

NaHSO₃对盐生杜氏藻生长和光合色素含量的影响

程建峰^{1,2}, 胡芬红¹, 沈允钢¹

(1. 中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所, 上海 200032; 2. 江西农业大学农学院, 江西 南昌 330045)

摘要: 为优化盐生杜氏藻营养盐配方、降低养殖成本、提高生物量及色素积累, 研究了不同浓度的安全环保的植物循环光合磷酸化促进剂——NaHSO₃ (0.40 mM·L⁻¹) 溶液对盐生杜氏藻生长和光合色素含量的影响。结果表明, NaHSO₃ 可显著促进盐生杜氏藻生长, 提高叶绿素 a (Chl a) 和 b (Chl b) 含量、叶绿素总量 (Chl)、类胡萝卜素含量 (Car) 和 Chl/Car; 促进效应随浓度增加表现为先升后降, 低浓度 (<0.10 mM·L⁻¹) 效应较好, 以 0.07 mM·L⁻¹ 为最佳。NaHSO₃ 提高 Chl b 的效应大于 Chl a, 降低 Chl a/Chl b 比值, 随浓度增加表现为先降后升, 以 0.07 mM·L⁻¹ 降低最大。本试验条件下, 盐生杜氏藻生物量与光合色素含量间及各光合色素含量间呈显著或极显著相关, 与生物量 (Y, g·L⁻¹) 相关最大的是 Chl b ($X_{\text{Chl b}}$, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 符合 $Y=0.284X_{\text{Chl b}}-0.883$ ($R^2=0.994^{**}$) (**表示 Y 与 X 之间在 0.01 水平上极显著相关, 下同); 其次为 Chl (X_{Chl} , $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), $Y=0.100X_{\text{Chl}}-2.022$ ($R^2=0.993^{**}$), 为生长动态的及时掌握提供了有效的间接衡量指标。

关键词: 盐生杜氏藻 *Dunaliella salina*; NaHSO₃; 生长; 生物量; 光合色素

中图分类号: Q945.11 文献标识码: A 文章编号: 1009-5470(2010)03-0065-06

Effects of NaHSO₃ on the growth and contents of photosynthetic pigments in *Dunaliella salina*

CHENG Jian-feng^{1,2}, HU Fen-hong¹, SHEN Yun-gang¹

(1. Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, China Academy of Sciences, Shanghai 200032, China; 2. College of Agronomy, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: Bisulfite (NaHSO₃) is a substance to accelerate plant cyclic photophosphorylation that can be used safely and environmentally friendly. In order to optimize the nutrients formula, decrease the production cost and improve the biomass and pigment accumulation of *Dunaliella salina*, the authors investigated the effects of different concentrations (0.00–0.40 mM·L⁻¹) of NaHSO₃ on the biomass and photosynthetic pigment contents. The results showed that NaHSO₃ could significantly improve the growth, contents of chlorophyll (Chl) a, Chl b, Chl (a+b), carotenoid (Car) and ratio of Chl to Car. The effects firstly increased and then decreased with the increase of concentration. Accelerating effects under low concentrations (<0.10 mM·L⁻¹) were better than those under high concentrations (0.10–0.40 mM·L⁻¹), and the maximum accelerating effects were reached at 0.07 mM·L⁻¹. NaHSO₃ could increase Chl b content more than Chl a content, which caused the reduction of Chl a content relative to Chl b content; the effects firstly decreased and then increased with the increase of concentration, reducing effects under low concentrations (<0.1 mM·L⁻¹) were better than those under high concentrations (0.10–0.40 mM·L⁻¹), and the minimum reducing effect was achieved at 0.07 mM·L⁻¹. The correlations of biomass (Y) to contents of photosynthetic pigments and between contents of photosynthetic pigments were significant or markedly significant, with the highest correlation of Chl b ($X_{\text{Chl b}}$) to biomass ($Y=0.284X_{\text{Chl b}}-0.883$ ($R^2=0.994^{**}$)) and the next of Chl to biomass ($Y=0.100X_{\text{Chl}}-2.022$ ($R^2=0.993^{**}$)), which provided an indirect index to measure the growth of *Dunaliella salina* in every moment.

