研究简报

DOI: 10.3724/SP.J.1035.2011.00698

大气 CO_2 浓度变化对铜绿微囊藻生长的影响

李 娜[1,2] 毕永红[2] 高大文[1] 胡征宇[2] 任南琪[1]

(1. 哈尔滨工业大学, 城市水资源与水环境国家重点实验室, 哈尔滨 150090;
2. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

EFFECTS OF ELEVATED CO_2 CONCENTRATION ON GROWTH OF *MICROCYSTIS AERUGINOSA*

LI Na[1,2], BI Yong-Hong[2], GAO Da-Wen[1], HU Zheng-Yu[2] and REN Nan-Qi[1]

(1. *State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment*, *Harbin Institute of Technology*, *Harbin* 150090, *China*;
2. *Institute of Hydrobiology*, *Chinese Academy of Sciences*, *Wuhan* 430072, *China*)

关键词: 铜绿微囊藻; CO_2; 生长曲线; 叶绿素 *a*; pH; 碱度

Key words: *Microcystis aeruginosa*; CO_2; Growth curve; Chlorophyll *a*; pH; Alkalinity

中图分类号: Q142 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2011)04-0698-05

蓝藻水华暴发是多因素综合作用的结果, 藻类生长受温度、光照、风力、营养盐、pH、微量元素等多个因素的影响[1−4]。藻类属于光能自养型微生物, 其生长繁殖离不开自身的光合作用; 作为光合作用主要的无机碳源, CO_2 对藻类生长有着举足轻重的作用。工业的快速发展, 化石燃料的燃烧, 增加了大气 CO_2 的源, 环境破坏引起的森林绿地面积锐减, 又使 CO_2 的汇减少, 最终导致大气 CO_2 浓度不断增加。有关大气 CO_2 浓度升高对陆地生物和海洋藻类生长的影响已有研究, 而关于大气 CO_2 浓度升高对淡水藻类生长的具体作用研究甚少。不同藻类由于自身特性的不同对 CO_2 浓度升高的响应也存在差异, 高浓度 CO_2 对藻类的作用可能是促进、抑制或没有影响[5−7], 那么藻类在 CO_2 浓度变化过程中生长趋势如何, 目前研究罕见。本研究以我国淡水水体中常见的水华优势种—铜绿微囊藻为对象, 通过考察不同浓度 CO_2 条件下藻的生长状况得到 CO_2 浓度与铜绿微囊藻生长间的关系曲线, 为阐释铜绿微囊藻水华成因提供依据。

1 材料与方法

1.1 藻种及其培养条件

试验所用的铜绿微囊藻 *Microcystis aeruginosa* 905(以下缩写为: *Ma*905)由中国科学院水生生物研究所淡水藻种库提供。采用 BG11 培养基, 将盛有藻液的锥形瓶置于光照培养箱内进行扩大培养, 温度控制在(25±1)℃, 光暗比 12h∶12h, 光强 60 μmol/(m^2·s), 接种对数生长期的藻细胞于 1000 mL 的锥形瓶中用于试验, 内含 BG11 培养基 800 mL, 接种密度为 3×10^5 cells/mL。

1.2 CO_2 浓度控制

共设置 7 个 CO_2 浓度点, 分别为 0.4‰(空气、对照组)、0.8‰、1.6‰、3.2‰、6.4‰、12.8‰、25.6‰。不同浓度 CO_2 混合气通过工业气囊配气实现, 空气及纯 CO_2 气体以一定比例的流量通入气囊, 经远红外气体分析仪检测校正 CO_2 浓度后用于试验。试验采用顶空曝气, 气体流量控制为 200 mL/min。

