

CO₂ 加富对两种海洋微绿藻的生长、光合作用和抗氧化酶活性的影响

于 娟¹, 唐学玺^{1*}, 张培玉^{1,2}, 董双林¹

(1. 中国海洋大学生命科学与技术学部, 青岛 266003; 2. 曲阜师范大学生命科学学院, 曲阜 273165)

摘要:研究了 CO₂ 加富对两种海洋微绿藻小球藻和亚心形扁藻的生长、光合作用和抗氧化酶活性的影响。实验结果表明, CO₂ 加富(含 5000 μl/L CO₂ 的空气)促进小球藻和亚心形扁藻的生长。但两种藻对 CO₂ 加富的敏感性不同。CO₂ 加富对小球藻生物量影响的敏感性小于亚心形扁藻。CO₂ 加富使两种藻的干重和光合速率显著增加; 可溶性蛋白含量显著下降; 但两种藻的 Chla 含量和 Car 含量与对照相比变化不明显。高浓度 CO₂ 生长的小球藻和亚心形扁藻的 MDA 含量比对照低, 表明 CO₂ 升高可以减轻微藻的膜脂过氧化损伤, 有利于膜脂稳定性的保持; 在正常浓度 CO₂ (360 μl/L) 条件下, 抗氧化酶 SOD、POD、CAT、GR 的活性因藻种不同而存在很大差异, 高浓度 CO₂ (5000 μl/L) 培养条件使得这些抗氧化酶中的 SOD、CAT、GR 的活性显著降低, 而 POD 活性变化则不明显。CO₂ 浓度升高可能导致抗氧化酶活性需求的减少, 从而对藻的氧化损伤具有一定的保护能力。另外, 光合速率、Chla 含量和 Car 含量以及抗氧化酶活性因藻种不同而存在很大的差异。

关键词: CO₂ 加富; 生长; 光合作用; 抗氧化酶; 小球藻; 亚心形扁藻

Effects of CO₂ enrichment on growth, photosynthesis and activities of antioxidant enzymes of two marine micro-green-algae

YU Juan¹, TANG Xue-Xi^{1*}, ZHANG Pei-Yu^{1,2}, DONG Shuang-Lin¹ (1. Division of Life Science and Technology, Ocean University of China, Qingdao 266003; 2. College of Life Sciences, Qufu Normal University, Qufu 273165). *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(2): 197~202.

Abstract: Atmospheric levels of CO₂ are expected to double during the 21st century. Many researches have been executed on the ecological impacts of elevated atmospheric CO₂ concentration on algae. Marine microalgae is a primary producer in aquatic ecosystems and half of the primary biomass production on our planet is based on aquatic ecosystems. In this experiment, the effects of enriched CO₂ (5000 μl/L) on the growth, photosynthesis, activities of antioxidant enzymes of *Chlorella* sp. and *Platymonas subcordiformis* were investigated using physiological and biochemical methods. The results showed that while the growth rate of both *Chlorella* sp. and *Platymonas subcordiformis* was increased when culture medium was bubbled with enriched CO₂, there were differences in the degree of response between the two species of microalgae. *Platymonas subcordiformis* was more sensitive than *Chlorella* sp. to CO₂ enrichment. CO₂ enrichment increased the dry weight and photosynthetic rate of both species of microalgae while the soluble protein content decreased significantly. The chlorophylla (Chla) and carotenoids (Car) content did not change significantly as compared to the controls. The malonyldialdehyde (MDA) contents of *Chlorella* sp. and *Platymonas subcordiformis* grown under elevated CO₂ were lower than that of *Chlorella* sp. and *Platymonas subcordiformis* grown under ambient CO₂, which suggests that elevated CO₂ can ease the damage of membrane lipid peroxidation produced under ambient CO₂ and enhance remaining membrane lipid stability. In addition to affecting

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30270258); 山东省优秀中青年奖励基金资助项目(03BS120)
收稿日期:2000-12-07; **修订日期:**2004-09-25
作者简介:于娟(1973~), 女, 山东龙口人, 博士, 主要从事藻类生理生态学研究。E-mail: uvlight@163.com
*** 通讯作者** Author for correspondence. E-mail: tangxx@ouc.edu.cn

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 30270258) and Encouraging Foundation for Outstanding Youth Scientists of Shandong Province (No. 03BS120)

