

# 两种盐藻光合作用特性的比较\*

彭长连 林植芳 孙谷畴 施定基†

(中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

†(中国科学院植物研究所, 北京 100044)

**提要** 于 1989 年 9—11 月分别在中国科学院水生生物研究所和天津轻工部制盐研究所取得盐藻 *Dunaliella* sp. HB 558 和 *Dunaliella salina* 1009。这两个藻种的光合放氧-光强曲线, 光系统 I、光系统 II 活性-温度曲线及甘油产量的结果表明, 其光合作用的光饱和点皆为  $220\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ , 并可忍受  $40^\circ\text{C}$  的温度; 当温度为  $45^\circ\text{C}$  时, *D. sp.* HB 558 的光合放氧明显受到抑制, 光系统 II 活性下降, 但对 *D. salina* 1009 则无影响; *D. sp.* HB 558 在  $10\text{--}40^\circ\text{C}$  下的光合放氧速率及甘油产量都高于 *D. salina* 1009。培养这两种藻的最适温度为  $30\text{--}35^\circ\text{C}$ 。

**关键词** 盐藻 光饱和点 光系统 I 光系统 II 光合放氧 甘油

我国于 80 年代后期在天津塘沽建立了盐藻的培养基地, 但相应的研究工作较少。关于盐藻的培养, 不同的藻种其培养条件稍有差别。本文比较了不同温度下 *Dunaliella* sp. HB 558 和 *Dunaliella salina* 1009 的光合放氧-光强曲线, 试图了解盐藻的最适培养温度和光强。为我国大面积培养盐藻提供一些理论依据。

## 1 材料与方 法

供试的盐藻 (*Dunaliella* sp. HB558) 于 1989 年 9 月得自中国科学院水生生物研究所; *Dunaliella salina* 1009 于同年 11 月得自天津塘沽轻工部制盐研究所。以  $\text{ASP}_2$  培养液培养(华汝成, 1980), 其中氯化钠浓度为  $2\text{mol/L}$ 。培养温度为  $29.5^\circ\text{C}$ , 光照强度为  $200\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ , 振荡培养 20d。叶绿素含量按 Arnon (1949) 法测定。

光合放氧及暗呼吸以 Clark 型氧电极测定。光系统 I(PSI) 的活性按 Krol 等 (1987) 的方法测定。光系统 II(PS II) 的活性按 Izawa (1980) 的方法测定。

甘油含量测定按 Teresa 等 (1984) 的方法将细胞破碎, 然后以日立冷冻离心机  $20\,000 \times g$  离心 20min。上清液按略加改进的 Lambert 等 (1950) 的方法测定甘油的含量。2ml 样品加  $5\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.1ml,  $0.1\text{mol/L}$  高碘酸钠 0.5ml, 反应 5min; 加入  $1\text{mol/L}$  亚砷酸钠 0.5ml, 反应 10min; 取混合物 0.5ml 加入 5ml 变色酸试剂, 沸水浴加热 30min; 冷却后以 Beckman Du-7 HS 分光光度计测定 570nm 的光吸收。同时作空白对照。以分析纯甘油作标准曲线。

\* 中国科学院华南植物研究所所长基金资助, 920350 号。

收稿日期: 1991 年 8 月 15 日。接受日期 1994 年 1 月 3 日。

### 2 实验结果

2.1 盐藻在不同温度下的光合放氧-光反应曲线(图 1) 结果表明,在 10—35℃ 之间, *D. sp.* HB 558 和 *D. salina* 1009 的光饱和点均为  $220\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。这说明,在 10—