Key words: *Dunaliella salina*; NaHSO₃; growth; biomass; photosynthetic pigment

收稿日期: 2008-01-25; 修订日期: 2008-07-02。刘学东编辑

基金项目: 中国科学院创新基金(101CK0104)

作者简介: 程建峰(1972—), 男, 江西省横峰县人, 博士后, 副教授, 主要从事植物生理生态研究。E-mail: chjfkarl@163.com

通讯作者: 沈允钢(1927—), 男, 研究员, 中国科学院院士, 主要从事光合作用研究。E-mail: ygshenl@sippe.ac.cn

盐生杜氏藻 *Dunaliella salina* 是一种单细胞真核光合自养绿藻, 生长于海水中, 属杜氏藻科杜氏藻属, 是真核生物中抗盐性最强的一种藻类^[1], 可在含 $0.05\text{—}5.5\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 的培养液中生存^[2], 以含 $1\text{—}2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 的培养液中生长最快^[3]。盐生杜氏藻无细胞壁, 内含 1 个大型杯状的叶绿体, 约占整个细胞体积的 $1/2$ ^[4]。盐生杜氏藻富含 β -胡萝卜素, 含量可高达干重的 10% 左右, 最高时可达 14%, 为自然界中所有生物之首, 是植物叶子和其它藻类中 35—50 倍左右^[5]。 β -胡萝卜素被摄入人体后, 一部分裂解为维生素 A 分子, 另一部分淬灭体内自由基, 具有可贵的抗氧化、延缓衰老、提高免疫力、降低肿瘤和心血管疾病发生率等的作用^[6], 因此盐生杜氏藻是生产 β -胡萝卜素的良好天然资源, 极具应用开发潜力和商业价值, 日益受到国际上生物专家和生物技术开发商的高度重视^[7]。以往关于盐生杜氏藻的研究多集中在耐盐机制及基因工程^[8—11]、捕光天线色素蛋白磷酸化^[12—13]、活性物质分析^[14—16]、营养元素和环境因子对其生长、营养物质积累及培养采收技术等方面^[17—20], 而从提高光合机构运转来调控盐生杜氏藻生长的研究较少。NaHSO₃ 是一种安全环保的植物循环光合磷酸化促进剂, 可通过促进叶绿体中 ATP 的增加, 提高光合机构运转来促进 CO₂ 的同化, 增加光合产物的积累^[21]。在研究多种 C₃ 植物的光合作用中发现, 喷施 NaHSO₃ 能提高叶绿素的总量, 降低叶绿素 a 的含量^[22]; 岳虹等报道了较高浓度的 NaHSO₃ 使离体小麦幼苗叶片中叶绿素含量降低^[23]; 赵昶灵等研究发现, 各浓度的 NaHSO₃ 均能提高砵山酥梨叶片中叶绿素 b 的含量, 而叶绿素 a 的含量只在高浓度的 NaHSO₃ 作用下才被微弱提高, 较低浓度反而降低叶绿素 a 的含量^[24]; 在各浓度下, 光合色素总含量升高, 但净光合速率的降低和叶绿素含量的减少并不成正比, 表现在净光合速率降低的幅度远小于叶绿素缺乏所引起的光合作用降低的幅度, 并不是叶色越深, 光合速率越高^[25]。本文研究了 NaHSO₃ 对盐生杜氏藻生长和光合色素含量的影响, 旨在为优化盐生杜氏藻营养盐配方、降低养殖成本、提高生物量及色素积累提供重要的理论依据和有效的技术参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

盐生杜氏藻 SZ-05 由徐州师范大学郑维发教授惠赠, 本实验室采用 Pick 等配方培养基培养并保

存^[26]。

1.2 材料培养与试验设计

盐生杜氏藻生长在双层瓶的上层瓶中, 下层瓶用 NaHCO₃($0.2535\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$): Na₂CO₃($0.0138\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 缓冲溶液来增加 CO₂ 供应^[22]。基础培养基成分依照 Pick 等的方法配制^[26]。将 10ml 对数生长期的盐生杜氏藻接种到上层瓶中, 瓶中为 90ml 在基础培养中添加不同浓度 NaHSO₃ (0.00 、 0.03 、 0.05 、 0.07 、 0.10 、 0.20 和 $0.40\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的培养基, 3 次重复。在 MGC-300B 型微电脑控制的光照培养箱中振荡 ($100\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$) 培养, 昼 25℃、夜 22℃, 光: 暗=12: 12 (光源为荧光灯, 光强约为 $70\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)。