Received date 2004-09-25 **Accepted date:** 2004-09-25

Biography: YU Juan, Ph. D., mainly engaged in algae physiology and ecology. E-mail: uvlight@163.com

photosynthetic activity, increased CO_2 levels can also play a crucial role in a marine microalgae's response to oxidative stress. Oxidative stress is potentially experienced by all aerobic life in adverse circumstances, resulting in the formation of toxic oxygen species such as superoxide anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$), hydroxyl radical (OH^{\cdot}), hydrogen peroxide (H_2O_2) and singlet oxygen ($^1\text{O}_2$). In order to balance and control the risk of oxygen toxicity during the photosynthetic process, the plant cell has developed an antioxidative defense system, which consists of antioxidants and several enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) and glutathione reductase (GR). Compared to ambient CO_2 ($360\mu\text{L/L}$), CO_2 enrichment ($5000\mu\text{L/L}$) significantly reduced the activities of SOD, CAT and GR, while the POD activity did not changed significantly. Elevated CO_2 can cause the necessity for antioxidant enzymes activities to be diminished, which in turn enhances the protective ability of microalgae when faced with oxidative damage. Great differences exist between the activities of SOD, CAT and GR in *Chlorella* sp. and *Platymonas subcordiformis* in both ambient CO_2 and elevated CO_2 .

Key words: CO_2 enrichment; growth; photosynthesis; antioxidant enzymes; *Chlorella* sp.; *Platymonas subcordiformis*

文章编号:1000-0933(2005)02-0197-06 中图分类号:Q142,Q178.1,Q945,Q949.21 文献标识码:A

1880 年之前,大气 CO_2 浓度大致稳定在 0.028% 左右。随着工业的发展,人类的活动特别是矿物燃料的大量使用和植被的破坏,导致大气 CO_2 浓度的持续上升,目前升到约 0.036%。多数学者认为到 21 世纪中后期,大气 CO_2 浓度可能倍增到约 0.072%^[1]。海洋面积占地球表面总面积的 71%,海洋所溶解的总碳量为大气 CO_2 量的 50 倍以上,在全球碳循环中起着很重要的作用。据估计,海洋吸收工业排放 CO_2 的 30%~35%,是 CO_2 的重要汇源^[2]。 CO_2 浓度的升高必然会对海洋生态系统中食物链的初级生产者-藻类产生影响。近年来, CO_2 浓度升高对藻类的影响的研究已经取得了很大的进展。

高 CO_2 浓度与大型海藻生长的关系中,存在促进、抑制及没有影响等效应,这可能与不同海藻种类和实验条件有关^[3]。大气 CO_2 浓度升高能提高海洋浮游植物的初级生产力^[4,5]。高 CO_2 浓度将促进微藻的生长^[6];提高光合作用^[7];降低小球藻脂肪酸的不饱和度^[8];但研究者又发现高浓度 CO_2 培养条件下,其光合生理特征与通低浓度 CO_2 相比,有明显的变化,主要表现在对 CO_2 的亲合力下降,pH 补偿点下降和 CO_2 补偿点升高^[9]。 CO_2 浓度升高对高等植物的抗氧化酶的影响已有不少研究^[10,11],但对浮游植物的抗氧化酶的研究还未见报道,本文在研究 CO_2 加富对两种海洋微藻的生长、光合作用的基础上,探讨了膜脂过氧化产物 MDA 含量及抗氧化酶活性的变化,以揭示 CO_2 加富对微藻的作用机制。

1 材料与方法

(1)藻种及培养 所用小球藻(*Chlorella* sp.)和亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*) 由中国海洋大学水产学院微藻研究中心提供。

海水取自鲁迅公园附近海滨,1.05kg/cm² 灭菌 20min,培养液选用 f/2^[12] 营养盐配方。对数生长期的藻细胞接入盛有 200ml f/2 培养基的 1000 ml 的三角瓶中,接种浓度控制在 $\text{OD}_{695}=0.200$ 左右,实验置于光照培养箱中培养,光照强度为 5000lx,光暗周期为 12h:12h,温度为 $20\pm 1^\circ\text{C}$,pH 为 8.0 ± 0.1 。一组通含 $360\mu\text{L/L}$ CO_2 的过滤空气,另一组通含有 5000 $\mu\text{L/L}$ CO_2 的过滤空气,通气玻璃管距液面一定距离。气体流量用流量计(LZB-3,青岛华仪仪表厂,青岛)控制在 300ml/min。整个实验中所用气体用钢瓶中的压缩空气(CO_2 浓度为 $360\mu\text{L/L}$)和压缩混合空气(含有 5000 $\mu\text{L/L}$ CO_2 的过滤空气)来维持(空气和混合空气由青岛合利气体工业中心提供,青岛)。

