

DOI:10.3969/j.issn.2096-8248.2024.04.002

## Cu 处理耦合紫外辐射对石莼光合生理特性的影响\*

丁厚旭<sup>1a</sup>, 陆周玥<sup>1a</sup>, 曹君旻<sup>1a</sup>, 雍康馨<sup>1a</sup>, 岑永华<sup>2</sup>, 徐军田<sup>1a,b,c</sup>, 马静<sup>1a,b</sup>

(1. 江苏海洋大学 a. 海洋科学与水产学院; b. 江苏省海洋生物资源与环境重点实验室;  
c. 江苏省海洋生物产业技术协同创新中心, 江苏 连云港 222005; 2. 江苏省海域执法监督中心, 江苏 南通 226006)

**摘要:**为探明重金属污染和太阳紫外线(UV)辐射对大型海藻光合生理特性的影响,实验分析了 3 个 Cu 浓度(自然海水, LCu; 0.25  $\mu\text{mol/L}$ , MCu; 0.50  $\mu\text{mol/L}$ , HCu)和两种紫外辐射(光合有效辐射, PAR 和紫外辐射, PAB)对石莼光合生理特性的影响。结果表明,HCu 处理下石莼的相对生长速率比对照组降低 18.09%,经过 PAR 和 PAB 照射处理后,石莼 Yield 值随照射时间延长呈现不断下降的趋势,且经 PAB 处理后,其 Yield 值比经 PAR 处理的石莼更低,且低光修复后,HCu 处理组 Yield 最低,尽管 HCu 条件下石莼的光合作用速率比对照组增加了 65.13%。这些结果表明,藻体在海洋环境中可能对 UV 辐射更敏感,且紫外辐射耦合高浓度 Cu 会加剧对藻体的毒性效应。研究为进一步评估未来环境变化对海洋初级生产力的影响提供了实验数据。

**关键词:**石莼;紫外辐射;重金属 Cu;光合生理

中图分类号:P735

文献标志码:A

文章编号:2096-8248(2024)04-0009-09

**引用格式:**丁厚旭,陆周玥,曹君旻,等. Cu 处理耦合紫外辐射对石莼光合生理特性的影响[J]. 江苏海洋大学学报(自然科学版),2024,33(4):9-17.

## Effects of Cu Treatment Coupled with Ultraviolet Radiation on Photosynthetic Physiological Characteristics of *Ulva lactuca*

DING Houxu<sup>1a</sup>, LU Zhouyue<sup>1a</sup>, CAO Junyang<sup>1a</sup>, YONG Kangxin<sup>1a</sup>,  
CEN Yonghua<sup>2</sup>, XU Juntian<sup>1a,b,c</sup>, MA Jing<sup>1a,b</sup>

(1. a. School of Marine Science and Fisheries; b. Jiangsu Key Laboratory of Marine Bioresources and Environment;  
c. Co-innovation Center of Jiangsu Marine Bio-industry Technology, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China;  
2. Jiangsu Maritime Law Enforcement Supervision Center, Nantong 226006, China)

**Abstract:** To investigate the effects of heavy metal pollution and solar ultraviolet (UV) radiation on the photosynthetic physiological characteristics of macroalgae, this experiment analyzed the effect of three Cu concentrations (natural seawater, LCu; 0.25  $\mu\text{mol/L}$ , MCu; 0.50  $\mu\text{mol/L}$ , HCu) and two different UV radiation treatments (photosynthetically active radiation, PAR and UV radiation, PAB) on the photosynthetic physiological characteristics of *Ulva lactuca*. The results showed that the relative growth rate of *U. lactuca* under HCu treatment decreased by 18.09% compared to the LCu. After PAR and PAB irradiation, the Yield of *U. lactuca* decreased continuously with prolonged irradiation time, and after PAB treatment, the Yield was lower than that of thalli treated with PAR. After low light recovery, the HCu treatment group

\* 收稿日期:2024-02-27;修订日期:2024-04-07

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(42106089);江苏高校“青蓝工程”资助项目;江苏省高校优势学科发展计划项目;连云港市 521 科研项目(LYG06521202397,LYG06521202129)

**作者简介:**丁厚旭(1998—),男,江苏徐州人,硕士研究生,研究方向为海洋藻类生物学,(E-mail)2021220108@jou.edu.cn.

**通信作者:**马静(1989—),女,山西临汾人,副教授,博士,研究方向为海洋藻类生物学,(E-mail)jingma@jou.edu.cn.

had the lowest Yield, although the photosynthetic rate of thalli under HCu conditions increased by 65.13% compared to the control group (LCu). These results suggest that algae may be more sensitive to UV radiation in the marine environment, and the coupling of UV radiation with HCu can exacerbate the toxic effects on *U. lactuca*. This study provides a theoretical basis for further evaluating the impact of future environmental changes on marine primary productivity.

**Key words:** *Ulva lactuca*; ultraviolet radiation; heavy metal Cu; photosynthetic physiological

## 0 引言

大型藻类作为海洋生态系统中的初级生产者,是海洋生态系统中物质循环和能量流动过程不可缺少的组成部分,对于沿海生态系统具有极其重要的生态价值。石莼(*Ulva lactuca*)属于绿藻门石莼目石莼科石莼属,其对环境变化十分敏感,是水质环境变化的“检测剂”<sup>[1]</sup>。石莼也是一种环境修复生物,具有净化水质的功能,可以通过化感作用对富营养化引起的藻类暴发起到一定缓解作用<sup>[2]</sup>。

紫外辐射通过破坏生物 DNA 分子结构,或者间接产生活性氧自由基,使细胞产生氧化应激反应,导致蛋白质和其他重要物质的损伤和降解。研究发现,在高强度 UVB 照射下,会抑制藻体的光合作用,但浒苔(*Ulva prolifera*)可以通过非光化学淬灭、酚类化合物积累等途径缓解藻体受到的损伤<sup>[3]</sup>。另外,紫外辐射与其他因素的耦合效应如海洋酸化会使珊瑚藻类的钙含量、生长以及光合作用速率显著下降,同时会增大紫外辐射对藻体的损伤<sup>[4-5]</sup>。

