

Cu²⁺ 对两种海洋微藻生长和叶绿素荧光特性的影响*

Effects of Cu²⁺ on the Growth and Chlorophyll Fluorescence of Two Species of Marine Microalgae

姜 恒^{1,2}, 吴 斌^{1**}, 阎 冰¹, 吴志强², 邢永泽¹

JIANG Heng^{1,2}, WU Bin¹, YAN Bing¹, WU Zhi-qiang², XING Yong-ze¹

(1. 广西红树林保护重点实验室, 广西红树林研究中心, 广西北海 536000; 2. 桂林理工大学, 广西桂林 541004)

(1. Guangxi Key Lab for Mangrove Conservation, Guangxi Mangrove Research Center, Beihai, Guangxi, 536000, China; 2. Guilin University of Science and Technology, Guilin, Guangxi, 541004, China)

摘要: 运用水样叶绿素荧光仪(WATER-PAM)研究 Cu²⁺ 胁迫下, 湛江叉鞭金藻 (*Dicrateria zhanjiangensis*) 和球等鞭金藻 3011 (*Isochrysis galbana* MACC/H59) 叶绿素荧光特性的变化, 同时监测微藻的生长情况。结果就叶绿素荧光参数而言, 湛江叉鞭金藻和球等鞭金藻 3011 的叶绿素荧光参数 F_v/F_m , F_v/F_0 , $Yield$ 和 ETR 均随着 Cu²⁺ 浓度的增大而明显降低; 就生长情况而言, 随着 Cu²⁺ 浓度的增大, 两种海洋微藻细胞密度的增长明显变缓。在 24 h 时 Cu²⁺ 对湛江叉鞭金藻的毒性大于球等鞭金藻 3011, 48~96 h 时 Cu²⁺ 对球等鞭金藻 3011 的毒性大于湛江叉鞭金藻, Cu²⁺ 的毒性随着胁迫时间的延长而逐步增大。

关键词: 湛江叉鞭藻 球等鞭金藻 3011 叶绿素荧光 细胞密度 Cu²⁺

中图分类号: X835 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2013)01-0060-06

Abstract: The changes of the fluorescence parameters of *Dicrateria zhanjiangensis* and *Isochrysis galbana* MACC/H59 exposed to Cu²⁺ were investigated by means of the chlorophyll fluorescence technology (Water-PAM), and the growth of these two species of marine microalgae was observed. The results showed that all fluorescence parameters (F_v/F_m , F_v/F_0 , $Yield$ and ETR) of *Dicrateria zhanjiangensis* and *Isochrysis galbana* MACC/H59 decreased under Cu²⁺ stress. The growth of cell density for *Dicrateria zhanjiangensis* and *Isochrysis galbana* MACC/H59 decreased under Cu²⁺ stress, and it can be expressed as *Dicrateria zhanjiangensis* > *Isochrysis galbana* MACC/H59 in the 24h while it can be expressed as *Isochrysis galbana* MACC/H59 > *Dicrateria zhanjiangensis* during 48h to 96h. The toxicity of *Dicrateria zhanjiangensis* and *Isochrysis galbana* MACC/H59 increased with the increase of exposure time.

Key words: *Dicrateria zhanjiangensis*, *Isochrysis galbana*, chlorophyll fluorescence, cell density, Cu²⁺

随着滨海工业的飞速发展, 越来越多的重金属污染给海洋生态系统的生态安全带来了巨大的压力。微藻作为海洋生态系统的主要初级生产者, 通过叶绿

素进行光合作用将太阳能转化为化学能, 再通过食物链传递给动物和人类, 是海洋生态系统中不可缺少的组成部分。微藻对重金属污染尤其敏感, 而其光合作用体系首当其冲地受到重金属的毒害, 这种毒害可以通过测定微藻叶绿素荧光的变化来反映出来, 在这方面的研究已有诸多报道^[1]。叶绿素荧光技术是一种以光合作用理论为基础、利用生物体内叶绿素, 研究和探测生物光合生理状况及各种外界因子对其细微影响的新型生物活体测定和诊断技术, 当测试生物受到胁迫时, 通过对各种荧光参数的分析可以知道光合利用相关信息。其具有测定快速、灵敏、对细胞无损

