

DOI: 10.5846/stxb201307061846

丁柳丽, 邹定辉, 刘露, 邓亚运. 气候变化对海藻龙须菜生长与光合作用耐热特性的影响. 生态学报, 2015, 35(10): 3267-3277.

Ding L L, Zou D H, Liu L, Deng Y Y. Effect of climate change on the growth and photosynthetic thermal tolerance in the marine macroalga *Gracilaria lemaneiformis*. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(10): 3267-3277.

气候变化对海藻龙须菜生长与光合作用耐热特性的影响

丁柳丽¹, 邹定辉^{1,2,*}, 刘露¹, 邓亚运¹

1 华南理工大学环境与能源学院, 广州 510006

2 工业聚集区污染控制与生态修复教育部重点实验室, 广州 510006

摘要:为探讨大气 CO₂ 升高和温室效应对龙须菜生长及生理生化特性的影响, 在 4 种条件下培养龙须菜: 1) 对照组 (390 μL/L CO₂ + 20 °C), 2) CO₂ 升高组 (700 μL/L CO₂ + 20 °C), 3) 温度升高组 (390 μL/L CO₂ + 24 °C), 4) 温室效应组 (700 μL/L CO₂ + 24 °C), 测定藻体生长和生化组分以及高温胁迫下的最大光化学量子产量 (F_v/F_m) 和光能利用效率 (α)、光合速率 (P_n) 和呼吸速率 (R_d)。结果表明, CO₂ 升高、温度升高以及温室效应均促进龙须菜的生长, 温室效应下的促进作用更明显。温室效应使龙须菜具较高的 P_n 和 R_d 以及较低的可溶性蛋白 (SP) 和可溶性碳水化合物 (SC) 含量。高浓度 CO₂ 对叶绿素 (Chl a) 和类胡萝卜素 (Car) 含量没有显著影响, 而高温使其上升; 藻红蛋白 (PE) 和藻蓝蛋白 (PC) 含量不受 CO₂ 浓度和温度的影响。龙须菜 F_v/F_m 、 α 、 P_n 和 R_d 值, 在 32 °C 处理 3 h 后略有上升, 在 36 °C 处理 3 h 后下降, 而在 40 °C 处理 20 min 后降到极低水平。正常温度 (20 °C) 生长的龙须菜最高耐受温度在 32—36 °C 之间, 而较高温 (24 °C) 生长的龙须菜在 36—40 °C 之间; 生长温度对光合作用和呼吸作用耐热性能的影响比 CO₂ 浓度的影响更大; 而温室效应生长条件下的龙须菜光合作用表现出更突出的耐热性能。

关键词: CO₂; 温度; 龙须菜; 生化组分; 叶绿素荧光; 光合作用; 呼吸作用

Effect of climate change on the growth and photosynthetic thermal tolerance in the marine macroalga *Gracilaria lemaneiformis*

DING Liuli¹, ZOU Dinghui^{1,2,*}, LIU Lu¹, DENG Yayun¹

1 College of Environment and Energy, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China

2 The Key Laboratory of Pollution Control and Ecosystem Restoration in Industry Clusters, Ministry of Education, Guangzhou 510006, China

Abstract: It was predicted that the atmospheric CO₂ concentrations in the end of this century would be twice as much as the present level, and as a consequence of this the mean global temperature would elevate 4—5 °C. At present, there are many researches on seaweeds in response to elevated atmospheric CO₂ concentrations or temperature alone. However, the investigations concerning the impacts of combined effects of elevated atmospheric CO₂ concentrations and temperature on seaweeds is very limited. The marine red macroalga *Gracilaria lemaneiformis* has been cultivated on large scales in both the southern and the northern parts of China. It is essential to evaluate how the climate change (such as the elevated atmospheric CO₂ concentrations and global warming) affect this economically important species. In this study, *G. lemaneiformis* was cultured under the following four different conditions: 1) ambient control (390 μL/L CO₂ + 20 °C); 2) elevated CO₂ (700 μL/L CO₂ + 20 °C); 3) elevated temperature (390 μL/L CO₂ + 24 °C); and 4) greenhouse effect (700 μL/L CO₂ + 24 °C). After cultured for 10 d, the growth and biochemical compositions were examined. At the same

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41076094, 41276148)

收稿日期: 2013-07-06; 网络出版日期: 2014-05-30

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: dhzou@scut.edu.cn

time, the changes of maximum photochemical quantum yield (F_v/F_m), light use efficiencies (α), net photosynthetic rate (P_n) and dark respiratory rate (R_d) under high-temperature stresses (32 °C, 36 °C and 40 °C) were explored. The results showed that elevated CO₂, elevated temperature, or greenhouse effect all enhanced the growth of *G. lemaneiformis*, with the highest relative growth rate occurring under the culture treatment with greenhouse effect. The growth condition treated with greenhouse effect increased the rates of P_n and R_d in situ, but decreased the contents of solution protein (SP) and soluble carbohydrate (SC) in algal thalli. Elevated CO₂ in culture increased the rate of P_n in situ, but the growth condition treated with elevated temperature had hardly affected the P_n in situ. Both chlorophyll a (Chl a) and carotenoid (Car) were increased with elevated temperature in culture, but their contents were unaltered with high CO₂. Elevated CO₂ or elevated temperature alone had no significant effects on the contents of phycoerythrin (PE) and phycocyanin (PC) of the algal thalli. The changes of F_v/F_m and α of the algal thalli under high-temperature stresses displayed the same tendency, i.e.: their values all increased slightly under 32 °C-stress, but decreased under 36 °C-stress, and declined fiercely under 40 °C-stress. In the course of 6 h of 32 °C-stress, the rates of P_n in elevated temperature-grown algae and greenhouse effect-grown algae were much higher than those in the algae grown under control condition. In the course of 6 h of 36 °C-stress, the rates of P_n in greenhouse effect-grown algae displayed the highest levels relative to the algae grown with other three treatments. It was shown that the high-temperature tolerance limit of photosynthesis in 20 °C grown algae was between 32 °C and 36 °C, while that of 24 °C-grown algae was between 36 °C and 40 °C. Taken together, our results suggested that growth of *G. lemaneiformis* would benefit from elevated CO₂ and/or elevated temperature. Moreover, the greenhouse effect (combined with elevated CO₂ and elevated temperature) would improve the photosynthetic thermal tolerance to high temperature for *G. lemaneiformis*.

Key Words: CO₂; temperature; *Gracilaria lemaneiformis*; biochemical compositions; chlorophyll fluorescence; photosynthesis; respiration.