重金属主要是指密度大于  $4.5 \text{ g/cm}^3$  且具有一定生物毒性的金属元素<sup>[6]</sup>。Cu 离子是生物体内必需的微量元素,在海洋重金属污染中占据较大比重,Cu 胁迫程度的加剧,会使藻体代谢酶的活性降低,光合作用受到抑制,最终对藻体造成不可逆的严重损伤<sup>[7-8]</sup>。研究表明,急性 Cu 胁迫时浒苔的抗逆性、信号转导和代谢能力等会增强<sup>[8]</sup>。Andrade 等<sup>[9]</sup>研究发现,低浓度 Cu 促进了石莼幼体及成体的生长与光合作用,而高浓度 Cu 对石莼叶绿体结构产生了严重的损伤,并显著抑制了藻体生长。

目前,大量实验已经证明在海洋酸化条件下 Cu, Zn, Cr 等重金属对大型海藻生长及光合特性产生影响<sup>[10]</sup>。温室气体的产生导致臭氧层出现空洞,紫外辐射不断增强。紫外辐射对于藻体的影响会随着紫外辐射强度、照射时间和藻体种类等因素发生变化。目前,重金属或紫外辐射对大型海藻的单一

因子或与其他因素的耦合作用研究较多,但重金属耦合紫外辐射对藻体影响的相关研究较少<sup>[11]</sup>。本研究以绿藻石莼为实验材料,研究不同 Cu 浓度和紫外辐射处理对藻体光合生理特性的影响,为阐明重金属污染和紫外辐射对海藻初级生产力的影响提供实验数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料采集和培养条件

石莼采集于山东省青岛市海域。样品采集后迅速运回实验室,用灭菌海水清除藻体表面淤泥和其余杂藻后,置于过滤灭菌的海水中。在 GXZ 智能光照培养箱(宁波江南仪器厂,中国)内通气培养,温度  $15 \text{ }^\circ\text{C}$ 、光照强度  $150 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、光周期 12 : 12 h。适应性培养一周后的藻体用于实验。

### 1.2 实验方法

1.2.1 Cu 离子实验 将 0.10 g 左右的藻体置于 500 mL 添加营养盐( $8 \mu\text{mol/L NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $60 \mu\text{mol/L NaNO}_3$ )的灭菌海水的培养瓶中,在光照培养箱进行培养,培养条件同上。基于中国沿海海水中发现的 Cu 浓度( $0.19 \sim 1.98 \mu\text{mol/L}$ )<sup>[9]</sup>以及前期预实验设定本实验中的 Cu 浓度,设置 3 个不同水平的 Cu 浓度,依次为天然海水(对照组, LCu)、 $0.25 \mu\text{mol/L}$  (MCu)和  $0.50 \mu\text{mol/L}$  (HCu),每个处理 3 个重复。通过电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES) (AA240FS, Varian, California, USA)测量,天然海水中 Cu 浓度为  $0.02 \mu\text{mol/L}$ 。每隔 2 d 换一次含营养盐的灭菌海水,以保证海水中营养盐含量稳定,培养周期为 6 d。每 2 d 测定培养瓶中藻体质量,计算藻体相对生长速率( $w(\text{RGR})$ )。

1.2.2 紫外辐射实验 相对生长速率稳定后,藻体进行紫外辐射实验,由具有全波长光谱的 1 000 W 氙弧灯模拟太阳光。通过移动调节氙弧灯高度获得实验所需的光照强度,也可通过加装滤光板截留实验所需波长光。将适量藻体裁剪成边长 0.5 cm 的

藻片转移至石英管,将装有样品的石英管放入暗盒,通过添加不同滤光板控制石莼所受紫外辐射的波段。本实验通过在暗盒上加装 ZJB280 滤光板,使藻体接受 280~800 nm 波长的光照进行紫外辐射(PAB)处理,即 UVB+UVA+PAR;在暗盒上加装 ZJB400 滤光板,使藻体接收 400~800 nm 波长的光照进行可见光(PAR)处理,30 min 后从暗盒中取出样品进行低光修复,所有处理进行 3 次重复。该实验模拟一年之中夏季晴天中午的平均光强,PAR 强度为 95.48 W/m<sup>2</sup>,UVR 强度为 8.35 W/m<sup>2</sup>。

### 1.3 生长测定

每 2 d 测量一次藻体的质量,每次测量时间需保持一致。称量前需先用吸水纸吸干石莼表面海水,再使用电子天平测量藻体的质量。石莼的相对生长速率( $\omega$ (RGR))计算公式为

$$\omega(\text{RGR}) = (\ln m_t - \ln m_0) \div t \times 100. \quad (1)$$

式中: $m_0$  表示藻体培养前的鲜质量(g); $m_t$  表示藻体生长  $t$  天后的鲜质量(g); $t$  表示培养天数(d)。

### 1.4 荧光参数测定

石莼的荧光参数采用手持式叶绿素荧光仪(FluorPen FP 100, Photon System Instruments, 捷克)测定。在紫外辐射实验开始前先测定藻体光合量子产额(Yield)初始值,随后将样品装入石英管,并依次放入暗盒进行紫外辐射处理 30 min。期间,每 10 min 取出样品用手持式叶绿素荧光仪测定其 Yield 值,随后取出样品进行低光修复,且分别在修复开始后的 10,30,60,120 和 240 min 时测定石莼 Yield 值。根据 Philip 等<sup>[12]</sup>提出的拟合公式计算石莼的损伤速率( $k$ )、修复速率( $r$ )和低光修复速率( $r_d$ ),

前 30 min 藻体损伤速率计算公式为

$$\frac{P_t}{P_0} = \frac{r}{k+r} + \frac{k}{k+r} e^{-(k+r) \times t}. \quad (2)$$

后 240 min 低光修复速率计算公式为

$$\frac{P_0}{P_t} = r_d \times (1 - e^{-r_d \times t}). \quad (3)$$

式中: $P_0$  和  $P_t$  分别是初始和经过  $t$  时间段的 Yield; $t$  是藻体处理时间(min)。

### 1.5 光合作用速率和呼吸作用速率测定

使用 Clark 型氧电极(YSI Model 5 300 A, Ohio, 美国)分别测定藻体的光合作用速率和呼吸作用速率。在氧电极中添加 8 mL 培养用海水后再加入 0.02 g 藻段,培养过程中的温度和光照同“1.2”中藻类培养条件一致,分别为 15 °C 和 150  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,温度由循环水浴机维持,光照由卤素灯提供。先用