收稿日期: 2012-10-23

修回日期: 2012-11-23

作者简介: 姜 恒(1988-), 男, 硕士研究生, 主要从事环境工程研究。

* 广西自然科学基金北部湾重大专项(2011GXNSFE018001), 国家海洋公益性行业科研专项(201005012), 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科合 1010019-23), 广西科学院科研业务费(11YJ24HS03)资助。

** 通讯作者: 吴 斌(1965-), 男, 研究员, 博士, 主要从事海洋生物、环境、生态研究。

伤的优点,是研究生物光合作用的理想方法^[1]。利用该方法研究重金属对海洋微藻光合作用系统的危害,可以早期发现重金属污染对海洋生态系统的影响,这对开展海洋重金属污染的生物监测和污染的早期预警具有重大意义。湛江叉鞭金藻(*Dicrateria zhanjiangensis*)具有体积小,营养丰富的特点,球等鞭金藻 3011(*Isochrysis galbana* MACC/H59)体积小、繁殖迅速、营养丰富,它们都是重要的海产动物饵料^[2, 3]。迄今为止,采用叶绿素荧光技术研究重金属 Cu²⁺ 对湛江叉鞭金藻和球等鞭金藻 3011 荧光特性的影响还未见报道。本文对湛江叉鞭金藻和球等鞭金藻 3011 的叶绿素荧光参数、细胞密度与 Cu²⁺ 浓度的相关性以及叶绿素荧光参数与细胞密度的相关性进行了分析,以期对微藻的重金属胁迫研究及水污染生物监测提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

湛江叉鞭金藻(*Dicrateria zhanjiangensis*)的藻种来自广西海洋研究所藻种培育室,球等鞭金藻 3011(*Isochrysis galbana* MACC/H59)的藻种来自中国海洋大学微藻种质库。配制 Cu²⁺ 溶液的分析纯 CuSO₄ · 5H₂O 购自阿拉丁化学品有限公司。

1.2 方法

1.2.1 Cu²⁺ 溶液制备

用 CuSO₄ · 5H₂O 配制浓度为 0.1 mol/L 的储备液。

1.2.2 微藻培养和重金属 Cu²⁺ 胁迫实验

微藻的预培养在 1000 ml 的三角瓶中进行,采用 f/2 培养基^[4],盐度为 28,培养温度为(25 ± 1) °C, pH 值为 8.2,光照强度 4 000 Lux,光照时间:白:黑 = 12:12;连续培养。

根据预实验结果确定 Cu²⁺ 实验浓度分别为 0、10 μmol/L、20 μmol/L、30 μmol/L、40 μmol/L、50 μmol/L。实验在 500 ml 的三角瓶中进行,以不加 Cu²⁺ 的空白组为对照,每个浓度设 3 个平行。将湛江叉鞭金藻、球等鞭金藻 3011 在指数生长期时,以相同的接种密度(5 × 10⁴ · ml⁻¹)分别接入上述 Cu²⁺ 浓度的培养液中进行重金属胁迫处理。每天随机调换并摇动三角烧瓶 4 次。胁迫 24h, 48h, 72h, 96 h 后取样进行叶绿素荧光各项参数和细胞密度(血球板计数法)测定。

1.2.3 叶绿素荧光参数测定

使用德国 Walz 公司制造的水样叶绿素荧光仪(Water-PAM)进行叶绿素荧光各个参数的测定。测

量前将微藻样品暗适应 15 min。叶绿素荧光参数 F_v/F_m (PS II 最大光能转化效率), $Yield$ (PS II 实际光能转化率), ETR (电子传递效率)可在荧光仪上直接读出, F_v/F_0 (PS II 的潜在活性)则用公式 $(F_m - F_0)/F_0$ 计算出,其中 F_0 (基础荧光)用弱测量光(0.5 lx)测量可得,用饱和脉冲(200000 lx,持续时间为 0.8 s)激发可得 F_m (最大荧光)^[5]。