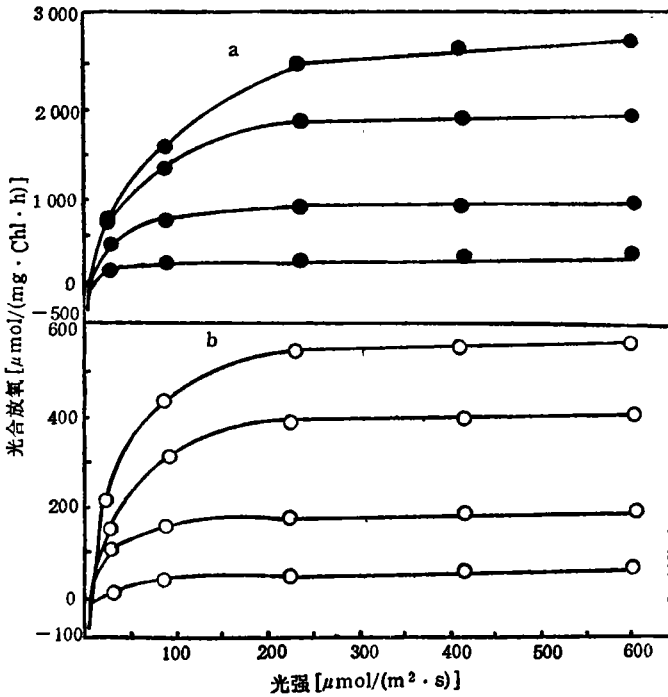


图1 *Dunaliella sp.* HB558(a)和 *Dunaliella salina* 1009(b) 的光合放氧-光反应曲线

Fig. 1 Light response curves of photosynthetic oxygen evolution of *Dunaliella sp.* HB 558 (a) and *Dunaliella salina* 1009 (b)

35℃范围内,两种试验藻类对光强反应的特性相似。

2.2 温度对盐藻光合放氧影响的结果 盐藻在饱和光强 [ $410\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ]下的光合放氧-温度曲线(见图 2)表明,在 40℃ 以前, *D. sp.* HB 558 的最大光合放氧速率随温度的增高而增大;温度高于 40℃ 时,光合放氧速率明显下降。*D. salina* 1009 的最大光合放氧速率随温度升高到 45℃ 而持续增大。比较两个藻种的光合速率,发现除 45℃ 高温外,在其余温度下, *D. sp.* HB 558 的光合放氧速率都高于 *D. salina* 1009,前者为后者的

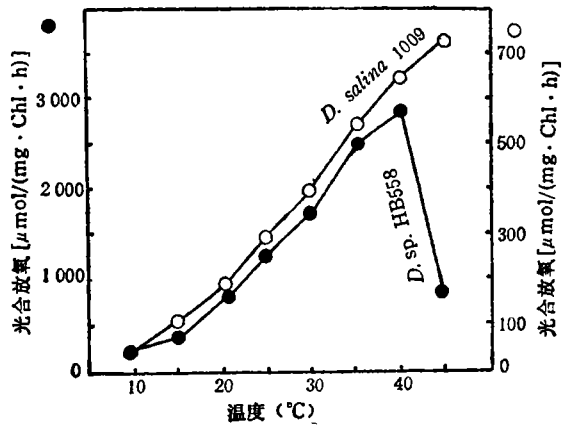


图 2 盐藻在饱和光强下的光合放氧-温度反应曲线  
Fig. 2 Temperature response curves of photosynthetic oxygen evolution of *Dunaliella* at saturated light intensity

5 倍之多。

### 2.3 温度对盐藻光系统电子传递影响的结果

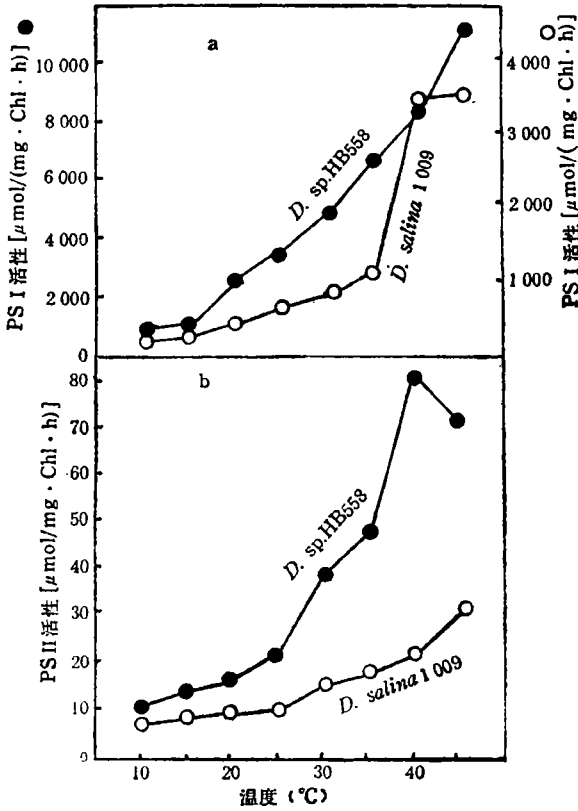


图3 盐藻的PSI活性(a)与PSII活性(b)的温度反应曲线  
Fig. 3 Temperature response curves of PS I(a) and PS II (b) activities of *Dunaliella*

