

潮间带大型海藻孔石莼和鼠尾藻对铜胁迫的生理响应

刘 庆, 王小蓓, 李丽霞

(烟台大学 生命科学学院, 山东 烟台 264005)

摘要: 以潮间带大型海藻孔石莼(*Ulva pertusa*)及鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)为试材, 研究了不同 Cu^{2+} 浓度(0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L)胁迫下海藻中叶绿素含量、光合特性和 ATP 酶活性的响应变化。结果表明, 随 Cu^{2+} 浓度增加, 孔石莼及鼠尾藻的光合色素含量、叶绿素荧光参数包括光能利用效率(alpha)、最大相对电子传递速率(rETR_m)、半饱和光强(IK)及 PS II 最大光能转化效率(F_v/F_m)随胁迫浓度升高均呈下降趋势, 其中孔石莼 F_v/F_m 下降幅度更大; 2 种海藻中 Na^+K^+ -ATP 及 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶活性总体上随 Cu^{2+} 浓度的升高亦呈降低趋势, 且孔石莼降低幅度尤为显著。这些结果表明, 随胁迫程度加剧, 孔石莼及鼠尾藻光合作用受抑, 代谢酶活性降低, 藻体遭受不可逆的严重损伤, 处理体现出较明显的剂量效应; 二者相比, 鼠尾藻相比孔石莼对铜胁迫具更强的耐受性; 叶绿素荧光参数 F_v/F_m 测定结果极其稳定且与胁迫程度相关极显著, 可作为海藻生长及生理代谢对重金属耐受性的有效评价指标。

关键词: 孔石莼(*Ulva pertusa*); 鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*); 叶绿素含量; 叶绿素荧光; ATP 酶

中图分类号: Q945.78 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2018)11-0035-08

DOI: 10.11759/hyxx20180629002

随着现代工农业的飞速发展和矿产资源的大规模开发, 生态环境特别是水体中重金属污染越来越严重。海水中适量的重金属元素对海洋生物不存在有害影响, 有些重金属甚至作为藻类正常生长和新陈代谢所必须的微量营养元素, 但当其含量过高时就会给藻类造成危害并产生污染, 且随污染程度的不同对藻类的影响也不同^[1-6]。重金属作用于藻类的毒性研究已成为污染生态学的研究热点之一^[7]。 Cu^{2+} 作为一种重要的毒性污染物, 其作用特点是具有明显累积性, 过量的 Cu^{2+} 会对藻类生长产生毒害作用。不同学者对大型海藻材料在 Cu^{2+} 胁迫处理后生长、光合及酶活性变化等生理响应进行了研究^[8-10]。朱喜锋^[11]对离体叶绿体的研究表明, 铜可以参与光合作用的电子传递, 光合磷酸化和非光合磷酸化以及多种叶绿素酶的合成过程, 抑制羧化酶等酶的活性等。Giill 等^[12]研究表明过量的 Cu^{2+} 会抑制植物光合作用和色素合成。

孔石莼(*Ulva pertusa*), 隶属于绿藻门石莼科, 俗称海白菜、海菠菜等, 常被用于造纸和饲料^[13]。鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*), 属于褐藻门(Phaeophyta), 营养价值高, 是海参的天然饵料^[14]。孔石莼及鼠尾藻均栖息于潮间带中潮带岩礁上或石沼内, 由于其特殊的地理位置, 海水重金属污染是其不可避免要应

对的环境压力。然而迄今为止, 鲜见孔石莼及鼠尾藻对重金属 Cu^{2+} 胁迫的生理代谢响应方面的研究报道。本文以孔石莼及鼠尾藻为试材, 对 Cu^{2+} 胁迫下 2 种藻类的叶绿素含量、光合生理特性和 ATP 酶活性进行分析, 比较探讨了不同海藻对重金属的生理响应, 以期为了解海藻生理机能及代谢过程与环境条件之间的相互关系及研发海洋环境污染的监测途径提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料的采集和处理

孔石莼和鼠尾藻于 2017 年 5 月采自山东烟台月亮湾潮间带地区, 选择健康、大小和形态较一致的鲜活海藻, 迅速带回实验室, 用消毒海水反复冲洗, 去除可见的沉积物及附生物。孔石莼切成 3 cm×3 cm 藻片, 约 30 g 鲜质量作为一个处理, 置于直径为 50 cm, 盛有 2.0 L 灭菌海水的玻璃缸中培养(温度为 20~25℃; 自然光照, 光照周期为 12L : 12D)。鼠尾藻选取生长

收稿日期: 2018-06-29; 修回日期: 2018-09-06

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(31300326)

[Foundation: National Natural Science Foundation of China, No.31300326]

作者简介: 刘庆(1991-), 女, 硕士研究生, 主要从事海藻抗逆性研究, 电话: 13256925238, Email: liuqing91@126.com; 李丽霞, 通信作者, Email: lilixianet@126.com