1.3 EC₅₀ 测定

EC₅₀ 是指半抑制浓度,利用机率单位法^[6, 7] 计算得出。

1.4 统计分析

利用 SPSS 19.0 软件,通过双因子方差分析和 Probit 回归方法对实验结果进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 Cu²⁺ 对 2 种海洋微藻叶绿素荧光各参数和细胞密度的影响

2.1.1 Cu²⁺ 对湛江叉鞭金藻叶绿素荧光各参数的影响

Cu²⁺ 浓度及胁迫时间对湛江叉鞭金藻叶绿素荧光参数的双因子方差分析结果表明,Cu²⁺ 浓度、胁迫时间以及二者的交互作用对湛江叉鞭金藻的荧光参数 F_v/F_m , F_v/F_0 , $Yield$, ETR 都有极显著影响($P < 0.01$),其中 Cu²⁺ 浓度的影响最显著(表 1,图 1)。上述 4 项荧光参数与 Cu²⁺ 浓度呈显著的负相关(表 2),在 24 h、48 h 时上述 4 项荧光参数均随着 Cu²⁺ 浓度的增加而降低,但是在 72 h、96 h, Cu²⁺ 浓度大于等于 20 μmol/L 时,上述 4 项荧光参数没有明显的差异,并且明显小于其他浓度。说明在胁迫初期,Cu²⁺ 对湛江叉鞭金藻的抑制作用,随着 Cu²⁺ 浓度的增大而增强。随着胁迫时间的增长,当 Cu²⁺ 浓度大于等于 20 μmol/L 时,湛江叉鞭金藻 4 项荧光参数受到的抑制作用增大,但是其中各浓度所受抑制作用差异很小。

2.1.2 Cu²⁺ 对湛江叉鞭金藻细胞密度的影响

重金属 Cu²⁺ 浓度及胁迫时间对湛江叉鞭金藻细胞密度的双因子方差分析结果表明,在 Cu²⁺ 胁迫下,重金属离子浓度、胁迫时间及二者的交互作用,对湛江叉鞭金藻的细胞密度均有极显著影响($P < 0.01$),其中 Cu²⁺ 浓度的影响最显著(表 1,图 1)。在所有的 4 个不同时间段(24~96 h)下,湛江叉鞭金藻的细胞密度与 Cu²⁺ 浓度均呈显著的负相关(表 2),随着 Cu²⁺ 浓度的增大,细胞密度逐渐下降。胁迫时间对湛江叉鞭金藻的细胞密度也有显著影响($P < 0.01$),随着胁迫时间的延长,其细胞密度逐渐上升,

表 1 重金属 Cu²⁺ 浓度和胁迫时间对湛江叉鞭金藻和球等鞭金藻 3011 荧光参数和细胞密度的双因子方差分析结果

Table 1 Summary of MANOVA on the fluorescence parameters and cell density of *Dicrateria zhanjiangensis* and *Isochrysis galbana* MACC/H59 exposed to Cu²⁺ concentrations for different times

种类 Species	因子 Factor	F/P	F_v/F_m	F_v/F_0	Yield	ETR	细胞密度 Cell density
湛江叉鞭金藻 <i>Dicrateria zhanjiangensis</i>	浓度 Concentration	F	138.623	267.391	86.726	64.300	102.460
	时间 Time		36.202	44.906	42.186	51.076	73.824
	浓度×时间 Concentration×time		5.618	7.811	6.784	7.767	32.005
	浓度 Concentration	P-level	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	时间 Time		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	浓度×时间 Concentration×time		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
球等鞭金藻 3011 <i>Isochrysis galbana</i> MACC/H59	浓度 Concentration	F	454.470	484.359	302.978	180.185	218.207
	时间 Time		134.771	142.961	81.357	54.974	85.057
	浓度×时间 Concentration×time		20.704	29.579	14.873	8.451	45.409
	浓度 Concentration	P-level	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	时间 Time		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	浓度×时间 Concentration×time		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 湛江叉鞭金藻和球等鞭金藻 3011 叶绿素荧光参数和细胞密度与 Cu²⁺ 浓度的相关系数