1.3 测定方法

稳定初期, 测定盐生杜氏藻的生物量和光合色素含量, 每个处理 4 次测定重复。生物量干重测定时, 从每个处理中取 10ml 藻液置于塑料离心管中, 采用 Vonshak 方法^[27]。光合色素含量测定时, 从每个处理中取 10ml 藻液置于塑料离心管中, 于 $10\,000\text{g}$ 离心 7 分钟, 去除上清液后, 加入 80% 丙酮溶液于黑暗中充分震荡提取色素, 重复 2—3 次, 直至藻体成灰白色, 用 Unico UV-2102 PCS 型紫外分光光度计测其在 470、645 和 663nm 下的吸光值, 按 Arnon 公式换算出相应的光合色素含量^[28]。

1.4 数据处理与分析

采用 SPSS 13.0 软件对测定数据进行单因素随机区组试验方差分析, 多重比较采用 Duncan 新复极差检验法(简称 DMRT 法)。图中数据均用平均值±标准方差(Mean±SD)表示。

2 结果

2.1 NaHSO₃ 对盐生杜氏藻生长的影响

NaHSO₃ ($0.40\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 均能显著促进盐生杜氏藻的生长, 但效应不一, 且在此范围内随浓度增加表现为先升后降(图 1a); 7d 内的平均生物量干重为 $0.87\text{—}1.28\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 增幅为 9.25%—48.10%, 其中以 0.05 和 $0.07\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的生长最好, 其干重分别增加 42.71% 和 48.10%, 与对照均达极显著水平(图 1a)。由此可以看出, 较低浓度 NaHSO₃ 促进盐生杜氏藻生长的效应较好, 以 $0.07\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为最佳。

2.2 NaHSO₃ 对盐生杜氏藻光合色素含量的影响

NaHSO₃ ($0.40\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 均能提高叶绿素 a 含量(Chl a)(图 1b)、叶绿素 b 含量(Chl b)(图 2a)、叶绿素总量(Chl)(图 2b)、类胡萝卜素含量(Car)(图 3a)和 Chl/Car(图 4), 增幅大小和差异显著性因指标而异,

分别为 Chl b(6.17%—24.45%)>Chl (4.12%—15.15%)>Chl a (4.66%—11.26%)>Chl/Car (3.84%—8.44%)>Car (0.27%—6.18%), 随浓度增加表现为先升后降, 各指标均以 $0.07\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$ 最高, 与对照达显著差异, 其中 Chl b 还达极显著差异, 与促进生长

相吻合(图 1b 至图 4)。上述结果表明, NaHSO₃ 促进盐生杜氏藻生长可能是通过增加光合色素含量, 特别是增加捕光色素——叶绿素 b 含量, 从而提高对光能的利用, 实现光合作用的增加, 且低浓度 NaHSO₃ 的效应较好, 以 $0.07\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$ 为最佳。