自然界中因植物光合作用和呼吸作用所引起的 CO₂ 交换量远大于因化石燃料燃烧所产生的 CO₂ 量^[1]。因此, CO₂ 浓度和温度对植物光合作用和呼吸作用的影响, 在极大程度上影响着全球大气的变化。预计在 21 世纪末, CO₂ 的浓度将上升到 700 μL/L 至 1000 μL/L, 其所引起的全球变暖将导致全球海洋表面平均温度上升 1.0—4.4 °C^[2]。

大气中 CO₂ 浓度的上升将导致表层海水 pH 值下降 0.3—0.4 个单位, 即海水中的 H⁺ 将增加 150%^[3], 这种海水的酸化将进一步导致海水无机碳系统 (DIC) 的改变。通常 pH 为 8.2 的天然海水中, DIC 的 3 种形态 HCO₃⁻、CO₃²⁻ 和 CO₂ 所占比例分别约为 90%、9% 和 1%。大气中 CO₂ 浓度的加倍将引起表层海中水溶性 CO₂ 加倍, 而对 HCO₃⁻ 的影响则较小, 其浓度仅从 2.2 mmol/L 增加到 2.34 mmol/L^[4]。CO₂ 浓度升高对具有“生物泵”功能的大型海藻生理生化以及无机碳的利用都会产生影响^[5]。大型海藻对高 CO₂ 浓度的响应很大程度上取决于其在天然海水系统中的无机碳受限程度^[6]。大型海藻光合固碳作用因为海水中 CO₂ 溶解性和扩散速率较低、HCO₃⁻ 自发脱水形成 CO₂ 的速率较低以及光合作用关键酶对 CO₂ 亲和力较低等因素而受到限制^[7]。海藻在长期适应生境的过程中逐步调整无机碳的利用方式, 使得大部分海藻都具有碳浓缩机制 (CCM), 具有直接或者间接利用海水中的 HCO₃⁻ 的能力, 使得自然海水中的碳系统基本能满足海藻光合作用对碳的需求。海藻对无机碳利用机制的不同使得其对高 CO₂ 浓度的响应不同。此外, 大气 CO₂ 浓度对海藻的影响还与生长在潮间带周期性干出和沉没的生境特点有关, 光合作用所利用的无机碳形式在 CO₂ 和 HCO₃⁻ 之间转变, 也影响大型海藻对大气 CO₂ 浓度升高的响应^[5]。CO₂ 浓度升高除了影响大型海藻光合生理特性外, 还影响生化组分含量。已有研究表明, 高 CO₂ 浓度培养使条浒苔的叶绿素含量及可溶性蛋白含量下降, 而可溶性碳水化合物含量增加^[8]。高 CO₂ 浓度还会导致光合作用关键酶——碳酸酐酶 (CA) 和核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶

(Rubisco)含量或活性下降^[9]。CA酶活性下降影响了其催化 HCO_3^- 脱水形成 CO_2 的速率,CA酶及Rubisco酶活性的下降将直接或间接影响光合碳固定速率,进而影响海藻光合特性。有研究发现,叶绿素a以及藻胆蛋白在高 CO_2 浓度下也有所下降^[10]。光合作用酶以及色素的下降影响着光合无机碳的利用以及光能的获取。

大气 CO_2 浓度上升引起的温度变化也影响大型海藻生命活动。光合作用涉及到的一系列酶促反应以及作为光合作用反应场所的叶绿体膜完整性几乎都受温度的影响。Kübler等^[11]早期研究表明,角叉菜对其生长温度的适应很大程度上决定了其耐热性能和热胁迫后的恢复能力。温度变化可导致光饱和和光合作用电子传递或者碳代谢受抑制,从而影响海藻光合作用特性^[12]。此外,随着温度的升高,Rubisco酶对 O_2 的亲合力逐渐增加并高于其对 CO_2 的亲合力,从而导致光呼吸作用增加,这种高温引起的光呼吸作用增强也会影响饱和和光合作用速率。虽然原初光化学反应不受温度的影响,但是光反应阶段的电子传递和光合磷酸化过程以及质体醌的扩散等与温度密切相关,因此温度会影响光能捕获效率或者光能利用效率^[12]。

目前由于全球气候变暖导致海洋表层平均温度升高,同时大气 CO_2 浓度升高也使得表层海水酸化,这些显著影响了海藻生长和栽培的生态环境条件。龙须菜作为广泛分布在中国南方及北方海域的重要大型经济海藻之一,其生长及光合作用对温度的耐受性是龙须菜应对温室效应的重要影响因素。有研究表明龙须菜利用无机碳的方式主要是: HCO_3^- 通过胞外CA酶催化脱氢形成 CO_2 ,再扩散进入细胞内被Rubisco酶固定^[13]。目前已有关于大气 CO_2 和温度耦联对几种微藻^[14-15]生理生化特性的研究,而对龙须菜生长和光合及生化特性在大气 CO_2 升高背景下的研究也考虑到了其他环境因素的共同影响,如光强^[16]、氮营养盐^[17]等,然而关于 CO_2 和温度对龙须菜共同作用的研究则相对较少。在大气 CO_2 浓度加倍以及温度上升4—5℃的温室效应背景下,本实验以正常条件(390 $\mu\text{L/L}$ + 20℃)下生长的龙须菜为对照组,将 CO_2 升高(700 $\mu\text{L/L}$ + 20℃)、温度升高(390 $\mu\text{L/L}$ + 24℃)以及温室效应(700 $\mu\text{L/L}$ + 24℃)下生长的龙须菜与对照组进行比较,探讨以下3个问题:1)不同 CO_2 浓度和温度生长条件对龙须菜的生长和生化含量的影响;2) CO_2 浓度和温度对龙须菜生理生化特性的影响是否存在相互作用;3)不同 CO_2 浓度和温度生长是否会影响龙须菜光合作用及生理特性对短时高温的耐受性。

1 材料及方法

1.1 龙须菜采集及暂养

龙须菜生长期为每年的1—6月,于2012年5月采自汕头南澳岛,此时汕头海域水温约为20℃。低潮时从潮间带采集健康无损的龙须菜,用装有少量海水的保温箱将藻体控制在低温并在最短时间内运至实验室。藻体在温度20℃和光照强度150—200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 条件下进行持续通气暂养,光照周期为L:D=12h:12h(光照时间为9:00至21:00)。培养海水为过滤的天然海水,盐度为32,添加一定浓度的 NaNO_3 和 NaH_2PO_4 并使其终浓度分别为200 $\mu\text{mol/L}$ 和25 $\mu\text{mol/L}$ 。暂养3d后进行实验。

1.2 实验处理及测定方法

准备12个装有5L天然过滤海水的三角瓶来培养龙须菜,每个三角烧瓶中加入6.15 g(± 0.04 g)龙须菜。将2个植物培养箱 CO_2 浓度设定为700 $\mu\text{L/L}$,温度分别设定为20℃和24℃两个温度,每个温度下放置6个重复样,向其中3个平行样通入正常空气(通过气泵从外界泵入空气流通良好区域的空气, CO_2 浓度约为390 $\mu\text{L/L}$),向另外3个平行样通入高 CO_2 浓度空气(通过气泵从培养箱内泵入高 CO_2 浓度的空气, CO_2 浓度约为700 $\mu\text{L/L}$)。其他条件与暂养条件一致。综上所述,实验中龙须菜的4种培养条件分别为:1)对照组或CK组(390 $\mu\text{L/L}$ + 20℃);2) CO_2 升高组(700 $\mu\text{L/L}$ + 20℃);3)温度升高组(390 $\mu\text{L/L}$ + 24℃);4)温室效应组(700 $\mu\text{L/L}$ + 24℃)。培养10d后进行相关生理生化特性测定及温度胁迫实验。

1.2.1 生长和生化组分

培养期间,每两天更换海水时测定龙须菜鲜重(FW, g),称量前用吸水纸吸干藻体表面水分,通过相对生长速率(RGR, % d^{-1})来衡量藻体生长趋势,计算公式为 $\text{RGR} = 100 \times [\ln M_t - \ln M_0] \times \frac{1}{t}$,式中 M_0 为初始鲜重, M_t