Table 2 The correlation coefficients of chlorophyll fluorescence parameters and cell density of *Dicrateria zhanjiangensis* and *Isochrysis galbana* MACC/H59 with Cu²⁺ concentrations

种类 Species	胁迫时间 Stress time(h)	F_v/F_m	F_v/F_0	Yield	ETR	细胞密度 Cell density
湛江叉鞭金藻 <i>Dicrateria zhanjiangensis</i>	24	-0.941**	-0.946**	-0.904**	-0.848**	-0.659**
	48	-0.963**	-0.954**	-0.934**	-0.901**	-0.780**
	72	-0.864**	-0.863**	-0.737**	-0.701**	-0.840**
	96	-0.718**	-0.749**	-0.631**	-0.634**	-0.821**
球等鞭金藻 3011 <i>Isochrysis galbana</i> MACC/H59	24	-0.957**	-0.956**	-0.933**	-0.887**	-0.852**
	48	-0.928**	-0.908**	-0.931**	-0.915**	-0.831**
	72	-0.934**	-0.908**	-0.912**	-0.924**	-0.824**
	96	-0.930**	-0.907**	-0.906**	-0.929**	-0.804**

**表示相关性极显著(0.8 < |r| < 1), *表示相关性显著(0.5 < |r| ≤ 0.8)。 ** Indicate the relativity was very significant (0.8 < |r| < 1), * Indicate the relativity was significant (0.5 < |r| ≤ 0.8).

但是当浓度大于等于 20 μmol/L 时,其细胞密度基本不增长。此外,细胞密度与湛江叉鞭金藻荧光参数 (F_v/F_m , F_v/F_0 , Yield, ETR) 成显著的正相关(24 h 时 Yield 除外,表 3)。细胞密度越大上述 4 项荧光参数越大。

2.1.3 Cu²⁺ 对球等鞭金藻 3011 叶绿素荧光各参数的影响

Cu²⁺ 浓度及胁迫时间对球等鞭金藻 3011 叶绿

素荧光参数的双因子方差分析结果表明,Cu²⁺ 浓度、胁迫时间以及二者的交互作用对球等鞭金藻 3011 的 F_v/F_m , F_v/F_0 , Yield, ETR 都有极显著影响 ($P \leq 0.01$), 其中 Cu²⁺ 浓度的影响最显著(表 1,图 2)。上述 4 项荧光参数与 Cu²⁺ 浓度呈显著的负相关(表 2), 即上述 4 项荧光参数均随着 Cu²⁺ 浓度的增加而降低。在 48 h 时, F_v/F_m , F_v/F_0 , Yield, ETR 达到最大,其中浓度为 0,10 μmol/L 的实验组上述 4 项荧光

参数明显上升。72 h 时,除浓度为 0、10 $\mu\text{mol/L}$ 的实验组外,其余实验组上述 4 项荧光参数又降到 24 h 时的水平,并在 96 h 时,各浓度胁迫组上述 4 项荧光参数无显著差异。而浓度为 0、10 $\mu\text{mol/L}$ 的实验组,72 h、96 h 时上述 4 项荧光参数与在 24~48 h 时无显著差异。说明 Cu^{2+} 对球等鞭金藻 3011 有抑制作用,并且随着浓度的升高而增大。

