ^a	8.31±0.62 ^b	4.39±0.46 ^c
8	12.10±0.46 ^a	8.06±0.66 ^b	4.16±0.44 ^c
10	10.86±0.45 ^a	7.47±0.81 ^b	3.55±0.07 ^c
12	10.62±0.62 ^a	7.34±0.49 ^b	3.40±0.37 ^c

注: 不同字母表示处理间差异水平显著($P<0.05$).

Note: Different letters mean significant difference among treatments ($P<0.05$).

2.4 不同光强下长茎葡萄蕨藻快速光曲线的变化

快速光曲线(RLC)表示不同光强下样品 rETR 的变化, 可以分为 3 个明显的阶段, 即低光强阶段、饱和光强阶段和超饱和光强阶段。在低光强

阶段, rETR 与光照强度呈正相关关系, RLC 快速上升; 在饱和光强阶段, 电子传递能力达到最大, RLC 趋于稳定; 在超饱和光强阶段, PSII 活性降低, RLC 呈下降趋势^[20-21]。如图 3 所示, 处理时间为 0 h 时, 随着光化光强度的增加, 长茎葡萄蕨藻 rETR 快速上升, 之后达到一个相对平稳的阶段, 并在光化光强度达到 $453 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 后开始下降; 对于 $120 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 和 $360 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强处理的样品, 其 RLC 在 $0\sim 927 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强范围内都未出现明显的下降趋势或下降趋势较平缓。

通过对 RLC 拟合, 可以得到初始斜率(α)、最大相对电子传递速率($r\text{ETR}_{\text{max}}$)、半饱和光强(I_k)等荧光参数。由表 4 可知, 不同光强处理 4 h 和 8 h 时, 样品 α 随光照强度增加呈下降趋势, I_k 随处理光强上升而升高; 与 $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 处理组相比, $120 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 处理组 $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 显著上升, $360 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 处理组 $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 明显降低($P<0.05$)。当处理时间达到 12 h 时, 与处理 8 h 时相比, $360 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 处理组 $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 、 I_k 均显著降低($P<0.05$)。