为培养 t 天后的藻体鲜重。

可溶性蛋白(SP)含量的测定采用考马斯亮蓝 G-250 染料结合法^[18]。利用苯酚-硫酸法测定可溶性碳水化合物(SC)含量^[19]。参照 Beer 和 Eshel^[20]的方法测定藻红蛋白(PE)和藻蓝蛋白(PC)含量。根据 Jensen^[21],采用丙酮提取法测定叶绿素(Chl a)和类胡萝卜素(Car)的含量。

1.2.2 高温胁迫对叶绿素荧光参数的影响

培养结束后,将不同条件下生长的龙须菜进行短期高温(32、36 °C 和 40 °C)胁迫处理,并测定其叶绿素荧光参数随时间的变化。从 4 种培养条件下生长的龙须菜中各自选出 6 枝生长状态一致的藻体,放入预先准备好的 4 个三角烧瓶内进行胁迫处理(用光照培养箱将 4 个装有 1 L 过滤天然海水的三角烧瓶的温度控制在胁迫温度,实验前海水至少通气 12 h 以保证海水中无机碳系统达到平衡),务必使龙须菜在胁迫处理时的通气条件与其培养时的通气条件保持一致。在高温 32 °C 和 36 °C 胁迫 0、0.5、1、3 h 和 6 h 时和高温 40 °C 胁迫的 0 h、5 min、10 min、20 min 和 30 min 时测定龙须菜叶绿素荧光参数。

利用调制叶绿素荧光仪 Junior-PAM(Walz, German)测定叶绿素荧光参数。向藻体连续照射 8 个光强梯度的光化光(66—820 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$),照射间隔为 10 s,得到快速光曲线。光系统 II(PS II)的最大光化学量子产量 F_v/F_m 可通过公式计算^[22]: $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$,其中 F_m 为最大荧光值, F_o 为最小荧光值;对快速光曲线的非线性曲线拟合可得光能利用效率 α ,拟合公式^[23]为: $rETR = rETR_{\text{max}} \cdot \tanh(\alpha \cdot \text{PPFD}/rETR_{\text{max}})$,式中: $rETR$ 为相对电子传递速率; $rETR_{\text{max}}$ 为相对最大电子传递速率;PPFD 为光量子通量密度。

1.2.3 高温胁迫对呼吸速率和光合放氧速率的影响

高温胁迫处理方法与 1.2.2 相同,分别在高温 32 °C 和 36 °C 胁迫的 0、1、3 h 和 6 h 时以及高温 40 °C 胁迫的 0、10、20 min 和 30 min 时测定各条件下生长的龙须菜呼吸速率(黑暗状态)和光合放氧速率(饱和光强 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)。

呼吸速率和光合放氧速率采用氧电极测定(YSI-5300, USA)。将龙须菜剪成 0.8 cm 左右的小段,放在原生长条件下至少恢复 1 h。称取约 0.15 g 鲜重藻样,放入装有 8 mL 反应介质的反应槽中,利用循环水浴使反应槽的温度与胁迫温度保持一致。黑暗状态利用不透光塑料膜遮盖反应槽所得,饱和光强通过光量子计测定来调节光源与反应槽间距离而得。测定过程中用转子不断搅拌反应介质,每次测定在 5 min 至 10 min 内完成。

1.3 统计与分析

采用 Origin 8.0 软件绘制图形,利用 SPSS 软件进行 t -检验或单因子方差分析鉴定数据差异性,设 $P < 0.05$ 为显著性差异水平。

2 结果

2.1 生长和生化组分含量

如图 1 所示,各组龙须菜 FW 随时间的变化呈上升趋势。 CO_2 升高组、温度升高组以及温室效应组龙须菜 FW 和 RGR 均大于对照组。温室效应组龙须菜 RGR 显著高于其他条件下的龙须菜($P < 0.05$) (图 1)。

各组龙须菜生化含量差异如表 1 所示。与 CK 组相比, CO_2 升高组 SC 含量明显下降($P < 0.05$),而其他生化指标基本不受影响;温度升高组龙须菜 SP 和 SC 含量明显下降。温室效应组龙须菜 SP 和 SC 含量明显下降($P < 0.05$)。温度升高组和温室效应组 Chl a 和 Car 含量均上升,而这两种色素含量在两组龙须菜之间未表现出显著差异($P > 0.05$)。PE 和 PC 基本不受 CO_2 和温度的影响(表 1)。

2.2 叶绿素荧光参数高温忍耐特性

图 2 所示为不同条件下生长的龙须菜 F_v/F_m 、 α 值在高温 32 °C 胁迫时随时间的变化。随胁迫时间的延长,各组龙须菜 F_v/F_m 值下降率均不超过 10% (图 2)。 α 值呈上升趋势,其中 CK 组龙须菜 α 值上升了 43.0%,温度升高组或者 CO_2 升高组龙须菜的 α 值随高温 32 °C 处理时间变化的影响程度均不超过 25%,而温室效应

组龙须菜的 α 值在受高温 32 °C 胁迫后上升了 116.4%(图 2)。整个处理过程中,各组龙须菜的 F_v/F_m 和 α 值未表现出显著差异 ($P>0.05$)。

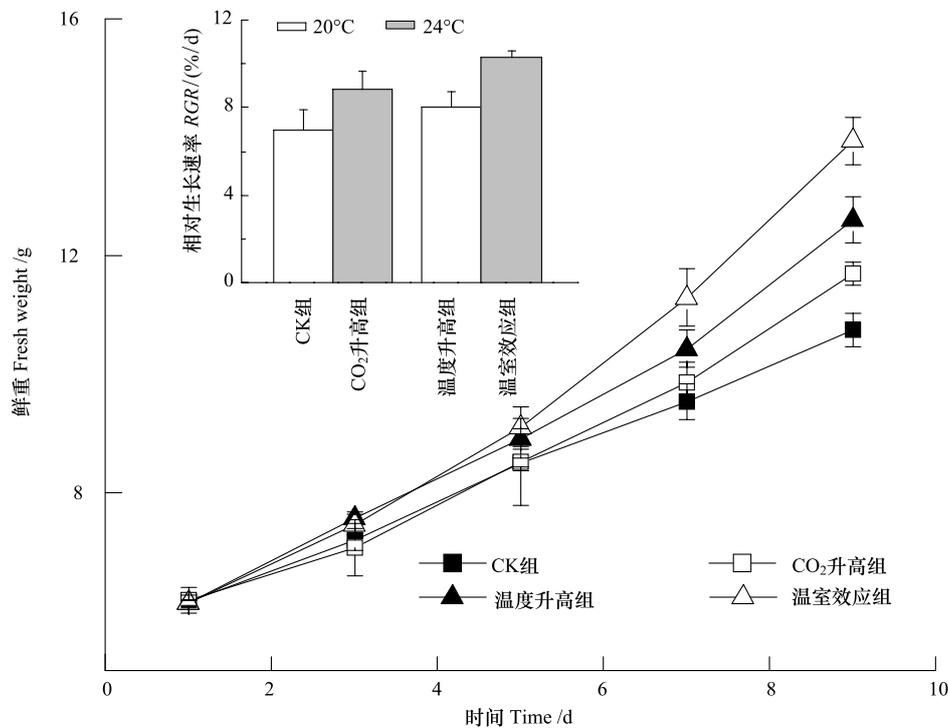


图 1 不同生长条件对龙须菜鲜重(FW)和相对生长速率的影响

Fig.1 Effects of different growth conditions on the biomass (FW) and relative growth rate (RGR) of *Gracilaria lemaneiformis*