状况一致的藻体, 同样置于玻璃缸中充气培养, 海水每日更换。

1.2 Cu²⁺胁迫处理

经过 3 d 的预培养后, 海藻材料接受 Cu²⁺胁迫处理。将 CuSO₄·5H₂O 溶于灭菌海水中得到 Cu²⁺处理梯度浓度。实验设置 4 个 Cu²⁺浓度处理, 分别为 0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L, 不添加 Cu²⁺的灭菌海水作为对照组。试验周期为 6 d。实验所有处理均设置 3 次重复。

1.3 光合特征指标的测定

光合色素含量的测定采用 Lichtenthaler 的方法^[15], 通过紫外-可见分光光度计测量分析。

1.4 叶绿素荧光参数的测定

采用脉冲调制式叶绿素荧光仪(Junior-PAM)对各组藻类叶片的叶绿素荧光参数进行测定。

1.5 Na⁺K⁺-ATP 酶(Na⁺K⁺-ATPase)和 Ca²⁺Mg²⁺-ATP 酶(Ca²⁺Mg²⁺-ATPase)活性测定

使用南京建成生物工程研究所购买的 ATP 酶试剂盒测定。

1.6 数据分析

运用 SPSS19.0 统计软件对各数据值均值进行相关性分析及单因素方差分析。结果以“均值 ± 标准差”表示。本文图表中的*表示数值之间差异显著(P<0.05), 图表中的**表示差异极显著(P<0.01)。

2 结果与分析

2.1 Cu²⁺对孔石莼和鼠尾藻光合色素含量的影响

研究结果表明, 随着 Cu²⁺浓度的增加, 除了鼠尾藻叶绿素 b(Chl b)含量没有明显变化外, 鼠尾藻和孔石莼的叶绿素 a(Chl a)、类胡萝卜素(Car)以及孔石莼的 Chl b 含量均显著下降(图 1)。当处理最高浓度为 2 mg/L 时, 孔石莼的 Chl a、Chl b 及 Car 的含量分别降为对照组的 50.0%、55.3%及 46%, 鼠尾藻 Chl a、Chl b、Car 的含量依次降为对照组的 59.3%、70.0%、58.0%; 铜胁迫下孔石莼及鼠尾藻的光合色素含量均有不同程度的下降, 且孔石莼的 3 种光合色素含量在最高处理浓度下降幅度均高于鼠尾藻。对于孔石莼, 最高 Cu²⁺浓度处理下, 3 种叶绿素含量与对照间差异达极显著水平(P<0.01), 其 Chl a、

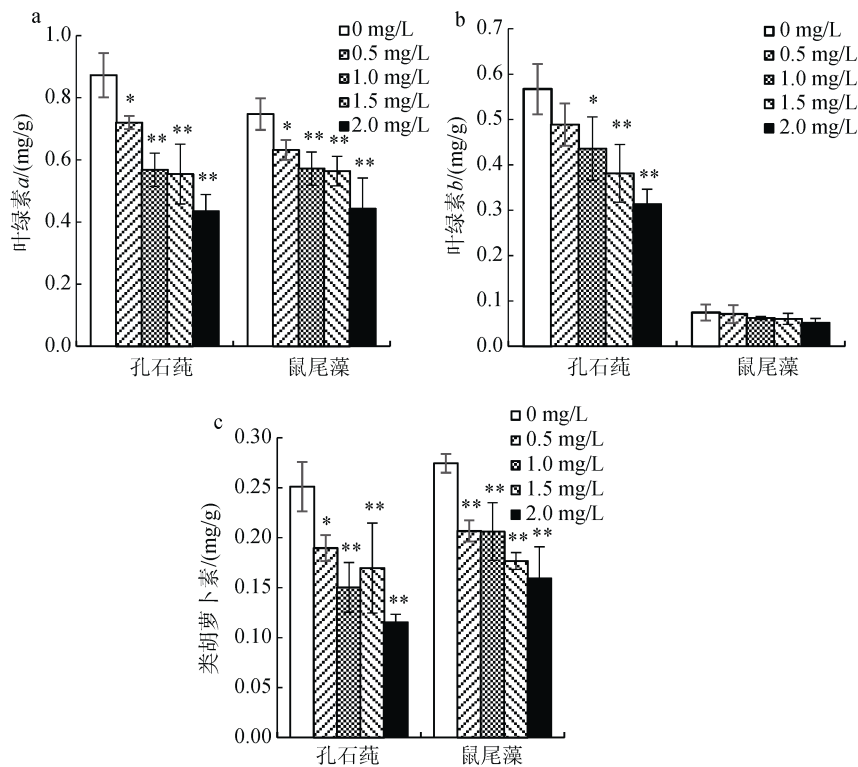


图 1 Cu²⁺胁迫下孔石莼、鼠尾藻光合色素含量的变化

Fig. 1 Effect of Cu²⁺ stress on photosynthetic pigment contents of *Ulva pertusa* and *Sargassum thunbergii*