几乎呈直线上升。在低于35°C时,两个藻种的呼吸速率差异较大;高于此温度,呼吸速率逐渐接近。

盐藻的光合/呼吸比值见表1。可见,低于20°C和高于40°C,两种盐藻的光合/呼吸比值均明显下降。*D. sp. HB 558*的光合/呼吸比值,在35°C时最高;30°C次之。*D. salina 1009*,则以25—30°C最高;35°C较低。*D. salina 1009*除了在35—40°C时的光合/呼吸比值与*D. sp. HB 558*相近外,在其余温度下,其比值都高于*D. sp. HB558*,反映前者对温度的适应性较强。

### 2.5 盐藻的甘油产量 甘油是在外界高盐条件下,盐藻细胞内适应形成的特有

随着温度的增高,*D. sp. HB 558*的PSI活性一直增加;*D. salina 1009*的PSI活性也有相似的趋势,但低于35°C下,PSI活性随温度升高而增加的速率较低(图3a)。在本试验的各种温度下,*D. sp. HB 558*的PSI活性明显高于*D. salina 1009*。

温度也影响了盐藻的PSII活性(图3b)。从10°C到45°C,*D. salina 1009*的PSII活性随温度的升高而增高,而*D. sp. HB 558*的PSII活性增高的温度只增大到40°C,随后活性下降。这意味着45°C高温可能引起*D. sp. HB 558*的PSII损伤。与*D. salina 1009*相比,*D. sp. HB 558*的PSII活性较高。

### 2.4 温度对盐藻呼吸影响的结果

温度对盐藻呼吸的影响(图4)表明,*D. sp. HB 558*的呼吸速率随温度的升高而逐步加大。*D. salina 1009*,在35°C以前,温度对其呼吸的影响较小;当温度超过35°C时,其呼吸急剧上升,35—45°C之间几乎呈直线上升。

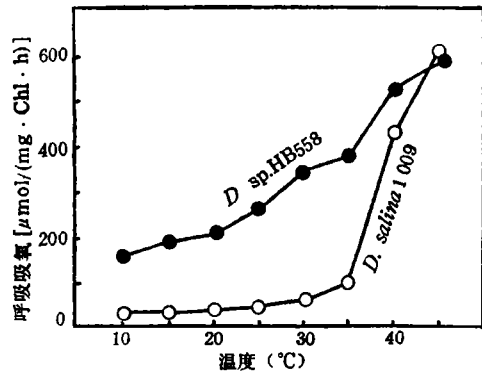


图4 温度对盐藻呼吸的影响  
Fig. 4 Effect of temperature on respiration of *Dunaliella*

表 1 盐藻的光合/呼吸比值

Tab. 1 The ratio of photosynthesis to respiration in *Dunaliella*

藻 种	温 度 (°C)							
	10	15	20	25	30	35	40	45
<i>D. sp. HB 558</i>	0.65	1.01	3.14	4.04	5.15	6.76	3.6	1.64
<i>D. salina</i> 1009	1.55	2.77	4.17	7.05	7.27	6.11	3.26	2.46

的渗透调节物质。在 2mol/LNaCl, 温度为 29°C, 光强为 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  的培养条件下, 两个藻种的甘油产量相差很大。以单位叶绿素的甘油量表示, *D. salina* 1009 形成的甘油只有 *D. sp. HB 558* 的 40%(表 2)。这与图 2 中 *D. sp. HB 558* 的较高的光合作用能力相一致。

