

CO₂ 加富对塔玛亚历山大藻叶绿素荧光 参数及产毒的影响*

徐金涛¹ 庞敏^{2①} 马新¹ 毛雪薇³ 吴振兴⁴ 陈洪举³
王燕² 张学雷²

(1. 国家海洋局秦皇岛海洋环境监测中心站 秦皇岛 066002; 2. 国家海洋局第一海洋研究所海洋生态研究中心 青岛 266061; 3. 中国海洋大学环境科学与工程学院 青岛 266100; 4. 山东出入境检验检疫局检验检疫技术中心 青岛 266002)

摘要 由大气中 CO₂ 浓度升高引起的海洋酸化, 是全球性的重大环境问题之一。本研究采用实验生态学的方法, 以塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)为研究对象, 分析其在 CO₂ 加富条件下叶绿素荧光动力学参数及产毒特征的变化。调制叶绿素荧光结果显示, CO₂ 加富对塔玛亚历山大藻的 PS 最大光化学量子产量(F_v/F_m)、最大相对电子传递效率($rETR_{max}$)有显著影响($P < 0.05$), 且随着培养时间的增长 F_v/F_m 、 $rETR_{max}$ 均降低, 对半饱和光强(I_k)、快速光曲线初始斜率(α)却无显著影响($P > 0.05$)。结果说明 CO₂ 加富能促进塔玛亚历山大藻的 PS 最大光化学量子产量, 提高其最大光能转换效率和相对最大电子传递效率。高效液相色谱法分析结果显示, 该株塔玛亚历山大藻主要产漆沟藻毒素 1(GTX1)、漆沟藻毒素 4(GTX4)、N-磺酰氨基甲酰基毒素(C1)及 N-磺酰氨基甲酰基毒素(C2)四种 PSTs 毒素, CO₂ 加富不改变主要麻痹性贝毒(PSTs)的种类组成, 但能显著提高氨基甲酸酯类毒素(GTX1、GTX4)产量($P < 0.05$), 而降低 N-磺酰氨基甲酰基类毒素(C1、C2)产量($P < 0.05$), 说明加富能使塔玛亚历山大藻所产毒素发生转化, 进而影响藻细胞的整体毒性。

关键词 塔玛亚历山大藻; CO₂ 加富; 叶绿素荧光参数; 麻痹性贝毒

中图分类号 P735 doi: 10.11693/hyhz20150500145

海洋作为全球最大的碳库, 能不断吸收大气中持续升高的 CO₂, 从而导致海水 pH 值下降(酸度增加), 该过程即海洋酸化(石莉等, 2011)。海洋酸化导致海水碳酸盐系统发生变化, 直接影响依赖于海水化学环境的海洋生物, 从而威胁整个海洋生态系统和海洋经济(唐启升等, 2013)。近年来, 赤潮频频暴发, 其中有毒有害赤潮所占比例也逐年增长(中国海洋灾害公报 1999—2013), 海洋酸化的加剧与赤潮密切相关(Chen *et al.*, 2014), 而有毒赤潮藻类能否出现光合作用的相关响应、能否改变其毒素组成以适应海洋酸化的加剧均已成为海洋生态学家新的关注点

(Falkowski, 2012; Scarlett *et al.*, 2013)。

塔玛亚历山大藻是我国近海常见有毒赤潮藻种, 自北向南均有分布, 并曾引发过赤潮(郭皓, 2004)。它是主要进行光合自养的甲藻(Cabrero *et al.*, 2014), 并能产生麻痹性贝毒(paralytic shellfish toxins, PSTs)积累在滤食性的双壳贝类体内, 威胁消费者健康(Asakawa *et al.*, 2005)。近年来, 国内外在塔玛亚历山大藻的形态结构与分类(齐雨藻等, 1994)、生长环境影响因素(颜天等, 2002)、种间竞争机制(由希华等, 2006)、分子生物学鉴定(Destombe *et al.*, 1992)等方面开展研究并取得重要进展。研究表明, CO₂ 是塔玛亚

* 国家海洋局近岸海域生态环境重点实验室开放基金资助项目, 201106 号; 青岛市科技计划基础研究项目, 13-1-4-234-jch 号; 国家自然科学基金青年项目, 31101875 号; 国家海洋局青年海洋科学基金项目, 2012123 号; 国家海洋局第一海洋研究所基本科研业务费专项基金项目, GY02-2011T07 号。徐金涛, 硕士, E-mail: xjtcap@163.com

