

文章编号: 1674-5566(2013)06-0922-06

## 青岛海域漂浮浒苔光合生理特性及藻体状态等级评价研究

曹佳春<sup>1</sup>, 吴青<sup>1</sup>, 张建恒<sup>1</sup>, 吴海龙<sup>1</sup>, 何青<sup>1</sup>, 施定基<sup>2</sup>, 马家海<sup>1</sup>, 何培民<sup>1</sup>

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 中国科学院植物研究所, 北京 100093)

**摘要:** 研究了黄海青岛海区漂浮绿潮藻浒苔 (*Ulva prolifera*) 的光合生理特性并进行状态等级评价, 为今后黄海绿潮暴发趋势预警预测和生长潜力评估奠定基础。首先根据藻体状态对应其最大光量子产量 (Fv/Fm) 的差异, 初步将藻体分为 4 个等级: I 级健康藻体, 藻体呈绿色 (G), Fv/Fm 为 0.70~0.75; II 级亚健康藻体, 藻体呈黄绿色 (GY), Fv/Fm 为 0.60~0.69; III 级半健康藻体, 藻体呈黄色 (Y), Fv/Fm 为 0.41~0.59; IV 级衰老藻体, 藻体呈白色 (W), Fv/Fm 为 0~0.40。对 2011 年青岛近岸海域的漂浮浒苔藻体状态等级进行测定和评价, 发现各采样点藻体处于以下 3 个不同等级: II 级亚健康藻体, 其 Fv/Fm 最高仅 0.68, 总叶绿素含量为 (0.608 ± 0.032) mg/g; III 级半健康藻体, 其 Fv/Fm 最高为 0.57, 总叶绿素含量为 (0.226 ± 0.031) mg/g; IV 级衰老藻体, 其 Fv/Fm 最高仅为 0.29, 总叶绿素含量为 (0.088 ± 0.029) mg/g。其中, QD1、QD2、QD3 主要以 III 级 (51.34%~71.37%) 和 IV 级藻体 (17.84%~28.08%) 为主; 而 QD4、QD5、QD6 主要以 III 级藻体为主 (95.13% 以上)。表明漂入青岛海域绿潮藻浒苔大部分状态较差, 不能健康存活。另发现浒苔藻体叶绿素含量高低与光合活性呈正相关 ( $F=25.106$ ,  $R=0.782$ ,  $P<0.01$ ), 为探索两者耦合关系以及今后完善藻体状态评价体系提供依据。

**研究亮点:** 在绿潮暴发期间对漂浮绿潮藻进行现场观察分类并测定最大光量子产量 (Fv/Fm) 用以藻体状态等级评价, 研究分析了青岛海域漂浮浒苔藻体状态等级并发现浒苔藻体叶绿素含量高低与光合活性呈正相关, 该研究为今后黄海绿潮暴发趋势预警预测和潜力评估奠定基础。

**关键词:** 浒苔; Fv/Fm; 叶绿素; 等级评价; 绿潮; 青岛

**中图分类号:** S 932.7

**文献标志码:** A

20 世纪 80 年代以来, 绿潮已成为国外某些国家近海海域频发的一种生态异常现象<sup>[1-2]</sup>。自 2007 年开始, 我国黄海已连续 6 次大规模暴发了“绿潮”, 特别是 2008 年直接威胁青岛奥帆赛, 规模之大, 速度之快, 令世界震惊<sup>[3]</sup>, 其中 2010 年黄海绿潮最大涉及面积高达 50 000 km<sup>2</sup><sup>[4]</sup>, 最大覆盖面积高达 530 km<sup>2</sup><sup>[5]</sup>, 对我国海洋经济及生态环境造成了重大损失<sup>[6]</sup>。有关黄海绿潮暴发原因至今还不十分清楚<sup>[2,7]</sup>。目前国内外研究已对黄海绿潮浒苔类繁殖生物学、种质鉴定、光合生理、生态因子等方面具有较深入的研究<sup>[8-10]</sup>, 且卫星资料也已明确我国黄海绿潮是由江苏近岸漂向青岛海区的<sup>[4,11-12]</sup>。而面对进入青岛周