表 1 不同生长条件下的龙须菜的生化组分含量

Table 1 Contents of biochemical compositions in *Gracilaria lemaneiformis* cultured under different conditions

项目 Items	CK 组 Control (390 μ L/L + 20 °C)	CO ₂ 升高组 Elevated CO ₂ (700 μ L/L + 20 °C)	温度升高组 Elevated temperature (390 μ L/L + 24 °C)	温室效应组 Greenhouse effect (700 μ L/L + 24 °C)
可溶性蛋白质 SP [*] /(mg/g FW)	10.4 ± 0.8	10.7 ± 0.5	10.1 ± 0.5	8.7 ± 1.2
可溶性碳水化合物 SC [*] /(mg/g FW)	22.3 ± 0.5	16.7 ± 1.0	18.1 ± 2.6	15.7 ± 2.8
叶绿素 a Chl a/(mg/g FW)	0.22 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.24 ± 0.01
类胡萝卜素 Car/(mg/g FW)	0.084 ± 0.004	0.087 ± 0.004	0.098 ± 0.002	0.098 ± 0.002
藻红蛋白 PE [*] /(mg/g FW)	0.67 ± 0.03	0.61 ± 0.06	0.67 ± 0.14	0.77 ± 0.03
藻蓝蛋白 PC [*] /(mg/g FW)	0.12 ± 0.02	0.1 ± 0.02	0.12 ± 0.03	0.11 ± 0.02

* SP 全称为 Solution Protein; SC 全称为 Soluble Carbohydrate; PE 全称为 Phycoerythrin; PC 全称为 Phycocyanin

图 3 为各条件下生长的龙须菜 F_v/F_m 和 α 受 36 °C 胁迫时随时间的变化趋势。高温 36 °C 胁迫使各组龙须菜 F_v/F_m 值明显下降,其中 CK 组和 CO₂ 升高组分别下降了 77.7% 和 71.2%,而温度升高组和温室效应组则下降了不到 25%(下降率分别为 24.9% 和 21.8%)(图 3)。各组龙须菜的 α 值变化趋势与 F_v/F_m 值一致,其中 CK 组和 CO₂ 升高组龙须菜 α 值下降了 75% 以上,而温度升高组和温室效应组则分别下降了 26.0% 和 7.8% (图 3)。整个胁迫过程中,温度升高组以及温室效应组龙须菜 F_v/F_m 和 α 值显著高于 CK 组和 CO₂ 升高组 ($P<0.05$)。可见,高温(24 °C)的生长条件使龙须菜光合参数在高温 36 °C 胁迫下较稳定。

高温 40 °C 胁迫对不同生长条件下的龙须菜 F_v/F_m 和 α 值的影响如图 4 所示。各组龙须菜 F_v/F_m 值(图 4)和 α 值(图 4)的差异不显著 ($P>0.05$),在胁迫处理 5 min 后均急剧下降到极低值。

2.3 光合作用和呼吸作用高温忍耐特性

图 5 所示为不同生长条件下的龙须菜呼吸作用随着高温胁迫处理时间延长的变化。32 °C 胁迫 6 h 使各

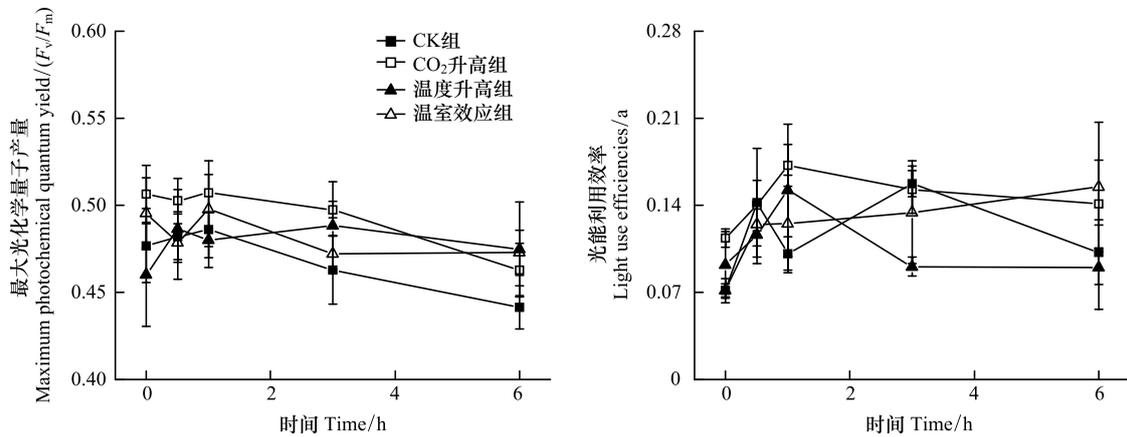


图2 不同条件下生长的龙须菜 F_v/F_m 和 α 值在 32 °C 胁迫时随时间的变化

Fig.2 Changes of the values of F_v/F_m and α with exposure time of *Gracilaria lemaneiformis* cultured in different conditions when suffered from high temperature of 32 °C-stress

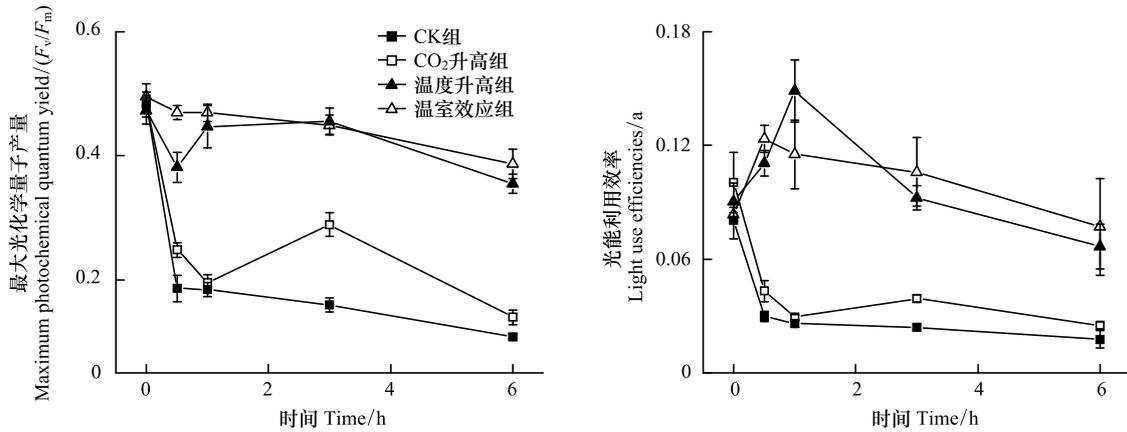


图3 不同条件下生长的龙须菜 F_v/F_m 和 α 值受 36 °C 胁迫时随时间的变化

Fig.3 Changes of the values of F_v/F_m and α with exposure time in *Gracilaria lemaneiformis* cultured in different conditions when suffered from high temperature of 36 °C-stress