通讯作者: 庞敏, 助理研究员, E-mail: pangmin@fio.org.cn

收稿日期: 2015-05-20, 收修改稿日期: 2015-10-02

历山大藻光合作用的主要底物和所产 PSTs 中嘌呤环及 R4 基团上 C 的主要来源, 海洋环境中 CO_2 浓度的升高对非钙化的塔玛亚历山大藻生长会产生一定的促进作用(Eberlein *et al.*, 2014)。目前通过模拟大气中 CO_2 浓度升高, 采用活体叶绿素荧光诱导技术(pulse-amplitude-modulation, PAM), 根据叶绿素荧光参数变化来研究该藻种光合作用的响应, 以及采用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)技术分析其产毒特征均尚未见报道。

本文选用自养有毒甲藻——塔玛亚历山大藻为研究对象, 模拟大气中 CO_2 浓度升高, 采用 PAM 技术检测叶绿素荧光动力学参数的变化, 以分析环境中 CO_2 加富对塔玛亚历山大藻光合作用的影响, 同时采用 HPLC 技术分析 CO_2 加富条件下塔玛亚历山大藻所产毒素, 以期研究海洋浮游微藻对海洋酸化的响应提供基础资料和依据。

1 材料与方法

1.1 藻种及其培养条件

实验用塔玛亚历山大藻种来自国家海洋局第一海洋研究所种质室。海水取自青岛近岸, $0.45\mu\text{m}$ 醋酸纤维膜过滤, 高温高压(121°C , $1.2\times 10^5\text{Pa}$)灭菌后, 冷却至室温; 培养液选用 *f/2* 营养盐配方。藻悬液置于国家海洋局第一海洋研究所人工气候培养室培养, 温度(20 ± 1) $^\circ\text{C}$, 光照强度 $120\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 光周期 12:12, pH 为 8.0 ± 0.1 , 对数生长期接种。

1.2 实验组和对照组的设定

对数生长期的藻液接种到装有 1500mL 海水的 2L 三角烧瓶中, 采用一次性培养的方法, 实验组(加富组)通含 $1000\times 10^{-6}\text{CO}_2$ (IPCC 预计本世纪末达到的大气 CO_2 浓度)(石莉等, 2011)的过滤空气; 对照组通含 $370\times 10^{-6}\text{CO}_2$ 的过滤空气, 通气玻璃管距液面一定距离, 气体流量控制在 $300\text{mL}/\text{min}$ 。每组实验设置 3 个平行。每隔 2 天于下午 14:00 进行取样, 进行各参数的测定, 共取样 10 次。

1.3 细胞密度、叶绿素含量及叶绿素荧光参数的测定

叶绿素含量、叶绿素荧光参数采用脉冲-振幅-调制叶绿素荧光仪(Phyto-PAM, ED, Walz, Effeltrich, Germany)进行测定。取经过 20min 暗适应的藻液 3mL 于测量皿中, 打开调制测量光, 待读数稳定时, 打开饱和脉冲, 可测得光系统 (PS) 最大叶绿素荧光 F_m 和初始最小叶绿素荧光 F_0 , 此时的 Y 即为 F_v/F_m , 其中 $F_v = F_m - F_0$ 。 F_0 的弱检测光强为 $1\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, F_m

的脉冲饱和光强为 $1064\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 持续 20ms, 每组样品测定 3 次。

利用调制叶绿素荧光技术, 在每一光合有效辐射(PAR)强度下适应很短的时间, 得出的典型光响应曲线称为快速光曲线(Rapid Light Curve, RLC)。RLC 测定时, 设定的光强梯度为 16、32、64、264、464、664、864、1064、1264、1464 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 光适应时间为 10s, 测量结束后, 利用仪器自带的 Eilers-Peeters 模型进行拟合, 拟合后得到 $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 、 α 、 I_k 三个光合作用过程中的重要参数。 $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 相当于最大光合速率 P_m , α 反映对光的利用效率(捕光能力), I_k 反映了样品对强光的耐受能力。

1.4 毒素的收集与测定

塔玛亚历山大藻是典型的产 PSTs 藻株, 毒素的收集与测定方法参照文献(陈建华, 2013)。将实验组和对照组在第 19 天取样完成后剩余的每瓶藻液分别过滤到玻璃纤维膜(GF/C, $\Phi_0=47\text{mm}$, $0.45\mu\text{m}$)上, 随即滤膜剪碎, 放入离心管中, 加入 3mL HAc(0.05M)溶液, 在冰浴中用超声波破碎仪(功率 200W, 处置 20s 后静置 40s, 重复 5 次)击碎藻细胞; 静置提取 10min 后 6976g 离心 5min, 吸取上清液用水性滤头(ANPEL, SCAA-102, 13mm, $0.22\mu\text{m}$)过滤至样品瓶中, 用于毒素的液相色谱仪分析。分析中使用的毒素标准(GTX1-4, dcGTX2、3, GTX5, C1、2, STX, NEO, dcSTX, dcNEO)均购自加拿大国家海洋生物研究所(National Research Council, NRC), 检测方法参照 Diener 等(2006)所建立的梯度洗脱方法进行。