暗盒罩住反应槽,在黑暗条件下测定藻体的呼吸作用速率,随后拿去暗盒打开卤素灯,在光照条件下测定藻体的光合作用速率。待 3 min 数值稳定后记录数值,每 1 min 记录一次读数,待数值变化稳定后记录变化差值。通过计算得到石莼的光合作用速率和呼吸作用速率,计算公式为<sup>[13]</sup>

$$P = 60 \times a \times d \times V \div m. \quad (4)$$

式中: $a$  表示 15 °C 时反应室中溶解氧的量(mmol/L); $d$  表示每 min 氧电极变化差值; $V$  表示反应槽内的海水体积(mL); $m$  表示藻体的鲜质量(g)。

### 1.6 色素含量测定

取不同条件处理的石莼样品约 0.02 g 置于加入 10 mL 无水甲醇的离心管中,用锡纸包裹后放入 4 °C 冰箱 24 h 使色素能被充分提取。随后用紫外分光光度计(UV-530, Beckman coulnter, 美国)测定 652.0 nm 和 665.2 nm 波长处的吸收值,计算藻体中  $\varphi(\text{Chl a})$ 、 $\varphi(\text{Chl b})$  以及  $\varphi(\text{Chl a})/\varphi(\text{Chl b})$ ,参考 Porra 等的方法色素含量计算公式<sup>[14]</sup>为

$$\varphi(\text{Chl a}) = (16.29 \times A_{665.2} - 8.54 \times A_{652.0}) \times V \div m, \quad (5)$$

$$\varphi(\text{Chl b}) = (30.66 \times A_{652.0} - 13.58 \times A_{665.2}) \times V \div m. \quad (6)$$

式中: $A_{652.0}$  和  $A_{665.2}$  分别表示藻体在 652.0 nm 和 665.2 nm 的吸光度; $V$  表示离心管中无水甲醇的体积(mL), $m$  表示实际称取藻体的质量(g)。

### 1.7 数据统计

本实验的数据均通过 Origin 2022 软件进行处理和作图,并使用单因素方差分析和双因素方差分析进行统计分析。文中数据结果以平均值±标准差的形式表示,图中不同字母表示同一紫外辐射水平下各组之间存在显著差异,短线表示相同 Cu 浓度条件下各组间存在显著差异,长线表示无显著差异。本实验所有处理为 3 次重复,置信区间为 95%。

## 2 结果与分析

### 2.1 Cu 处理对石莼生长影响

实验结果表明,石莼  $\omega$ (RGR) 随着 Cu 浓度的增加呈现逐渐降低的趋势。在 LCu 条件下培养的石莼有最大  $\omega$ (RGR),为  $(17.47 \pm 1.85)\%/d$ ,在 MCu 和 HCu 处理后, $\omega$ (RGR) 分别为  $(15.25 \pm 1.51)\%/d$  和  $(14.31 \pm 0.54)\%/d$ 。通过单因素方差分析得出,HCu 下石莼的  $\omega$ (RGR) 与 LCu 下石莼的  $\omega$ (RGR) 之间有显著差异( $P < 0.05$ ),且与

LCu 和 MCu 处理相比分别降低了 18.09% 和 6.16% (见图 1), 说明高浓度 Cu 抑制了石莼的生长。

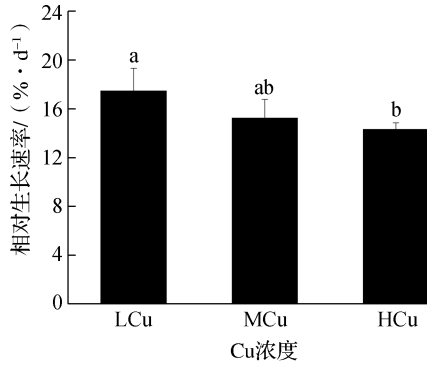
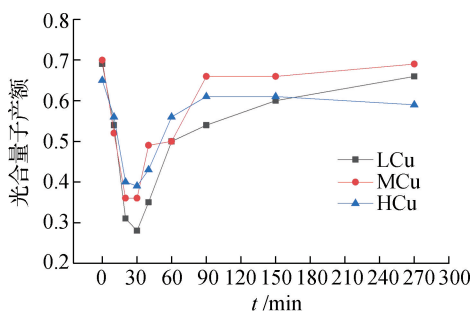


图 1 不同 Cu 浓度水平下石莼的相对生长速率

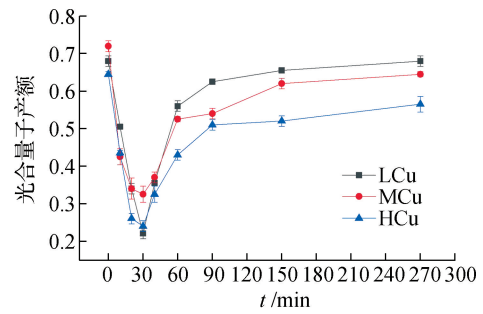
Fig. 1 Relative growth rate of *Ulva lactuca* under different concentrations of Cu