1.3 藻类生长曲线的测定

藻细胞接种后, 每两天取样测定其生长状况, 用分光光度计 UV-1700 测定藻液的 A_{680} 值以表示铜绿微囊藻 *Ma*905 的生长。

1.4 叶绿素 *a*(Chl.*a*)浓度测定

藻液经玻璃纤维滤纸(Whatman GF/C, 0.45 μm)抽滤后, 加入 90%的丙酮于暗处抽提 24h, 之后在 3000 r/min

收稿日期: 2010-05-11; 修订日期: 2011-01-12
基金项目: 国家自然科学基金重点项目(No:50638020); 国家“973”计划项目(No: 2008CB418002); 水专项(No: 2008ZX07207-005-003)资助
作者简介: 李娜(1984—), 女, 河北人; 硕士研究生; 主要从事环境科学与工程研究工作。E-mail: lnyswh06@163.com
通讯作者: 毕永红, E-mail: biyh@ihb.ac.cn; 高大文, E-mail: gaodw@hit.edu.cn

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

条件下离心 10min, 取上清液分别于 630、645、663 和 750 nm 波长处测定其吸光度, 由以下公式计算 Chl.*a* 浓度[8]。

$$\text{Chl.}a(\text{mg/L}) = \frac{[11.64\times(A_{663}-A_{750})-2.16\times(A_{645}-A_{750})+0.10\times(A_{630}-A_{750})]\cdot V_0}{V\cdot\delta}$$

其中, A—吸光度; V_0—提取液定容后体积(mL); V—样品体积(mL)。

1.5　藻液 pH 及碱度测定

藻细胞混合液经抽滤后测定抽滤液的 pH 及碱度, pH 测定选用仪器型号为 ORION 420A, 用于滴定的盐酸标准溶液浓度为 0.010 mol/L。碱度测量采用水和废水监测分析方法[8]中有关碱度测定计算的方法。

1.6　数据分析

每个试验组均设置 3 个平行样, 测定结果采用 SPSS 13.0 软件进行数据统计分析, 组间差异显著性检验选用单因素方差分析(one-way ANOVA)。

2　结果

2.1　铜绿微囊藻 *Ma*905 生长曲线

在不同 CO_2 浓度条件下 *Ma*905 的生长曲线(图 1)。试验开始的前 5 天, 藻细胞处于静止期, 生长缓慢, 在不同 CO_2 浓度下的生长状况基本相同。第 7 天藻细胞开始进入对数生长期, 并且组间差异日趋明显。以空气(0.4‰)组作为对照, 大气中 CO_2 浓度的适当增加对 *Ma*905 生长有促进作用, CO_2 浓度在 0.4‰—6.4‰范围内都有利于藻细胞的生长繁殖, 其中在 0.8‰和 6.4‰条件下生长状况最好, 最大生物量分别增加了 10.32%和 10.38%, 比生长速率分别为 0.223/d 和 0.221/d, 提高了 3.20%和 1.59%(图 2)。但过高浓度的 CO_2 反而对 *Ma*905 的生长具有显著抑制作用(P<0.01), 如在 12.8‰和 25.6‰条件下, 与对照组相比, *Ma*905 的比生长速率分别降低了 1.43%和 30.96%, 最大生物量减少了 12.34%和 78.49%。在 25.6‰条件下抑制作用最明显, 不仅生物量减少, 而且进入对数生长期的时间延缓, 第 17 天才开始进入对数生长期, 与其他处理组对比, 静止期延长了 10d 左右。

2.2　*Ma*905 生长过程中 Chl.*a* 浓度变化

Chl.*a* 作为藻细胞重要的光合色素, 其浓度高低可在一定程度上说明 *Ma*905 光合作用的强弱及生长状况。如图 3 所示, 试验过程中藻液 Chl.*a* 浓度变化趋势与藻细胞生长曲线相似, 培养初期藻细胞处于适应阶段, Chl.*a* 合成较少, 浓度较低。除 25.6‰高浓度 CO_2 条件外, 其他各组藻细胞从第 7 天起进入对数生长期, Chl.*a* 浓度也随之开始对数增长, 且开始出现组间差异。在 0.8‰和 25.6‰环境条件下生长的藻细胞与正常条件(0.4‰)相比, Chl.*a* 浓度差异显著。0.8‰ CO_2 对 Chl.*a* 的合成具有较大的促进作用, 浓度为 6.34 mg/L, 比正常条件下增加 67.50%。而 25.6‰ CO_2 Chl.*a* 浓度仅为 0.64 mg/L, 降低了 83.11%, Chl.*a* 的合成明显受抑制。在其他处理条件下生长的藻细胞 Chl.*a* 浓度与 0.4‰相比差异不大。