1.5 数据统计与分析

运用 SPSS for windows 16.0 和 Origin8.5 进行统计分析和绘图。首先对数据进行正态性和方差齐性检验, 然后采用配对数据 T 检验(Paired T-Test)分析实验组和对照组之间的差异显著性, 再采用 One-Way ANOVA 分析培养时间对实验组和对照组荧光参数 F_v/F_m 、 $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 、 α 、 I_k 是否具有显著影响。上述统计分析差异的置信度水平设为 0.05(显著)和 0.01(极显著)。

2 结果

2.1 CO_2 加富对塔玛亚历山大藻 PS 最大光化学量子产量 F_v/F_m 的影响

如图 1, 在培养时间内, 实验组的 F_v/F_m 均显著高于对照组(除第 17 天外)。结果说明, CO_2 加富对 F_v/F_m 具有极显著影响($P<0.01$), 能促进塔玛亚历山

大藻 PSII 最大光化学量子产量, 提高其最大光能转换效率, 在后期 CO₂ 加富会起到抑制作用。

此外, 培养时间对实验组和对照组 F_v/F_m 均有显著影响 ($P < 0.05$), 实验组和对照组的 F_v/F_m 均随着培养时间而降低, 对照组的变化范围是 0.51—0.60, 实验组的变化范围是 0.52—0.65。这说明随着培养时间 PSII 的最大光化学量子产量会降低。同时, F_v/F_m 还是藻类生理状态的重要指标, 对甲藻而言, 未受生理胁迫的 F_v/F_m 一般稳定在 0.65 左右 (Kolber *et al.*, 1988)。因此, 此结果还说明随着作用时间的增长, 实验组和对照组的塔玛亚历山大藻均受到一定程度的抑制。

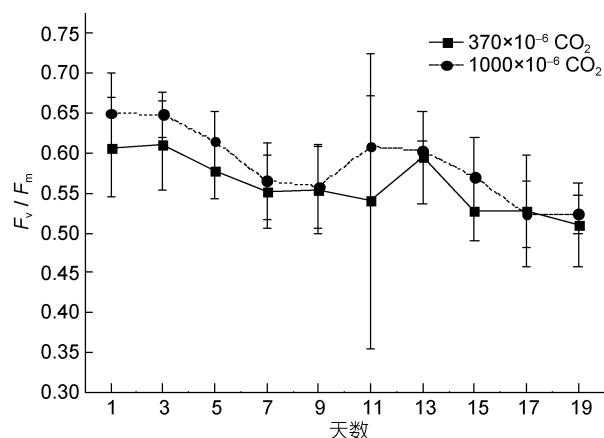


图 1 实验组和对照组的 F_v/F_m 随培养时间的变化

Fig.1 Variation in F_v/F_m of the experimental and control group vs. culturing time

2.2 CO₂ 加富对快速光曲线的影响

如图 2a, 实验组 $rETR_{max}$ 前 13 天显著高于对照组 ($P < 0.05$), 第 15、17 天开始显著低于对照组 ($P < 0.05$)。结果说明, CO₂ 加富对 $rETR_{max}$ 有显著影响 ($P < 0.05$), 在培养前期, CO₂ 加富能促进塔玛亚历山大藻的相对最大电子传递效率 (即最大光合速率), 培养 15 天后, CO₂ 加富却抑制塔玛亚历山大藻的相对最大电子传递效率; 然而对 I_k 和 α 影响不显著 ($P > 0.05$), 说明 CO₂ 加富对塔玛亚历山大藻的光能利用效率及耐受强光的能力影响不显著 (如图 2b、c)。

对于任一组, 培养时间对 $rETR_{max}$ 、 I_k 均有显著影响 ($P < 0.05$), 而对 α 没有显著影响 ($P > 0.05$)。随着培养时间增长, 实验组的 $rETR_{max}$ 均先下降后上升, 最后保持稳定, 变化范围是 257.6—434.8, 对照组的 $rETR_{max}$ 则保持稳定, 变化范围是 219.5—317.7; 实验组的 I_k 均随呈下降趋势, 变化范围是 1119.7—1661, 对照组的 I_k 均逐渐上升, 变化范围是 961.5—1492.5。结果说明, 塔玛亚历山大藻的最大光合速率在 CO₂