(2)细胞密度 细胞密度的测定用 Lugol 碘液固定样品,血球计数板计数。每天取微量藻液进行细胞计数。

实验进行到第 7 天,收集藻样并对以下各种生理生化指标进行测定。

(3)干重的测定 藻体被抽滤在 0.45 μm 的微孔滤膜上,然后放在 80℃ 的干燥箱中烘干 72h,并用电子天平称其重量,总重量减去微孔滤膜的重量即为藻体的干重。

(4)叶绿素 a (Chla)、类胡萝卜素 (Car) 含量和光合速率的测定 Chla 和 Car 含量测定参照 Jensen^[13] 方法进行,90% 丙酮提取,UV-9100 型分光光度计测定。光合速率的测定采用高尚德等^[14] 的黑白瓶定氧法。

(5)可溶性蛋白含量的测定 提取液采用磷酸缓冲液(pH 7.0),对收集的藻细胞在冰浴中匀浆,TGL-16 台式高速离心机上 15000 r/min 离心 15min,上清液即为蛋白质提取液。然后,按照 Bradford^[15] 的方法进行蛋白质含量的测定。以小牛血清白蛋白为标准曲线。

(6)酶活性等指标的测定 SOD 采用 Beauchamp^[16] 建立的,Bewley 等^[17] 改进的氮蓝四唑(NBT)光化学反应法进行测定。一个 SOD 酶活力单位定义为能引起反应初速度(指不加酶提取液时)半抑制时的酶用量,即:SOD 活性 = $(\text{OD}_{\text{对照组}} - \text{OD}_{\text{处理组}}) / 50\% \text{OD}_{\text{对照组}}$ 万芳数据。POD 活性测定按照 Kar 和 Choudhuri^[18] 方法。反应液在 28℃ 温育 5min 后加 1ml 5% H_2SO_4 终止反应。离心后上清液在 470nm 比色。CAT 活性测定按照 Kato 和 Shimizu^[19] 的方法通过测定 H_2O_2 的消失来测定 CAT 的活性。

GR 酶活性测定参考 Rao 等^[20]方法,反应体系成分为 1mmol/LEDTA,5mmol/LGSSG,50mmol/L Tris-HCl (pH 7.8),1 mmol/L NADPH,用1 min催化还原 1nmol 的谷胱甘肽的酶量表示一个酶活性单位(1U=1nmol/ min),用 Ellman^[21]等的方法测定 GSH。膜脂过氧化产物 MDA 含量的测定参照 Heath 和 Packer^[22]的方法进行测定。

(7)数据处理 实验数据采用数理统计法将处理组与对照组差异进行显著性的 *t* 检验。

2 结果

2.1 CO₂ 加富对细胞生长的影响

由图 1,图 2 可以看出,随着时间的延长,细胞数不断增长,另外,高浓度 CO₂(5000μl/L)的小球藻和亚心形扁藻的细胞数比低浓度 CO₂(360μl/L)的细胞数显著增长,且随时间的延长,增长幅度越大。所以,CO₂ 加富能够促进小球藻和亚心形扁藻的生长。但两种藻之间存在差异,即 CO₂ 加富对两种藻的生物量增长的敏感性不同。根据实验数据建立低浓度 CO₂(360μl/L)与高浓度 CO₂(5000μl/L)条件下小球藻与亚心形扁藻的细胞密度(*y*)对时间(*x*)的回归方程,如表 1。