组龙须菜 R_d 呈上升趋势, 其中 CK 组、CO₂ 升高组、温度升高组和温室效应组分别上升了 11.23%、22.55%、14.27% 和 17.1%。整个过程中, 温度升高组龙须菜 R_d 显著低于其他组龙须菜 ($P < 0.05$)。36 °C 胁迫 6 h 后, CK 组和温室效应组龙须菜 R_d 基本不变, 温度升高组和 CO₂ 升高组龙须菜 R_d 分别下降了 7.95% 和 15.67%。40 °C 胁迫 30 min 后, 龙须菜 R_d 均呈下降趋势, 其中 CK 组龙须菜 R_d 下降率最大 (下降了 30.42%), 温度升高组和温室效应组龙须菜 R_d 显著低于对照组 ($P < 0.05$) (图 5)。

图 6 为不同生长条件下的龙须菜光合放氧速率随着高温胁迫处理时间的变化。32 °C 胁迫 6 h, 各组龙须菜 P_n 呈上升趋势, 其中 CK 组龙须菜 P_n 上升幅度最大, 高达 40.72%。整个处理过程中, 温度升高组和温室效应组龙须菜 P_n 显著大于 CK 组龙须菜 ($P < 0.05$)。36 °C 胁迫 6 h 后, 各组龙须菜 P_n 下降, 其中温室效应组龙须菜 P_n 显著高于其他组 ($P < 0.05$)。40 °C 胁迫 10 min 后, 龙须菜 P_n 均下降到零, 而此时呼吸作用维持相对较高的水平 (图 6)。

如图 7, 温度升高组或者 CO₂ 升高组龙须菜 R_d 与 CK 组未表现出显著差异 ($P > 0.05$), 而温室效应组龙须菜 R_d 显著高于 CK 组和 CO₂ 升高组 ($P < 0.05$)。温度升高组龙须菜 P_n 与 CK 组无显著差异, CO₂ 升高组和温室效应组龙须菜 P_n 显著高于 CK 组 ($P < 0.05$)。温度升高组 R_d 和 P_n 与 CK 组无显著差异, CO₂ 升高组具有较低的 R_d 和较高的 P_n , 温室效应组则表现出较高的 R_d 和 P_n (图 7)。

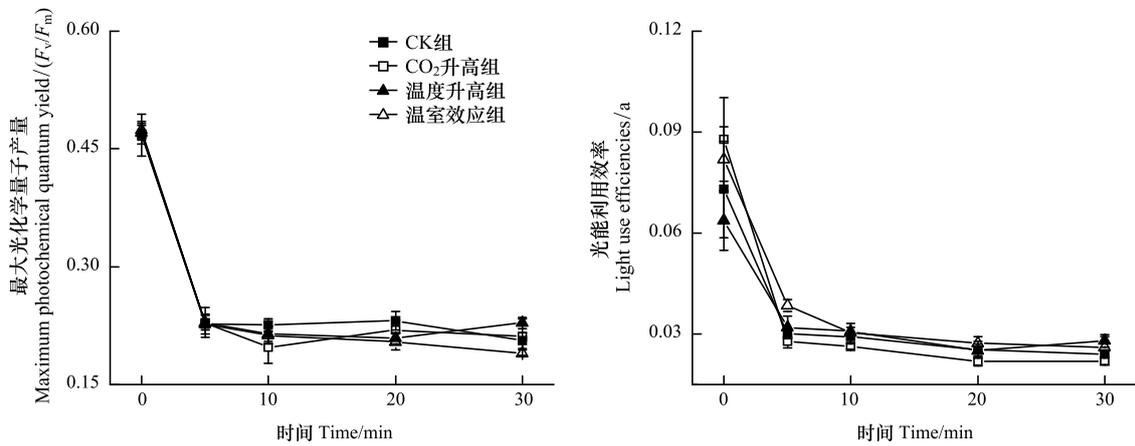


图 4 不同条件下生长的龙须菜 F_v/F_m 和 α 值受 40 °C 胁迫时随时间的变化

Fig.4 Changes of the values of F_v/F_m and α with exposure time in *Gracilaria lemaneiformis* cultured in different conditions when suffered from high temperature of 40 °C-stress

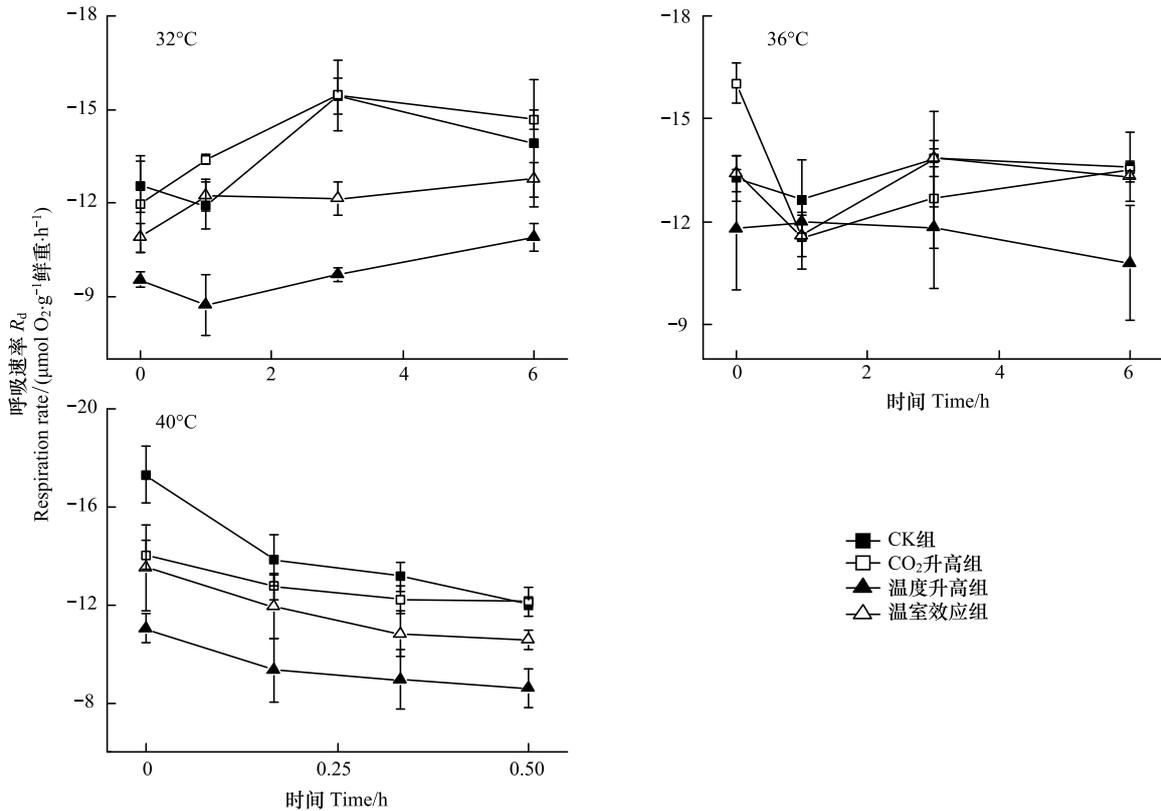


图 5 高温 32、36 °C 和 40 °C 对不同生长条件下的龙须菜呼吸速率的影响

Fig.5 Effects of high temperatures of 32, 36 °C and 40 °C on R_d in *Gracilaria lemaneiformis* with different growth conditions