未加富时基本保持稳定, 而在 CO₂ 加富时则呈现随培养时间增长而下降趋势; 耐受强光的能力在 CO₂ 未加富时呈上升趋势, 在 CO₂ 加富时呈现下降趋势。

2.3 CO₂ 加富对塔玛亚历山大藻产毒的影响

如图 3 所示, 实验组和对照组均检出 PSTs 毒素, 其中占优势的是 GTX1、GTX4、C1 及 C2 毒素, 实验

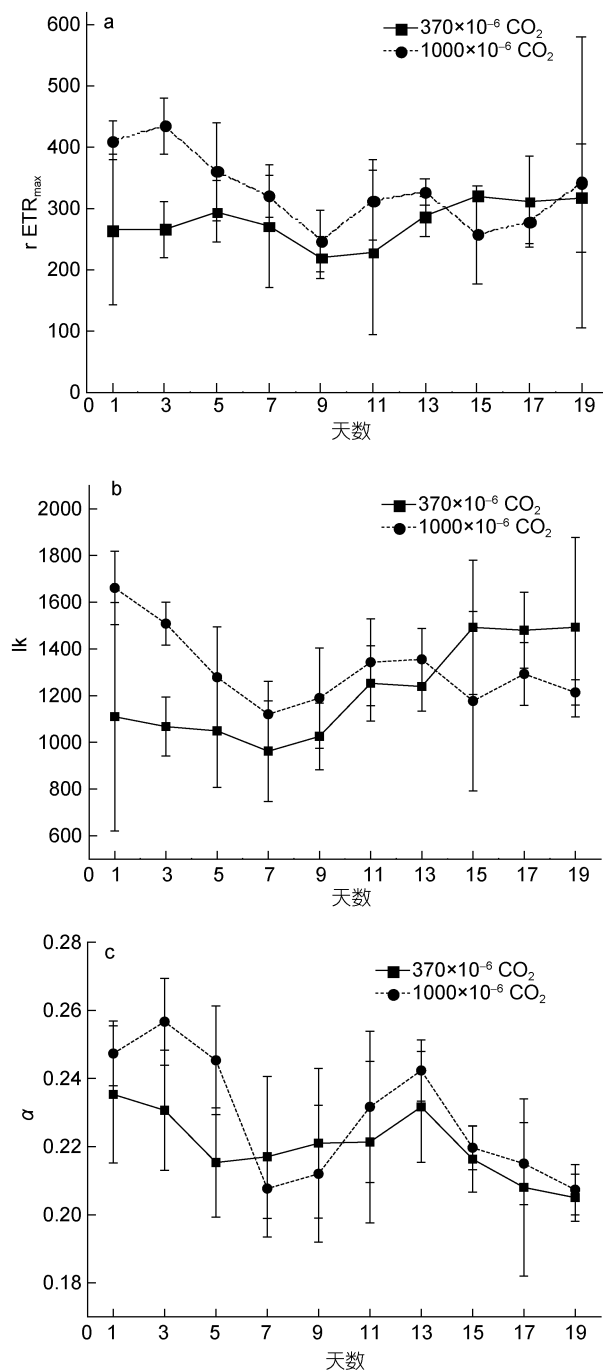


图 2 实验组和对照组的快速光曲线拟合参数 $rETR_{max}$ 、 I_k 、 α 随培养时间的变化

Fig.2 Variations of $rETR_{max}$, I_k , and α of the experimental and control group vs. culturing time

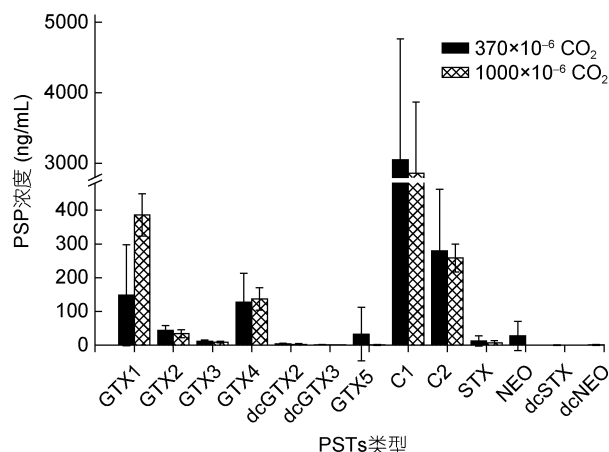


图3 实验组和对照组的 PSTs 含量比较

Fig.3 Concentration of PSTs component extracted from the experimental and control group