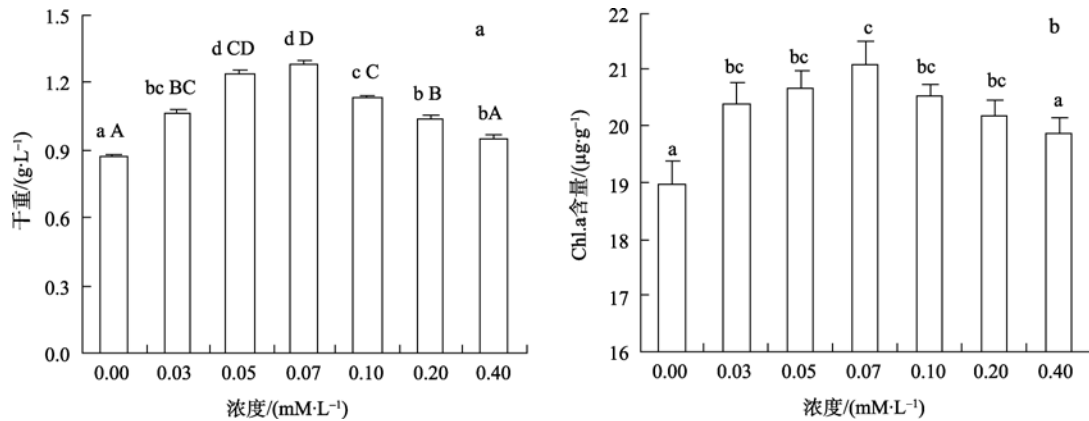


图 1 不同 NaHSO₃ 浓度培养下盐生杜氏藻的生物量(a)和叶绿素 a 含量(b)

柱上不同的小写和大写字母分别表示 0.05 和 0.01 水平上差异显著性

Fig. 1 Dry biomass (a) and Chlorophyll a content (b) of *Dunaliella salina* under different concentrations of NaHSO₃

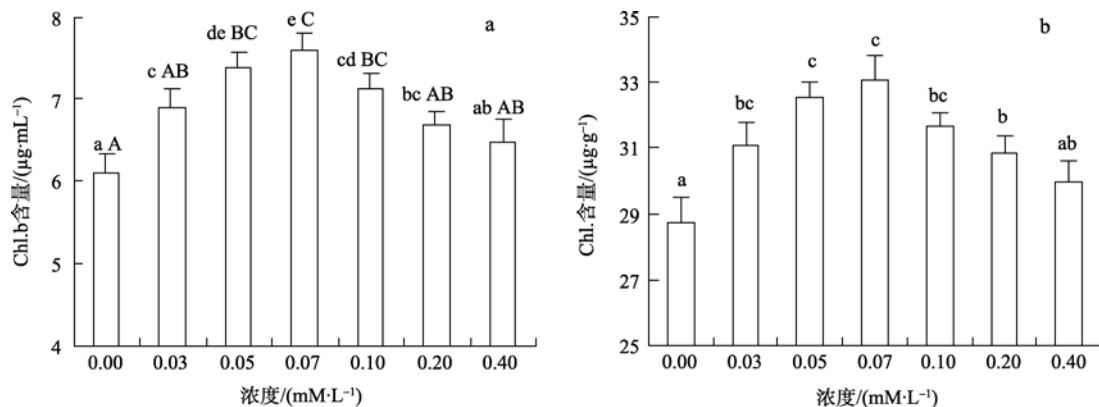


图 2 不同 NaHSO₃ 浓度培养下盐生杜氏藻的叶绿素 b(a)和叶绿素总量(b)变化

柱上不同的小写和大写字母分别表示 0.05 和 0.01 水平上差异显著性

Fig. 2 Chlorophyll b content(a) and total chlorophyll content(b) of *Dunaliella salina* under different concentrations of NaHSO₃

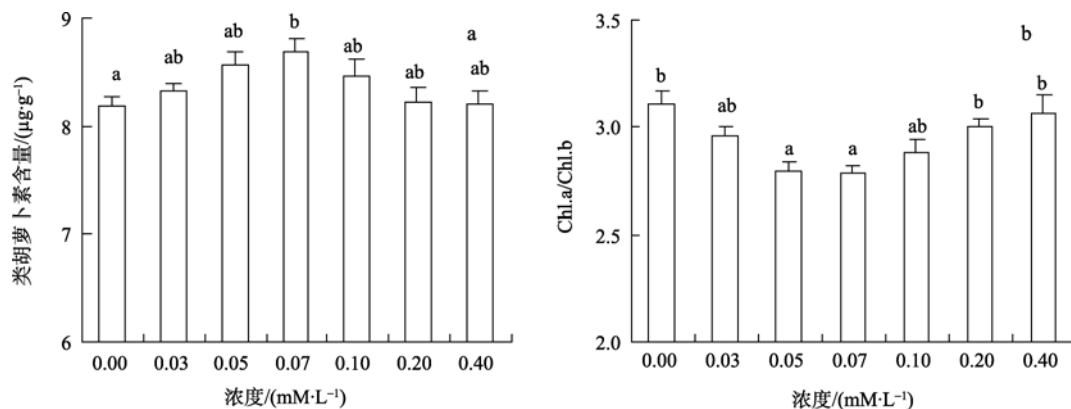


图 3 不同 NaHSO₃ 浓度培养下盐生杜氏藻的类胡萝卜素含量和叶绿素 a/b

柱上不同的小写字母分别表示 0.05 水平上差异显著性

Fig. 3 Carotenoid (Car) content and Chl a/Chl b of *Dunaliella salina* under different concentrations of NaHSO₃