边海区的大规模绿潮藻, 我们更迫切需要知道这些绿潮藻生长状态、增殖潜力究竟如何? 是否对青岛周边海区还会产生更大的威胁? 目前还没有建立相关评价方法。

利用藻体最大光量子产量的变化可以在一定程度反映环境因子对藻类生长和光合作用的影响<sup>[13-14]</sup>。且藻体叶绿素荧光测定十分简便快速, 不需损伤藻体。本研究试图通过海区漂浮浒苔藻体 Fv/Fm 光合生理参数快速测定<sup>[15]</sup>, 建立一套简便可行的藻体健康状态评价方法, 可即时监测和判断漂浮藻体健康程度及生长活力, 为今后黄海绿潮暴发趋势预警预测及绿潮藻漂浮过程中增殖潜力评估奠定基础。

收稿日期: 2013-04-25 修回日期: 2013-05-28

基金项目: 国家海洋公益性行业科研专项 (201205010); 上海高校一流学科建设项目 (海洋科学 0707)

作者简介: 曹佳春 (1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为藻类形态及光合生理。E-mail: cjcJessica@163.com

通信作者: 何培民, E-mail: pmhe@shou.edu.cn

## 1 材料与方 法

### 1.1 绿潮藻漂浮浒苔样品采集

2011 年 4 月至 2011 年 6 月,沿江苏、山东等

海区采集漂浮浒苔样品(表 1),根据漂浮浒苔藻体颜色分类,并测定 Fv/Fm 和叶绿素含量,以建立藻体健康评价等级。

表 1 江苏、山东海域漂浮浒苔样品采集信息

Tab.1 Information of the sampling stations for free-floating *Ulva prolifera* collected along Jiangsu and Shandong coast

编号	采样地点	经度	纬度	采样日期
R1	如东县	121°28.734'E	32°30.314'N	2011 年 4 月 25 日
R2	如东县	121°30.450'E	32°30.478'N	2011 年 4 月 26 日
R3	如东县	121°36.980'E	32°29.900'N	2011 年 4 月 27 日
L1	连云港市	119°28.984'E	34°48.182'N	2011 年 5 月 20 日
L2	连云港市	119°35.001'E	34°49.605'N	2011 年 5 月 20 日
L3	连云港市	119°36.597'E	34°51.871'N	2011 年 5 月 21 日
Z1	日照市	119°37.354'E	35°27.871'N	2011 年 6 月 29 日
Z2	日照市	119°44.596'E	35°28.737'N	2011 年 6 月 30 日
Z3	日照市	119°49.569'E	35°28.874'N	2011 年 6 月 30 日

2011 年 7 月 23 - 27 日赴青岛乘坐中国海监 23 船巡视青岛浒苔漂浮海域,共设 6 个漂浮浒苔采样站位(QD1、QD2、QD3、QD4、QD5 和 QD6,图 1),其经纬度详见表 2。每个站位采集漂浮浒苔 3 个平行样。各站位采集的藻体按颜色分组,每组分类样品中挑选 3 棵(平行样)现场测定荧光活性 Fv/Fm 后,密封并低温运回实验室测定叶绿素含量。

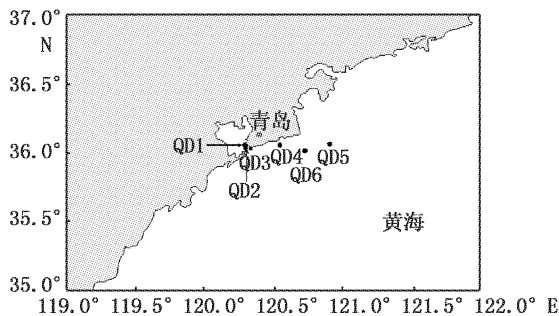


图 1 青岛海域绿潮藻漂浮浒苔样品采集站位  
Fig.1 Sampling stations for free-floating *Ulva prolifera* collecting along Qingdao coast

表 2 青岛海域绿潮藻漂浮浒苔样品采集站位经纬度  
Tab.2 Latitude and longitude of the sampling stations for free-floating *Ulva prolifera* collecting along Qingdao coast