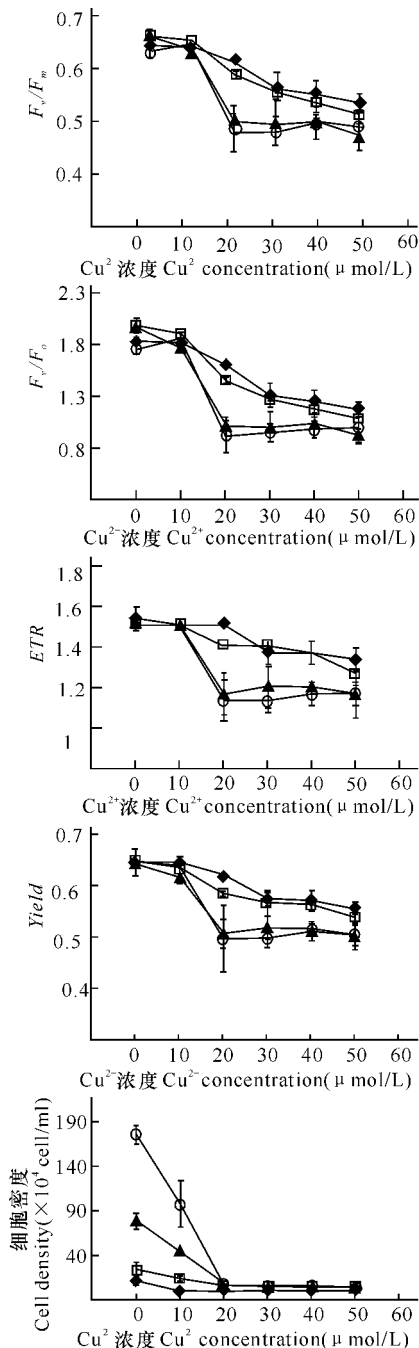


图1 Cu^{2+} 胁迫对湛江叉鞭金藻叶绿素荧光参数和细胞密度的影响

Fig.1 Effects of Cu^{2+} stress on the fluorescence parameters and cell density of *Dicteria zhanjiangensis*

◆:24h, □:48h, ▲:72h, ○:96h.

2.1.4 Cu^{2+} 对球等鞭金藻 3011 细胞密度的影响

重金属 Cu^{2+} 浓度及胁迫时间对球等鞭金藻 3011 细胞密度的双因子方差分析结果表明,在 Cu^{2+} 胁迫下,重金属离子浓度、胁迫时间及二者的交互作用,对球等鞭金藻 3011 的细胞密度均有极显著影响 ($P < 0.01$),其中 Cu^{2+} 浓度的影响最显著(表1,图2)。在所有的4个不同时间段(24~96 h)下,湛江叉鞭金藻的细胞密度与 Cu^{2+} 浓度均呈显著的负相关(表2),随着浓度的增大,细胞密度逐渐下降。胁迫时间对湛江叉鞭金藻的细胞密度也有显著影响 ($P < 0.01$),随着胁迫时间的延长,其细胞密度逐渐上升,在浓度大于等于 20 $\mu\text{mol/L}$ 时,其细胞密度不增长。细胞密度与球等鞭金藻 3011 荧光参数 (F_v/F_m , F_v/F_0 , Yield, ETR) 成显著的正相关(表3),说明密度越大上述荧光参数值越大。

表3 湛江叉鞭金藻和球等鞭金藻 3011 叶绿素荧光参数与细胞密度的相关系数

Table 3 The correlation coefficients of chlorophyll fluorescence parameters with cell density of *Dicteria zhanjiangensis* and *Isochrysis galbana* MACC/H59

种类 Species	胁迫时间 Stress time (h)	F_v/F_m	F_v/F_0	Yield	ETR
湛江叉鞭金藻 <i>Dicteria zhanjiangensis</i>	24	0.581*	0.594**	0.443	0.494*
	48	0.815**	0.848**	0.842**	0.689**
	72	0.927**	0.950**	0.900**	0.841**
	96	0.840**	0.856**	0.835**	0.847**
球等鞭金藻 3011 <i>Isochrysis galbana</i> MACC/H59	24	0.847**	0.849**	0.770**	0.776**
	48	0.814**	0.820**	0.812**	0.795**
	72	0.885**	0.891**	0.905**	0.897**
	96	0.872**	0.902**	0.914**	0.891**

**表示相关性极显著 ($0.8 < |r| < 1$), *表示相关性显著 ($0.5 < |r| \leq 0.8$)。

** Indicated the relativity was very significant ($0.8 < |r| < 1$), * Indicated the relativity was significant ($0.5 < |r| \leq 0.8$).