组 GTX1、GTX4、C1 及 C2 毒素分别占毒素总量的 10.5%、3.7%、77.3%、7.0%，对照组 GTX1、GTX4、C1 及 C2 毒素则分别占毒素总量的 4.0%、3.4%、81.6%、7.5%，毒素 C1 含量均远超过该组内其余三种毒素含量；毒素 GTX1、GTX4 的含量实验组显著高于对照组，毒素 C1、C2 的含量对照组显著高于实验组 ($P < 0.05$)。结果说明，本实验所选用塔玛亚历山大藻株主要是产氨基甲酸酯类和 N-磺酰氨基甲酰基类两类毒素，并且 N-磺酰氨基甲酰基类毒素占绝对优势；CO₂ 加富促使氨基甲酸酯类毒素产量提高，而导致 N-磺酰氨基甲酰基类毒素产量下降。

3 讨论

甲藻是浮游藻类的重要成员，对环境因子的变化极为敏感。为了适应环境 CO₂ 浓度的升高，有毒甲藻生长及产毒特征也将发生一系列响应性的变化。

本研究发现，CO₂ 加富能促进塔玛亚历山大藻 PSII 最大光化学量子产量(图 1)和最大相对电子传递效率(图 2)，这可能是由于 CO₂ 作为光合作用的底物，在 CO₂ 加富条件下塔玛亚历山大藻启动了自身 CO₂ 浓缩机制(CO₂ concentrating mechanisms, CCMs)提高了 1,5—二磷酸核酮糖羧化酶(RuBP)的活性，增强了 CO₂ 的固定能力，而 RuBP 加氧酶的活性受到抑制，降低了光呼吸，同时 CO₂ 加富能相对提高光系统上蛋白的活性及其合成效率，从而提高光合作用活性(张道允等, 2007)。此外，塔玛亚历山大藻自身也会有一定的适应机制，在 CO₂ 底物浓度提高而光照强度不变的条件下，塔玛亚历山大藻通过提高对光能的利用效率(初始斜率 α)，和耐受强光的能力(半饱和光

强 I_k)，来提高光合速率(Cabrerizo *et al.*, 2014)。

光系统 (PS) 的最大光化学量子产率 F_v/F_m 反映了藻类进行光合作用的最大潜力，同时也是反映藻类生理状况的重要指标。已有研究表明，当微藻受到光照、温度、盐度、营养盐等环境因子胁迫时， F_v/F_m 显著降低(梁英等, 2007)。在本研究中，随着培养时间增长实验组和对照组的 F_v/F_m 均呈现出下降趋势，这与前人的研究结果(梁英等, 2007; Napoléon *et al.*, 2013)是一致的。 I_k 反映藻类耐受强光的能力，在 RLC 中为 P_m 与 α 之比，本研究中 CO₂ 加富对 I_k 影响不显著但耐受强光能力表现出随培养时间减弱的趋势，这可能是由于 PS 积累过剩的光能而破坏反应中心(Sage *et al.*, 1989)，并与丁柳丽等(2014)对大型绿藻石莼(*Ulva lactuca*)的研究一致。

叶绿素 a 是海洋浮游植物中除蓝藻以外均含有的特征色素，一般用其含量来表示浮游植物的生物量，本研究中利用 Photo-PAM 在一定的调制频率下测定活体叶绿素荧光值，通过与 F_v/F_m 、 $rETR_{max}$ 、 I_k 、 α 相关性分析发现，对照组 chl a 含量与 F_v/F_m 呈现显著负相关(如图 4a)，与 $rETR_{max}$ 、 I_k 、 α 相关性不显著(图未列出)，实验组 chl a 含量与 F_v/F_m 、 $rETR_{max}$ 、 I_k 、 α 呈现(极)显著负相关(如图 4b—e)，这说明随着培养时间的增长，藻类生长从对数期逐渐进入平台期，由于生长空间和营养条件的限制，塔玛亚历山大藻的生长逐渐受到环境胁迫，CO₂ 的加富效应不再明显，最大光化学量子产量 F_v/F_m 等叶绿素荧光参数均呈现降低趋势。

此外，PSTs 毒素是含有两个胍基的三环化合物(图 5)，碳元素是其结构中不可缺少的部分(于仁诚等, 1998)，CO₂ 的加富必将对其产量造成影响。根据基团相似性可将 PSTs 毒素分为五类：一是氨基甲酸酯类毒素，包括石房蛤毒素(saxitoxin, STX)、新石房蛤毒素(neosaxitoxin, NEO)、漆沟藻毒素 1-4(gongautoxin1-4, GTX1-4)；二是 N-磺酰氨基甲酰基类毒素，包括石房蛤毒素 5、6(GTX5、6)、N-磺酰氨基甲酰基毒素 1-4(C1-4)；三是脱氨基甲酰基类毒素，包括脱氨基甲酰基石房蛤毒素(Decarbamoyl saxitoxin, dcSTX)、脱氨基甲酰基新石房蛤毒素(Decarbamoyl neosaxitoxin, dcNEO)、脱氨基甲酰基漆沟藻毒素 1-4(Decarbamoyl gongautoxin1-4, dcGTX1-4)；四是脱氧脱氨基甲酰基类毒素，包括脱氧脱氨基甲酰基石房蛤毒素(Deoxydecarbamoyl saxitoxin, doSTX)、脱氧脱氨基甲酰基漆沟藻毒素 2、3(Deoxydecarbamoyl