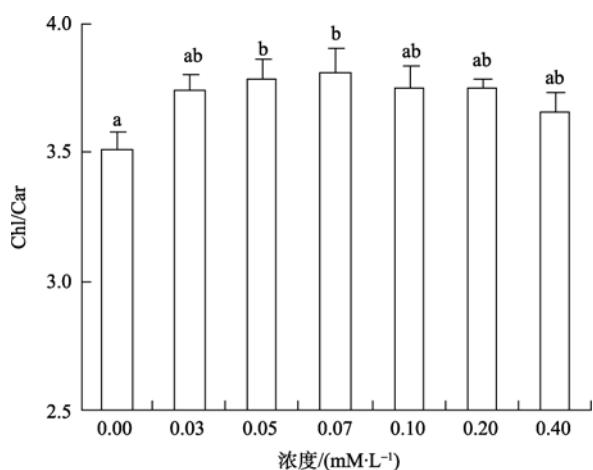


图 4 不同 NaHSO_3 浓度培养下盐生杜氏藻的叶绿素/类胡萝卜素变化

柱上不同的小写字母分别表示 0.05 水平上差异显著性

Fig. 4 Changes in Chl / Car of *Dunaliella salina* under different concentrations of NaHSO_3

NaHSO_3 降低 Chl a/Chl b, 降低幅度为 5.00%—10.60%; 且随浓度增加表现为先降后升, 以 $0.05\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$

表 1 盐生杜氏藻生物量与光合色素含量的相关性

Tab. 1 Correlations between dry biomass and contents of photosynthetic pigments

	生物量	Chl.a	Chl.b	Chl	Car	Chl.a/Chl.b	Chl/ Car
生物量	1.000						
Chl.a	0.947**	1.000					
Chl.b	0.994**	0.968**	1.000				
Chl	0.993**	0.978**	0.997**	1.000			
Car	0.961**	0.854**	0.950**	0.932**	1.000		
Chl.a/Chl.b	-0.990**	-0.918**	-0.988**	-0.977**	-0.972**	1.000	
Chl/Car	0.904**	0.975**	0.922**	0.944**	0.759*	-0.866**	1.000

注: * 和 ** 分别表示 0.05 和 0.01 水平上的差异显著性。

3 结论与讨论

3.1 盐生杜氏藻对 NaHSO_3 的浓度响应

不同植物种类或同一植物的不同基因型对 NaHSO_3 的响应不一。Zelitch^[29]通过研究指出, 亚硫酸氢钠具有抑制光呼吸、提高净光合速率的效应。20 世纪 70 年代初, 沈允钢等^[30]发现向水稻、棉花等作物叶片喷施低浓度 NaHSO_3 可提高净光合速率和增加产量。Plosnicar 等^[31]发现用 $5\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaHSO_3 可完全抑制离体叶绿体的光系统 I 活力。Wang 等^[21]和廖飞勇等^[22]总结前人研究综合指出, 葡萄、棉花的最佳叶面喷施浓度为 $1.0\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$, 大豆、黄豆为 $1.5\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$, 水稻、大麦、小麦、油菜、番茄、辣椒、茄子、茶叶、酥梨和草莓等为 $2.0\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$, 柑桔为 $5\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$ 。Wang 等^[32]研究表明, $1\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$ NaHSO_3 可促进小麦京 411 中国绕 PSI 循环电子传递

和 $0.07\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低最大, 分别为 10.06% 和 10.60%, 与对照达显著差异(图 3b)。这一现象揭示 NaHSO_3 提高 Chl b 的效应大于 Chl a, 且低浓度 ($<0.07\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$) 效应大于高浓度 ($0.10 - 0.40\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$)。