统计分析结果(表 1)显示, 在不同 CO_2 浓度条件下生长的 *Ma*905 单位细胞 Chl.*a* 浓度存在差异, 单因素方差分析结果显示 P<0.05。单位细胞 Chl.*a* 浓度的最高值仍在 0.8‰ CO_2 条件下取得, 比对照增加 51.45%。25.6‰高浓度 CO_2 处理条件下 *Ma*905 单位细胞 Chl.*a* 浓度尽管还是所有处理组中的最小值, 但与单位体积藻液中 Chl.*a* 浓度相比有所升高, 仅比对照组减少 13.12%。

2.3　试验过程中培养基 pH 及碱度变化

藻类的光合作用利用水体中的无机碳 CO_2 和 HCO_3^-, 使水体的 pH 升高[9−14]。试验结果显示, 在 *Ma*905 的整个

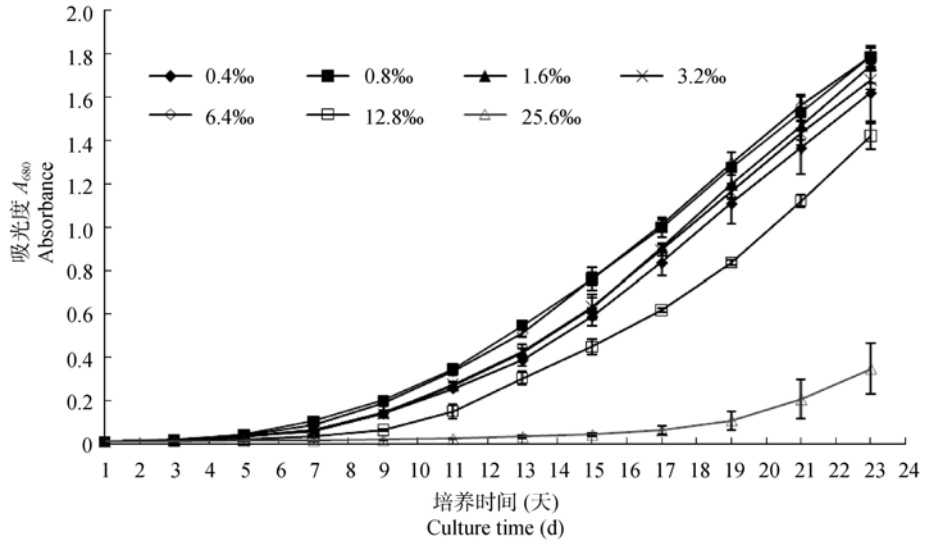

图 1　在不同 CO_2 浓度条件下 *Ma*905 的生长曲线

Fig. 1 The Growth Curve of *Ma*905 under different CO_2 concentrations

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

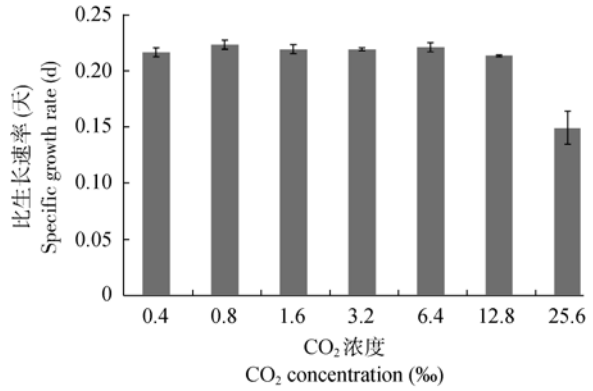

图 2 在不同 CO_2 浓度条件下 *Ma* 905 的比生长速率

Fig. 2 The Specific growth rate of *Ma* 905 under different CO_2 concentrations

生长过程中, 由于藻细胞的光合作用培养基 pH 均有所升高(图 4)。其中在 25.6‰环境条件下培养基的 pH 最低, 终值为 7.85, 比起始 pH 增加了 0.12 个单位。原因是在高 CO_2 条件下液相中溶解态 CO_2 增多, 此外藻细胞的生长受到抑制, 光合作用减弱, CO_2 消耗量减少。因此在 25.6‰条件下 pH 增加幅度最小, pH 终值较低。但各处理条件间的 pH 相比没有显著差异, pH 最终稳定在 7.9—9.5 之间, 处于铜绿微囊藻生长的最佳 pH 区间范围。