Car 对照组与其他处理组均存在显著差异($P<0.05$); 对于鼠尾藻, 其 Chl *a* 及 Car 对照组与其他处理组均存在显著差异($P<0.05$), Chl *b* 对照组与其他处理组无显著性差异($P>0.05$)。

2.2 Cu²⁺对孔石莼和鼠尾藻叶绿素荧光参数的影响

对孔石莼及鼠尾藻各叶绿素荧光参数变化的分析可知(图 2), 2 种藻类的叶绿素荧光参数 alpha、rETR_m、IK、 F_v/F_m 在 Cu²⁺胁迫下总体呈现下降趋势。

2 mg/L Cu²⁺处理时, 孔石莼的叶绿素荧光参数值 alpha、rETR_m、IK、 F_v/F_m 分别降为对照组的 73.9%、42.2%、56.9%及 83.8%, 与对照组相比具有极显著差异($P<0.01$); 鼠尾藻在最高 Cu²⁺浓度胁迫条件下, 各处理组的叶绿素荧光参数值与对照间差异达显著水平($P<0.05$), alpha、IK、 F_v/F_m 3 组叶绿素荧光参数分别降为对照的 81.4%、73.8%及 88.2%, 与对照间的差异均达到极显著水平($P<0.01$)。显然随着 Cu²⁺浓度的增加, 2 种藻类的各荧光参数值显著降低, 且孔石莼在最高离子浓度下表现的受抑程度更加严重。

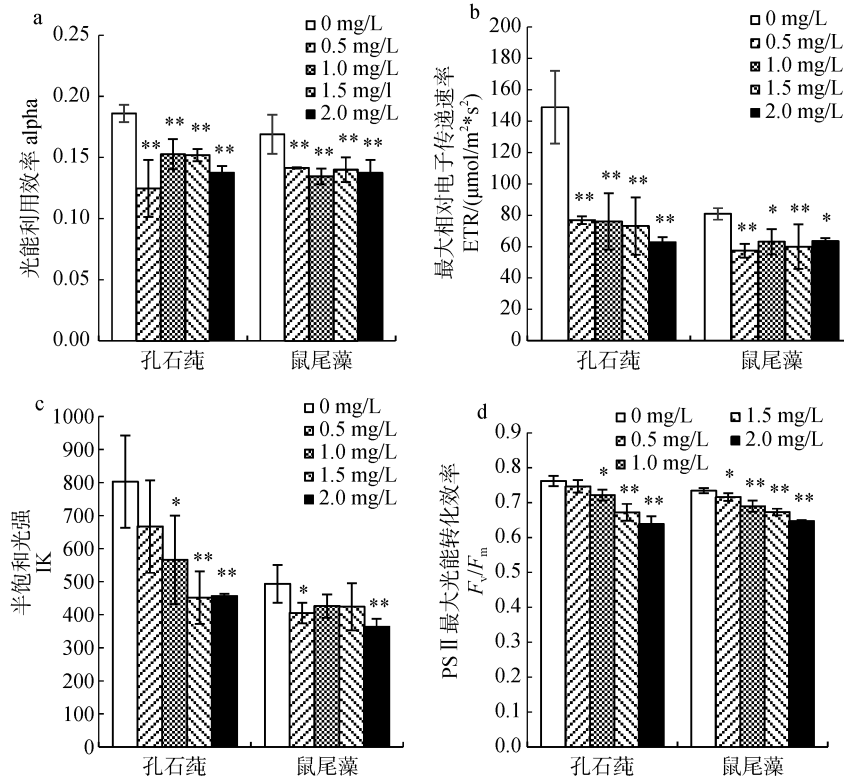


图 2 Cu²⁺胁迫下孔石莼、鼠尾藻叶绿素荧光参数变化

Fig. 2 Effect of Cu²⁺ stress on chlorophyll fluorescence parameters of *U. pertusa* and *S. thunbergii*

2.3 Cu²⁺对孔石莼和鼠尾藻 Na⁺K⁺-ATP 酶、Ca²⁺Mg²⁺-ATP 酶活性的影响

孔石莼及鼠尾藻在不同浓度 Cu²⁺处理后, 体内 Na⁺K⁺-ATP 酶活性变化如图 3 所示。由图 3 可知, 铜胁迫后与对照相比, Na⁺K⁺-ATP 酶活性总体上呈现降低趋势, 各处理的酶活性与对照间差异达显著水平; 而当 Cu²⁺质量浓度进一步增大为 2 mg/L 时, 孔石莼的 Na⁺K⁺-ATPase 活性降至对照组的 43.2%, 二者差异达到极显著水平($P<0.01$); 鼠尾藻各处理中酶活性均处于较低水平, 与对照间均达到极显著差异($P<0.01$)。