3 讨论

本实验结果表明 CO₂ 升高或者温度升高以及温室效应均能促进龙须菜的生长,但温室效应的促进作用更显著,表明高 CO₂ 浓度对龙须菜生长的影响可能与温度有关。这与 Zou 等^[16]关于高 CO₂ 浓度和光强对龙须菜生长的影响结果类似,高 CO₂ 浓度对高光强下生长的龙须菜具有明显的促进作用。大部分海藻具有碳浓缩机制,在光合作用过程中,海藻通过胞外 CA 酶催化 HCO₃⁻ 脱水产生的 OH⁻ 的速率大于 CO₂ 向海水形成 H⁺ 的速

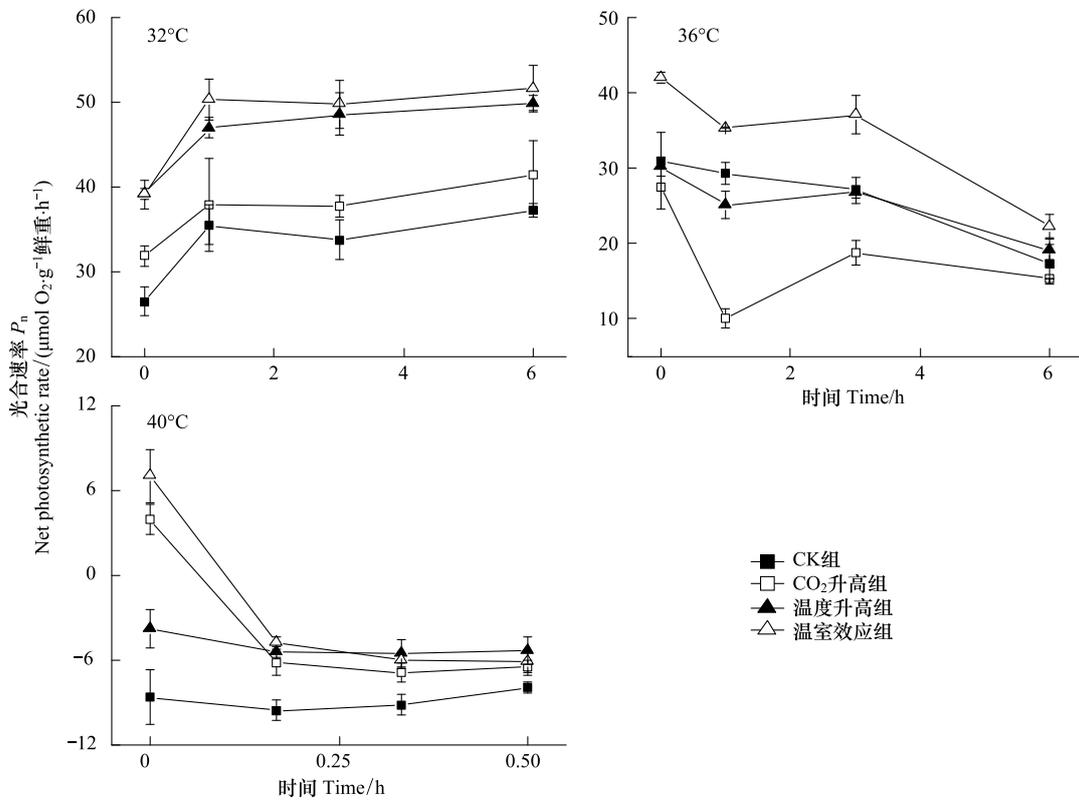


图 6 高温 32、36 °C 和 40 °C 对不同生长条件下的龙须菜光合速率的影响

Fig.6 Effects of high temperatures of 32, 36 °C and 40 °C on P_n in *Gracilaria lemaneiformis* with different growth conditions

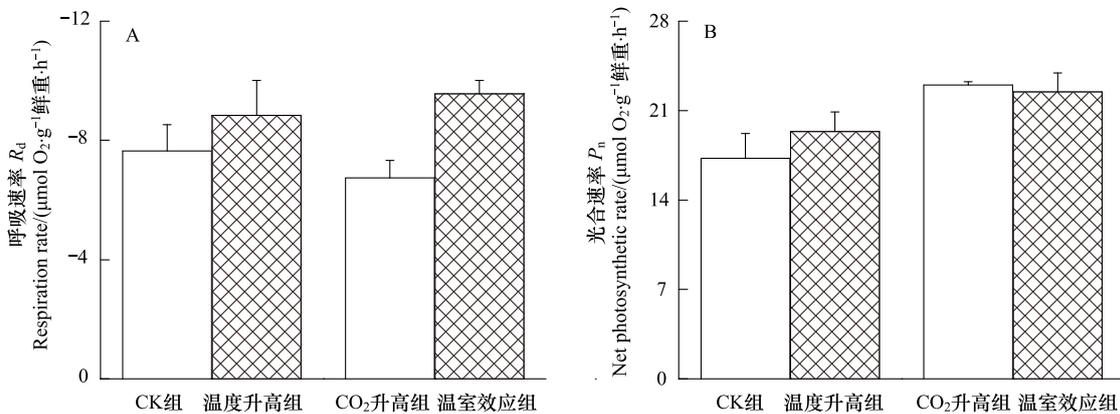


图 7 不同条件下生长的龙须菜在原位下的呼吸速率和光合速率

Fig.7 The rates of R_d and P_n measured *in situ* of *Gracilaria lemaneiformis* cultured under different conditions

率,会引起海水 pH 值上升。因此,本实验中出现这种现象,可能是海水 pH 值的上升导致温度升高条件下生长的龙须菜光合作用对无机碳的亲合力下降从而受到碳代谢的限制^[13],而不断向海水中通入高 CO₂ 浓度空气使得海水中无机碳浓度增加,解除了碳限制,增强其光合作用,进而促进了龙须菜生长。

通常情况下,高 CO₂ 浓度培养使海藻可溶性蛋白含量下降,而可溶性碳水化合物含量增加^[8]。本实验中,温室效应组龙须菜 SP 和 SC 含量均下降,这与该组龙须菜所表现出的较高 RGR、 R_d 和 P_n 的现象一致。光合固碳和生长的加速使龙须菜对 N 的需求量更高,藻体内可溶性蛋白含量下降可能是因为可溶性蛋白被作为生长所需氮源而导致^[24]。此外,呼吸作用的增强消耗了大量的糖类能源物质,因此温室效应组龙须菜 SC 含量也下降。本实验结果还表明 Chl a 和 Car 含量不受 CO₂ 浓度的影响,温度升高使龙须菜 Chl a 和 Car 含量上

升。这与 Zou 等^[16]关于龙须菜 Chl a 含量不受 CO₂水平影响而受光照水平的影响的结果一致。Chl a 和 Car 含量的增加为光合作用提供更多的光能,此外,Car 的增加增强了保护光合膜的功能^[25]。Zou 等^[16]发现龙须菜 PE 和 PC 含量受 CO₂浓度和光照强度的影响,而本实验结果表明,龙须菜 PE 和 PC 不受 CO₂和温度的影响。