2.3 盐生杜氏藻生物量与光合色素含量的关系

本试验条件下, Car 与 Chl / Car 间为显著正相关和 Chl a / Chl b 与其他指标呈极显著负相关, 其余生物量与各光合色素含量间及各光合色素含量间均达极显著正相关(表 1); 这说明, 盐生杜氏藻的生长状况与光合色素含量存在密切的关系, 也从另一侧面表明可用光合色素含量来衡量其生长, 其中以叶绿素 b 含量为最好, 其次叶绿素总量, 可在生产实践中应用。逐步回归发现, 生物量(Y)与叶绿素含量($X_{\text{Chl.b}}$)满足 $Y=0.284X_{\text{Chl.b}}-0.883$, 与叶绿素总量(X_{Chl})满足 $Y=0.100X_{\text{Chl}}-2.022$, 为生长动态的及时掌握提供了有效的间接衡量指标。

及其耦联的磷酸化, 增加 ATP 的供应, 而对小偃 54 无明显影响。沈银武等^[33]认为, 促进鱼腥藻生长的为 $0.05\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$ 。Wang 等^[34]通过对集胞藻 PCC6803 培养液添加不同浓度的 NaHSO_3 发现, $0.1\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$ 下生长最好。本研究表明, NaHSO_3 显著促进盐生杜氏藻的生长, 随浓度增加表现为先升后降, 但以低浓度 ($<0.10\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$) 效应较好, 最佳浓度为 $0.07\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$, 远低于多细胞高等植物 ($1-2\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$), 略低于集胞藻 PCC6803 ($0.1\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$), 但略高于鱼腥藻 ($0.05\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$), 这除了与施用方法不同外(多细胞高等植物一般为叶面喷施, 而藻类一般添加在培养液中), 还可能与盐生杜氏藻的单细胞、无细胞壁和通透性强等有关, 具体机制还有待于深入研究。

3.2 NaHSO_3 对盐生杜氏藻光合色素含量的影响及与生长的关系

光合色素在植物光合作用原初光反应中起着关

键作用,其含量变化往往与叶片生理活性、植物对环境的适应和抗逆有关^[35]。极少数叶绿素 a 分子进行光能转化,绝大部分的叶绿素 a、全部的叶绿素 b 和类胡萝卜素承担光能吸收与传递^[36]。以往试验表明,低浓度 NaHSO₃ 能提高植物叶绿素 b 含量、叶绿素总量和类胡萝卜素,但对叶绿素 a 的影响存在两种观点,一是降低叶绿素 a 的含量^[37-38],另一是提高叶绿素 a 含量^[33, 39-41],造成上述分歧可能与施用对象、时期和浓度有关。本研究发现,NaHSO₃ 均能提高盐生杜氏藻叶绿素总量及其组分、类胡萝卜素含量和叶绿素总量/类胡萝卜素含量比值,随浓度增加表现为先升后降,效应为叶绿素 b>叶绿素总量>叶绿素 a>叶绿素/类胡萝卜素>类胡萝卜素,其中不同浓度间的叶绿素 b 含量达极显著差异,造成叶绿素 a 含量/叶绿素 b 含量之比下降,且低浓度下的

($0.07\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$) 降幅大于高浓度 ($0.10\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$ — $0.40\text{mM}\cdot\text{L}^{-1}$); 这些结果揭示,低浓度 NaHSO₃ 可能通过增加光合色素含量(特别是叶绿素 b 含量),来提高对弱光和漫射光的收集,增强光能吸收和传递,减少光能浪费,促进光合作用和实现生物量的增加,但极显著提高叶绿素 b 含量的生理基础未知,尚有待于进一步探明。分析还显示,各光合色素含量(X)与生物量(Y)间均达极显著相关,这意味着光合色素含量可反映盐生杜氏藻的生长状况,以叶绿素 b 含量($X_{\text{chl.b}}$)为最好 [$Y=0.284X_{\text{chl.b}}-0.883$ ($R^2=0.994^{**}$)] (**表示 Y 与 X 之间在 0.01 水平上极显著相关,下同),叶绿素总量 (X_{chl}) 其次 [$Y=0.100X_{\text{chl}}-2.022$ ($R^2=0.993^{**}$)], 为生长动态的及时掌握提供了有效的间接衡量指标。