由孔石莼及鼠尾藻 Ca²⁺Mg²⁺-ATP 酶活性对不同质量浓度 Cu²⁺处理的响应变化可知, 孔石莼比鼠尾藻具有较高的 Ca²⁺Mg²⁺-ATP 酶基础活性。与 Na⁺K⁺-ATP 酶活性变化趋势相似, 孔石莼及鼠尾藻 Ca²⁺Mg²⁺-ATP 酶活性均在 Cu²⁺处理后显著下降, 但孔石莼在胁迫条件下其 Ca²⁺Mg²⁺-ATP 酶活性降低则更为显著, 与对照差异均达到极显著水平($P<0.01$)。

2.4 Cu²⁺胁迫下对孔石莼和鼠尾藻生理指标间的相关性分析

对 2 种海藻的生理指标分别进行相关性分析

(表 1, 表 2), 结果表明 Cu^{2+} 浓度与孔石莼 alpha 及鼠尾藻 rETRm 相关性不显著, 与鼠尾藻 Chl *b*、alpha、IK 表现为显著负相关 ($P < 0.05$), 与 2 种海藻的 Chl *a*、Car、 F_v/F_m 、 Na^+K^+ -ATPase、 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 呈极

显著负相关 ($P < 0.01$), 其中 F_v/F_m 与光合色素含量呈显著或极显著正相关, 且与胁迫程度的相关性极高 ($R = -0.935$; $R = -0.973$), 可以作为孔石莼及鼠尾藻在 Cu^{2+} 胁迫下光合作用变化的有效评价指标。

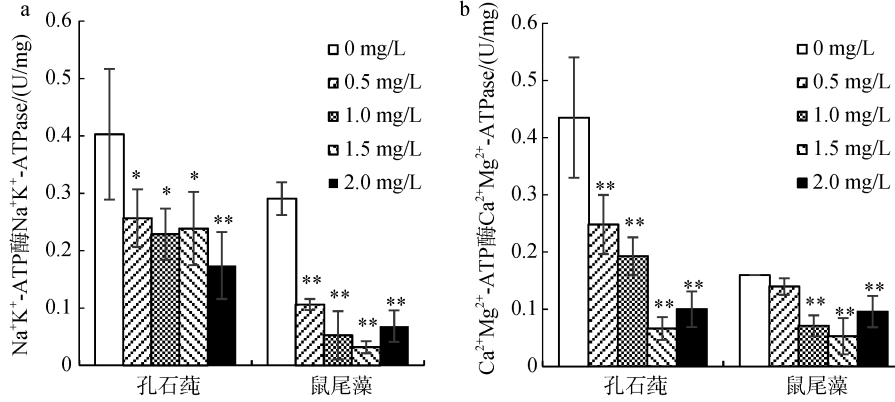


图 3 Cu^{2+} 胁迫下孔石莼、鼠尾藻 Na^+K^+ -ATPase 和 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 的变化

Fig. 3 Effect of Cu^{2+} stress on Na^+K^+ -ATPase 和 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase of *U. pertusa* and *S. thunbergii*

表 1 孔石莼各指标间的相关系数

Tab. 1 Correlative coefficients between indices of *U. pertusa*

| 孔石莼 | Cu^{2+} 浓度 | Chl <i>a</i> | Chl <i>b</i> | Car | alpha | rETRm | IK | F_v/F_m | Na^+K^+ -ATPase | $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase |
|--|---------------------|--------------|--------------|----------|----------|----------|----------|-----------|---------------------------------|--|
| [Cu^{2+}] | 1 | | | | | | | | | |
| Chl <i>a</i> | -0.919 ** | 1 | | | | | | | | |
| Chl <i>b</i> | -0.886 ** | 0.910 ** | 1 | | | | | | | |
| Car | -0.823 ** | 0.830 ** | 0.692 ** | 1 | | | | | | |
| alpha | -0.429 | 0.477 | 0.361 | 0.587 * | 1 | | | | | |
| rETRm | -0.741 ** | 0.735 ** | 0.576 * | 0.807 ** | 0.722 ** | 1 | | | | |
| IK | -0.793 ** | 0.694 ** | 0.589 * | 0.722 ** | 0.322 | 0.836 ** | 1 | | | |
| F_v/F_m | -0.935 ** | 0.769 ** | 0.761 ** | 0.736 ** | 0.359 | 0.648 ** | 0.726 ** | 1 | | |
| Na^+K^+ -ATPase | -0.702 ** | 0.689 ** | 0.670 ** | 0.552 * | 0.434 | 0.799 ** | 0.739 ** | 0.633 * | 1 | |
| $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase | -0.870 ** | 0.843 ** | 0.797 ** | 0.751 ** | 0.527 * | 0.704 ** | 0.635 * | 0.775 ** | 0.573 * | 1 |