2.2 EC_{50}

表4为 Cu^{2+} 胁迫对湛江叉鞭金藻和球等鞭金藻 3011 的 EC_{50} 变化情况。由表4可以得知, Cu^{2+} 对湛江叉鞭金藻和球等鞭金藻 3011 的 EC_{50} 值是不一样的, Cu^{2+} 对两种藻的毒害程度是不一致的,在 24 h 时 Cu^{2+} 对湛江叉鞭金藻的毒性大于球等鞭金藻 3011; 48~96 h 时 Cu^{2+} 对球等鞭金藻 3011 的毒性大于湛江叉鞭金藻。24 h 时的 EC_{50} 明显大于 24h、48h 和 96 h, 并表现为随着时间的延长 EC_{50} 的值基本表现为逐渐变小,说明 Cu^{2+} 的毒性随着胁迫时间的延长

而逐步增大。

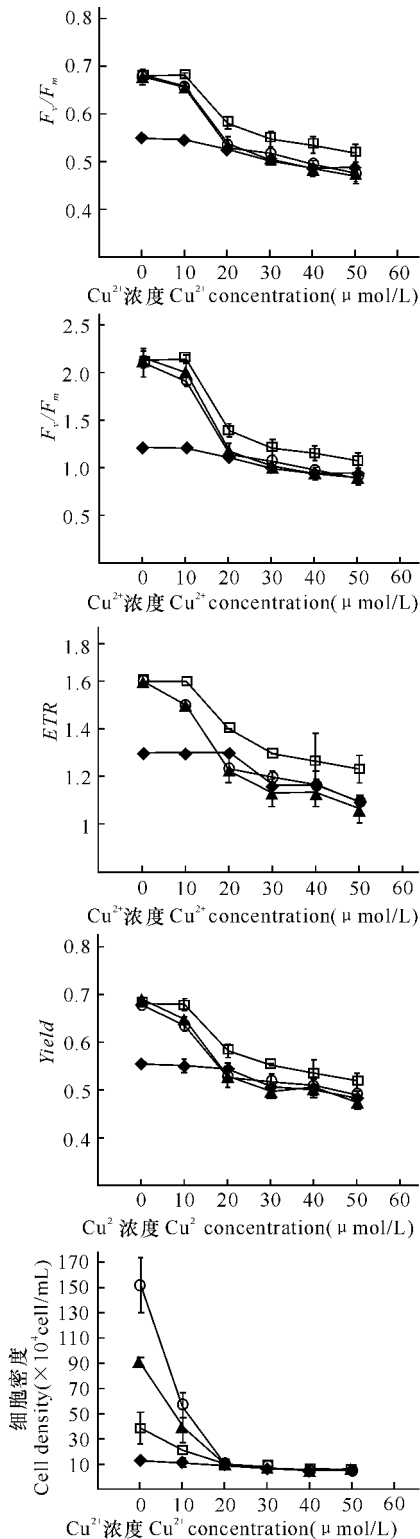


图 2 Cu^{2+} 胁迫对球等鞭金藻 3011 叶绿素荧光参数和细胞密度的影响

Fig. 2 Effects of Cu^{2+} stress on the fluorescence parameters and cell density of *Isochrysis galbana* MACC/H59

◆: 24h, □: 48h, ▲: 72h, ○: 96h.

3 讨论

实验结果表明, Cu^{2+} 胁迫后湛江叉鞭金藻和球

表 4 不同浓度 Cu^{2+} 处理 24h, 48h, 72h, 96h 后湛江叉鞭金藻和球等鞭金藻 3011 各叶绿素荧光参数的 EC_{50}

Table 4 EC_{50} for the chlorophyll fluorescence parameters of *Dicrateria zhanjiangensis* and *Isochrysis galbana* MACC/H59 after 24, 48, 72, 96 h of Cu^{2+} treatments

种类 Species	胁迫时间 Stress time (h)	EC_{50} ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	
		F_v/F_0	细胞密度 Cell density
湛江叉鞭金藻 <i>Dicrateria zhanjiangensis</i>	24	Nr	27.494
	48	Nr	11.493
	72	36.689	9.759
	96	2.793	9.846
球等鞭金藻 3011 <i>Isochrysis galbana</i> MACC/H59	24	Nr	34.780
	48	Nr	10.881
	72	32.503	7.605
	96	33.924	6.648

Nr 表示数据未能得出。Nr indicated data were not received.