## 2.2 Cu 处理下紫外辐射对石莼 Yield 影响

经过 Cu 处理的石莼在紫外辐射照射下 Yield 的变化如图 2 所示。从石莼在 PAR 和 PAB 处理后的 Yield 值曲线可以看出, 在实验前石莼 Yield 值为 0.7 左右, 经过 PAR 和 PAB 照射处理后, 石莼 Yield 值随照射时间延长呈现不断下降的趋势。在 PAR 条件下, LCu 处理组的石莼在 30 min 处理后的 Yield 值低于 MCu 处理组, 说明适当提高 Cu 浓度会促进藻体光合量子产额。PAR 处理 30 min 后, Yield 在 3 个 Cu 处理后的平均值仅为 0.35 左右, 说明紫外辐射处理对石莼造成了一定的损伤作用。经 PAB 处理后, 其 Yield 值比经 PAR 处理的石莼更低。在 PAB 处理后的石莼经过 30 min 处理后, Yield 在 3 个 Cu 处理后的平均值仅为 0.25 左右; 且经 PAB 处理后, HCu 处理组石莼的 Yield 值在 30 min 时明显降低, 并低于 MCu 处理组, 且 30 min 低光修复后, 高浓度 Cu 处理组的 Yield 最低, 说明紫外辐射耦合高浓度 Cu 会加剧对藻体的损伤作用(见图 2)。



a PAR 处理后光合量子产额



b PAB 处理后光合量子产额

图 2 不同 Cu 浓度下石莼经过 PAR 和 PAB 处理后光合量子产额(Yield)值

Fig. 2 Yield of *Ulva lactuca* under different concentrations of Cu after PAR and PAB treatment

## 2.3 Cu 处理下紫外辐射对石莼修复速率和损伤速率的影响

在 PAR 处理时, 石莼的  $r$  随 Cu 浓度的增加呈现先上升再下降的趋势。在 PAB 处理条件下, 石莼的  $r$  值在 HCu 达到最低( $0.097 \pm 0.002$ )  $\text{min}^{-1}$ 。此外, 在 3 个 Cu 浓度条件下, 与 PAR 处理组相比, PAB 处理下石莼的  $r$  分别增加了 124.29%, 67.71% 和 40.58% (见图 3a), 说明 PAB 处理下, 相对于 PAR 组, 石莼的  $r$  值显著 ( $P < 0.05$ ) 上升, HCu 处理下的石莼的  $r$  值是 3 个浓度中最低的, 说明高浓度 Cu 抑制了石莼的修复速率。经过 Cu 处理下培养的石莼在 PAR 和 PAB 照射 30 min 后的修复速率如图 3 所示。通过双因素方差分析得出, Cu 和紫外辐射之间存在显著的 ( $P > 0.05$ ) 交互作用, 且 Cu 和紫外辐射均对石莼的修复速率( $r$ )存在显著 ( $P < 0.05$ ) 影响(见表 1)。

PAR 处理时, 与对照组 LCu 处理相比, HCu 处理后  $k$  降低了 35.08%。PAB 处理时, 与对照组 LCu 处理相比, MCu 处理后  $k$  显著提高了 28.57% ( $P < 0.05$ ), HCu 处理后  $k$  值降低了 54.55% ( $P < 0.05$ )。此外, 在 LCu 和 MCu 条件下, 与 PAR 处理相比, PAB 处理下石莼的  $k$  值分别提高了 35.09% 和 62.30% (见图 3b), 说明紫外辐射处理提高了藻体的损伤速率。通过双因素方差分析得出, 对于石莼的损伤速率( $k$ ), Cu 和紫外辐射之间存在显著的 ( $P < 0.05$ ) 交互作用, 且 Cu 和紫外辐射均对石莼的损伤速率( $k$ )存在显著 ( $P < 0.05$ ) 影响(见表 1)。

在 PAR 处理时, 不同 Cu 浓度处理后石莼的  $r/k$  之间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。在 PAB 处理时, 石莼的  $r/k$  值随 Cu 浓度的增加呈现下降趋势, 与对照组 LCu 和 MCu 处理相比, HCu 处理后  $r/k$  降低了 43.15% 和 38.12% ( $P < 0.05$ )。此外, 在 LCu 条件

下,与 PAR 处理相比,PAB 处理下石莼的  $r/k$  值提高了 37.76%。在 HCu 条件下,与 PAR 处理相比,PAB 处理下石莼的  $r/k$  值降低了 34.12%(见图 3c),说明高浓度 Cu 和紫外辐射处理加剧了对藻体的损伤作用。通过双因素方差分析得出,对于石莼的修复速率与损伤速率之比( $r/k$ ),Cu 和紫外辐射之间存在显著的( $P < 0.05$ )交互作用(见表 1)。

在 PAR 处理时,不同 Cu 浓度之间  $r_d$  并没有显著差异( $P > 0.05$ )。PAB 处理时,与对照组 LCu 处理相比,MCu 和 HCu 处理下石莼的  $r_d$  值分别增加了 25.00%和 34.62%( $P < 0.05$ )(见图 3d)。通过双因素方差分析得出,对于石莼的低光修复速率( $r_d$ ),Cu 和紫外辐射之间交互作用并不显著( $P > 0.05$ ),Cu 浓度对石莼  $r_d$  存在显著性( $P < 0.05$ )影响(见表 1)。