站位	经度	纬度
QD1	120°17'42"E	36°03'24"N
QD2	120°18'09"E	36°02'36"N
QD3	120°18'09"E	36°02'07"N
QD4	120°33'03"E	36°03'18"N
QD5	120°54'42"E	36°03'46"N
QD6	120°43'54"E	36°00'51"N

### 1.2 浒苔藻体荧光活性 Fv/Fm 测定方法

采用 Phyto-PAM 荧光仪测量叶绿素荧光,测定方法参见王阳阳等<sup>[8]</sup>和汤文仲等<sup>[16]</sup>。测定前每组已初步分类的样品都要经充分暗适应 5 min,并使用 0.22 μm 滤膜过滤海水冲洗采集的浒苔样品,以去除表面附着物。测量过程由 Phytowin 软件控制,开启测量光(ML),待光信号稳定后打开饱和脉冲键,记下 Fv/Fm。

### 1.3 浒苔藻体叶绿素含量的测定方法

采用丙酮法测定浒苔藻体叶绿素含量。取分类后的浒苔藻体,用滤纸轻轻吸干藻体表面水分,称取 0.5 g 藻体液氮研磨。实验步骤和测定方法参见 ARNON<sup>[17]</sup>和林阿朋等<sup>[18]</sup>。

叶绿素 a 的浓度( $C_a$ )、叶绿素 b 的浓度( $C_b$ )以及总叶绿素浓度  $C_T$  分别按照以下公式计算<sup>[17]</sup>:

$$C_a = 12.7 A_{663} - 2.69 A_{645} \quad (1)$$

$$C_b = 22.9 A_{645} - 4.68 A_{663} \quad (2)$$

$$C_T = C_a + C_b = 8.02 A_{663} + 20.21 A_{645} \quad (3)$$

式中: $C_a$  为叶绿素 a 的浓度; $C_b$  为叶绿素 b 的浓度; $C_T$  为总叶绿素浓度; $A_{663}$  为 663 nm 波长处的光密度值; $A_{645}$  为 645 nm 波长处的光密度值。

再根据稀释倍数分别计算每克鲜质量藻体中色素的含量,藻体中色素质量比单位为 mg/g。

### 1.4 数据处理

应用 SPSS 软件(SPSS 16.0)对数据进行方差分析及回归分析,以  $P < 0.05$  作为差异显著性水平,所得数据均以平均值  $\pm$  标准差( $\bar{X} \pm$

SD)表示。

## 2 结果

### 2.1 漂浮绿潮藻浒苔等级分类

对江苏、山东沿岸采集漂浮浒苔样品进行颜色分类并测定 Fv/Fm, 可将藻体初步划分为 4 个等级: I 级绿色健康藻体(G), 其 Fv/Fm 范围在 0.70~0.75 之间; II 级黄绿色亚健康藻体, Fv/Fm 范围在 0.60~0.69 之间; III 级黄色半健康藻体(Y), Fv/Fm 范围为 0.41~0.59; 而 IV 级白色衰老藻体(W), 在测定此颜色类别藻体的 Fv/Fm 时发现, 其范围较宽泛, 为 0~0.40(图 2、图 3)。