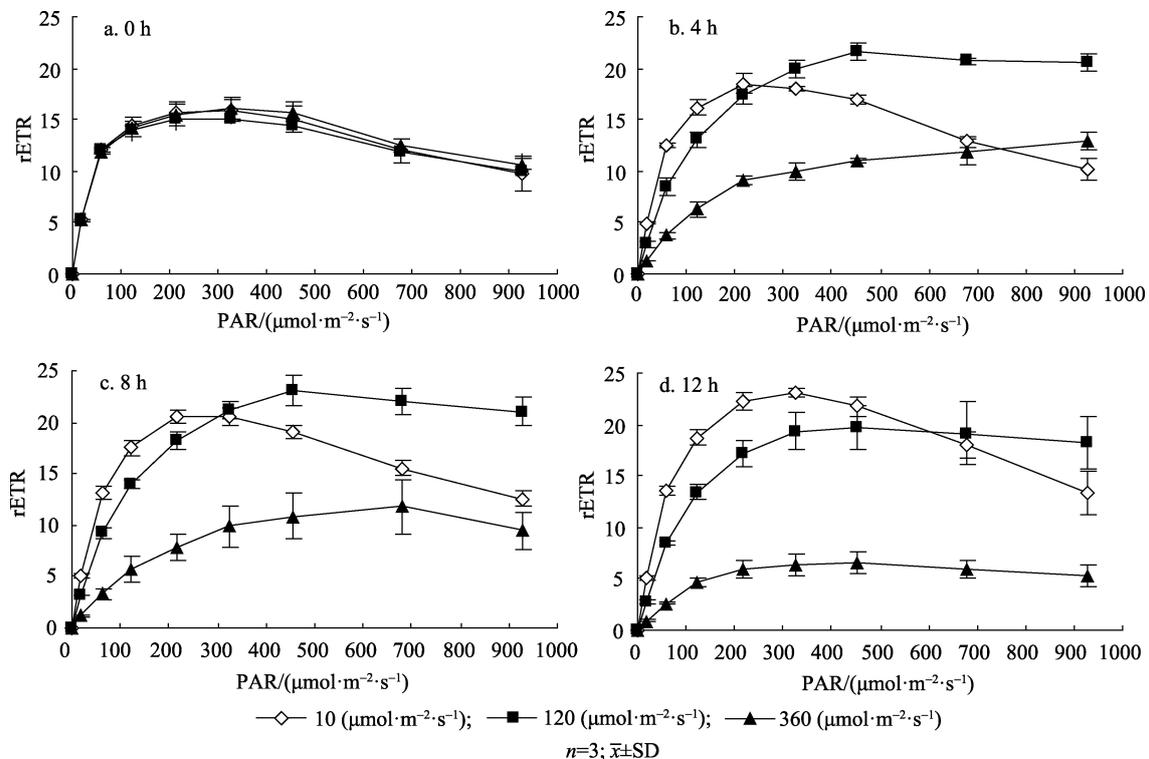


图 3 不同光强下长茎葡萄蕨藻快速光曲线的变化

Fig. 3 Changes of rapid light curve of *Caulerpa lentillifera* under different light intensities

表 4 不同光强下长茎葡萄蕨藻快速光曲线参数的变化
 Tab. 4 Changes of rapid light curve parameters of *Caulerpa lentillifera* under different light intensities

$n=3; \bar{x} \pm SD$

处理时间/h treatment time	光照强度/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$ light intensity	初始斜率 α	最大相对电子 传递速率 $rETR_{\text{max}}$	半饱和光强 I_k
0	10	0.308±0.015 ^a	13.78±0.76 ^a	44.97±4.73 ^a
	120	0.312±0.010 ^a	13.27±0.03 ^a	42.57±1.51 ^a
	360	0.298±0.010 ^a	14.14±0.66 ^a	47.58±3.68 ^a
4	10	0.293±0.004 ^a	15.47±0.27 ^a	52.87±1.00 ^a
	120	0.130±0.014 ^b	20.78±0.10 ^b	161.83±18.21 ^b
	360	0.057±0.003 ^c	11.97±0.55 ^c	209.65±17.20 ^c
8	10	0.287±0.015 ^a	17.71±0.72 ^a	61.75±1.50 ^a
	120	0.152±0.011 ^b	22.34±1.76 ^b	147.84±12.75 ^b
	360	0.051±0.010 ^c	10.81±2.05 ^c	214.49±27.10 ^c
12	10	0.283±0.009 ^a	19.68±1.08 ^a	69.58±4.62 ^a
	120	0.142±0.003 ^b	19.13±2.41 ^a	134.84±19.37 ^b
	360	0.048±0.002 ^c	6.31±1.20 ^b	131.82±21.04 ^b

注: 不同字母表示处理间差异水平显著($P<0.05$).

Note: Different letters mean significant difference among treatments ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 长茎葡萄蕨藻的光强适应性

光合作用从光能的吸收、能量转换、电子传递、ATP 合成到 CO_2 的固定, 总共包括 60 多个步骤, 是一个非常复杂的生理生化过程, 而叶绿素荧光作为光合作用的有效探针, 能够客观反映植物的光合特性和环境适应能力^[22]。目前, 大多数研究使用 F_v/F_m 来衡量海洋藻类对外界环境的适应能力^[14-15, 23]。 F_v/F_m 是 PSII 的最大光量子产量, 非胁迫条件下它是一个很稳定的值, 但在强光下或光胁迫的时间较长时, 其值会显著降低, 这被认为是光抑制的标志^[24]。在本实验中, 长茎葡萄蕨藻在 $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下 F_v/F_m 能稳定在 0.75 左右(图 2), 而当光强上升到 $120 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 和 $360 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 后, 其值均显著降低($P<0.05$), 这说明长茎葡萄蕨藻适宜在 $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 左右的弱光条件下生长。此外, 未经高光处理的样品半饱和光强 I_k 均低于 $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 样品实际光量子产量 yield、相对电子传递速率 $rETR$ 和反映光能利用效率的参数 α 均随处理光强上升而明显下降, 这些结果都表明长茎葡萄蕨藻具有低光适应的特征。张玉荣等^[25]的研究发现铜藻幼苗在室外太阳