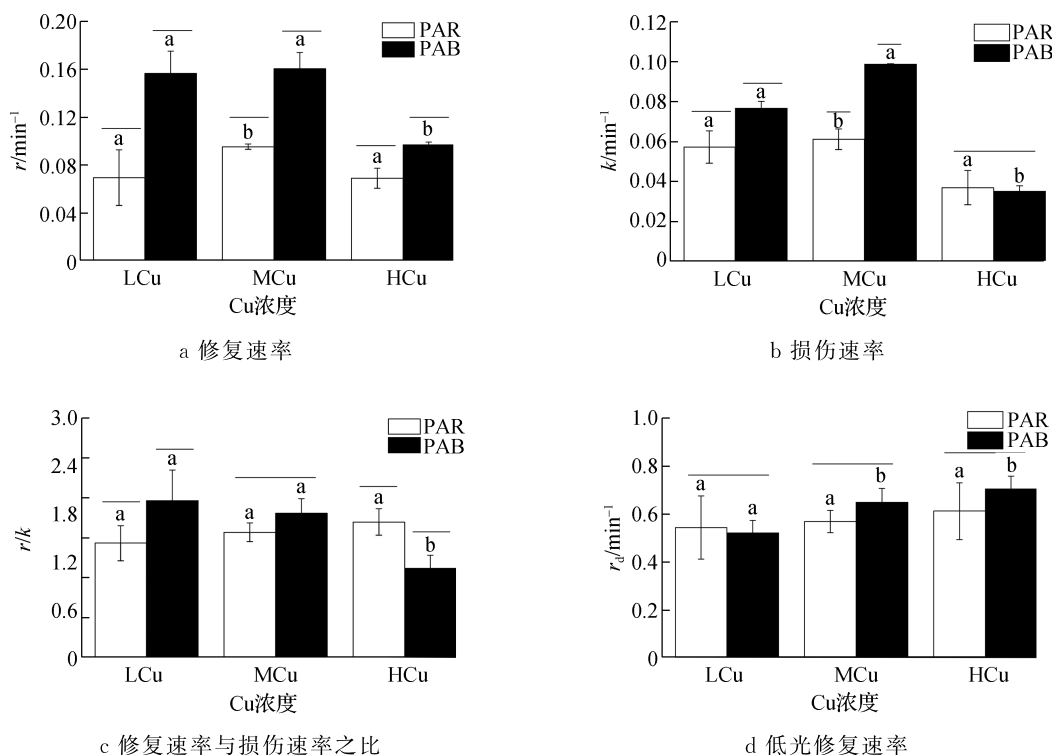


图 3 不同 Cu 浓度下石莼经过 PAR 和 PAB 处理后的修复速率( $r$ )、损伤速率( $k$ )、修复速率与损伤速率之比( $r/k$ )和低光修复速率( $r_d$ )

Fig. 3 Repair rate( $r$ ), damage rate ( $k$ ), the ratio of repair rate to damage rate ( $r/k$ ), and the low light recovery rate ( $r_d$ ) of *Ulva lactuca* under different Cu concentrations after PAR and PAB treatment

表 1 不同 Cu 浓度和紫外辐射处理对石莼修复速率( $r$ )、损伤速率( $k$ )、修复速率与损伤速率之比( $r/k$ )和低光修复速率( $r_d$ )的双因素方差分析

Table 1 Two-way ANOVA analysis of variance for the repair rate ( $r$ ), damage rate ( $k$ ), the ratio of repair rate to damage rate ( $r/k$ ), and the low light repair rate ( $r_d$ ) of *Ulva lactuca* after different Cu concentrations and UV radiation treatment

类别	$r$			$k$			$r/k$			$r_d$		
	df	F 值	P 值	df	F 值	P 值	df	F 值	P 值	df	F 值	P 值
UV	1	83.47	<0.05	1	48.91	<0.05	1	0.39	0.54	1	3.19	0.08
Cu	2	16.22	<0.05	2	98.22	<0.05	2	3.35	0.07	2	6.82	<0.05
UV×Cu	2	6.91	<0.05	2	18.79	<0.05	2	10.21	<0.05	2	1.69	0.20
误差	12			12			12			12		

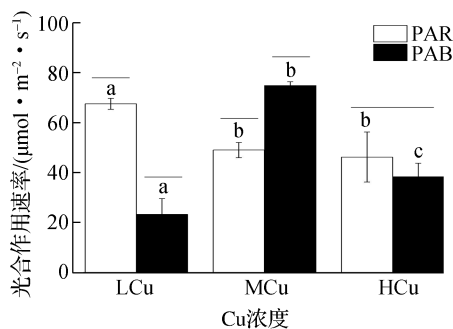
### 2.4 Cu 处理下紫外辐射对石莼光合作用速率和呼吸作用速率的影响

在 PAR 条件下,石莼的光合作用速率随着 Cu

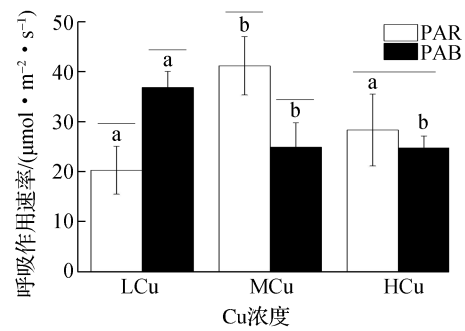
浓度的增加呈现降低的趋势,LCu 处理时光合作用速率为( $67.49 \pm 2.19$ ) $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,在 HCu 时光合作用速率为( $46.17 \pm 10.00$ ) $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,与

LCu 相比降低了 31.59%，说明高浓度 Cu 可以抑制藻体的光合作用速率。在 PAB 条件下，石莼的光合作用速率在 MCu 时为  $(74.82 \pm 1.48) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ，与对照组 LCu 相比增加 222.08%，HCu 条件下石莼的光合作用速率也比对照组增加了 65.13%，说明紫外辐射条件下，中浓度和高浓度 Cu 会提高藻体光合作用速率。此外，在 LCu 条件下，与 PAR 相比，经 PAB 处理后石莼的光合作用速率下降了 68.58%，而在 MCu 条件下，与 PAR 相比，经 PAB 处理后石莼的光合作用速率增加了 34.52%，但 HCu 条件下的石莼在 PAR 和 PAB 处理后其光合作用速率并无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (见图 4a)。通过双因素方差分析得出，Cu 和紫外辐射之间存在显著的 ( $P < 0.05$ ) 交互作用，且 Cu 和紫外辐射对石莼的光合作用速率均存在显著的 ( $P < 0.05$ ) 影响 (见表 2)。

在 PAR 条件下，石莼的呼吸作用速率在 MCu 时为  $(41.20 \pm 5.84) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ，与对照组 LCu 相比增加了 102.76%。在 PAB 条件下，石莼的呼吸作用速率随着 Cu 浓度的增加呈现逐渐降低趋势，LCu 处理时为  $(36.88 \pm 3.19) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ，在 HCu 时为  $(24.77 \pm 2.41) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ，与对照组 LCu 相比降低了 32.84%，但 MCu 和 HCu 之间无显著差异 ( $P > 0.05$ )，说明紫外辐射下，HCu 抑制了藻体的呼吸作用速率。此外，在 LCu 条件下，与 PAR 相比，经 PAB 处理后石莼的呼吸作用速率增加了 81.50%，而在 MCu 条件下，与 PAR 相比，经 PAB 处理后石莼的呼吸作用速率下降了 39.54%，但 HCu 条件下的石莼在 PAR 和 PAB 处理后其呼吸作用速率并无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (见图 4b)。通过双因素方差分析得出，Cu 和紫外辐射之间存在显著的 ( $P < 0.05$ ) 交互作用，但 Cu 和紫外辐射对石莼的呼吸作用速率无显著的 ( $P > 0.05$ ) 影响 (见表 2)。



a 光合作用速率



b 呼吸作用速率

图 4 不同 Cu 浓度下石莼经过 PAR 和 PAB 处理后的光合作用速率及呼吸作用速率

Fig. 4 Photosynthesis and respiration rate of *Ulva lactuca* under different Cu concentrations after PAR and PAB treatment