表 2 鼠尾藻各指标间的相关系数

Tab. 2 Correlative coefficients between indices of *S. thunbergii*

| 鼠尾藻 | Cu^{2+} 浓度 | Chl <i>a</i> | Chl <i>b</i> | Car | alpha | rETRm | IK | F_v/F_m | Na^+K^+ -ATPase | $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase |
|--|---------------------|--------------|--------------|----------|----------|----------|---------|-----------|---------------------------------|--|
| [Cu^{2+}] | 1 | | | | | | | | | |
| Chl <i>a</i> | -0.863 ** | 1 | | | | | | | | |
| Chl <i>b</i> | -0.567 * | 0.372 | 1 | | | | | | | |
| Car | -0.862 ** | 0.849 ** | 0.395 | 1 | | | | | | |
| alpha | -0.610 * | 0.654 ** | 0.324 | 0.627 * | 1 | | | | | |
| rETRm | -0.435 | 0.422 | 0.438 | 0.594 * | 0.692 ** | 1 | | | | |
| IK | -0.596 * | 0.526 * | 0.687 ** | 0.607 * | 0.655 ** | 0.796 ** | 1 | | | |
| F_v/F_m | -0.973 ** | 0.823 ** | 0.553 * | 0.811 ** | 0.572 * | 0.410 | 0.614 * | 1 | | |
| Na^+K^+ -ATPase | -0.763 ** | 0.647 ** | 0.440 | 0.763 ** | 0.724 ** | 0.714 ** | 0.569 * | 0.756 ** | 1 | |
| $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase | -0.689 ** | 0.556 * | 0.292 | 0.568 * | 0.509 | 0.297 | 0.137 | 0.656 ** | 0.778 ** | 1 |

3 讨论

叶绿素是植物进行光合作用的基础物质,植物受到逆境胁迫时,各种生理过程都会受到影响,从而直接或间接影响其含量,测定叶绿素含量是表征植物生长状况的重要标志^[16]。 Cu^{2+} 兼具营养和毒害作用,是植物生长的必需微量元素,适当的 Cu^{2+} 有助于叶绿素的形成与稳定,但其浓度过高会使细胞代谢发生紊乱对植物产生严重的毒害作用^[17]。Brown等^[18]研究认为,重金属对藻类光合色素含量的影响表现为低浓度能够促进色素含量水平的上升,而高浓度则抑制叶绿素的合成,导致其含量降低,并抑制光合作用。吕利云^[19]用不同浓度 Cu^{2+} 处理孔石莼及鼠尾藻,发现在高浓度 Cu^{2+} 处理下2种藻类的鲜重、相对生长率、叶绿素含量以及可溶性蛋白含量均显著降低,且孔石莼的鲜重及相对生长率降低速率大于鼠尾藻。李今等^[20]研究发现, Cu^{2+} 与叶绿素形成配位化合物,高浓度 Cu^{2+} 会伤害叶绿素,降低其含量,因此过量的 Cu^{2+} 不利于叶绿素的形成和稳定。本研究的测定数据与前人研究结果类似,孔石莼和鼠尾藻的光合色素含量随着 Cu^{2+} 处理浓度的增加均有明显降低。由此可见,海藻在重金属胁迫下,随着重金属浓度的升高,藻类的叶绿素结构受到破坏,光合色素含量下降,进而使正常光合作用受到显著影响。而二者相比而言,鼠尾藻在胁迫条件下光合色素含量降低较少,是在一定程度上能够维持基本光合作用的内在生理原因。

叶绿素荧光分析技术是一种以光合作用理论为基础、利用体内叶绿素作为天然探针、研究和探测植物光合生理状况及各种外界因子对其细微影响的新颖植物活体测定和诊断技术,具有快速、灵敏、对细胞无损伤的优点,是研究植物光合作用与环境关系的良好探针^[21]。叶绿素荧光参数和光合作用紧密相关,逆境对植物光合作用的影响都可以通过叶绿素荧光参数得到真实的体现^[22]。梁英等^[23]研究表明,在重金属 Cu^{2+} 胁迫下,离子的浓度与纤角毛藻 (*Chaetoceros gracilis*)各荧光参数均呈现显著负相关关系,且随着离子浓度增大及胁迫时间延长,下降幅度逐渐增大。然而,本研究结果表明,不同浓度 Cu^{2+} 处理后,与对照相比,孔石莼和鼠尾藻的叶绿素荧光参数 α 、 $rETR_m$ 、 IK 在总体上呈下降的趋势,但降低程度呈波动性变化,即各参数与 Cu^{2+} 处理浓