光直照下, F_v/F_m 会显著降低, 其易受强光胁迫, 最好进行遮光培育。赵小波等^[23]的研究表明随着光照强度从 $20 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 上升到 $1200 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 条斑紫菜叶状体的光合效率逐渐降低。长茎葡萄蕨藻、铜藻、条斑紫菜都主要生活在潮间带下部, 属于水层较深的海藻。已有研究表明, 海藻对光照的适应性与其在潮间带的分布密切相关^[26], 张涛等^[12]也认为生长环境的不同可能导致海藻叶绿素荧光参数的差异, 因此, 低光适应性可能是这一类底栖藻类的共有特征, 而这一结论是否适用于所有底栖海藻还有待进一步的实验研究。

3.2 长茎葡萄蕨藻对不同光强的耐受能力

植物吸收的光能有 3 个去向: 热、光合作用和叶绿素荧光。因此, 叶绿素荧光产量的下降(淬灭)可能是由于光合作用的增加或热耗散的增加引起的。由光合作用的增加引起的荧光淬灭称为光化学淬灭(qP), qP 反映了 PSII 将吸收的光能用于光合电子传递的比例; 由热耗散增加引起的荧光淬灭称为非光化学淬灭(qN 或 NPQ), 它反映了 PSII 耗散过剩光能为热的能力。由于 NPQ 的计算不需测量 F'_0 , 因此越来越多的研究使用 NPQ 来反映非光化学淬灭^[27-28]。本实验光诱导曲线结果表明高光处理后长茎葡萄蕨藻 qP 明显上升, NPQ 显

著下降,这说明高光处理后的样品 PSII 分配更多的能量用于电子传递,以提高 PSII 电子传递的活性,而低光强处理的样品将吸收的光能更多地以热的形式进行耗散,结合不同光强处理后长茎葡萄蕨藻快速光曲线参数的变化可知,高光处理提高了长茎葡萄蕨藻对光强的耐受能力。Bose 等^[29]的研究发现生长于潮间带的紫菜由于经常暴露于强光下,因此对高光的耐受能力比潮间带以下生长的紫菜更强。Franklin 等^[30]的研究结果表明在低光强生长下的附石藻类比在强光下生长的同一种附石藻类对强光更加敏感。由此可见,高光处理对提高底栖海藻对光强的耐受能力是有促进作用的。

快速光曲线(RLC)可以用来评估样品在一个广泛光强范围内的潜在光合能力,对 RLC 进行拟合能够得到反映样品光合能力的重要荧光参数,因此近年来快速光曲线技术被广泛应用于生理生态学领域^[28, 31]。本实验快速光曲线结果表明,当处理时间为 4 h 和 8 h 时,120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强处理组样品初始斜率 α 显著下降,最大相对电子传递速率 $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 、半饱和光强 I_k 明显上升;360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强处理组样品 α 、 $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 均显著下降, I_k 明显上升,说明在 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下长茎葡萄蕨藻会通过降低光能利用效率,增强 PSII 电子传递的活性,以提高对强光的耐受能力,而在 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下长茎葡萄蕨藻 PSII 吸收的光能过量,电子传递活性已受到抑制,这时会通过进一步降低光能利用效率,来提高对强光的耐受能力。张涛等^[32]的研究发现随着处理光强的升高,坛紫菜叶状体 α 显著降低, I_k 明显上升,而 $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 基本维持不变,这说明不同的底栖海藻对光强的响应机制是有差别的。一般认为,当胁迫时间过长时,光损伤会明显加剧,在本实验中,用 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强处理 12 h 与处理 8 h 相比,长茎葡萄蕨藻 $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 、 I_k 均显著降低,这说明此时样品已受到了严重光损伤,使其光合过程受到更加明显的抑制。