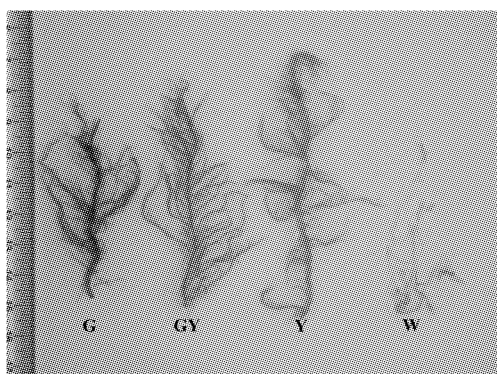


图 2 漂浮绿潮藻浒苔藻体颜色分类

Fig. 2 The distinction of algae color

G: I 级绿色健康藻体; GY: II 级黄绿色亚健康藻体; Y: III 级黄色半健康藻体; W: IV 级白色衰老藻体

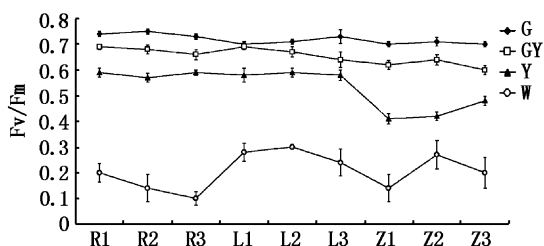


图 3 漂浮浒苔等级分类

Fig. 3 The classification histogram of floating *U. prolifera* thalli

### 2.2 青岛海域藻体健康等级评定

根据 QD1-QD6 6 个采样点藻体颜色分类后测定 Fv/Fm 并称重, 结果显示青岛海域漂浮浒苔可评估为 II 级藻体, III 级藻体和 IV 级藻体, 并以 III 级藻体为主( $P < 0.01$ )。QD3 样点 III 级藻体所占比例最低, 但也达到 51.34%, 而最高为 QD4 样点, 达到 96.07% (图 4)。

QD1-QD6 样品中 II 级藻体 Fv/Fm 都显著高于 III 级藻体及 IV 级藻体( $P < 0.01$ )。与 QD1、QD2 及 QD3 相比, QD4、QD5 及 QD6 采样点中 II 级藻体的 Fv/Fm 均有较显著下降( $0.01 < P < 0.05$ )。

占样品中比例最高的 III 级藻体, 其 Fv/Fm 显著低于 II 级绿色健康藻体( $P < 0.01$ ), 其 Fv/Fm 变化较小。

而 IV 级藻体其 Fv/Fm 变化较大, QD4、QD5 及 QD6 站点样品的 Fv/Fm 显著高于 QD1、QD2 及 QD3 站点样品的 Fv/Fm( $0.01 < P < 0.05$ ) (图 5)。

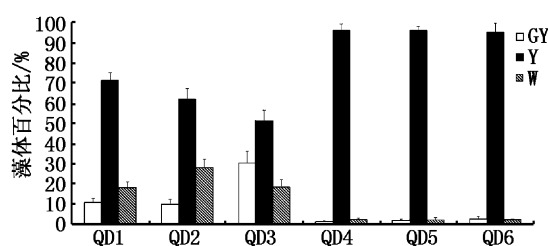


图 4 各采样点不同健康等级藻体所占百分比

Fig. 4 The percentage of different healthy grades of *U. prolifera* thalli

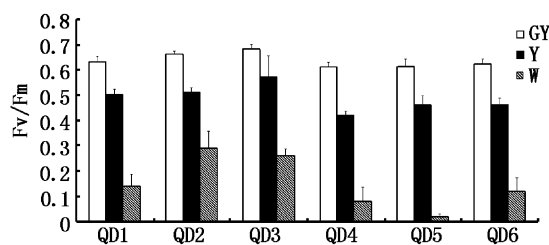


图 5 各样点不同健康状态藻体的 Fv/Fm

Fig. 5 The Fv/Fm value of different healthy types of *U. prolifera* thalli

### 2.3 青岛海域各采样点各健康等级藻体叶绿素含量

根据藻体样品叶绿素含量测定的结果显示, QD1 至 QD6 中, 每组样品中 II 级藻体的叶绿素 a 含量显著高于同组 III 级藻体和 IV 级藻体的叶绿素 a 含量( $P < 0.01$ )。

各组样品中藻体叶绿素 b 含量与各组叶绿素 a 含量有相似趋势, 同组样品中 II 级藻体的叶绿素 b 含量显著高于同组 III 级藻体和 IV 级藻体的叶绿素 b 含量( $P < 0.01$ )。