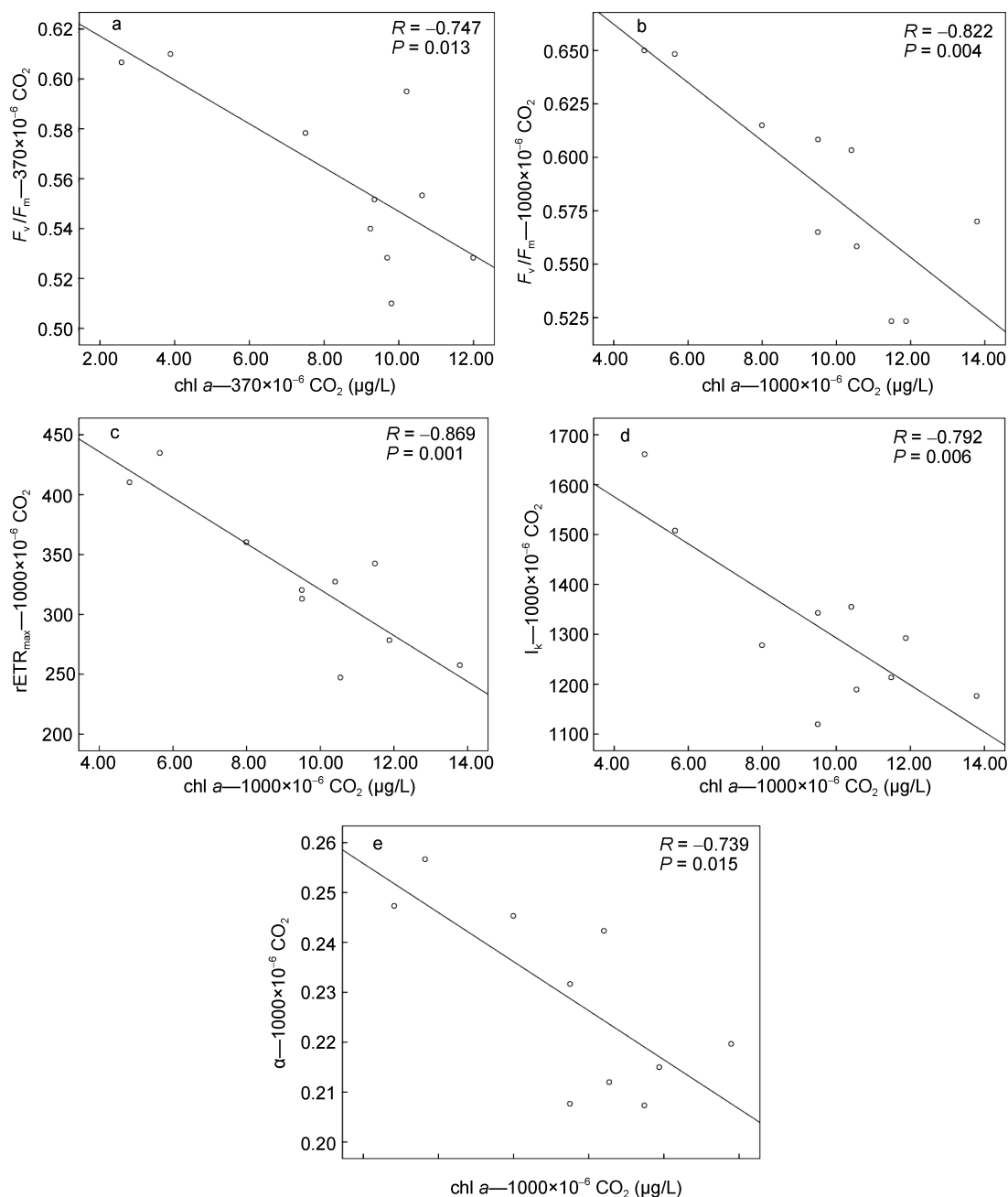


图 4 对照组 chl *a* 与 F_v/F_m 及实验组 chl *a* 与 F_v/F_m 、 $rETR_{max}$ 、 I_k 、 α 相关性分析

Fig.4 Correlation analysis between chlorophyll *a* and F_v/F_m in the control group and between chlorophyll *a* and F_v/F_m , $rETR_{max}$, I_k or α in the experimental group