度间的相关关系并未达到显著或极显著水平。而 F_v/F_m 值变化规律与此不同, F_v/F_m 值变化表示 PSII 的最大光能转化效率,常被用来作为环境胁迫程度的指标和探针^[24-28]。在正常生理状态下, F_v/F_m 值比较稳定,高等植物的该值一般在 0.8 以上,藻类植物在 0.65~0.7 左右^[3, 29]。当藻类受到铜离子胁迫时,随铜离子浓度的升高, F_v/F_m 逐渐降低,说明重金属胁迫对于藻类光合作用具有抑制作用,使部分功能 PSII 反应中心转化为无光化学活性的非功能 PSII。本研究中,孔石莼及鼠尾藻正常对照的 F_v/F_m 值均在 0.7~0.8 之间,且随 Cu^{2+} 胁迫浓度的增加而相应地稳步降低,相关性分析均达到极显著水平 ($R = -0.935$; $R = -0.973$)。鉴于 F_v/F_m 值的灵敏及稳定的双重特性,为其作为不同海藻生长及生理对重金属适应性的最佳检测及评价指标提供了直接佐证。本研究结果亦显示,孔石莼的 F_v/F_m 比鼠尾藻 F_v/F_m 在处理条件下降低趋势更为显著,表明鼠尾藻可能对重金属 Cu^{2+} 胁迫具更强的耐受性。

Na^+K^+ -ATP 酶和 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶是广泛分布在机体内的生物膜酶系统,对维持细胞正常生理功能起着重要的作用。 Na^+K^+ -ATPase 作为细胞中首位重要的离子泵,主要负责 Na^+ 、 K^+ 的转运,以维持细胞两侧的膜电位,调节细胞渗透压^[30]。 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 在金属离子吸收中发挥重要作用,负责植物矿物元素的吸收和释放^[9]。作为藻类光合作用和呼吸作用中多种酶的辅助因子, Cu^{2+} 对维持生命体的生长、代谢和酶活性等起着非常重要的作用,高浓度的 Cu^{2+} 则可能影响质膜的透性,抑制部分酶的活性,阻碍藻类光合作用以及 ATP 的合成,从而抑制藻类的生长^[31-32]。本研究结果亦显示,孔石莼和鼠尾藻的 Na^+K^+ -ATPase、 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性都随着 Cu^{2+} 浓度的增加而下降,在一定程度上无法维持正常细胞代谢。

综上所述,铜胁迫后孔石莼和鼠尾藻的光合色素含量降低,光合作用受阻后叶绿素荧光参数 α 、 $rETR_m$ 、 IK 及 F_v/F_m 发生变化,其中孔石莼的 F_v/F_m 值随 Cu^{2+} 处理浓度降低尤为显著,且 F_v/F_m 值与 Cu^{2+} 处理梯度浓度呈极显著负相关。孔石莼和鼠尾藻的 Na^+K^+ -ATP 及 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶活性随铜离子浓度的升高亦呈现下降趋势,而鼠尾藻 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶活性能保持较低的降低幅度,表明鼠尾藻能维持较稳定的代谢酶活性,相比孔石莼对铜胁迫具更强的适应性及耐受力。

参考文献:

- [1] 王增焕, 林钦, 李刘冬, 等. 大型海藻对重金属铜的富集动力学研究[J]. 中国环境科学, 2013, 33(1): 154-160.
Wang Zenghuan, Lin Qin, Li Liudong, et al. Kinetic study on the bioconcentration of cadmium and copper by large sized seaweed *Gracilaria lemaneiformis*[J]. *China Environmental Science*, 2013, 33(1): 154-160.
- [2] 吴小松, 黄鹤忠, 丁飞飞, 等. 龙须菜对水体 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 的去除效率及其生理响应[J]. 水生态学杂志, 2009, 5: 41-45.
Wu Xiaosong, Huang Hezhong, Ding Feifei, et al. Phytoremediation and Physiological Response of Cu^{2+} , Cd^{2+} Contaminated Water by *Gracilaria lemaneiformis*[J]. *Journal of Hydroecology*, 2009, 5: 41-45.
- [3] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluor-escence-a practical guide[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(345): 659-668.
- [4] Jiang C D, Gao H Y, Zou Q. Changes of donor and acceptor side in photosystem II complex induced by iron deficiency in attached-soybean and maize leaves[J]. *Photosynthetica*, 2003, 41: 267-271.
- [5] 邱昌恩, 况琪军, 毕永红, 等. Cd^{2+} 对绿球藻生长及生理特性的影响研究[J]. 水生生物学报, 2007, 31(1): 142-145.
Qiu Changen, Kuang Qijun, Bi Yonghong, et al. The effects of Cd^{2+} on the growth and physiological characteristics of chlorococccum sp[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, 31(1): 142-145.
- [6] Plekhanov S E, Chemeris Y K. Early toxic effects of zinc, cobalt, and cadmium on photosynthetic activity of the green alga *Chlorella pyrenoidosa* chick S-39[J]. *Biol Bull*, 2003, 30(5): 506-511.
- [7] Collén J, Pioto E, Pedersén M, et al. Induction of oxidative stress in the red macroalga *Gracilaria tenuistipitata* by pollutant metals[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, 45(3): 337-342.
- [8] 阎海, 潘纲, 霍润兰. 铜、锌和锰抑制月形藻生长的毒性效应[J]. 中国环境科学, 2001, 21(4): 365-368.
Yan Hai, Pan Gang, Huo Runlan. Oxidative effects of copper, zinc and manganese on the inhibition of the growth of *Closterium lunula*[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2001, 21(4): 365-368.
- [9] 母丹丹, 汝双燕, 李涛, 等. 铜胁迫对轮叶黑藻无菌苗生理代谢的影响[J]. 水生生物学报, 2016, 40(2): 419-424.
Mu Dandan, Ru Shuangyan, Li Tao, et al. Effects of copper stress physiological metabolism in sterile seedlings of *Hydrilla verticillata* (L.F.) royle[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(2): 419-424.
- [10] 徐秦松, 施国新, 王学, 等. 镉、铜和锌胁迫下黑藻活性氧的产生及抗氧化酶活性的变化研究[J]. 水生生物学报, 2006, 30(1): 107-112.
Xu Qinsong, Shi Guoxin, Wang Xue, et al. Generation of active oxygen and change of antioxidant enzyme activity in *Hydrilla verticillata* under Cd, Cu and Zn stress[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, 30(1): 107-112.
- [11] 朱喜锋, 邹定辉, 简建波, 等. 龙须菜对重金属铜胁迫的生理响应[J]. 应用生态学报, 2009, 20(6): 1438-1444.
Zhu Xifeng, Zou Dinghui, Jian Jianbo, et al. Physiological responses of *Gracilaria lemaneiformis* to copper stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(6): 1438-1444.
- [12] Güll T, Dogra V, Kumar S, et al. Protein dynamics during seed germination under copper stress in *Arabidopsis* overexpressing *Potentilla* superoxide dismutase[J]. *Journal of Plant Research*. 2012, 125(1): 165-172.
- [13] 臧笑雪. 孔石莼多糖的分离和结构研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006.
Zang Xiaoxue. Separation and structure study of the sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2006.
- [14] 何平, 许伟定, 王丽梅. 鼠尾藻研究现状及发展趋势[J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(3): 363-367.
He Ping, Xu Weiding, Wang Limei. Research status and development trend of *Sargassum thunbergii*[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2011, 20(3): 363-367.
- [15] Lichtenthaler H K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes[J]. *Methods Enzymol*, 1987, 148: 350-382.
- [16] 肖丽, 高瑞, 隋方功. 氯胁迫对大白菜幼苗叶绿素含量及光合作用的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2008, (2): 44-47.
Xiao Li, Gao Ruifeng, Sui Fanggong. Effects of chloride stress on the photosynthesis and chlorophyll content of chinese cabbage seedlings[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2008, (2): 44-47.
- [17] 张国军, 江虹, 郑丽芹, 等. Cu 胁迫对脐橙幼苗光特性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(1): 130-134.
Zhang Guojun, Jiang Hong, Zheng Liqin, et al. Effect of copper stress on photosynthesis of navel orange seedlings[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2009, 17(1): 130-134.
- [18] Brown M T, Newman J E. Physiological responses of *Gracilaria longissima* (S.G Gmelin) Steentoft, L.M. Irvine and Farnham (Rhodophyceae) to sublethal copper concentrations[J]. *Aquatic Toxicology*, 2003, 64(2): 201-213.
- [19] 吕利云. 几种大型海藻对海水中重金属污染的生物