总叶绿素含量也与叶绿素 a、叶绿素 b 有相

同趋势,即 II 级藻体的总叶绿素含量显著高于同组中 III 级藻体及 IV 级藻体( $P < 0.01$ ,图 6)。

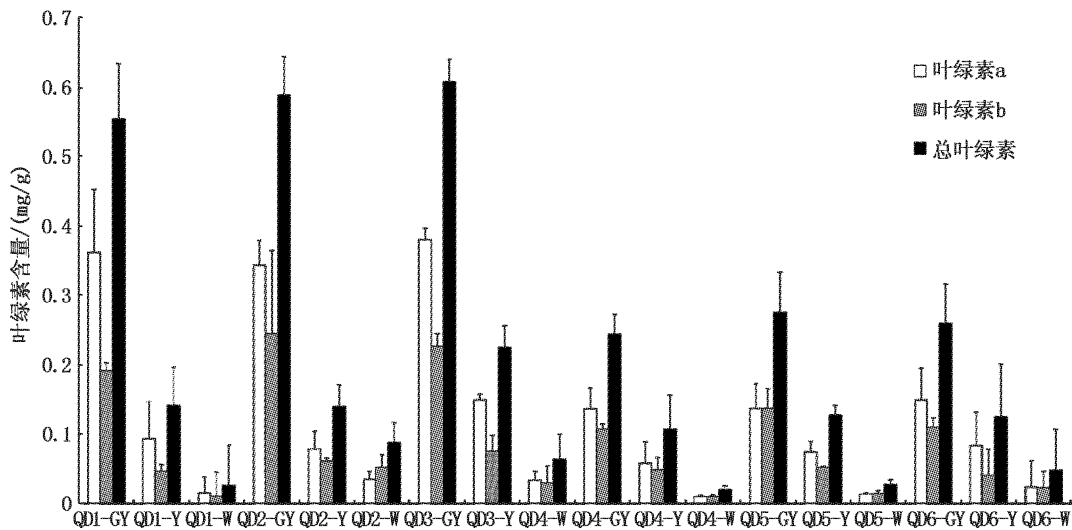


图 6 各样点不同状态藻体的叶绿素含量

Fig. 6 The chlorophyll content of different colour types of *U. prolifera* thalli

#### 2.4 不同健康等级藻体叶绿素含量及 Fv/Fm 间的关系

通过分别比较各个样品中藻体不同健康状态所对应的 Fv/Fm 和叶绿素含量,结果显示 II 级藻体、III 级藻体和 III 级及 IV 级藻体其对应 Fv/Fm 和叶绿素含量会随着藻体健康状态的下降而呈下降趋势,通过样品 Fv/Fm 对应叶绿素 a、叶绿素 b 及总叶绿素含量的回归分析显示,Fv/Fm 和叶绿素含量之间呈现正比关系(图 7)。

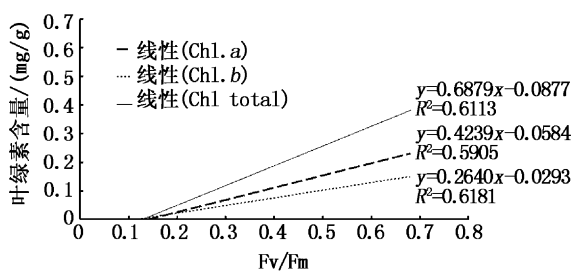


图 7 叶绿素含量及 Fv/Fm 间呈正比关系  
Fig. 7 The chlorophyll content was in direct proportion to the photosynthetic activity

### 3 讨论

叶绿素是植物最重要的光合色素,因此光合作用情况的好坏与植物体中叶绿素的含量息息相关<sup>[17]</sup>。参数 Fv/Fm 表示 PS II 的潜在最大量子

产量,即当所有 PS II 反应均处于开放状态时的量子产量,反映了植物的潜在最大光合能力,是反应植物体生长状态的最重要的和最常用的参数,GAO 等就曾通过 PS I 和 PS II 光系统比较阐明了浒苔对环境胁迫的分子机制<sup>[19]</sup>。Fv/Fm 是一个很稳定的值,非环境胁迫条件下其值极少变化,不受生长条件的影响,即在正常生理状态下,通常认为绿藻的 Fv/Fm 介于 0.70 ~ 0.75 之间<sup>[6,9]</sup>,而 LIN 等正是通过对比漂浮浒苔和定生浒苔叶绿素及光合参数差异,阐述了漂浮浒苔藻体处于不同的孢子囊形成阶段<sup>[20]</sup>。