等鞭金藻 3011 的 F_v/F_m , F_v/F_0 , Yield 和 ETR 值都明显降低, 在 Cu^{2+} 浓度大于等于 20 $\mu\text{mol/L}$ 时, 两种微藻细胞密度基本上不增长。 F_v/F_m 和 F_v/F_0 分别表示 PSII 的原初光能转化效率和 PSII 的潜在活性, F_v/F_m 和 F_v/F_0 的下降表明胁迫使 PSII 反应中心受损, 抑制光合作用的原初反应, 阻碍光合电子传递的过程; Yield 表示作用光存在时 PSII 的实际光能转化效率, Yield 的降低, 说明胁迫阻止藻细胞同化力 (NADPH, ATP) 的形成, 从而影响对碳的固定与同化; ETR 表示光合电子传递速率, ETR 的下降, 说明胁迫使 $Q_A \rightarrow Q_B$ 的电子传递受到抑制, Cu^{2+} 使两种藻的光和电子传递速效下降^[8-11]。这种对光合作用产生的影响, 最终表现为对微藻生长的影响, 使得 2 种微藻细胞的生长速度明显变缓或停止生长。

藻类细胞壁带有羟基、负电荷、氨基等官能团, 这些官能团与 Cu^{2+} 的亲合力较强^[12], 所以高浓度 Cu^{2+} 能够使微藻细胞表面官能团与 Cu^{2+} 进行结合, 使藻类细胞中藻胆体的荧光强度和光吸收明显下降^[13]。从而使微藻细胞丧失活性, 影响微藻的正常生理代谢以及生化反应, 最终影响微藻的叶绿素荧光和细胞密度。 Cu^{2+} 会改变细胞膜的通透性, 导致细胞失 K^+ , 改变细胞的体积, 抑制细胞分裂的速度, 干扰的叶绿体光合作用和 ATP 合成^[14,15]。同时微藻的呼吸作用受重金属的影响十分显著^[16], 从而使受胁迫的海洋微藻提前进入生长静止期、衰退期, 使种群生长周期缩短。总之, 微藻细胞与大量的 Cu^{2+} 结合后, 致使细胞膜脂流动性和蛋白空间结构发生改变, 并对细胞膜蛋白复合物解离和类囊体膜造成影响, 从而影响微

藻能量传递、光合作用和抑制核酸、蛋白质的合成,同时还会造成叶绿体结构不同程度的破坏^[17],最终通过微藻藻体的叶绿素荧光参数和细胞密度的下降体现出来。

目前关于 Cu^{2+} 胁迫对湛江叉鞭金藻和球等鞭金藻 3011 生长和叶绿素荧光特性的影响研究报道少。简建波等^[18] 研究不同浓度 Cu^{2+} 长期暴露对三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornerutum*) 的影响,实验表明: $Yield$ 、 F_v/F_m 均随 Cu^{2+} 的升高而显著下降。陈雷等^[19] 研究不同浓度 Cu^{2+} 对培养斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 的影响发现,在高浓度 Cu^{2+} 下, F_v/F_m 、 F_v/F_0 、 $Yield$ 、 ETR 随着胁迫时间延长,数值下降幅度显著。低浓度 Cu^{2+} 下,上述参数变化不显著。梁英等^[20] 研究不同浓度 Cu^{2+} 对纤角毛藻 (*Chaetoceros gracilis* MACC/B13) 的影响发现, F_v/F_m 、 F_v/F_0 、 $Yield$ 、 ETR 随着胁迫时间延长、浓度的增大,数值逐渐下降。这些都与本实验的结果大体一致,但是同时也存在一些细微差异。究其原因可能与微藻的不同种类、生长温度、培养光照、所加营养盐和接种时生长期等有关。