表 2 不同 Cu 浓度和紫外辐射处理对石莼光合作用速率及呼吸作用速率双因素方差分析

Table 2 Two-way ANOVA analysis of variance for the photosynthesis and respiration rate of *Ulva lactuca* after different Cu concentrations and UV radiation treatment

类别	光合作用速率			呼吸作用速率		
	df	F 值	P 值	df	F 值	P 值
UV	1	11.11	<0.05	1	0.22	0.64
Cu	2	21.60	<0.05	2	2.67	0.11
UV×Cu	2	59.48	<0.05	2	16.61	<0.05
误差	12			12		

## 2.5 Cu 处理下紫外辐射对石莼色素的影响

在 PAR 处理条件下，在 LCu 时石莼  $\varphi(\text{Chl a})$  为  $(1.08 \pm 0.04) \text{mg}/\text{g}$ ，在 HCu 处理时为  $(0.82 \pm 0.10) \text{mg}/\text{g}$ ，在 HCu 处理时石莼的  $\varphi(\text{Chl a})$  分别比 LCu 和 MCu 处理降低 24.07% 和 17.17%，说明高浓度 Cu 抑制了  $\varphi(\text{Chl a})$  的合成。在 PAB 处理条件下，石莼的  $\varphi(\text{Chl a})$  3 组不同 Cu 浓度处理组之间均无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (见图 5a)。通过双因素方差分析得出，Cu 与紫外辐射之间无显著的交互作用 ( $P > 0.05$ )，但 Cu 浓度对  $\varphi(\text{Chl a})$  存在显著的 ( $P < 0.05$ ) 影响 (见表 3)。

在 PAR 条件下，石莼的  $\varphi(\text{Chl b})$  在 HCu 处理时为  $(0.58 \pm 0.02) \text{mg}/\text{g}$ ，比对照组 LCu 处理降低了 26.58%，说明高浓度 Cu 抑制了  $\varphi(\text{Chl b})$  合成。在 PAB 处理条件下，石莼的  $\varphi(\text{Chl b})$  在 3 组不同 Cu 浓度处理组之间均无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (见图 5b)。通过双因素方差分析得出，Cu 与紫外辐射之

间存在显著的交互作用( $P < 0.05$ ),但 Cu 与紫外辐射对  $\varphi(\text{Chl b})$  无显著的( $P > 0.05$ )影响(见表 3)。

在 PAR 条件下,不同浓度 Cu 处理对石莼的  $\varphi(\text{Chl a})/\varphi(\text{Chl b})$  无显著影响( $P > 0.05$ )。而在 PAB 条件下,石莼  $\varphi(\text{Chl a})/\varphi(\text{Chl b})$  在 HCu 时比对照组 LCu 处理降低了 13.13%。同时,在 HCu

条件下,与 PAR 处理组相比,经 PAB 处理后石莼的  $\varphi(\text{Chl a})/\varphi(\text{Chl b})$  降低了 15.60% (见图 5c)。通过双因素方差分析得出,Cu 与紫外辐射之间存在显著的( $P < 0.05$ )交互作用,但 Cu 与紫外辐射对  $\varphi(\text{Chl a})/\varphi(\text{Chl b})$  无显著的( $P > 0.05$ )影响(见表 3)。

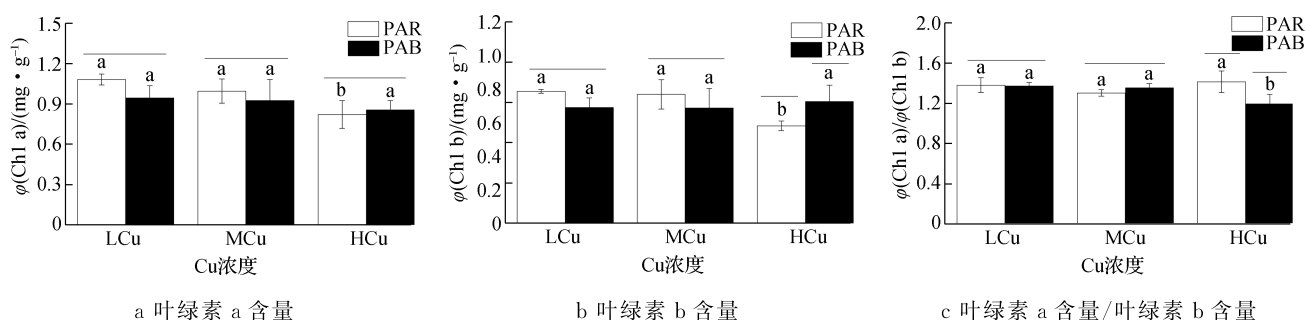


图 5 不同 Cu 浓度下石莼经过 PAR 和 PAB 处理后的叶绿素 a, 叶绿素 b 含量以及叶绿素 a 含量/叶绿素 b 含量

Fig. 5  $\varphi(\text{Chl a})$ ,  $\varphi(\text{Chl b})$  contents and  $\varphi(\text{Chl a})/\varphi(\text{Chl b})$  of *Ulva lactuca* under different Cu concentrations after PAR and PAB treatment

表 3 不同 Cu 浓度和紫外辐射处理对石莼色素含量的双因素方差分析

Table 3 Two-way ANOVA analysis of variance for the pigment contents of *Ulva lactuca* after different Cu concentrations and UV radiation treatment

类别	叶绿素 a 含量			叶绿素 b 含量			叶绿素 a 含量/叶绿素 b 含量		
	df	F 值	P 值	df	F 值	P 值	df	F 值	P 值
UV	1	1.55	0.24	1	0.10	0.75	1	3.16	0.10
Cu	2	5.02	<0.05	2	2.21	0.15	2	1.60	0.24
UV×Cu	2	1.20	0.34	2	4.64	<0.05	2	6.13	<0.05
误差	12			12			12		