叶绿素荧光对热胁迫的感应非常灵敏,当外界温度变化时,植物通过迅速改变 PS II 反应中心开合状态使植物快速适应外界温度变化^[1]。本实验中,龙须菜 F_v/F_m 和 α 值在 32 °C 高温胁迫 6 h 后并无下降趋势,在 36 °C 高温胁迫 6 h 后表现出不同程度的下降,而在 40 °C 胁迫 20 min 后均下降到极低。这表明龙须菜在 6 h 高温 32 °C 条件下并未受到胁迫,其潜在的最大光能转换效率以及光能利用效率未受到影响;在高温 36 °C 处理时受到不同程度的胁迫,不同条件下生长的龙须菜最大光能转换效率以及光能利用效率下降程度不同;龙须菜在高温 40 °C 处理时遭到严重胁迫,最大光能转换效率以及光能利用效率在短时间下降到极低值,PS II 反应中心受损严重。类似的结果在 Ralph^[26]对高等植物 *Halophila ovalis* 的研究也有发现,该植物在 25—30 °C 内未受到胁迫影响,对超出该范围外的其他温度较敏感,高温 40 °C 处理 5 h 使得 F_v/F_m 下降了一半且 PS II 受到不可修复的损伤。此外,正常温度生长(20 °C,包括对照组和 CO₂升高组)与高温生长的龙须菜(24 °C,包括温度升高组和温室效应组) F_v/F_m 和 α 值在 36 °C 高温胁迫下表现出明显差异,前者 F_v/F_m 和 α 值下降了 70% 以上,而后者下降率不超过 26%,表明正常温度(20 °C)生长的龙须菜最高耐受温度限度可能在 32—36 °C 之间,而高温(24 °C)生长的龙须菜可能在 36—40 °C 之间,进一步证明了低温生长的植物对高温胁迫的耐受力相对于高温生长的植物会下降^[12, 27]。本实验中不同温度生长下的龙须菜在热胁迫下所表现出的叶绿素荧光参数敏感性的差异可能是龙须菜对各自生长温度的长期适应所引起,对温度的长期适应可能涉及到类囊体膜重组、热激蛋白和脂类以及内源蛋白的合成等生理过程^[28]。此外,CO₂升高与对照组龙须菜叶绿素荧光参数在高温胁迫过程中的差异不显著。可见,生长温度比 CO₂浓度对龙须菜抗高温逆境胁迫能力的影响更大。

光合作用和呼吸作用是影响植物碳代谢及生物量的两个重要生理过程。本实验中,温室效应组龙须菜 R_d 显著高于 CO₂升高组,而对照组和温度升高组之间的差异不显著,即 CO₂浓度升高只有在高温生长条件下才对龙须菜呼吸作用表现出显著影响,表明 CO₂对龙须菜 R_d 的影响可能与温度有关。温室效应组和温度升高组龙须菜 P_n 显著高于其他两组,表明温度对龙须菜光合作用的影响更显著。有研究表明,CO₂浓度升高可通过增加光合固碳底物浓度和优化光系统结构来促进植物光合作用^[29],该实验中 CO₂升高并未对龙须菜光合作用产生显著促进作用,可能是龙须菜所具有的 CCM 机制以及其光系统结构并没有发生太大的变化所致。高温 32 °C 下,龙须菜 R_d 和 P_n 均随时间的延长而上升;高温 36 °C 下,各组龙须菜 R_d 和 P_n 表现出不同程度的下降;高温 40 °C 胁迫时,所有 R_d 和 P_n 均急剧下降。这与叶绿素荧光参数的变化趋势一致。Luo 等^[30]关于葡萄藤研究表明,35 °C 高温不足以对葡萄藤光合作用产生影响,而 40 °C 胁迫引起的葡萄藤光合作用下降主要与 Rubisco 酶活性提高以及 PS II 反应中心和受体侧活性受抑制这三方面的因素有关。一般植物的光合作用都有其最适温度,超出这个温度范围,光合产量将逐步减少最终导致 CO₂吸收的终止。植物在短期热胁迫下,PS II 中水裂解反应受阻,最大光化学量子产量和来自 PS II 电子受体的电子流减少,从而引起 PS II 反应中心关闭,发生光合作用下调现象,这是对短期温度变化的有效适应方式。对几小时短期热胁迫的适应可能涉及到热保护化合物的积累、类囊体 pH 值梯度的改变以及因淬灭机制改变所导致的下调等过程。红藻光系统受热胁迫时,按各器官对热敏感程度的高低,会先后发生放氧复合体活性下降、捕光色素复合体解离、藻胆体内部结构改变以及 PS II 受体侧活性受抑制等现象^[31]。本实验中,胁迫温度的高低和时间长短影响着光系统受损的状态,进而影响光合作用和呼吸作用。高温胁迫使得 Rubisco 酶及 Calvin 循环酶等活性发生变化,光合膜系统结构因脂肪酸饱和程度的变化而改变,胁迫温度越高对酶以及膜结构损伤越严重并伴随着相关生理功能的丧失^[1]。在高温胁迫光合作用的早期,主要涉及到叶绿体膜特性的变化和能量转移机制的解耦联等^[1],当胁迫温度足够高时,胁迫时间越长终将导致蛋白质的变性和细胞功能的完全丧失。

此外,高温(24 ℃)生长的龙须菜(温度升高组和温室效应组)在高温 32 ℃胁迫下表现出较高的光合速率,其中温度升高组龙须菜在整个过程中呼吸作用显著低于其他组,温室效应组呼吸作用在胁迫 3 h 后也逐渐低于其他两组龙须菜,说明高温生长条件下的龙须菜具有较好的高温耐受性和碳代谢状态。Zou 等^[32]研究表明,低温生长的羊栖菜幼苗在其生长温度下的光合速率高于高温生长的羊栖菜在低温下的光合速率,这种大型海藻光合作用对温度的适应性与高等植物具有相同的机制,对低温的适应涉及到光合作用限制酶(如 Rubisco 酶)含量或者活性增加,对高温的适应与光合作用器官的热稳定增强有关^[32, 33]。高温 36 ℃胁迫时,对照组和温室效应组龙须菜 R_d 基本不受温度胁迫影响,温室效应组龙须菜 P_n 显著高于其他 3 种,说明温室效应使其在受 36 ℃高温胁迫时保持较好的碳代谢状态,即高 CO_2 和高温生长条件共同提高了龙须菜光合作用和呼吸作用的耐热性能。温度升高组和 CO_2 升高组龙须菜 R_d 在 36 ℃胁迫时虽有所下降,但整个胁迫过程 R_d 值与其他两组并未表现出显著差异,温度升高组 P_n 在胁迫过程中与对照组无显著差异,而 CO_2 升高组 P_n 显著低于对照组。这些说明 CO_2 升高使得龙须菜光合作用和呼吸作用的高温耐受性下降,而温度升高的生长条件对其并未产生负面影响。彭长连等^[34]研究也表明,高 CO_2 浓度的生长环境对水稻叶片短期高温胁迫耐受能力未产生积极影响。

