

干出和紫外辐射对坛紫菜光合作用的影响^{*}

姜红霞¹ 高坤山^{2**}

1. 常熟理工学院生物与食品工程学院, 常熟 215500; 2. 厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门 361005

摘要 以坛紫菜叶状体为材料, 研究了干出和阳光紫外辐射(UVR)对其光合作用的影响. 长时间干出和阳光UVR不能进一步诱导藻体合成紫外吸收物质, 而且UVR对于干出藻体的叶绿素a和类胡萝卜素合成有抑制作用. UVR显著抑制干出状态下藻体光系统II(PS II)的有效光化学效率和藻体的光合固碳速率, 而且对光合活性的抑制作用随失水率的增大而增强.

关键词 坛紫菜 干出 紫外辐射 色素 光合活性

坛紫菜(*Porphyra haitanensis* Chang et Zheng)是中国南方特有的经济栽培种, 在野外其叶状体生长于潮间带, 随着潮汐变化会经历反复干出和沉水循环, 干出时会面临强光、紫外辐射(UVR)和渗透压等胁迫. 紫外吸收物质(UV-absorbing compounds)主要因为能屏蔽或减弱紫外波段的有害作用而成为近些年的关注热点^[1, 2]. 同时, 紫外吸收物质也能起到渗透压调节的作用^[3], 而且已有研究证明渗透压能诱导蓝藻*Chlorogloeopsis* PCC 6912的紫外吸收物合成^[4]. 作者在之前的研究中发现干出处理能维持坛紫菜叶状体的紫外吸收物含量^[5], 但并没能诱导紫外吸收物质的进一步合成, 这可能与藻体的起始含量过高有关^[6], 也可能是每天3 h的干出时间还不够长. 因而本文将叶状体在室外进行长时间干出, 以研究长时间干出和阳光紫外辐射(UVR)对其色素含量和光合活性的影响.

适度干出时, 紫菜叶状体表面的水分损失使得CO₂在水相中的扩散障碍减小, 光合作用活性增大, 而进一步的失水则会使其光合速率和光合效率降低^[7, 8]. 但是, 干出过程中, 阳光UVR对藻体光合作用活性的影响尚未见有报道.

1 材料与方法

1.1 材料

坛紫菜(*Porphyra haitanensis* Chang et Zheng)叶状体, 从汕头南澳岛(117.09°E, 23.47°N)附近海区的栽培网帘上采集, 现场用于实验或在4 h内运回实验室后, 通气保存在过滤海水中, 室温15—20℃, 光强低于50 μmol·m⁻²·s⁻¹ (photosynthetically active radiation, PAR), 第二天用于实验. 挑选健康藻体, 因为之前的结果^[5]已表明, 藻体基部和中间部位的色素含量在雌、雄个体间没有差异, 而中间部位较大、容易取材, 所以都取中间的营养组织(2 cm×2 cm)备用.

1.2 长时间干出实验

选择晴天(2005-12-08)的早上, 从栽培网帘上采集材料并带回附近的实验站, 共取50—60片营养组织均匀分散于过滤海水中, 用不锈钢丝网捞出后在阳光下进行干出. 采用两种辐射处理, 以区分PAR和UVR的不同影响: (i) PAB处理, 将滤膜Ultraplan 295(UVT 100, Digepra, Munich, Germany)盖在样品上, 以获得全波长阳光辐射(PAR+

2009-01-09 收稿, 2009-02-27 收修修改稿

* 国家自然科学基金重点资助项目(批准号: 90411018)

** 通信作者, E-mail: ksgao@xmu.edu.cn

©1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

UV-A+UV-B)。该滤膜能滤除 UV-C，自然阳光下可以不用，但本实验中使用它，是为了保证材料的失水速率与其他处理下相同；(ii) P 处理，将滤膜 Ultraphan 395 (UV Opak, Digefra, Munich, Germany) 盖在样品上，滤除阳光 UVR，使样品仅接受光合有效辐射 (PAR)；两种滤膜的透射光谱参照文献 [9]，材料主要是通过不锈钢丝网下方的空气流通来进行干出失水。分别在干出前和干出 1, 3, 6 h 后取样，每次取样后将一半材料回水 15 min 后称鲜重并提取色素 (预实验表明干出后含水量仅 5%—10% 的藻体在回水 10—15 min 后就能吸水充分)，另一半材料在测定有效光化学效率后，转入弱光 ($5-10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ PAR) 下回水，并跟踪其光合活性的恢复，用便携式荧光仪 (PAM-Water-EDF, Walz, Effeltrich, Germany) 测定光适应样品 PS II 的有效光化学效率 ($\Delta F / F_m'$)^[19]。