在本研究中,利用藻体叶绿素结合叶绿素荧光技术研究证明在野外自然环境下漂浮浒苔藻体颜色的变化,说明其处于不同的生理状态。本文中 IV 级藻体的叶绿素含量显著低于 II 级藻体和 III 级藻体,其对应的 Fv/Fm 都远低于正常值,甚至出现 0.02 的低值,基本失去光合作用的能力。另外在前期及本研究中都观察到,III 级或 IV 级藻体更容易产生气泡或气囊,在日后的研究中可进一步证明并利用气泡或气囊的出现作为藻体即将衰亡的标志。

分析比较 QD1、QD2、QD3 三组数据与 QD4、QD5、QD6 三组数据,发现漂浮浒苔不同健康等级藻体所占比例发生显著改变( $P < 0.01$ )。如 QD3 与 QD4 中 III 级藻体比例上升 87.13%,而 II 级藻

体和IV级藻体分别下降了95.30%和86.38%，推测可能的原因是：在采集QD3后连续下雨导致不同健康等级藻体所占比例发生改变，但这仍需进一步在野外自然环境下大量进行论证实验。

藻体一旦被采集后极易受到各种胁迫，如果样品在运回实验室后再测定其荧光参数，其值会有很大变动，而本研究在自然环境下，采集漂浮浒苔样品后在野外直接利用叶绿素荧光技术测定藻类相关光合生理参数，相对于采集样品后运回实验室预培养后再进行光合作用的测定，本研究获得的数据更具指导意义。本研究结果显示，在自然条件下漂浮浒苔藻体处于不同生理状态，并对应叶绿素含量及Fv/Fm，健康等级较高的藻体具有较高的光合活性及叶绿素含量，而叶绿素含量与Fv/Fm呈正比关系的这一结论也与国外学者研究相一致<sup>[21]</sup>，据此可利用大量数据，如叶绿素荧光参数或其他有效参数，建立并完善藻体健康评价体系数据库，为今后黄海绿潮暴发趋势即时提供预警预测和潜力评估。

#### 参考文献：

- [1] FLETCHER R L. The occurrence of 'green tide'-a review [M]//SCHRAMM W, NIENHUIS P H. Marine Benthic Vegetation. Berlin: Springer, 1996:7-43.
- [2] 梁宗英,林祥志,马牧,等. 浒苔漂流聚集绿潮现象的初步分析[J]. 中国海洋大学学报,2008,38(4): 601-604.
- [3] 李大秋,贺双颜,贺明霞,等. 青岛海域浒苔来源与外海分布特征研究[J]. 环境保护,2008,402(8B): 45-46.
- [4] ZHANG J H, HUO Y Z, YU K F, et al. Growth characteristics and reproductive capability of green tide algae in Rudong coast, China[J]. Journal of Applied Phycology, 2013,25(3):795-803.
- [5] 孙立娥. 绿潮遥感探测影响因素分析[D]. 青岛:青岛大学,2012.
- [6] 丁兰平,栾日孝. 浒苔(*Enteromorpha prolifera*)的分类鉴定、生境习性及分布[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(1): 68-71.
- [7] 唐启升,张晓雯,叶乃好,等. 绿潮研究现状与问题[J]. 中国科学基金,2010(1):5-9.
- [8] 王阳阳,霍元子,曹佳春,等. 低温、低光照强度对扁浒苔生长的影响[J]. 中国水产科学,2010,17(3):593-599.
- [9] 刘峰,逢少军. 黄海浒苔绿潮及其溯源研究进展[J]. 海洋科学进展,2012,30(3):441-446.
- [10] 张华伟,马家海,胡翔,等. 绿潮漂浮浒苔繁殖特性的研究[J]. 上海海洋大学学报,2011,20(4):600-606.
- [11] HU C. A novel ocean color index to detect floating algae in the global oceans [J]. Remote Sensing of Environment, 2009, 113: 2118-2129.
- [12] 乔方利,王关锁,吕新刚,等. 2008与2010年黄海浒苔漂移运输特征对比[J]. 科学通报,2011,56(18):1470-1476.
- [13] 张晓雯,毛玉泽,庄志猛,等. 黄海绿潮浒苔的形态学观察及分子鉴定[J]. 中国水产科学,2008,15(5):822-829.
- [14] PAPAGEORGIOU G C. Chlorophyll a fluorescent: A signature of Photosynthesis[M]. Springer, 2004:279-319.
- [15] 陈莲花,刘雷. 叶绿素荧光技术在藻类光合作用中的应用[J]. 江西科学,2007,25(6):788-790.
- [16] 汤文仲,李信书,黄海燕,等. 不同光强和温度对长石莼(缘管浒苔)光合作用和叶绿素荧光参数的影响[J]. 水产学报,2009, 33(5):762-769.
- [17] ARNON D I. Cooper enzymes in isolated chloroplast polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* [J]. Plant Physiology, 1949, 24: 1-15.
- [18] 林阿朋,王超,乔洪金,等. 青岛海域漂浮和沉降浒苔的光合作用研究[J]. 科学通报,2009,54(3):399-404.
- [19] GAO S, SHEN S D, WANG G C, et al. PSI-driven cyclic electron flow allows intertidal macro-algae *Ulva* sp. (Chlorophyta) to survive in desiccated conditions [J]. Plant and Cell Physiology,2011,52(5):885-893.
- [20] LIN A P, SHEN S D, WANG G C, et al. Comparison of chlorophyll and photosynthesis parameters of floating and attached *Ulva prolifera* [J]. Journal of Integrative Plant Biology,2011, 53(1): 25-34.
- [21] HAN T, HAN Y, KAIN J M, et al. Thallus differentiation of photosynthesis, growth, reproduction and UV-B sensitivity in the green alga *Ulva pertusa* (Chlorophyceae) [J]. Journal of Phycology,2003(39):712-721.