表 2 盐藻的甘油产量

Tab. 2 The glycerol production of *Dunaliella*

藻 种	总甘油量 (mg/mg) <sup>1)</sup>	百分比(%)
<i>D. sp. HB 558</i>	172.77 $\pm$ 5.87	100
<i>D. salina</i> 1009	70.65 $\pm$ 1.8	40.89

1) 甘油的单位以每毫克叶绿素的毫克量计算。

### 3 讨论与结语

从本文的试验结果来看, 两个藻种的光合作用特性均是光饱和点较低, 与耐阴的高等植物的光饱和点相近。这可能与本试验在较低光强下[200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ]培养有关。

盐藻不但耐盐, 而且具有很高的耐热性, 在高达 45°C 的温度下, *D. salina* 1009 仍具有很高的光合放氧速率。*D. sp. HB 558* 达最大光合速率的温度出现于 40°C, 当温度高于 45°C 时, 其光合作用能力则显著下降。Yamashita 等(1968)认为, 在高等植物中热害引起其 PSII 的改变, 从而使 PSII 活性受到抑制。这个观点为很多人的研究所证实(Krause et al., 1975; Schreiber et al., 1976; 1977)。Schreiber 等(1978)认为, 热害导致了 PSII 的捕光色素复合体功能组分发生解离。可见, 高等植物光合作用系统中的 PSII 对环境因子的变化较敏感。本研究用氧电极测定了盐藻的 PSI 活性与温度的关系, 结果表明, 两个藻种的 PSI 活性随温度的升高而增高。这与 Patrick 等(1986)报道 35—55°C 温度刺激豌豆叶绿体的 PSI 活性的结果相似。进一步对 PSII 活性的测定表明, *D. sp. HB 558* 在 45°C 时 PSII 活性下降, 其趋势与光合放氧速率变化一致。因此, 本文作者也同意 45°C 高温下盐藻光合速率的下降, 可归因于 PSII 受热伤害的观点。

目前, 实验室培养盐藻的温度多为 30°C 左右 (Teresa et al., 1984)。从本文中盐藻的光合放氧及呼吸速率同温度的关系来看, *D. sp. HB558* 的光合/呼吸比值在 35°C 下最高; *D. salina* 1009 则是 30°C 下最高; 但两个藻种在 35°C 下的光合速率都远远高于 30°C 下的光合速率。因此, 本文作者认为, 两个试验藻种的培养温度可以考虑提高到 35°C。

迄今对盐藻资源的应用主要是利用其细胞内的甘油,  $\beta$ -胡萝卜素和蛋白质 (Borowitzka et al., 1984)。 *D. sp.* HB 558 的甘油产量明显高于 *D. salina* 1009, 这可能是因为前者比后者有较高的光合作用活性, 为甘油的形成提供了充足的碳架和前体磷酸二羟丙酮之故。从光合速率及甘油产量来看, *D. sp.* HB 558 明显优于 *D. salina* 1009, 但温度超过 45°C 时, *D. sp.* HB 558 的耐热性则不如 *D. salina* 1009。因此实践上用何一藻种, 需根据实际需要而定。

综上所述, 本试验用的两种盐藻光合特性的共同点是: 在 2mol/L NaCl 中培养, 光合作用速率, PSI, PSII 活性随温度不同而变化, 最适培养温度为 30—35°C, 可忍受 40°C 的高温, 光饱和点为 220  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。不同之处是: *D. sp.* HB 558 的光合速率和甘油产量比 *D. salina* 1009 高, 而耐热性却比后者弱。45°C 高温可能导致叶绿体 PSII 的伤害。高光合速率与高甘油形成量相一致。