gongautoxin2, 3, doGTX2, 3); 五是 N-羟基类衍生物, 包括 N-羟基石房蛤毒素(N-hydroxycarbamoyl saxitoxin, HySTX)、N-羟基新石房蛤毒素(N-hydroxycarbamoyl neossaxitoxin, HyNeo)。不同地域生长的塔玛亚历山大藻株产生的 PSTs 种类差异很大(Anderson *et al*, 1996; 林燕棠等, 1999), 在本研究所用塔玛亚历山大藻主要分离自渤海, 所产毒素主要由 GTX1、GTX4、C1 及 C2 毒素组成, 实验组和对照组中其总和均超过 97%, 其中 C1 占

绝对优势, CO₂ 加富并未改变毒素 C1 含量的优势地位, 但是 CO₂ 加富促使氨基甲酸酯类毒素(GTX1、GTX4)产量提高, 而导致 N-磺酰氨基甲酰基类毒素(C1、C2)产量下降。这可能是由于 CO₂ 加富导致藻细胞 N-磺酰氨基甲酰基类毒素(C1、C2)向氨基甲酸酯类毒素(GTX1、GTX4)转化, 从而对其整体毒性造成影响, 但由于塔玛亚历山大藻产毒还受到诸如营养盐、温度、盐度等多种环境因子的影响, CO₂ 加富的影响还需进一步探讨。

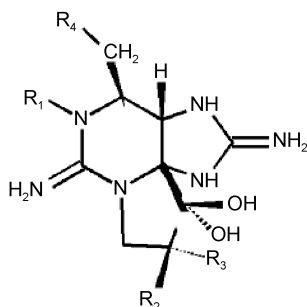


图 5 麻痹性贝毒的结构式(Baden,1983)

Fig.5 The structure of paralytic shellfish poisoning (Baden, 1983)

4 结论

塔玛亚历山大藻作为有毒赤潮甲藻的典型成员,在特定环境条件下,其叶绿素荧光参数及产毒均对CO₂加富会作出响应,具体表现在能提高其最大光能转换效率、相对最大电子传递效率以及促使产毒素发生转化,能为研究海洋浮游微藻对海洋酸化的响应提供基础资料和依据。

参 考 文 献

- 丁柳丽, 邓亚运, 邹定辉, 2014. 大气 CO₂ 浓度和温度变化对石莼生长及其叶绿素荧光特性的影响. 广西科学, 21(6): 587—595
- 于仁诚, 周名江, 1998. 麻痹性贝毒研究进展. 海洋与湖沼, 29(3): 330—338
- 石莉, 桂静, 吴克勤, 2011. 海洋酸化及国际研究动态. 海洋科学进展, 29(1): 122—128
- 由希华, 王宗灵, 郝彦菊等, 2006. 东海原甲藻与塔玛亚历山大藻种群增长过程与种间竞争研究. 海洋科学进展, 24(4): 504—510
- 齐雨藻, 钱锋, 1994. 大鹏湾几种赤潮甲藻的分类学研究. 海洋与湖沼, 25(2): 206—210
- 张道允, 许大全, 2007. 植物光合作用对 CO₂ 浓度增高的适应机制. 植物生理与分子生物学学报, 33(6): 463—470
- 陈建华, 2013. 我国典型贝类增殖养殖海域藻毒素组成、分布状况及贝类染毒特征分析. 北京: 中国科学院研究生院硕士学位论文
- 林燕棠, 贾晓平, 杨美兰等, 1999. 中国沿岸染毒贝类的麻痹性毒素. 热带海洋, 18(1): 90—96
- 郭皓, 2004. 中国近海赤潮生物图谱. 北京: 海洋出版社
- 唐启升, 陈镇东, 余克服等, 2013. 海洋酸化及其与海洋生物及生态系统的关系. 科学通报, 58(14): 1307—1314
- 梁英, 冯力霞, 尹翠玲等, 2007. 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. 海洋科学, 31(1):