试验中所测碱度为总碱度, 即总碱度=$[HCO_3^-]$+2$[CO_3^{2-}]$+$[OH^-]$-$[H^+]$。在藻类生长过程中, 培养液 pH 逐渐升高, CO_2 溶解度增加, 碱度也随之升高。试验结果(图 5), 在 0.8‰ CO_2 条件下, 培养基碱度增加幅度最大, 而 pH 较低的 25.6‰处理组碱度最低, 明显低于对照组(0.4‰), 其他各组间差异不大。

3 讨论

大气中 CO_2 浓度倍增, 生物光合作用可利用的无机碳源增加, 光合作用增强, 有利于植物和藻类的生长。Qiu 和 Gao[5]的研究结果表明铜绿微囊藻 *Microsystis zeruginosa* Kütz 7820 在 CO_2 倍增条件下生物量增加了 52%—77%。Hu 和 Gao [12]在试验中发现 CO_2 浓度上升到

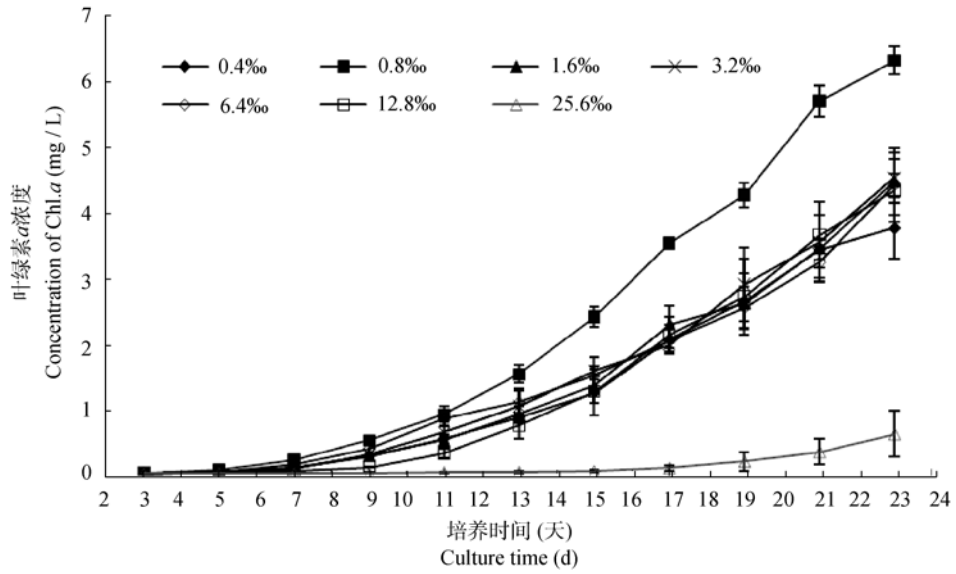

图 3 不同浓度 CO_2 对 *Ma*905 的 Chl.*a* 浓度的影响

Fig. 3 Effects of different concentration CO_2 on Chl.*a* content in *Ma*905

表 1 不同 CO_2 浓度条件下 *Ma*905 单位细胞 Chl.*a* 最大浓度

Tab. 1 Maximal unit cell content of Chl.*a* in *Ma*905 under different CO_2 concentrations

CO_2 浓度 CO_2 concentration (‰)	单位细胞 Chl.*a* 浓度 Unit cell content of Chl.*a* (10^{-10} mg/cell)	*F*	*P*
0.4	1.68±0.207		
0.8	2.54±0.086		
1.6	1.85±0.208		
3.2	1.95±0.163	3.340	<0.05
6.4	1.78±0.071		
12.8	2.21±0.244		
25.6	1.46±0.789		