## Studies on photosynthetic physiological characteristics and grade evaluation for free-floating algae (*Ulva prolifera*) along Qingdao coast

CAO Jia-chun<sup>1</sup>, WU Qing<sup>1</sup>, ZHANG Jian-heng<sup>1</sup>, WU Hai-long<sup>1</sup>, HE Qing<sup>1</sup>, SHI Ding-ji<sup>2</sup>, MA Jia-hai<sup>1</sup>, HE Pei-min<sup>1</sup>

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Institute of Botany, the Chinese Academy of Science, Beijing 100093, China)

**Abstract:** In this paper, for laying the foundation in future for the forecast and potential evaluation of green tide occurrence in the Yellow Sea, the photosynthetic physiological characteristics parameters and grade evaluation of free-floating algae, *Ulva prolifera* drifting along Qingdao coast were studied. According to the difference of algae physiological states corresponding to the maximum light quantum yield (Fv/Fm), the floating *Ulva prolifera* are divided into four categories: Grade I: green healthy algae (G), the range of Fv/Fm value is from 0.70 to 0.75; Grade II: green-yellow sub-health algae (GY), the range of Fv/Fm value is from 0.60 to 0.69; Grade III: yellow ill-health algae (Y), the range of Fv/Fm value is from 0.41 to 0.59; Grade IV: white decayed algae (W), the range of Fv/Fm value is from 0 to 0.40. The free-floating algae sampled at various sampling points along Qingdao coast in 2011 can be classified into the following three categories after the measurement and evaluation on the algae state: Grade II, the highest Fv/Fm value was 0.68 corresponding to the total chlorophyll content was (0.608 ± 0.032) mg/g; Grade III, the highest Fv/Fm value was 0.57 corresponding to the total chlorophyll content was (0.226 ± 0.031) mg/g; Grade IV, the highest Fv/Fm value was 0.29 corresponding to the total chlorophyll content was (0.088 ± 0.029) mg/g. Furthermore, the healthy levels of floating thalli were mainly composed of Grade III (51.34%-71.37%) and Grade IV (17.84%-28.08%) in QD1-3 sampling points, and were predominated by Grade III (above 95.13%) in QD4-6 sampling points, indicating that most free-floating green tide algae could not survive in Qingdao coast. In addition, the results showed that the chlorophyll content was in direct proportion to the photosynthetic activity of *U. prolifera* ( $F = 25.106, R = 0.782, P < 0.01$ ), which provides a basis to explore the coupling relationship and consummate the evaluation system in the future.

**Key words:** *Ulva prolifera*; Fv/Fm; chlorophyll; grade evaluation; green tide; Qingdao