参考文献

- [1] Ettl H. Taxonomische bemerkungen zuden phytomonadina[J]. Nova Hedwigia, 1983, 35: 731-736.
- [2] FISHER M, PICK U, ZAMIR A. A salt-induced 60-kilodalton plasma membrane protein plays a potential role in the extreme halotolerance of the alga *Dunaliella*[J]. Plant Physiol., 1994, 106: 1359-1365.
- [3] AVRON M. Osmoregulation[M]//AVRON M, BEN-AMOTZ A. *Dunaliella: Physiology, Biochemistry and Biotechnology*. Florida: CRC Press, 1992: 135-164.
- [4] CHEN B J, CHI C H. Process development and evaluation for alga glycerol production[J]. Biotechnol Bioengineering, 1981, 23: 1267-1287.
- [5] AMOTZ A B, AVRON M. The wavelength dependence of massive carotene synthesis in *Dunaliella bardawil* (chlorophyceae) [J]. Phycologia, 1989, 25: 175-178.
- [6] BASU M, BANERJEE A, BHATTACHARYA U K, et al. Beta-carotene prolongs survival, decreases lipid peroxidation and enhances glutathione status in transplantable murine lymphoma[J]. Phytomedicine, 2000, 7 (2): 151-159.
- [7] NELLIS M, FRANCISCO M, CÉSAR L, et al. Effect of nitrate concentration on growth and pigment synthesis of *Dunaliella salina* cultivated under low illumination and preadapted to different salinities[J]. Journal of Applied Phycology, 1998, 10: 405-411.
- [8] 耿德贵, 韩燕, 王义琴, 等. 盐生杜氏藻的耐盐机制研究进展和基因工程研究的展望[J]. 植物学通报, 2002, 19 (3): 290-295.
- [9] 冯书营, 刘红涛, 李杰, 薛乐勋. 盐生杜氏藻基因工程研究现状及应用前景[J]. 中国生物工程杂志, 2007, 27 (2): 108-112.
- [10] YANG W G, CAO Y, SUN X H, et al. Isolation of a FAD-GPDH gene encoding a mitochondrial FAD-dependent glycerol-3-phosphate dehydrogenase from *Dunaliella salina*[J]. Journal of Basic Microbiology, 2007, 47, 266-274.
- [11] ZHU Y H, JIANG J G, CHEN X W. cDNA for phytoene desaturase in *Dunaliella salina* and its expressed protein as indicators of phylogenetic position of the β -carotene biosynthetic pathway[J]. J Sci Food Agric., 2007, 87: 1772-1777.
- [12] LIU X D, SHEN Y G. NaCl-induced phosphorylation of light harvesting chlorophyll a/b proteins in thylakoid membranes from the halotolerant green alga, *Dunaliella salina*[J]. FEBS Letters, 2004, 569: 337-340.
- [13] LIU X D, SHEN Y G. Salt-induced redox-independent phosphorylation of light harvesting chlorophyll a/b proteins in *Dunaliella salina* thylakoid membranes[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2005, 1706: 215-219.
- [14] 王溪森, 谢小龙, 赵利, 等. 不同生长时期盐藻无机元素分析[J]. 广东微量元素科学, 2004, 11(11): 27-30.
- [15] 梁秀芝, 刘成君, 彭峰, 等. 六种盐藻的营养成分[J]. 食品科技, 2007, 32(1): 206-209.
- [16] HEJAZI M A, KLEINEGRIS D, WIJFFELS R H. Mechanism of extraction of β -carotene from microalga *Dunaliella salina* in two-phase bioreactors[J]. Biotechnology and bioengineering, 2004, 88, (5): 593-600.
- [17] 孙辉, 徐文华, 雷高鹏, 等. 氮、磷、硫对盐生杜氏藻色素积累的影响[J]. 四川大学学报:自然科学版, 2005, 42(2): 403-497.
- [18] 张学成, 孟振, 时艳侠, 等. 光照、温度和营养盐对三株盐生杜氏藻生长和色素积累的影响[J]. 中国海洋大学学报:自然科学版, 2006, 36(5): 754-762.