综上所述, CO_2 浓度或温度升高提高了龙须菜的生长速率,而温室效应更促进了龙须菜的生长;但温室效应降低了龙须菜 SP 和 SC 含量,温度升高使 Chl a 和 Car 上升,而 CO_2 对两种色素无显著影响; CO_2 和温度对 PE 和 PC 均无影响。对生长温度的适应使得龙须菜具有不同的最高耐受温度限度,其中正常温度(20 ℃)生长的龙须菜可能在 32—36 ℃之间,而高温(24 ℃)生长的龙须菜可能在 36—40 ℃之间。生长温度对光合作用和呼吸作用耐热性能的影响比 CO_2 浓度的影响更大,而温室效应更显著的提高了龙须菜光合作用的耐热性能。在温室效应背景下,龙须菜作为在海藻栽培最大重要地位的大型海藻之一,其生长加速以及光合固碳能力的增强,在全球碳循环和减缓未来大气 CO_2 浓度上具有非常重要的意义。

参考文献(References):

- [1] 泰兹, 齐格尔. 植物生理学. 王学路, 宋纯鹏, 译. 4 版. 北京: 科学出版社, 2009.
- [2] Taiz L, Zeiger E. Plant Physiology. Wang X L, Song, C P, Trans. 4th ed. Beijing: Science Press, 2009.
- [3] Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis, M, Averyt K B, Tignor M, Miller H L. Climate change 2007: The physical science basis // Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Inter-governmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge University Press, 2007: 996-996.
- [4] Doney S C, Fabry V J, Feely R A, Kleypas J A. Ocean acidification: the other CO_2 problem. Annual Review of Marine Science, 2009, 1: 169-192.
- [5] 邹定辉, 高坤山. 高 CO_2 浓度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] Zou D H, Gao K S. Physiological responses of seaweeds to elevated atmospheric CO_2 concentrations // Seaweeds and their Role in Globally Changing Environments. Netherlands: Springer, 2010: 115-126.
- [7] Beardall J, Beer S, Raven J A. Biodiversity of marine plants in an era of climate change: some predictions based on physiological performance. Botanica Marina, 1998, 41: 113-123.
- [8] 邹定辉, 陈雄文. 高浓度 CO_2 对条浒苔 (*Enteromorpha clathrata*) 生长和一些生理生化特征的影响. 海洋通报, 2002, 21(5): 38-45.
- [9] Mercado J M, Niell F X, Figueroa F L. Regulation of the mechanism for HCO_3^- use by the inorganic carbon level in *Porphyra leucosticta* thus in *Le Jolis* (Rhodophyta). Planta, 1997, 201(3): 319-325.
- [10] Mercado J M, Javier F, Gordillo L, Niell F X, Figueroa F L. Effects of different levels of CO_2 on photosynthesis and cell components of the red alga *Porphyra leucosticta*. Journal of Applied Phycology, 1999, 11(5): 455-461.
- [11] Kübler J E, Davison I R. High-temperature tolerance of photosynthesis in the red alga *Chondrus crispus*. Marine Biology, 1993, 117(2): 327-335.
- [12] Davison R I. Environmental effects on algal photosynthesis: temperature. Journal of Phycology, 1991, 27(1): 2-8.
- [13] Zou D H, Xia J, Yang Y. Photosynthetic use of exogenous inorganic carbon in the agarphyte *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta). Aquaculture, 2004, 237(1/4): 421-431.
- [14] Fu F X, Warner M E, Zhang Y H, Feng Y Y, Hutchins D A. Effects of increased temperature and CO_2 on photosynthesis, growth, and elemental ratios in marine *Synechococcus* and *Prochlorococcus* (Cyanobacteria). Journal of Phycology, 2007, 43(3): 485-496.

- [15] Fu F X, Zhang Y H, Warne M E, Feng Y Y, Sun J, Hutchins D A. A comparison of future increased CO₂ and temperature effects on sympatric *Heterosigma akashiwo* and *Proocentrum minimum*. *Harmful Algae*, 2008, 7(1): 76-90.
- [16] Zou D H, Gao K S. Effects of elevated CO₂ on the red seaweed *Gracilaria lemaneiformis* (Gigartinales, Rhodophyta) grown at different irradiance levels. *Phycologia*, 2009, 48(6): 510-517.
- [17] Zou D H, Gao K S, Luo H J. Short- and long-term effects of elevated CO₂ on photosynthesis and respiration in the marine macroalga *Hizikia fusiformis* (Sargassaceae, Phaeophyta) grown at low and high N supplies. *Journal of Phycology*, 2011, 47(1): 87-97.
- [18] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [19] Kochert G. Carbohydrate determination by phenol-sulfuric acid method // Hellebust J A, Craigie J S, eds. *Handbook of Physiological and Biochemical Methods*. London: Cambridge University Press, 1978: 95-97.
- [20] Beer S, Eshel A. Determining phycoerythrin and phycocyanin concentrations in aqueous crude extracts of red algae. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 1985, 36(6): 785-792.
- [21] Jensen A. Chlorophylls and carotenoids // Hellebust J A, Craigie J S, eds. *Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1978: 61-69.
- [22] Kitajima M, Butler W. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1975, 376(1): 105-115.
- [23] Jasby A D, Platt T. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 1976, 21(4): 540-547.
- [24] Young, E B, Berges J A, Dring M J. Physiological responses of intertidal marine brown algae to nitrogen deprivation and resupply of nitrate and ammonium. *Physiologia Plantarum*, 2009, 135(4): 400-411.
- [25] Xia J R, Gao K S. Impacts of elevated CO₂ concentration on biochemical composition, carbonic anhydrase, and nitrate reductase activity of fresh water green algae. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2005, 47(6): 668-675.
- [26] Ralph P J. Photosynthetic response of laboratory-cultured *Halophila ovalis* to thermal stress. *Marine Ecology Progress Series*, 1998, 171: 123-130.
- [27] Davison I R. Adaptation of photosynthesis in laminaria saccharina (phaeophyta) to changes in growth temperature. *Journal of Phycology*, 1987, 23(2): 273-283.
- [28] Larcher S. Photosynthesis as a tool for indicating temperature stress events // Schulze E D, Caldwell M M, eds. *Ecophysiology of Photosynthesis*. Berlin: Springer-Verlag, 1994: 261-277.
- [29] 何平. 温室效应与植物光合作用——大气 CO₂ 浓度升高对植物光合机理影响的分析. *中南林学院学报*, 2001, 21(1): 1-4.
- [30] Luo H B, Ma L, Xi H F, Duan W, Li S H, Loescher W, Wang J F, Wang L J. Photosynthetic responses to heat treatments at different temperatures and following recovery in grapevine (*Vitis amurensis* L.) Leaves. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23033.
- [31] Wu B G, Han Z G, Zang R B. Effects of heat stress in marine red and green algae by chlorophyll fluorescence method. *Journal of Jinan University: Natural Science*, 2002, 23(1): 108-112.
- [32] Zou D H, Liu S X, Du H, Xu J T. Growth and photosynthesis in seedlings of *Hizikia fusiformis* (Harvey) Okamura (Sargassaceae, Phaeophyta) cultured at two different temperatures. *Journal of Applied Phycology*, 2012, 24(5): 1321-1327.
- [33] Berry J, Björkman O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 1980, 31: 491-543.
- [34] 彭长连, 林植芳, 林桂珠. 高温对生长在加富 CO₂ 条件下水稻离体叶片叶绿素荧光的影响. *热带亚热带植物学报*, 2000, 8(2): 91-96.