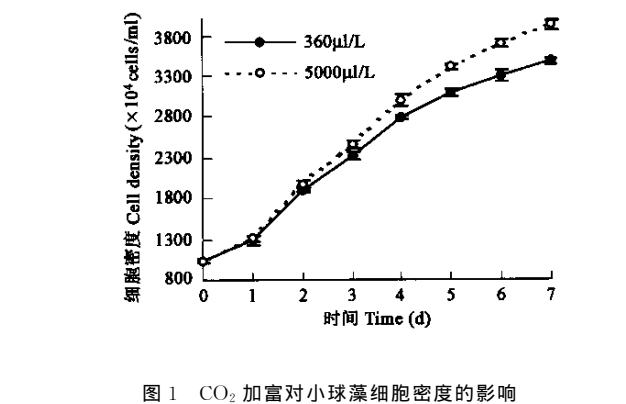


图 1 CO₂ 加富对小球藻细胞密度的影响

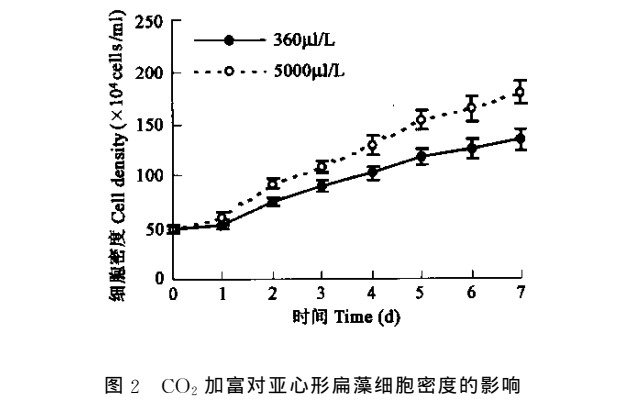


图 2 CO₂ 加富对亚心形扁藻细胞密度的影响

表 1 低浓度 CO₂ 与高浓度 CO₂ 条件下两种藻的细胞密度(*y*)对时间(*x*)的回归方程

| Table 1 The regression equation of cell density (<i>y</i>) and time (<i>x</i>) of two algae under low and high CO ₂ concentration | | | |
|--|---|-----------------------------|---|
| 藻种 Algal species | CO ₂ 浓度 (μl/L)CO ₂ concentration | 回归方程 Regression equation | 相关系数 <i>r</i> ² Correlative coefficient |
| 亚心形扁藻 <i>Platymonas subcordiformis</i> | 360 | $y = 14.486x + 44.952$ | 0.9832 |
| | 5000 | $y = 21.314x + 45.048$ | 0.9884 |
| 小球藻 <i>Chlorella sp.</i> | 360 | $y = 433.89x + 986.95$ | 0.9903 |
| | 5000 | $y = 497.46x + 954.19$ | 0.9921 |

小球藻在 5000μl/L CO₂ 与 360μl/L CO₂ 的回归斜率之比:497.46:433.89=1.15;亚心形扁藻在 5000μl/L CO₂ 与 360 μl/L CO₂ 的回归斜率之比:21.314:14.486=1.47。根据回归斜率之比小球藻(1.15)<亚心形扁藻(1.47)判断,CO₂ 加富使亚心形扁藻生物量增长的速度比小球藻生物量增长的速度快,所以 CO₂ 加富对两种藻生物量影响的敏感性比较为:小球藻<亚心形扁藻。

2.2 CO₂ 加富对光合特性和可溶性蛋白含量的影响

由表 2 中可以看出,CO₂ 浓度升高使亚心形扁藻和小球藻的干重比对照分别增加了 11.87%和 11.97%(*P*>0.05)。亚心形扁藻和小球藻的 Chla 含量在高浓度 CO₂(5000μl/L)

表 2 CO₂ 加富对亚心形扁藻和小球藻干重、Chla、Car、可溶性蛋白含量和光合速率的影响

Table 2 Effects of CO₂ enrichment on dry weights, contents of Chla, Car and soluble protein and photosynthetic rates of *Platymonas subcordiformis* and *Chlorella sp.*

| | CO ₂ 浓度 (μl/L)CO ₂ concentration | 干重(mg/L) Dry weight | 叶绿素 a (×10 ⁻⁹ μg/cell) Chlorophyll a (Chla) | 类胡萝卜素 (×10 ⁻⁹ μg/cell) Carotenoid (Car) | 可溶性蛋白含量 (×10 ⁻⁹ μg /cell) Soluble protein content | 光合速率 (×10 ⁻⁸ mlO ₂ / cell·min) Photosynthetic rate |
|---|--|------------------------|---|--|---|---|
| 亚心形扁藻 <i>Platymonas subcordiformis</i> | 360 | 36.65±1.76 | 41.31±0.93 | 58.11±0.48 | 43.24±1.15 | 12.24±0.15 |
| | 5000 | 41.00±2.10* | 40.84±1.09 | 56.72±0.30 | 35.35±1.34* | 21.13±0.18** |
| 小球藻 <i>Chlorella sp.</i> | 360 | 51.13±1.46 | 9.25±1.23 | 12.58±0.53 | 4.41±0.15 | 2.42±0.13 |
| | 5000 | 57.25±2.34* | 8.33±0.95 | 13.72±0.82 | 4.10±0.16* | 3.86±0.17** |

* *P*<0.05,***P*<0.01

万方数据

与低浓度 CO₂(360μl/L)下相比,分别降低 1.14%和 9.95%,但变化不显著($P>0.05$)。高浓度 CO₂ 亚心形扁藻的 Car 含量比低浓度 CO₂ 降低了 2.39%($P>0.05$),而小球藻的 Car 含量稍有增加,增加了 9.06%($P<0.05$)。高浓度 CO₂ 的亚心形扁藻和小球藻的可溶性蛋白含量比低浓度 CO₂ 分别降低 20.56%($P<0.05$)和 7.03%($P<0.05$)。高浓度 CO₂ 的亚心形扁藻和小球藻的光合速率分别增加了 72.6%($P<0.01$)和 59.5%($P<0.01$)。另外,亚心形扁藻和小球藻之间存在种间差异。亚心形扁藻的 Chla 和 Car 含量为小球藻的 4.1~4.9 倍,而可溶性蛋白含量是小球藻的 8.6~9.8 倍;光合速率为小球藻的 34.5~38.2 倍。