- [19] 王培磊, 张学成, 孟振. 胁迫因子对杜氏藻生长和色素积累的影响研究进展[J]. 海洋科学, 2006, 30(12): 87-91, 95.
- [20] CARLA A S, ANA M V, HELENA L F, et al. Optimization of the biological treatment of hypersaline wastewater from carotenogenesis *Dunaliella salina*[J]. J Chem Technol Biotechnol. 2001, 76: 1147-1153.
- [21] WANG H W, SHEN Y G. How bisulfite enhances photosynthesis[J]. Journal of plant physiology and molecular biology, 2002, 28: 247-252.
- [22] 廖飞勇, 叶海燕, 何平. NaHSO_3 对光合作用的影响及其应用[J]. 吉首大学学报: 自然科学版, 2005, 26(3): 49-52, 64.
- [23] 岳虹, 燕平梅. NaHS 对小麦叶绿素的影响[J]. 太原师范专科学校学报, 2001, (3): 18-19.
- [24] 赵昶灵, 武绍波. NaHS 对砷山酥梨光合色素效应研究[J]. 山西果树, 2002, (1): 3-4.
- [25] 许大全. 光合作用效率[M]. 上海: 上海科技出版社, 2002.
- [26] PICK U, DARNI L, AVRON M. Determination of ion content and ion fluxes in the halotolerant alga *Dunaliella salina*[J]. Plant Physiol, 1986, 81: 92-96.
- [27] VONSHAK A. Culture methods and biomass produce of algae[M]//COOMBS J, HALL D O, LONG S P et al. Techniques in Bioproducity and Photosynthesis. 2nd ed. Oxford: Pergamon Press, 1985, Vol 15: 196-211.
- [28] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*[J]. Plant Physiol, 1949, 24: 1-15.
- [29] ZELITCH I. Increased rate of net photosynthetic carbon dioxide uptake caused by the inhibition of glycolate oxidase[J]. Plant Physiol., 1966, 41: 1623-1631
- [30] 沈允钢, 李德耀, 魏家绵, 等. 改进干重法测定光合作用的应用研究. 植物生理学通讯, 1980, 30(2): 37-41.
- [31] PLOSNICAR M, KALEZIC R. Sulfite inhibition of oxygen evolution associate with photosynthetic carbon assimilation[J]. Photosynth. Proc. Int. Conger. (Yugoslavia), 1981, 5: 143-150.
- [32] WANG H W, SU J H, SHEN Y G. Difference in response of photosynthesis to bisulfite between two wheat genotypes[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2003, 29(1): 27-32.
- [33] 沈银武, 刘永定, 利群, 等. 亚硫酸氢钠对鱼腥藻生长的影响[J]. 水生生物学报, 1993, 17(3): 211-215.
- [34] WANG H W, MI H L, YE J Y, et al. Low concentrations of NaHSO_3 increase cyclic photophosphorylation and photosynthesis in *Cyanobacterium Synechocystis* PCC6803[J]. Photosynthesis Research, 2003, 75: 151-159.
- [35] 苏行, 胡迪琴, 林植芳, 等. 广州市大气污染对两种绿化植物叶绿素荧光特性的影响[J]. 植物生态学报, 2002, 26(5): 599-604.
- [36] TAI Z L, ZEIGER E. Plant Physiology[M]. Sinauer Associate Inc, Sunderland, 2006: 128-138.
- [37] 郭金华, 牛志电, 梅建设, 等. NaHSO_3 对桑树光合作用及蚕茧产量和质量的影响[J]. 蚕业科学, 2001, 27(2): 83-86.
- [38] 赵昶灵, 武绍波. NaHSO_3 对砷山酥梨光合色素效应研究[J]. 山西果树, 2002, (1): 3-4.
- [39] 廖飞勇, 叶海燕, 吕梁. 不同浓度 NaHSO_3 对油桐光合特性的影响[J]. 西南林学院学报, 2005, 25(3): 5-9.
- [40] 闵运江, 马锦绣. NaHSO_3 对大豆光合产量的影响[J]. 皖西学院学报, 2005, 21(5): 35-38.
- [41] 晋宏, 朱凤林. 两种光呼吸抑制剂对草莓若干生理指标及产量品质的影响[J]. 亚热带植物科学, 2006, 35(3): 22-24.