在捕光色素-蛋白复合体吸收的光能超过 PSII 可利用的阈值后,过剩光能所激发的电子就会在电子传递链的末端通过 Mehler 反应传递给

O_2 ,从而产生活性氧破坏光合结构^[33-34]。与 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 处理组相比,360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 处理组样品 F_v/F_m 、yield、 $r\text{ETR}$ 、 α 均显著降低,结合不同光强下快速光曲线的变化可知,对于长茎葡萄蕨藻来说,虽然 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 和 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强都是明显的胁迫条件,但是后者是个更严重的胁迫条件,在此光强下处理 12 h 就会对藻体造成严重光损伤。本实验通过叶绿素荧光动力学技术研究了长茎葡萄蕨藻的光强适应性和对不同光强的耐受能力,可为长茎葡萄蕨藻的人工养殖提供重要数据从而更好地控制光照条件,同时,对于认识底栖藻类的光合生理特性也具有重要意义。

参考文献:

- [1] Jiang F Y, Song W M, Yang N, et al. Analysis and evaluation of nutrient of *Caulerpa lentillifera*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2004, 35(24): 356-359. [姜芳燕, 宋文明, 杨宁, 等. 海南长茎葡萄蕨藻的营养成分分析及评价[J]. 食品工业科技, 2004, 35(24): 356-359.]
- [2] Saito H, Xue C, Yamashiro R, et al. High polyunsaturated fatty acid levels in two subtropical macroalgae, *Cladophora okamuranus* and *Caulerpa lentillifera*[J]. J Phycol, 2010, 46(4): 665-673.
- [3] Niwano Y, Beppu F, Shimada T, et al. Extensive screening for plant foodstuffs in Okinawa, Japan with anti-obese activity on adipocytes in vitro[J]. Plant Food Hum Nut, 2009, 64(1): 6-10.
- [4] Mao S C, Guo Y W, Shen X. Two novel aromatic valerenane-type sesquiterpenes from the Chinese green alga *Caulerpa taxifolia*[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16(11): 2947-2950.
- [5] Maeda R, Ida T, Ihara H, et al. Induction of apoptosis in MCF-7 cells by β -1, 3-xylooligosaccharides prepared from *Caulerpa lentillifera*[J]. Biosci Biotech Bioch, 2012, 76(5): 1032-1034.
- [6] Jiang F Y, Song W M, Yang N, et al. Artificial culture technology of *Caulerpa lentillifera*[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2014(8): 99-103. [姜芳燕, 宋文明, 杨宁, 等. 长茎葡萄蕨藻的人工养殖技术研究[J]. 热带农业科学, 2014(8): 99-103.]
- [7] Kautsky H, Hirsch A. Neue versuche zur kohlenassimilation[J]. Sci Nat, 1931, 19(48): 964-964.
- [8] Li P M, Gao H Y, Strasser R J. Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2005, 31(6): 559-566. [李鹏民, 高辉远, Strasser R J. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005,