1.3 干出状态下光合固碳的测定

叶状体在干出状态下的光合固碳速率采用 LCA4 型红外 CO₂ 分析仪 (Analytical Development Company, U.K.) 测定，根据光合仪上“ ΔC ”值 (气路经过叶室所造成的 CO₂ 浓度差， $\mu\text{L/L}$) 及所用的藻量和气流量来计算光合速率，计算公式为：

$$P_n = \frac{\Delta C \times F \times 60 \times 273}{(273 + T) \times 22.4 \times DW}$$

其中 F 表示气体流速 (L/min)， T 为光合反应温度 ($^{\circ}\text{C}$)， DW 为藻样干重 (g)。

将 4—6 块营养组织展开平铺在一块长方形的尼龙网上 (相互不遮光)，装入光合仪的叶室内，叶室采用石英玻璃罩 (其透射光谱见文献 [11])，可透全阳光辐射。室外实验在中午时段进行，重复测定 3 d (2005-01-18—2005-01-20)，每天都是 11:00—12:00 间测定 P 处理下的，12:00—13:00 间测 PAB 处理下的，藻体的固碳速率和接受的光强水平，都是用这 3 d 的平均值来表示，实验期间叶室内温度是 $(20 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ 。同时，我们在室内也重复此实验，用太阳模拟器作为光源，其发射光谱和当地的阳光光谱极其相似，样品在灯下 70 cm 处分别接受 P 处理和 PAB 处理，由空调控温在 20°C 。实验过程中通过监测藻体重量的变化来获得失水率 ($WL\%$)。

$$WL\% = (W_0 - W_t) / (W_0 - W_d) \times 100$$

其中 W_0 为干出初始时的重量，即充分水化状态下的重量； W_t 为干出一定时间 (t 小时) 后的重量； W_d 为干重 (80°C , 24 h)；含水量则为 $(1 - WL\%)$ 。

相对于只照射 PAR 的材料而言，由 UVR 引起的光合作用相对抑制率通过以下公式求得：

$$\text{Inh}_{\text{UVR}}(\%) = (P_P - P_{\text{PAB}}) / (P_P) \times 100$$

其中 P_P 和 P_{PAB} 分别代表只照射 PAR 和照射了 PAR+UV-A+UV-B 样品的有效光化学效率或固碳速率。

1.4 色素的提取和测定

色素的提取方法参见文献 [5]。紫外吸收物质的浓度根据提取液最大吸收峰 (336 nm) 的高度来估测^[12]，叶绿素 a (chl a) 浓度依据 Porra^[13] 的计算公式求得，而类胡萝卜素浓度则根据 Wellburn^[14] 的方程来求算。

1.5 辐射的测定

室外即时的阳光辐射值，采用 ELDONET 辐射计 (Real Time Computers, Erlangen, Germany) 来连续测定，此测光仪可收集来自各个方向的辐射 (顶部是半球形的)，在每秒钟内测定 UV-B (280—315 nm)、UV-A (315—400 nm) 和 PAR 波段的辐射值，获取 1 min 内的平均值，并记录于电脑中^[15]；室内太阳模拟器下的辐射值采用相同方法测定。

1.6 统计分析

所有实验中，都是采用 3 个重复或是 6 次测量，实验数据表示为平均值 \pm 标准差 (n 为 3—6)，处理间的数据结果用 t -检验或方差分析 (ANOVA) 进行差异显著性检验，以 $p < 0.05$ 为差异的显著水平。