2.3 CO₂ 加富对 MDA 含量的影响

两种藻的 MDA 含量存在种间差异,亚心形扁藻的 MDA 含量是小球藻的 MDA 含量的 6.4~6.5 倍(图 3)。另外,随着 CO₂ 浓度的升高,两种藻的 MDA 含量都显著降低(图 3)。高浓度 CO₂ 条件下的亚心形扁藻和小球藻的 MDA 含量比低浓度 CO₂ 分别降低了 28.3%($P<0.05$)和 29.3%($P<0.05$),表明 CO₂ 升高可以减轻微藻在大气 CO₂ 浓度下产生的膜脂过氧化损伤,有利于膜脂稳定性的保持。

2.4 CO₂ 加富对抗氧化酶活性的影响

随着 CO₂ 浓度升高,两种藻的 SOD、CAT、GR 活性显著降低(图 4)。高浓度 CO₂ 条件下的亚心形扁藻和小球藻的 SOD 活性比对照分别降低了 12.29%($P<0.05$)和 24.8%($P<0.05$),而 CAT 的活性比对照分别降低了 15.09%($P<0.05$)和 14.40%($P<0.05$),高浓度 CO₂ 条件下的亚心形扁藻和小球藻的 GR 活性比低浓度 CO₂ 分别降低了 30.22%($P<0.01$)和 11.68%($P<0.05$),而 POD 活性稍有所升高但变化不显著。另外,亚心形扁藻和小球藻的抗氧化酶活性因藻种不同而差异很大,亚心形扁藻的抗氧化酶活性是小球藻的 10~30 倍。

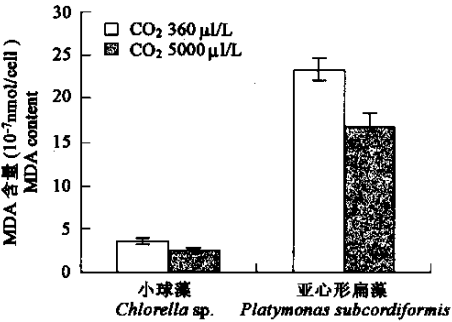


图 3 CO₂ 加富对小球藻和亚心形扁藻 MDA 含量的影响

Fig. 3 Effects of CO₂ enrichment on MDA contents of *Chlorella sp.* and *Platymonas subcordiformis*

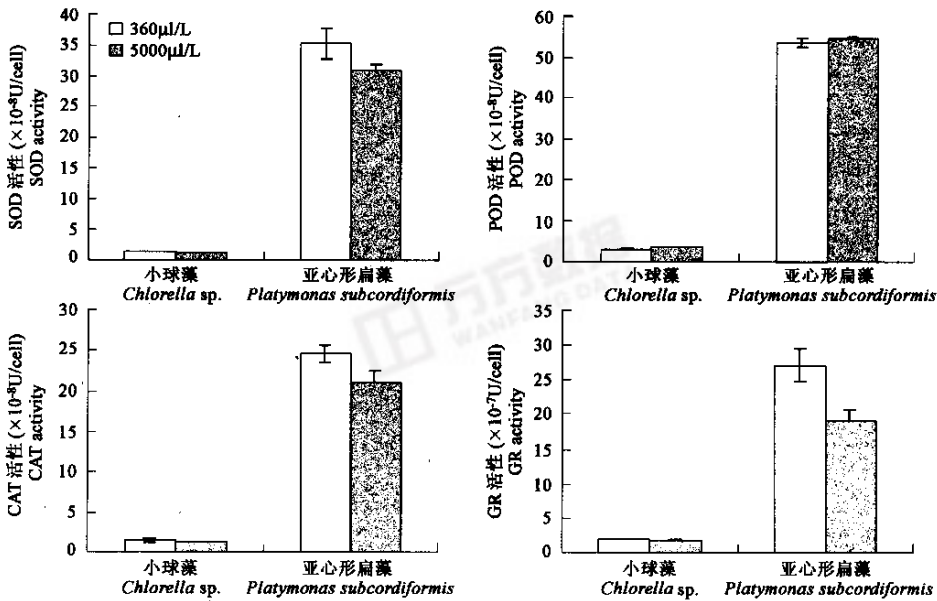


图 4 CO₂ 加富对小球藻和亚心形扁藻 SOD、POD、CAT 和 GR 活性的影响

Fig. 4 Effects of CO₂ enrichment on SOD、POD、CAT and GR activities of *Chlorella sp.* and *Platymonas subcordiformis*