- 31(6): 559–566.]
- [9] Zhang S R. A Discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance[J]. Chinese Bulletin of Botany, 1999, 16(4): 444–448. [张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J]. 植物学通报, 1999, 16(4): 444–448.]
- [10] Ruban A V. Nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching: mechanism and effectiveness in protecting plants from photodamage[J]. Plant Physiol, 2016, 170(4): 1903–1916.
- [11] Nishihara G N, Noro T, Terada R. Effect of temperature and light on the photosynthesis as measured by chlorophyll fluorescence of cultured *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus* sp. (*Sumba* strain) from Indonesia[J]. J Appl Phycol, 2013, 25(2): 399–406.
- [12] Zhang T, Shen Z, Xu P, et al. Analysis of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence characteristics of different strains of *Porphyra yezoensis*[J]. J Appl Phycol, 2012, 24(4): 881–886.
- [13] Liang Y, Feng L X, Tian C Y, et al. Effects of high temperature stress on chlorophyll fluorescence kinetics of *Dunaliella salina* and *Pyramimonas* sp[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(6): 961–968. [梁英, 冯力霞, 田传远, 等. 高温胁迫对盐藻和塔胞藻叶绿素荧光动力学的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 14(6): 961–968.]
- [14] Liang Z R, Wang F J, Sun X T, et al. Effects of environment factors on young seedlings of *Sargassum thunbergii* by chlorophyll fluorescence method[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(8): 1225–1232. [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] Guo H, Yao J, Sun Z, et al. Effect of temperature, irradiance on the growth of the green alga *Caulerpa lentillifera* (Bryopsidophyceae, chlorophyta)[J]. J Appl Phycol, 2015, 27(2): 879–885.
- [16] Bilger W, Björkman O. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*[J]. Photosynth Res, 1990, 25(3): 173–185.
- [17] Demmig-Adams B, Adams Iii W W, Barker D H, et al. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation[J]. Physiol Plantarum, 1996, 98(2): 253–264.
- [18] Genty B, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence[J]. BBA-Gen Subjects, 1989, 990(1): 87–92.
- [19] Eilers P H C, Peeters J C H. A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton[J]. Ecol Model, 1988, 42(3): 199–215.
- [20] Schreiber U. Pulse-amplitude-modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: an overview[M]// Chlorophyll a Fluorescence. Netherlands: Springer, 2004: 279–319.
- [21] White A J, Critchley C. Rapid light curves: a new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus[J]. Photosynth Res, 1999, 59(1): 63–72.
- [22] Li X, Feng W, Zeng X C. Advances in chlorophyll fluorescence analysis and its uses[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2006, 26(10): 2186–2196. [李晓, 冯伟, 曾晓春. 叶绿素荧光分析技术及应用进展[J]. 西北植物学报, 2006, 26(10): 2186–2196.]
- [23] Zhao X B, Zhang X C, Xu P. Research on Photosynthetic Efficiency of Seven Strains of *Porphyra yezoensis*[J]. Journal of Ocean University of China, 2010, 40(2): 57–62. [赵小波, 张学成, 许璞. 不同品系条斑紫菜光合效率比较研究[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2010, 40(2): 57–62.]
- [24] Xu D Q, Zhang R Z, Zhang R X. Photoinhibition of photosynthesis in plants[J]. Plant Physiology Communications, 1992, 28(4): 237–243. [许大全, 张玉忠, 张荣铤. 植物光合作用的光抑制[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(4): 237–243.]
- [25] Zhang Y R, Liu F, Shan T F, et al. Stress resistance of young seedlings of *Sargassum homeri* to a variety of temperatures, irradiances and salinities revealed by chlorophyll fluorescence measurements[J]. South China Fisheries Science, 2009, 5(2): 1–9. [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]. 南方水产科学, 2009, 5(2): 1–9.]
- [26] Davison I R, Pearson G A. Stress tolerance in intertidal seaweeds[J]. J Phycol, 1996, 32(2): 197–211.
- [27] Nichol C J, Rascher U, Matsubara S, et al. Assessing photosynthetic efficiency in an experimental mangrove canopy using remote sensing and chlorophyll fluorescence[J]. Trees, 2006, 20(1): 9–15.
- [28] Sero'dio J, Vieira S, Cruz S, et al. Rapid light-response curves of chlorophyll fluorescence in microalgae: relationship to steady-state light curves and non-photochemical quenching in benthic diatom-dominated assemblages[J]. Photosynth Res, 2006, 90(1): 29–43.
- [29] Bose S, Herbert S K, Fork D C. Fluorescence characteristics of photoinhibition and in a sun and a shade species of the red algal genus *Porphyra*[J]. Plant Physiol, 1988, 86: 946–950.
- [30] Franklin L A, Seaton G G R, Lovelock C E, et al. Photoinhibition of photosynthesis on a coral reef[J]. Plant Cell Environ, 1996, 19(7): 825–836.
- [31] Rascher U, Liebig M, Lüttge U. Evaluation of instant light-response curves of chlorophyll fluorescence parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field[J]. Plant Cell Environ, 2000, 23(12): 1397–1405.
- [32] Zhang T, Shen Z G, Yao C Y, et al. Light adaptation characteristics of porphyra studied by chlorophyll fluorescence technology[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2011, 33(3): 140–147. [张涛, 沈宗根, 姚春燕, 等. 基于叶绿素荧光技