- 修复能力研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- Lv Liyun. Study on bioremediation ability of several seaweeds on heavy metal contamination in seawater[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.
- [20] 李今, 华江环. 几种除藻剂对铜绿微囊藻生长的毒性效应[J]. 沈阳师范大学学报, 2011, 29(3): 444-448.
- Li Jin, Hua Jianghuan. Toxic effect of Cu^{2+} , H_2O_2 and 3-1, 1-dimethylurea(DCMU) to *Microcystis aeruginosa*[J]. Journal of Shenyang Normal University, 2011, 29(3): 444-448.
- [21] 梁英, 冯力霞, 尹翠玲, 等. 叶绿素荧光技术在微藻环境胁迫研究中的应用现状及前景[J]. 海洋科学, 2007, 31(1): 71-76.
- Liang Ying, Feng Lixia, Yin Cuiling, et al. Current status and prospect of chlorophyll fluorescence technique in the study of responses of microalgae to environmental stress[J]. Marine Sciences, 2007, 31(1): 71-76.
- [22] 冯丽霞. 环境胁迫对4株微藻叶绿素荧光特性的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006.
- Feng Lixia. Effects of environmental stress on the chlorophyll fluorescence of 4 microalgal strains[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2006.
- [23] 梁英, 王帅, 冯力霞, 等. 重金属胁迫对纤细角毛藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2008, 38(1): 59-67.
- Liang Ying, Wang Shuai, Feng Lixia, et al. Effects of heavy metal stress on the growth and chlorophyll fluorescence of *Chaetoceros gracilis*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2008, 38(1): 59-67.
- [24] Ismail M, Tong S, Phang S, et al. A modified toxicity testing method using tropical marine microalgae[J]. Environmental Monitoring & Assessment, 2002, 75(2): 145-154.
- [25] Mallick N, Mohn F H. Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: a case study with the green micro alga *scenedesmus*[J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2003, 55(1): 64-69.
- [26] Lu C M, Chau C W, Zhang J H. Acute toxicity of excess mercury on the photosynthetic performance of cyanobacterium, *S. platensis* assessment by chlorophyll fluorescence analysis[J]. Chemosphere, 2000, 41(1-2): 191-196.
- [27] Mallick N, Mohn F H. Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: a case study with the green microalga *Scenedesmus*[J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2003, 55 (1): 64-69.
- [28] Plekhanov S E, Chemeris Y K. Early toxic effects of zinc, cobalt, and cadmium on photosynthetic activity of the green alga *Chlorella pyrenoidosa* chick S-39[J]. Biol Bull, 2003, 30(5): 506-511.
- [29] Kolber Z, Zehr J, Falkowski P G. Effects of growth irradiance and nitrogen limitation on photosynthesis energy conversion in photosystem II[J]. Plant Physiology, 1988, 88(3): 923-929.
- [30] Gorini A, Canosi U, Devecchi E, et al. ATPases enzyme activities during ageing in different types of somatic and synaptic plasma membranes from rat frontal cerebral cortex[J]. Progress in Neuro Psychopharmacology & Biological Psychiatry, 2002, 26(1): 81-90.
- [31] 赵胡, 唐俊, 郑文教. 重金属 Cu^{2+} 胁迫对红树植物秋茄幼苗生长及某些生理特性的影响[J]. 海洋科学, 2016, 40(4): 65-72.
- Zhao Hu, Tang Jun, Zheng Wenjiao. Growth and physiological characteristics of *Kandelia obovata* seedlings under Cu^{2+} stress[J]. Marine Sciences, 2016, 40(4): 65-72.
- [32] 王帅, 梁英, 冯力霞, 等. 重金属胁迫对杜氏盐藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 海洋科学, 2010, 34(10): 38-48.
- Wang Shuai, Liang Ying, Feng Lixia, et al. Effects of heavy metal stress on the growth and chlorophyll fluorescence of *Dunaliella salina*[J]. Marine Sciences, 2010, 34(10): 38-48.

Physiological response of intertidal marine macroalgae *Ulva pertusa* and *Sargassum thunbergii* to heavy metal copper stress

LIU Qing, WANG Xiao-bei, LI Li-xia

(College of Life Sciences, Yantai University, Yantai 264005, China)

Received: Jun. 29, 2018

Key words: *Ulva pertusa*; *Sargassum thunbergii*; chlorophyll content; chlorophyll fluorescence; ATPase

Abstract: This study analyzed the changes in chlorophyll content, photosynthetic characteristics, and ATPase activity of *Ulva pertusa* and *Sargassum thunbergii* under different concentrations of copper (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L). Results showed that the photosynthetic pigment content, light energy utilization efficiency (α), the maximum relative electron transport rate (rETR_m), semi-light saturation intensity (IK), and PS II maximum energy conversion efficiency (F_v/F_m) of the two species of macroalgae generally decreased with the increase in copper ion concentrations, with a higher decrease in the chlorophyll fluorescence parameters F_v/F_m of *U. pertusa*. The activities of both Na⁺K⁺-ATPase and Ca²⁺Mg²⁺-ATPase declined in the two species of algae with the increase in the copper ion concentration, with a particularly significant decrease being observed in *U. pertusa*. These results indicate that with the increase in the degree of stress, the photosynthetic rates of *U. pertusa* and *S. thunbergii* were inhibited and the activities of metabolic enzymes were reduced. The algae suffered irreversible damage, with apparent dose effects. *S. thunbergii* was more tolerant to copper stress than *U. pertusa*. Furthermore, results of the chlorophyll fluorescence parameters F_v/F_m were extremely stable and correlated significantly with the degree of stress, which can be used as an effective evaluation index for assessing the impact of heavy metal exposure on the growth and physiological metabolism of algae.

(本文编辑: 梁德海)