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

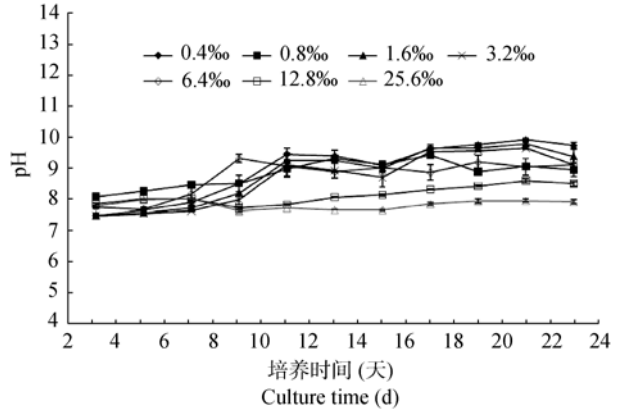

图 4　不同浓度 CO_2 对 *Ma*905 生长培养基 pH 的影响

Fig. 4　Effects of different concentration CO_2 on pH of medium in which *Ma*905 was grown

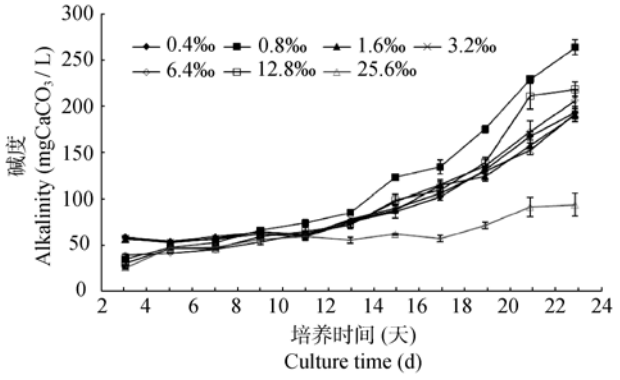

图 5　不同浓度 CO_2 对 *Ma* 905 生长培养基碱度的影响

Fig. 5　Effects of different concentration CO_2 on Alkalinity of medium in which *Ma*905 was grown

0.7‰时淡水硅藻 *Nitzschia palea* 生长量在整个生长周期内增大了 4%—20%。但在大气中 CO_2 浓度的升高并不是对所有进行光合作用的藻类生长都具有促进作用，由于自身特性及外界环境条件的不同，CO_2 对藻类生长的影响也存在差异。CO_2 浓度升高可能对某些藻类的生长没有影响甚至会有抑制作用[6,7]。Engel A, *et al*.[6]在试验中发现，小于 4 μm 的微型藻属在低 CO_2(0.19‰)条件下丰度增加，高 CO_2(0.7‰)条件下，丰度降低。藻类生物量是否会随着 CO_2 浓度的升高而持续增加？本试验结果显示，随着大气中 CO_2 浓度的升高，*Ma*905 的生物量及光合色素 Chl.*a* 的浓度均呈现出先升高后降低的趋势，且不同处理组间 *Ma*905 生长差异显著(P<0.01)。这表明大气中 CO_2 浓度的适当增加有利于铜绿微囊藻的生长及光合作用的进行，但浓度过高反而会抑制细胞的生长繁殖。

本试验结果显示，藻液及单位细胞 Chl.*a* 浓度与藻细胞的生长状况相对应，在 0.8‰条件下 Chl.*a* 浓度较高，藻类生长状况良好；在 25.6‰环境下，Chl.*a* 合成受阻，浓度降低，铜绿微囊藻的生长受到抑制。叶绿素 *a* 在蓝藻光合作用中的功能主要是作为反应中心色素，其在细胞内的合成过程繁琐且受多种因素的影响。叶绿素的合成需要消耗能量，CO_2 浓度的增加为藻类光合作用合成有机物提供了充足的物质基础，同时也可以减少藻细胞无机碳浓缩机制所需的能量，进而保证了叶绿素合成的能量来源，利于叶绿素合成。过高浓度 CO_2 会对类囊体等细胞光合机构有所损伤，并对某些酶的活性产生影响[15−20]，导致叶绿素合成受限，使藻细胞叶绿素浓度降低。这表明在高浓度 CO_2 条件下 *Ma*905 生长受到显著抑制作用(P<0.05)。