71—76

- 颜天, 周名江, 钱培元, 2002. 环境因子对塔玛亚历山大藻生长的综合影响. 海洋学报, 24(2): 114—120
- Anderson D M, Kulis D M, Qi Y Z *et al*, 1996. Paralytic shellfish poisoning in southern China. Toxicon, 34(5): 579—590
- Asakawa M, Takayama H, Beppu R *et al*, 2005. Occurrence of paralytic shellfish poison (PSP)-producing dinoflagellate *Alexandrium tamarense* in Hiroshima Bay, Hiroshima Prefecture, Japan, during 1993-2004 and its PSP profiles. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 46(6): 246—250
- Baden D G, 1983. Marine food-borne dinoflagellate toxins. International Review of Cytology, 82: 99—150
- Cabrero M J, Carrillo P, Villafañe V E *et al*, 2014. Current and predicted global change impacts of UVR, temperature and nutrient inputs on photosynthesis and respiration of key marine phytoplankton groups. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 461: 371—380
- Chen S W, Beardall J, Gao K S, 2014. A red tide alga grown under ocean acidification up-regulates its tolerance to lower pH by increasing its photophysiological functions. Biogeosciences Discussions, 11(5): 6303—6328
- Destombe C, Cembella A D, Murphy C A *et al*, 1992. Nucleotide sequence of the 18S ribosomal RNA genes from the marine dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Gonyaulacales, Dinophyta). Phycologia, 31(1): 121—124
- Diener M, Erler K, Hiller S *et al*, 2006. Determination of Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) toxins in dietary supplements by application of a new HPLC/FD method. European Food Research and Technology, 224(2): 147—151
- Eberlein T, Van de Waal D B, Rost B, 2014. Differential effects of ocean acidification on carbon acquisition in two bloom-forming dinoflagellate species. Physiologia Plantarum, 151(4): 468—479
- Falkowski P, 2012. Ocean science: The power of plankton. Nature, 483(7387): S17—S20
- Kolber Z, Zehr J, Falkowski P, 1988. Effects of growth irradiance and nitrogen limitation on photosynthetic energy conversion in photosystem II. Plant Physiology, 88(3): 923—929
- Napoléon C, Raimbault V, Claquin P, 2013. Influence of nutrient stress on the relationships between PAM measurements and carbon incorporation in four phytoplankton species. PLoS ONE, 8(6): e66423
- Sage R F, Sharkey T D, Seemann J R, 1989. Acclimation of photosynthesis to elevated CO₂ in five C₃ species. Plant Physiology, 89(2): 590—596
- Scarlett T, Tina B, Elizabeth S *et al*, 2013. Sensitivity of Antarctic phytoplankton species to ocean acidification: Growth, carbon acquisition, and species interaction. Limnology and Oceanography, 58(3): 997—1007

CARBON DIOXIDE ENRICHMENT AFFECTS CHLOROPHYLL FLUORESCENCE AND TOXIN PRODUCTION OF *ALEXANDRIUM TAMARENSE*

XU Jin-Tao¹, PANG Min², MA Xin¹, MAO Xue-Wei³, WU Zhen-Xing⁴, CHEN Hong-Ju³,
WANG Yan², ZHANG Xue-Lei²

(1. Qinhuangdao Marine Environmental Monitoring Central Station of SOA, Qinhuangdao 066002, China; 2. Marine Ecology Research Center, First Institute of Oceanography, SOA, Qingdao 266061, China; 3. College of Environmental and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100 China; 4. Technique Center of Shandong Exit-Entry Inspection and Quarantine Bureau of China, Qingdao 266002, China)

Abstract Ocean acidification, caused by the rising atmospheric CO₂, is one of the serious global environmental problems. We investigated the effect of CO₂ enrichment on chlorophyll fluorescence and toxin production of *Alexandrium tamarense*. Results of PAM (Pulse-Amplitude-Modulation) chlorophyll fluorometer show that CO₂ enrichment had significant effects on the maximum quantum yield of PS (F_v/F_m) and the maximum relative electron transport rate (rETR_{max}) of *A. tamarense* ($P < 0.05$), and the parameters decreased with the culture time. However, CO₂ enrichment had little effects on the minimum saturating irradiance (Ik) or the light energy utilization efficiency (α) ($P > 0.05$). Therefore, the potential maximum quantum yield of PS might be promoted with enriched CO₂ and the optimal light energy conversion efficiency and maximum relative electron transport rate might be improved. In addition, result of toxin detection in high performance liquid chromatography show that *A. tamarense* mainly produced GTX1, GTX4, C1, and C2 toxins as the main PSTs component. CO₂ enrichment did not obviously affect the composition of PSTs toxins, but increased the carbamate toxins (GTX1, GTX4) productions, and reduced N-sulfo-carbamoyl toxins (C1, C2), suggesting that PSTs toxins might be transmuted by enriched CO₂.

Key words *Alexandrium tamarense*; CO₂ enrichment; chlorophyll fluorescence parameters; paralytic shellfish poisoning