3 讨论

实验中所用小球藻细胞直径 3~5μm,细胞个体比较小而且繁殖速度快;而亚心形扁藻细胞长 11~16μm,宽 7~9μm,厚 3.5~5μm,繁殖速度比小球藻慢。光合速率、Chla 含量和 Car 含量以及抗氧化酶活性因藻种差异而存在很大的差异。尽管品种差异很大,但变化趋势基本上是一致的,说明 CO₂ 加富的作用机理是相同的。CO₂ 浓度升高促进亚心形扁藻和小球藻生物量的提高,这与夏建荣等^[7]的 CO₂ 浓度加倍对水华鱼腥藻的结果是相似的。本文的结果还显示,与大气 CO₂ 浓度条件下培养相比,

CO₂ 加富极显著地提高了光合作用速率,这与 CO₂ 加富培养导致藻细胞有较高的生物量是一致的。根据张其德等^[23]的结果,这可能是由于 CO₂ 加富有利于藻光系统 II 的光化学效率的提高,光系统 II 的光化学效率的提高有利于把所捕获的光能以更高的速度和效率转化为化学能,为光合碳同化提供更充足的能量,这可能是 CO₂ 加富有利于光合速率提高的原因之一。

高 CO₂ 浓度使大型海藻的叶绿素 a 含量下降^[24,25]。但也有不同的结论,Johnston 和 Raven^[26]的实验结果表明,高 CO₂ 浓度培养的齿缘墨角藻中,叶绿素 a 水平与对照没有区别。本实验数据也表明叶绿素 a 和类胡萝卜素含量与对照相比没有太大变化。这可能是因为在通入高浓度 CO₂ 之后,叶绿体的数量明显增多,便于吸收更多的光能^[27],但与此同时细胞数目急剧增加,而细胞不断分裂可能导致平均直径(体积)则急剧减少,所以光合色素含量变化不明显。本实验中 CO₂ 加富使得可溶性蛋白含量下降,这与 Mercado 等^[25]结果一致。可溶性蛋白质的下降,可能与 CO₂ 浓度升高使 Rubisco 含量的下降有关^[28]。

MDA 是不饱和脂肪酸过氧化产物之一,它的含量多少代表了膜脂过氧化化的程度。本文结果显示 CO₂ 浓度升高使两种藻的 MDA 含量显著下降,这表明了高 CO₂ 对防止藻的氧化损伤具有一定的保护作用。

当植物生长的外在条件如温度、湿度、土壤中的水分、盐浓度等发生积聚变化或当大气污染(如 SO₂、臭氧)、紫外线辐射、某些农药及病原体等作用于植物时,都会使植物体产生大量的活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS),形成氧化损伤。这些比氧活泼的含氧化合物包括:超氧根阴离子(O₂^{·-})、氢氧根离子(OH⁻)、羟自由基(·OH)、过氧化氢(H₂O₂)等。活性氧可以攻击蛋白质、膜脂和其它蛋白组分的损伤。生物体在进化过程中形成了各种各样的酶来解除光化学或光化学产物的毒性,如 CAT 能将 H₂O₂ 转化为 H₂O 和 O₂;SOD 是一群含金属离子的酶,其功能是将 O₂^{·-}歧化成 H₂O₂ 和 O₂;GR 是一种黄素酶,每分子酶蛋白含有一分子的 FAD,由辅酶 NADPH 供氢,催化氧化型谷胱甘肽(GSSG),还原成还原型谷胱甘肽(GSH)。本实验中,CO₂ 浓度升高显著降低了 SOD、CAT 和 GR 活性,而 POD 活性受 CO₂ 浓度影响不大(图 4),SOD 是一种诱导酶,因此 SOD 活性的降低代表了 O₂^{·-}的产生速率的降低。CAT 和 GR 活性的降低可能是因为微藻细胞内 H₂O₂ 含量的降低。彭长连等^[29]认为抗氧化酶活性的降低是因为 CO₂ 加富降低了细胞代谢中去除活性氧的需求。CO₂ 升高时,CAT 活性降低可能是因为当 Rubisco 活性向羧化方向转移而 H₂O₂ 的去毒需要所致。高 CO₂ 下微藻较低氧化损伤的主要原因在于加富 CO₂ 可提高 pCO₂/O₂ 比率,增加 CO₂ 的同化,减少因 O₂ 作为电子受体而形成活性氧,而且 CO₂ 浓度的升高可以降低光呼吸形成的 H₂O₂。另一方面,CO₂ 浓度升高可能导致细胞对抗氧化活性需求的减少。Badiani 等^[30]的研究结果也表明高 CO₂ 下大豆叶片光合电子传递过程中·O₂⁻毒害削弱。也有不同的结果,任红旭等^[31]认为高 CO₂ 下的 SOD、POD、CAT、GR 的酶活性高于大气 CO₂ 下的活性。林久生和王根轩^[32]则认为 CO₂ 倍增下小麦氧化损伤减轻的主要原因在于细胞内抗氧化能力的加强。Rao 等^[11]发现 SOD 和 POX 的变化主要是因为酶蛋白含量的增加和/或新的同工酶的合成,他认为高 CO₂ 能提高植物的抗氧化能力。本实验结果则与彭长连等^[29]的结论一致,并支持微藻的膜脂过氧化损伤减轻的主要原因是因为活性氧含量的下降。