藻类生长过程中水体 pH 变化是 *Ma*905 光合作用及大气 CO_2 浓度增加共同作用的结果。藻类光合作用利用水体中的无机碳源，使水体 pH 升高，而根据亨利定律可知大气中 CO_2 浓度的升高会增加其在水体中的溶解度，使水体 pH 降低，因此藻液最终 pH 是二者的综合作用结果。大气 CO_2 浓度为 0.8‰环境条件下，与对照组(0.4‰)相比，由于 CO_2 溶解度的增大，水体中溶解态 CO_2、H_2CO_3、HCO_3^-和 CO_3^{2-}含量均增大，总碱度升高，*Ma*905 光合作用可利用的无机碳源增加，进而促进藻细胞的生长和光合色素 Chl.*a* 的合成。在 25.6‰高 CO_2 浓度条件下，大气中大量的 CO_2 溶入水体，使水体中溶解性无机碳 *DIC* 含量升高，同时也降低了水体 pH，碳酸盐各组分所占比例发生改变，[CO_3^{2-}]含量减少，[HCO_3^-]浓度增加，因此总碱度较低。胞外高浓度的 HCO_3^- 导致细胞内 HCO_3^- 的积累，对细胞结构及某些酶的活性产生影响，抑制细胞生长。有研究[19,20]指出在高 HCO_3^- 碱度条件下不利于铜绿微囊藻的生长，碱度增加会抑制光合色素的合成，破坏细胞的光合机构。与本试验高浓度 CO_2 条件下 Chl.*a* 浓度降低，藻类生长受限制的结果相符。

铜绿微囊藻 *Ma*905 的生长及光合色素 Chl.*a* 浓度随着大气中 CO_2 浓度的增加呈现先促进后抑制的趋势，高浓度 CO_2 使水体 HCO_3^- 含量增加，单位细胞 Chl.*a* 浓度降低，导致藻细胞的生长受限。

参考文献:

[1] Liu Y M, Liu Y D, Li D H, *et al*. Effects of nitrogen and phosphorus on growth and physiological characteristics of *Aphanizomenon flos-aquae* from Dianchi [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, **31**(6): 774—779 [刘永梅, 刘永定, 李敦海, 等. 氮磷对水华束丝藻生长及生理特性的影响. 水生生物学报, 2007, **31**(6): 774—779]

[2] Hu Z X, Xu N, Li A F, *et al*. Effects of different N: P ratios on the growth of *Pseudo-nitzschia Pungens*, *Prorocentrum donghaiense* and *Phaeocystis globosa* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2008, **32**(4): 484—489 [胡章喜, 徐宁, 李爱芬, 等. 氮磷比率对 3 种典型赤潮藻生长的影响. 水生生物学报, 2008, **32**(4): 484—489]

[3] Chen Q, Han H J, Zhai S J, *et al*. Influence of solar radiation and water temperature on chlorophyll-*a* levels in Lake Taihu, China [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2009, **29**(1): 199—

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

206 [陈桥, 韩红娟, 翟水晶, 等. 太湖地区太阳辐射与水温的变化特征及其对叶绿素 *a* 的影响. 环境科学学报, 2009, **29**(1): 199—206]

[4] Lü X P, Zhang X, Kang R J, *et al*. Effects of Fe^{3+} on growth and photosynthesis of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Journal of Beijing University of Chemical Technology*, 2006, **33**(1): 27—30 [吕秀平, 张栩, 康瑞娟, 等. Fe^{3+}对铜绿微囊藻生长和光合作用的影响. 北京化工大学学报, 2006, **33**(1): 27—30]

[5] Qiu B S, Gao K S. Effects of CO_2 enrichment on the bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae): Physiological responses and relationships with the availability of dissolved inorganic carbon [J]. *Journal of Phycology*, 2002, **38**: 721—729