- 术的紫菜光适应特征研究[J]. 海洋学报, 2011, 33(3): 140–147.]
- [33] Yang G D, Zhu Z J, Ji Y M. Effect of light intensity and magnesium deficiency on chlorophyll fluorescence and active oxygen in cucumber leaves[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2002, 8(1): 115–118. [杨广东, 朱祝军, 计玉妹. 不同光强和缺镁胁迫对黄瓜叶片叶绿素荧光特性和活性氧产生的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(1): 115–118.]
- [34] Suzuki N, Devireddy A R, Inupakutika M A, et al. Ultra-fast alterations in mRNA levels uncover multiple players in light stress acclimation in plants[J]. Plant J, 2015, 84(4): 760–772.

Effects of light intensity on chlorophyll fluorescence characteristics of *Caulerpa lentillifera*

SU Xing^{1,2}, ZOU Xiaoxiao², ZHU Jun², HUANG Huiqin², LIU Ruoyu², BAO Shixiang²

1. Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China;

2. Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China

Abstract: Chlorophyll fluorescence technique can provide an accurate, quick, and non-destructive assessment of the efficiency of photochemical conversion. One of the most commonly used fluorescence parameters is the maximal quantum yield of photosystem II (PSII) (F_v/F_m), which has been shown to be a sensitive indicator of photoinhibition. Moreover, other fluorescence parameters, such as the effective quantum yield of PSII (yield), the relative electron transport rate (rETR), photochemical quenching (qP), non-photochemical quenching (NPQ), the initial slope of rapid light curve (α), the maximum relative electron transport rate (rETR_{max}), and the minimum saturating irradiance (I_k), are also important in investigating photosynthesis. As such, chlorophyll fluorescence has become an increasingly powerful tool and widely used technique to study photosynthesis in marine algae. *Caulerpa lentillifera* is a tropical macroalga that grows mainly in Okinawa, Malaysia, the Philippines, Vietnam, and other places. *C. lentillifera* is a potential healthy food with high nutritional value that contains a variety of essential amino acids, vitamins, mineral elements, and unsaturated fatty acids. In addition, *C. lentillifera* also contains caulerpenynes, polysaccharides, and other physiologically active substances. It has beneficial effects for type II diabetes and cancer. *C. lentillifera* belongs to the marine benthic green algae, which are very sensitive to high light intensity. Light intensity reportedly has a significant effect on the growth of *C. lentillifera*, but the effect of different light intensities on the photosynthesis process of *C. lentillifera* is still unknown. Therefore, there is a need to better understand the photosynthetic characteristics of *C. lentillifera* by investigating the effects thereon of different light intensities. In this study, the chlorophyll fluorescence characteristics of *C. lentillifera* were investigated with MINI-PAM chlorophyll fluorometer under the light intensities of 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, and 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$. From 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ to 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, the maximal quantum yield of PSII, the effective quantum yield of PSII, the relative electron transport rate, and the initial slope of rapid light curve of *C. lentillifera* all decreased with increasing light intensities. The samples treated with light intensities of 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ and 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ had higher photochemical quenching and lower non-photochemical quenching than those treated with 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$. The minimum saturating irradiance increased dramatically and the maximum relative electron transport rate decreased sharply in *C. lentillifera* under 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, but both were significantly higher under the light intensity of 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ than that in samples exposed to the light intensity of 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ for 4 h and 8 h. The minimum saturating irradiance and the maximum relative electron transport rate was substantially lower in *C. lentillifera* exposed to the light intensity of 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ from 8 h to 12 h. These results suggest that *C. lentillifera* is a kind of seaweed adapted to a low light intensity of 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, and that it could improve light tolerance in different ways under high light intensities of 120 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ and 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, but light intensity of 360 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ for up to 12 h could cause photo-oxidation and damage its photosynthetic structure.

Key words: *Caulerpa lentillifera*; light intensity; light stress; photosynthesis; chlorophyll fluorescence

Corresponding author: BAO Shixiang. E-mail: baoshixiang@itbb.org.cn