References:

- [1] Chen P P. Effects of elevated atmospheric carbon dioxide concentration on plants. *Bull. Biol.*, 2002, **37**(3): 20~22.
- [2] Quay P K, Tibrool B, Wong C S. Oceanic uptake of fossil fuel CO₂: carbon-13 evidence. *Science*, 1992, **256**: 74~79.
- [3] Zou D H, Gao K S. Effects of elevated CO₂ concentration on the photosynthesis and related physiological processes in marine macroalgae. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, **22** (10): 1750~1757.
- [4] Riebesell U, Wolf- Gladrow D A, Smetacek V. Carbon dioxide limitation of marine phytoplankton growth rates. *Nature*, 1993, **361**: 249~251.
- [5] Hein M, Sand-Jensen K. CO₂ increases oceanic primary production. *Nature*, 1997, **388**: 526~527.
- [6] Xia J R, Gao K S. Effects of high CO₂ concentration on growth and photosynthesis of *Spirulina Maxima*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, **25** (5): 474~780.
- [7] Xia J R, Gao K S, Ye H B. Responses of growth and photosynthesis of *Anabena Flosaquae* to elevated atmospheric CO₂ concentration. *Acta Phytocologica Sinica*, 2002, **26** (6): 652~655.
- [8] Tsuzuki M, Ohnuma E, Sato N, et al. Effects of CO₂ concentration during growth on fatty acid composition in microalgae. *Plant Physiol.*, 1990, **93**: 851~856.
- [9] Raven J A. Physiology of inorganic C acquisition and implication for resource use efficiency by marine phytoplankton: relation to increased CO₂ and temperature. *Plant Cell Environ.*, 1991, **14**: 779~794.
- [10] Polle A, Eiblmeier M, Sheppard L, et al. Responses of antioxidative enzymes to elevated CO₂ in leaves of beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings grown under a range of nutrient regimes. *Plant Cell and Environ.*, 1997, **20**: 1317~1321.
- [11] Rao M V, Hale B A, Ormrod D P. Amelioration of ozone-induced oxidative damage in wheat plants grown under high carbon dioxide. *Plant Physiol.*, 1995, **109**: 421~432.
- [12] Guillard R. L. D. et al. Studier on marine phytoplankton diatoms 1. *Cyclotella nana* Hustedt and *Denotula confervacea* (cleve). *Gran. Can. J. Microbiol.*, 1962, **8**: 229~239.