### 参 考 文 献

- 华汝成, 1980, 单细胞藻类的培养和利用, 农业出版社(北京), 306—307。
- Arnon, D.J., 1949, Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*, *Plant Physiol.*, **24**: 1—15.
- Borowitzka, L.J., Borowitzka, M.A. and Multon, T.P. 1984 The mass culture of *Dunaliella salina* for fine chemicals: From laboratory to pilot, *Hydrobiol.*, **116/117**: 115—134.
- Izawa, S., 1980, Acceptors and donors for chloroplast electron transport, *Methods Enzymol.*, **69**: 413—433.
- Krause, G.H. and Santarius, K.A., 1975, Relative thermostability of the chloroplast envelop, *Planta*, **127**: 285—289.
- Krol, M., Huner, N.P.A. and Micintosh, A., 1987, Chloroplast biogenesis at cold-hardening temperature: Development of photosystem I and photosystem II activities in relation to pigment accumulation, *Photosyn. Res.*, **14**: 97—112.
- Lambert, M. and Neish, A.C., 1950, Rapid method for estimation of glycerol in fermentation solutions, *Can. J. Res.*, **28**: 83—89.
- Patrick, W.W., Sen, A. and David, C., 1986, Selective photobleaching of PS I-related chlorophylls in heat-stress pea chloroplasts, *Photosyn. Res.*, **10**: 75—92.
- Schreiber, U., Colbow, K. and Vidaer, W., 1976, Analysis of temperature-jump chlorophyll fluorescence induction in plants, *Biochem. Biophys. Acta*, **423**: 249—269.
- Schreiber, U. and Amond, P.A., 1978, Heat-induced changes of chlorophyll fluorescence in isolated chloroplasts and related heat damage at pigment level, *Biochem. Biophys. Acta*, **502**: 138—151.
- Schreiber, U. and Berry, J., 1977, Heat-induced changes of chlorophyll fluorescence in intact leaves correlated with damage of the photosynthetic apparatus, *Planta*, **136**: 233—238.
- Teresa, I.C., Humberto, J.S. and Rodolfo, J.E., 1984, Photosynthetic production of *Dunaliella* biomass from natural salt water and carbon dioxide, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **34B**: 292—295.
- Yamashita, T. and Butler, W.L., 1968, Inhibition of chloroplasts by UV-irradiation and heat-treatment, *Plant. Physiol.*, **43**: 2 037—2 040.

## COMPARATIVE STUDY ON PHOTOSYNTHETIC PROPERTY OF TWO SPECIES OF *DUNALIELLA*

Peng Changlian, Lin Zhifang, Sun Guchou, Shi Dingji<sup>†</sup>

(South China Institute of Botany, Academia Sinica, Guangzhou 510650)

<sup>†</sup>(Institute of Botany, Academia Sinica Beijing 100044)

### ABSTRACT

*Dunaliella* sp. HB558 and *Dunaliella salina* 1009 were supplied by the Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan and Salt Research Institute, Tanggu, Tianjin, respectively. The different temperature photosynthesis light-response curves of *Dunaliella* were obtained by measurement of O<sub>2</sub> evolution using a Clarktype oxygen electrode. The effect of temperature on activities of photosystem I and photosystem II as well as the respiratory rate were also detected by the same technique.

The light saturation point of photosynthesis in these two species of *Dunaliella*, was 220 μmol/(m<sup>2</sup>·s). In both species, the photosynthetic rate increased with temperature up to 40°C. The observed inhibition of photosynthetic oxygen evolution of *D.sp.* HB 558 (but not of *D. salina* 1009) by high temperature (45°C) was due to the damage of PS II. The photosynthetic oxygen evolution of *D.sp.* HB 558 was much higher than that of *D. salina* 1009 at all experimental temperatures(except 45°C).

The glycerol accumulated in cells of *D.sp.* HB 558 was 172.77 mg/(mg·Chl.) and of *D. salina* 1009 was only 70.65 mg/(mg·Chl.). The higher glycerol content of *D. sp.* HB 558 was due to its high photosynthetic capacity. The maximum photosynthesis to respiration ratios of *D. sp.* HB 558 and *D. salina* 1009 were at 35°C (6.76) and 30°C(7.72), respectively. The photosynthetic oxygen evolution at 30°C was 73% (*D. sp.* HB 558) and 71% (*D. salina* 1009) of that at 35°C. It is suggested that the optimal temperature for cultivating *D.sp.* HB 558 and *D. salina* 1009 is 35°C rather than 30°C.

In comparison with *D. salina* 1009, *D.sp.* HB 558 showed higher photosynthetic capacity and glycerol content but lower tolerance to high temperature.

**Key words** *Dunaliella* Light saturation point PS I PS II Photosynthetic oxygen Glycerol