### 3 讨论

藻类的生长情况是反映藻体生理生化状态和对环境适应程度的重要依据。本文研究表明,石莼的  $w$  (RGR) 随着 Cu 浓度的增加,呈现逐渐降低的趋势,且 HCu 处理组石莼的  $w$  (RGR) 显著低于对照组 LCu 下的石莼,这表明 Cu 浓度过高会明显抑制石莼的正常生长(见图 1),这与此前相关研究结果类似<sup>[15-16]</sup>。重金属 Cu 是藻类自身生长所必需的微量元素,低浓度的 Cu 在一定程度上促进藻类的生长。大型藻类对重金属离子的毒性有一定的耐受和防御机制,藻类的胞外产物可以同金属离子结合,达到解毒的效果,细胞壁上的多糖会排斥金属离子,改变金属离子的运输通道,从而防止金属离子进入胞内,胞内的多糖也可以跟金属离子结合,使其变成金

属化合物,从而使其丧失毒性,但是一旦超过毒性效应的阈值,就会对藻类的生长产生负面影响<sup>[16]</sup>。卢宏博等<sup>[17]</sup>的研究表明,重金属 Cu 等会影响石莼吸收 N, P 营养盐的速率以及藻体的代谢速率,导致生长速率的降低。因此,石莼在高浓度 Cu 条件下生长受到抑制可能是由于 Cu 与某些酶蛋白结合形成螯合物,使酶的蛋白构象和性质发生改变,减缓了对营养物质的吸收速率;另一方面也有可能是 Cu 与作为酶辅助因子的某些金属离子发生了拮抗作用,代替了其在酶蛋白运输过程的作用,阻碍了这种辅助因子的吸收和利用。同时实验结果表明,在 PAR 处理下,石莼的  $\varphi(\text{Chl a})$  都随 Cu 浓度升高呈现不同程度降低的趋势(见图 5a),这很可能是由于藻体中大量存在的  $\text{Cu}^{2+}$  取代叶绿素分子卟啉环内的金属  $\text{Mg}^{2+}$  离子成为了电子传递链的载体,干扰了藻体中的电子传递链,并失去了收集光能的功能,相对

于正常叶绿素, Cu 取代的叶绿素显示出显著较低或没有有效光化学产量<sup>[18]</sup>, 导致部分电子传递失控释放和溢出, 部分能量以热耗散的形式或者呼吸作用的形式释放更多的能量。另一方面, 过多的电子通过与氧结合形成活性氧, 同时, 重金属 Cu 胁迫后藻体的抗活性氧伤害能力减弱会进一步使叶绿体膜系统破坏, 这也是叶绿素含量降低的主要原因。叶绿素含量下降越多, 则对藻体的光合作用抑制程度也越高<sup>[19]</sup>。

光损伤及其修复之间的平衡是维持光合作用运作的重要机制<sup>[20]</sup>。在本文中, 根据 PAB 处理后石莼 Yield 曲线可以看出, 石莼的 Yield 值比初始值降低约 0.45 左右(见图 2b), 而 PAR 处理后仅降低约 0.35(见图 2a), 这表明紫外辐射对藻体光合作用造成了更大的损伤。而前 30 min 进行光辐射处理时, PAB 处理组石莼的  $k$  值在 LCu 和 MCu 时明显高于 PAR 处理组, 这种影响可归因于 PAB 处理对藻体光合性能造成损伤。紫外线辐射会对藻体的核酸、蛋白质、光合作用和繁殖造成严重影响<sup>[21]</sup>。PSII 是光合作用的主要光化学反应位点, 容易受光质和光强的影响。PAB 可能导致色素蛋白复合体的明显破坏, 使 D1 和 D2 形成多肽的异二聚体<sup>[22]</sup>。同时, PAB 可以增加修复速率并诱导增强紫外辐射耐受性的保护机制, 在本研究中 PAB 处理时藻体的  $r$  值显著升高, 且  $r/k$  值在 LCu 处理时也显著增强, 证明了上述观点。

当 MCu 处理时, PAB 处理后  $r/k$  值无影响, 说明 PAB 处理可以缓解重金属 Cu 对藻体光合性能的损伤, 虽然在 HCu 时, PAB 处理后  $r/k$  值与 PAR 处理相比显著降低, 但是, 低光修复 240 min 后, 经 PAB 处理的藻体的  $r_d$  随着 Cu 水平的增加而显著增强, 而在 PAR 下,  $r_d$  无显著差异, 这些结果可能与 D1 和 D2 蛋白亚基的降解和再合成有关<sup>[18]</sup>。受损的 D1 蛋白可以通过从头蛋白质合成来取代, 将新的 D1 蛋白插入 PSII 中, 而紫外辐射可能对 D1 蛋白修复过程起到重要作用<sup>[16]</sup>。

综上所述, 高浓度的 Cu 会抑制大型海藻石莼的生长, 且会通过减少光合色素的含量而抑制藻体的光合作用; 紫外辐射会对石莼造成损害, 降低石莼的 Yield, 然而, 与 PAR 的处理相比, PAB 处理也会激活石莼抗逆防御机制, 使藻体受到胁迫时修复速率增加, 这表明 PAB 至少在短期内可以缓解 Cu 对藻体的毒性效应。需要进一步研究不同种类大型海藻, 并进行 Cu 和 PAB 长期暴露, 以更清楚地了解