由表 3 可以知道,在 24~96 h 胁迫时间下,湛江叉鞭金藻、球等鞭金藻 3011 的荧光参数 F_v/F_m 、 F_v/F_0 、 $Yield$ 、 ETR 与细胞密度成显著的正相关。同时实验还表明,湛江叉鞭金藻、球等鞭金藻 3011 的荧光参数 F_v/F_m 、 F_v/F_0 、 $Yield$ 、 ETR 对 Cu^{2+} 胁迫比较敏感,上述参数与 Cu^{2+} 浓度成显著的负相关,因此可以运用上述参数来反映这 2 种海洋微藻受 Cu^{2+} 胁迫的情况。可以通过长期多次实验,总结、拟合出上述荧光参数与 Cu^{2+} 的特异的剂量-效应关系,建立一套以荧光参数为基础的监测方法。同时也可以总结出微藻受 Cu^{2+} 胁迫的程度,并计算出海洋生态系统初级生产力受损的程度,为海洋生态系统受重金属污染及生态安全早期预警提供理论支持,这种可行性和可靠性还需要长期和更进一步的研究进行验证。

参考文献:

[1] 姜恒,吴斌,阎冰,等. 叶绿素荧光技术在环境监测中的应用[J]. 环境工程技术学报,2012,2(2):172-178.
[2] 王淑萍. 湛江叉鞭金藻生态条件的研究:1. 营养盐浓度对湛江叉鞭金藻增殖的影响[J]. 水产科学,1995,14(1):18-20.
[3] 梁英,冯力霞,田传远. 高温胁迫对球等鞭金藻 3011 和 8701 叶绿素荧光特性的影响[J]. 水产学报,2009,33(1):37-44.
[4] Guillard R R, Ryther J H. Studies of marine planktonic

diatoms: I. *Cyclotella nana* (Hustedt) and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran[J]. Plant Physiol, 1989, 91: 848-854.

[5] 王帅,梁英,田传远. Cd^{2+} 胁迫对 6 株微藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 海洋湖沼通报,2009(3):155-166.
[6] 国家海洋局. 海洋检测规范[M]. 北京:海洋出版社,1991:766.
[7] 周永欣,张宗涉. 水生生物毒性试验方法[M]. 北京:农业出版社,1989:114-122.
[8] 赵会杰,邹奇,余振文. 叶绿素荧光分析技术及其在植物光合机理研究中的应用[J]. 河南农业大学学报,2000,34(3):248-251.
[9] 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] Van Kooten O, Snel J F H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology[J]. Photosynth Res, 1990, 25: 147-150.
[11] 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]. 研究综述,2007,31(1):71-76.
[12] 周文彬,邱保胜. 藻类对重金属的耐性与解毒机理[J]. 湖泊科学,2004,16(3):265-272.
[13] 李建宏,曾昭琪. Cu^{2+} 对蓝藻 *Sporulina maxima* 光合作用的抑制机理[J]. 植物生理学报,1997,23(1):77-82.
[14] Ballan D C. Response of the phytoplanktonic algae to Cu and Ag exposure: Vesicular metal bioaccumulation and lack of starch bodies[J]. Biol Cell, 1991, 72(1-2): 103-112.
[15] Cid A, Herrero C, Tomes E, et al. Copper toxicity on the marine microalga *Phaeodactylum tricornerutum*: effects on the photosynthesis and related parameters [J]. Aquatic Toxicol, 1995, 31: 165-174.
[16] Kaplan D, Stadler T. Algal biotechnology[M]. Elsevier Appl Sci, 1988:179.
[17] 李荣春. Cd, Pb 及其复合污染对烤烟叶片生理生化及细胞亚显微结构的影响[J]. 植物生态学报,2000,24(2): 238-242.
[18] 简建波,邹定辉,刘文华,等. 三角褐指藻对铜离子长期暴露的生理响应[J]. 海洋通报,2010,29(1):65-71.
[19] 陈雷,郑青松,刘兆普,等. 不同 Cu^{2+} 浓度处理对斜生栅藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 生态环境学报,2009,18(4):1231-1235.
[20] 梁英,王帅,冯力霞,等. 重金属胁迫对纤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.

(责任编辑:邓大玉)