[6] Engel A, Schulz K G, Riebesell U, *et al.* Effects of CO_2 on particle size distribution and phytoplankton abundance during a mesocosm bloom experiment (PeECE II) [J]. *Biogeosciences*, 2008, **5**: 509—521

[7] Fu F X, Zhang Y H, Warner M E, *et al*. A comparison of future increased CO_2 and temperature effects on sympatric *Heterosigma akashiwo* and *Prorocentrum minimum* [J]. *Harmful Algae*, 2008, **7**: 76—90

[8] 《The water and wastewater monitoring analysis method》 Editorial Committee. The Water and Wastewater Monitoring Analysis Method (edition IV) [M]. Beijing: China Environmental Science Press. 2002, 120—124 [《水和废水监测分析方法》编委会编. 水和废水监测分析方法(第四版). 北京: 中国环境科学出版社. 2002, 120—124]

[9] Wu H Y, Zou D H, Gao K S. Impacts of increased atmospheric CO_2 concentration on photosynthesis and growth of micro- and macro-algae [J]. *Science in China Series (C): Life Science*, 2008, **51**(12): 1144—1150

[10] Badger M R, Price G D. CO_2 concentrating mechanisms in cyanobacteria: molecular components, their diversity and evolution [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2003, **54**(383): 609—622

[11] Yue G F, Wang J X, Zhu M Y, *et al.* Progress of inorganic carbon acquisition by algae (II): mechanism and regulation [J]. *Marine Science*, 2003, **27**(6): 31—34 [岳国锋, 王金霞, 朱明远, 等. 藻类无机碳营养的研究进展(II)—藻类利用无机碳的机理及其调节. 海洋科学, 2003, **27**(6): 31—34]

[12] Hu H H, Gao K S. Impacts of CO_2 enrichment on growth and photosynthesis in freshwater and marine diatoms [J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2008, **26**(4): 407—414

[13] Riebesell U. Effects of CO_2 enrichment on Marine Phytoplankton [J]. J*ournal of Oceanography*, 2004, **60**: 719—729

[14] Chen Z, Cheng H M, Chen X W. Effect of Cl^- on photosynthetic bicarbonate uptake in two cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* and *Synechocystis* PCC5803 [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2009, **54**(7): 1197—1203

[15] Kang L J, Pan X J, Chang F Y, *et al.* Effects of alkalinity on photosynthesis activity and ultrastructure of *Microcystis aeruginosa* FACHB905 [J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2008, **26**(1): 70—75 [康丽娟, 潘晓洁, 常锋毅, 等. HCO_3^- 碱度增加对铜绿微囊藻光合活性和超微结构的影响. 武汉植物学研究, 2008, **26**(1): 70—75]

[16] Yang W, Sun L, Yuan Y C, *et al.* Effects of alkalinity on growth and competition of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda* [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, **26**(4): 1264—1268 [杨威, 孙凌, 袁有才, 等. 碱度水平对铜绿微囊藻和四尾栅藻生长和竞争的影响. 农业环境科学学报, 2007, **26**(4): 1264—1268]

[17] Yang S W, Jiang X, Jin X C. Effects of HCO_3^- on growth characteristics and competitive behaviors of *Microcystis aeruginosa*, *Scenedesmus quadricauda* and *Cyclotella* sp. [J]. *Ecology and Environment*, 2007, **16**(2): 347—351 [杨苏文, 姜霞, 金相灿. HCO_3^-对铜绿微囊藻、四尾栅藻和小环藻增长特性及竞争行为的影响. 生态环境, 2007, **16**(2): 347—351]

[18] Bertoni G M, Pissaloux A, Morard P, *et a1*. Bicarbonate-pH relationship with iron chlorosis in white lupine [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1992, **15**: 1509—1518

[19] McCray J M, Matocha J E. Effects of soil water levels on solution bicarbonate, chlorosis and growth of sorghum [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1992, **15**: 1877—1890

[20] Yang X, Rmheld V, Marschner H. Effect of bicarbonate on root growth and accumulation of organic acids in Zn-inefficient and Zn-efficient rice cultivars (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant and Soil*, 1994, **164**: 1—7

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net