- [13] Jensen A. Chlorophyll and Carotenoids. In: Helebust J A and Carigie T S eds. *Handbook of Physiological Methods*. New York: Cambridge University Press, 1978. 59~70.
- [14] Gao S D, Wu Y P, Zhao X Y. The physiological effects of organotin on marine microalgae II. Effects of triphenyltin and tributyltin on photosynthesis of *Dicrateria Zhanjiangensis* and *Platymonas* sp. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 1994, **25** (4): 362~367.
- [15] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 1976, **72**: 248~254.
- [16] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels, *Anal. Biochem.*, 1971, **44** (5): 276~287.
- [17] Bewley R D. Physiological aspects of desiccation tolerance. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1979, **20**: 195~238.
- [18] Kar R K, Choudhuri M A. Possible mechanisms of light-induced chlorophyll degradation in senescing leaves of *Hydrilla verticillata*. *Physiol. Plant*, 1987, **70**: 729.
- [19] Kato M, Shimizu S. Chlorophyll metabolism in higher plants VII. Chlorophyll degradation in senescing tobacco leaves: phenolic-dependent peroxidative degradation. *Can. J. Bot.*, 1987, **65**: 729~735.
- [20] Rao M V, Paliyath G, Ormrod D P. Ultraviolet-B and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.*, 1996, **110**: 125~136.
- [21] Ellman G L. Tissue Sulfhydryl Groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1959, **82**: 70~77.
- [22] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1968, **125**: 189~198.
- [23] Zhang Q D, Lu C M, Feng L J, *et al.* Effects of elevated CO₂ on the primary conversion of light energy of alfalfa photosynthesis. *Acta. Bot. Sin.*, 1996, **38** (1): 77~82.
- [24] Garcia-Sanchez M J, Fernandez J A, Niell F X. Effect of inorganic carbon supply on the photosynthetic physiology of *Gracilaria tenuistipitata*. *Planta*, 1994, **194**: 55~61.
- [25] Mercado J M, Javier F, Gordilio L, *et al.* Effects of different levels of CO₂ on photosynthesis and cell components of the red alga *Porphyra leucosticta*. *J. Appl. Phycol.*, 1999, **11**: 455~461.
- [26] Johnston A M, Raven J A. Effects of Culture in high CO₂ on the photosynthetic physiology of *Fucus serratus*. *Br. Phycol. J.*, 1990, **25**: 75~82.
- [27] Xia J R, Gao K S. Change of cell structure of *Chlorella pyrenoidosa* grown under different CO₂ concentration. *Journal of Wuhan Botanica Research*, 2002, **20** (5): 403~404.
- [28] Long S P, Baker N R, Rines C A. Analysing the response of photosynthetic CO₂ assimilation to long-term elevation of atmospheric carbon dioxide concentration. *Vegetatio*, 1993, **104/105**: 33~45.
- [29] Peng C L, Lin Z F, Lin G Z. Changes of antioxidative ability in leaves of rice cultivars grown under enriched CO₂. *Acta Agronomica Sinica*, 1999, **25** (1): 39~43.
- [30] Badiani M, Annibal A D, Paolacci A R, *et al.* The antioxidant status of soybean (*Glycinemax*) leaves grown under natural CO₂ enrichment in the field. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1993, **20**: 275~284.
- [31] Ren H X, Chen X, Wu D X. Effects of elevated CO₂ on photosynthesis and antioxidative ability of broad bean plants grown under drought condition. *Acta Agronomica Sinica*, 2001, **27** (6): 729~736.
- [32] Lin J S, Wang G X. Effects of doubled CO₂ concentration on antioxidant enzymes and programmed cell death of wheat leaves under osmotic stress. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 2000, **26** (5): 453~457.

参考文献:

- [1] 陈平平. 大气二氧化碳浓度升高对植物的影响. *生物学通报*, 2002, **37**(3): 20~22.
- [3] 邹定辉, 高坤山. 高浓度 CO₂ 对大型海藻光合作用及有关过程的影响. *生态学报*, 2002, **22**(10): 1750~1757.
- [6] 夏建荣, 高坤山. 高浓度 CO₂ 对极大螺旋藻生长和光合作用的影响. *水生生物学报*, 2001, **25**(5): 474~780.
- [7] 夏建荣, 高坤山, 叶海波. 水华鱼腥藻生长与光合作用对大气 CO₂ 浓度升高的响应. *植物生态学报*, 2002, **26**(6): 652~655.
- [14] 高尚德, 吴以平, 赵心玉. 有机锡对海洋微藻的生理效应 II. 三苯基锡和三丁基锡对扁藻和金藻光合作用的影响. *海洋与湖沼*, 1994, **25** (4): 362~367.
- [23] 张其德, 卢从明, 冯丽洁, 等. CO₂ 加富对紫花苜蓿光合作用原初光能转换的影响. *植物学报*, 1996, **38** (1): 77~82.
- [27] 夏建荣, 高坤山. 不同 CO₂ 浓度下培养的蛋白核小球藻细胞结构的变化. *武汉植物学研究*, 2002, **20**(5): 403~404.
- [29] 彭长连, 林植芳, 林桂珠. 加富 CO₂ 条件下水稻叶片抗氧化能力的变化. *作物学报*, 1999, **25**(1): 39~43.
- [31] 任红旭, 陈雄, 吴冬秀. CO₂ 浓度升高对于旱胁迫下蚕豆光合作用和抗氧化能力的影响. *作物学报*, 2001, **27**(6): 729~736.
- [32] 林久生, 王根轩. CO₂ 倍增对渗透胁迫下小麦叶片抗氧化酶类及细胞程序性死亡的影响. *植物生理学报*, 2000, **26**(5): 453~457.