2 结果

2.1 长时间干出和阳光 UVR 对叶状体色素含量及光合活性的影响

实验当天上午偶有云彩 (图 1)，但仍以晴朗为主，UV-B, UV-A, PAR 的最大辐射值依次是 1.27, 51.6, 369 W/m^2 ($1 \text{ W/m}^2 = 4.6 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (阳光 PAR))。

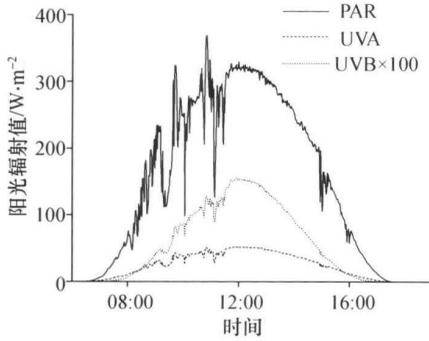


图 1 长时间干出实验期间阳光辐射的日变化情况 (2005-12-08)

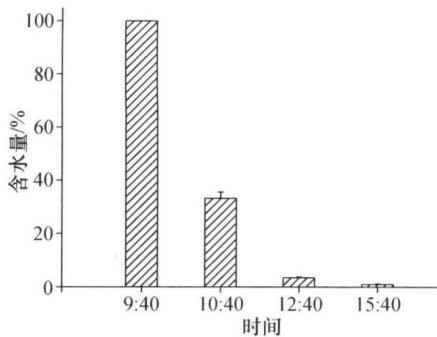


图 2 室外长时间干出实验期间坛紫菜藻体含水量的变化 ($n = 3$)

藻体的含水量持续降低(图 2), 开始 1 h 内就已失水 60%—70%, 之后失水速率减慢, 6 h 后含水量仅为 1%。藻体的紫外吸收物含量, 在实验的 6 h 中都没有明显变化, 而且 PAB 和 P 处理间也没有显著差异(图 3(a)). chl *a* 含量在干出 1 h 后没有明显变化, 而 3 h 后则分别降为起始值的 48% (PAB) 和 63% (P), 两种辐射处理间没有显著差异, 6 h 后 P 处理下 (81%) 显著高于 PAB 处理 (39%) 的, 但 P 处理下在干出 3 h 和 6 h 后的含量间没有显著差异(图 3(b)). 类胡萝卜素含量在 PAB 处理下没有变化, 而 P 处理下在 1 h 后显著增高了 16%, 之后则保持不变, PAB 和 P 处理间没有差异(图 3(c)).

藻体在阳光下干出 1 h 后, 有效光化学效率就急剧降低为起始值的 17% (PAB) 和 31% (P), UVR 引起的相对抑制率为 45%, 转入弱光下回水 30 min 后光合活性就都完全恢复了(图 4(a)). 干出照光 3 h 后, 藻体的光化学效率降低至测不出, 转入弱光下回水 3 h 后, 接受过 P 处理的藻体完全恢

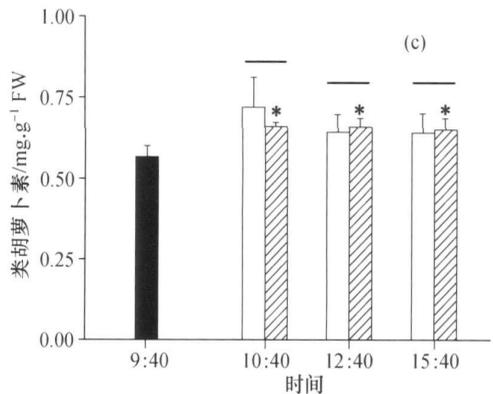
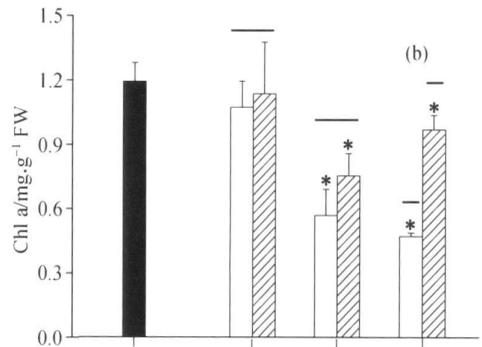
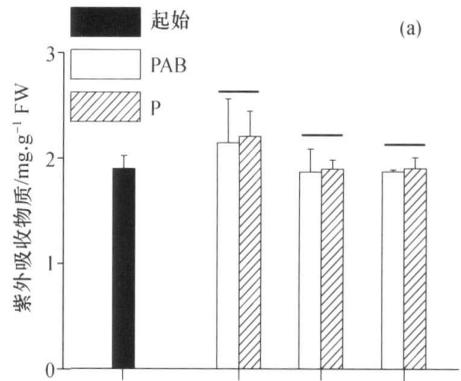