重金属 Cu 与 PAB 之间在影响海洋初级生产力方面的相互作用机制。

#### 参考文献:

- [1] TANG Yingzhong, CHRISTOPHER G. The green macroalga, *Ulva lactuca*, inhibits the growth of seven common harmful algal bloom species via allelopathy [J]. *Harmful Algae*, 2011, 10(5): 480-488.
- [2] 王巧晗, 董双林, 田相利, 等. 光照强度对孔石莼生长和藻体化学组成的影响[J]. *海洋科学*, 2010, 34(8): 76-80.
- [3] ZHONG Yirong, XU Jinhui, ZHAO Xinyu, et al. Balancing damage via non-photochemical quenching, phenolic compounds and photorespiration in *Ulva prolifera* induced by low-dose and short-term UV-B radiation [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(5): 2693-2693.
- [4] 王展, 孙彬凯, 刘雪华, 等. UV-B 辐射增强对孔石莼生长和孢子萌发的影响[J]. *海洋科学*, 2019, 43(3): 27-31.
- [5] 郑仰桥. CO<sub>2</sub> 浓度和阳光紫外辐射变化对珊瑚藻生理生化的影响[D]. 汕头: 汕头大学, 2009.
- [6] REGINA Z, MARGUERITE K, GEORGE B. The role of irradiance and C-use strategies in tropical macroalgae photosynthetic response to ocean acidification [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 1-11.
- [7] ESPINOZA D, GONZALEZ A, PIZARRO J, et al. *Ulva compressa* from copper-polluted sites exhibits intracellular copper accumulation, increased expression of metallothioneins and copper-containing nanoparticles in chloroplasts [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(19): 10531.
- [8] CAI Chuner, LIU Xuanhong, ZHAO Hui, et al. Weakened growth, cell division, and energy metabolism, but enhanced resistance, signaling, and anabolism: responses of *Ulva prolifera* to copper elucidated by omics [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2021, 33(1): 3449-3465.
- [9] ANDRADE S, MEDINA M, MOFFETT J, et al. Cadmium-copper antagonism in seaweeds inhabiting coastal areas affected by copper mine waste disposals [J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40(14): 4382-4387.
- [10] HUOVINEN P, LEAL P, GÓMEZ I. Interacting effects of copper, nitrogen and ultraviolet radiation on the physiology of three south Pacific kelps [J]. *Marine and Freshwater Research*, 2010, 61(3): 330-341.
- [11] SINGH V, SRIVASTAVA P, PRASAD S. Impact of low and high fluence rates of UV-B radiation on growth and oxidative stress in *Phormidium foveo-*

- larum* and *Nostoc muscorum* under copper toxicity: differential display of antioxidants system[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2012, 34(6): 2225-2239.
- [12] PHILIP H, JOHN B. Changes in chlorophyll fluorescence during exposure of *Dunaliella tertiolecta* to UV radiation indicate a dynamic interaction between damage and repair processes[J]. *Photosynthesis Research*, 2000, 63(2): 123-134.
- [13] MA Jing, WANG Wen, LIU Xiaoyan, et al. Zinc toxicity alters the photosynthetic response of red alga *Pyropia yezoensis* to ocean acidification[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2020, 27(3): 3202-3212.
- [14] ROBERT P, WILLIAM T, PAUL K. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy[J]. *BBA-Bioenergetics*, 1989, 975(3): 384-394.
- [15] 李沁蕊,皮赛,李霞,等.孔石莼和条斑紫菜对Cu(II)胁迫的光合生理和抗逆响应研究[J]. *环境生态学*, 2022,4(8):47-52.
- [16] XU Tianpeng, CAO Junyang, QIAN Rui, et al. Ocean acidification exacerbates copper toxicity in both juvenile and adult stages of the green tide alga *Ulva linza* [J]. *Marine Environmental Research*, 2021, 170: 105447.
- [17] 卢宏博,夏宁,冯传阳,等. Cu<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>对孔石莼(*Ulva pertusa*)吸收氮磷营养元素的影响[J]. *水产学杂志*, 2022,35(1):28-33.
- [18] KÜPPER H, ETLÍK I, ETLIKOVÁ E, et al. Heavy metal-induced inhibition of photosynthesis: targets of in vivo heavy metal chlorophyll formation[J]. *Functional Plant Biology*, 2002, 38(3): 429-441.
- [19] 孔祥凯. 重金属 Cu<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>和不同营养盐条件对异枝江蓠生理生化的影响[D]. 汕头:汕头大学,2016.
- [20] 李凌雪,严芳,吴红艳,等. 铜藻在紫外胁迫下的抗氧化应激响应[J]. *海洋科学*, 2022,46(3):81-92.
- [21] WU Hongyan, ABASOVA L, CHEREGI O, et al. D1 protein turnover is involved in protection of Photosystem II against UV-B induced damage in the cyanobacterium *Arthrospira (Spirulina) platensis* [J]. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 2011, 104(1): 320-325.
- [22] BABU T S, JANSEN M A K, GREENBERG B M. et al. Amplified degradation of photosystem II D1 and D2 proteins under a mixture of photosynthetically active radiation and UVB radiation: dependence on redox status of photosystem II [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 2010, 69(5): 553-559.
- [23] 吴诗琦,陆周玥,胡思雨,等. 重金属锌对绿藻缘管浒苔光合生理特性的影响[J]. *江苏海洋大学学报(自然科学版)*, 2024,33(2):17-22.

(责任编辑:李琴 实习编辑:易圣杰)

## 郑重声明

为了适应我国信息化建设发展的需要,有力地促进科研学术信息交流和信息资源开发利用的有效性,严肃科学研究成果发布的科学化和规范化,从根本上杜绝和防范学术不端行为发生,打击学术成果造假和学术剽窃,本刊根据已先后加入《中国核心期刊(遴选)数据库》《中国期刊网》《中国学术期刊(光盘版)》《中国学术期刊综合评价数据库》“万方数据网”和“万方数据——数字化期刊群”,以及《中文科技期刊数据库》《教育阅读网》全文收录期刊序列的实际情况,从2011年6月30日起,正式签约并执行“《中国学术期刊网络出版总库》删除学术不端文献暂行办法”(简称《暂行办法》)。同时在此郑重声明,本刊根据《暂行办法》的规定,要求投稿本刊的所有作者应自觉查阅和遵守相关规定要求,并按照文责自负的原则对所投稿件承担相应学术责任,一经“学术不端文献检测系统”(简称 AMLC)检测发现有严重抄袭、一稿多投,或不当署名、伪造、篡改等学术不端行为者,均在本刊所加入的文献收录数据库和文献资料信息存储单位中自动删除该文献,并在此基础上由作者承担因学术不端行为所造成的其他后果。

特此声明,望所有投稿本刊的作者充分理解和自觉遵守,同时知会其他同行和好友悉知。

《江苏海洋大学学报(自然科学版)》编辑部