图 3 室外长时间干出实验期间, 只接受阳光 PAR (P 处理) 和接受全阳光辐射 (PAB 处理) 的藻体, 其紫外吸收物质 (a)、chl *a* (b) 和类胡萝卜素 (c) 含量的变化情况 ($n = 3$) 柱状图上的横线在不同水平位置表示不同辐射处理间存在显著差异; “*” 表示与起始值间存在显著差异

复, 而接受过 PAB 处理的藻体只恢复到起始值的 54% (图 4(b)). 在阳光下连续干出 6 h 后, 藻体光化学效率的恢复相对较慢, 只接受过 P 处理的藻体需要 16 h 恢复完全, 而接受过 PAB 处理的藻体只恢复到 74% (图 4(c)).

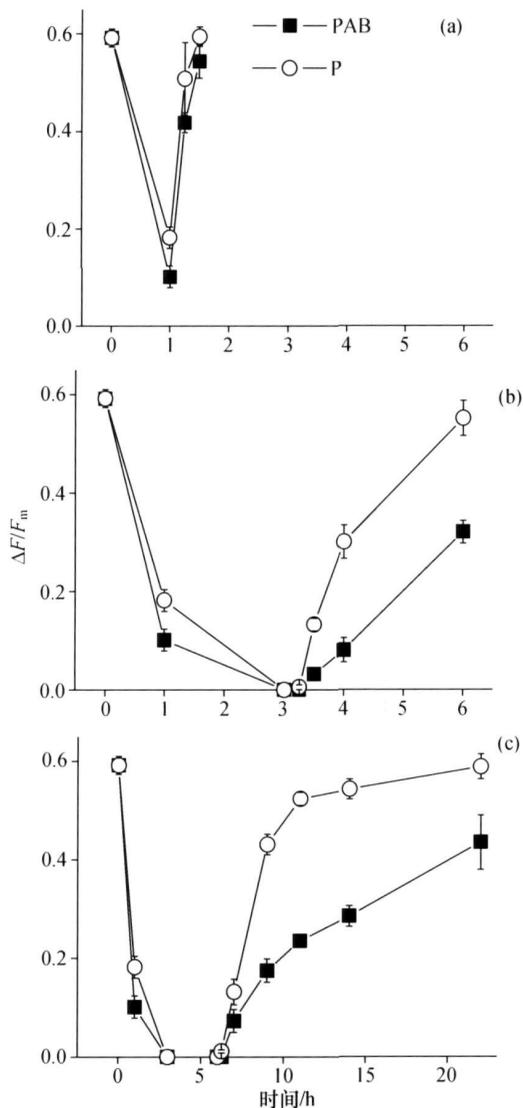


图 4 长时间干出实验期间, 坛紫菜藻体在只接受阳光 PAR (P 处理) 和接受全阳光辐射 (PAB 处理) 下, 干出 1 h (a), 3 h (b), 6 h (c) 后以及转入弱光下回水期间有效光化学效率的变化情况 ($n = 6$)

2.2 干出状态下阳光 UVR 对叶状体光合固碳的影响

在室外实验中, 重复测定的 3 d 都是晴朗, 中午时段 (11:00—13:00) UV-B, UV-A, PAR 的平均辐射值依次是 1.27, 41.6, 265 W/m^2 ; 各辐射处理下, 叶状体的光合固碳速率在失水 20% 时没有明显变化 ($p > 0.2$), 之后则随失水率增大而降低 (图 5(a)). 在室内的太阳模拟器下, 藻体接受的 UV-B, UV-A, PAR 辐射值依次是 3.32, 73.7,

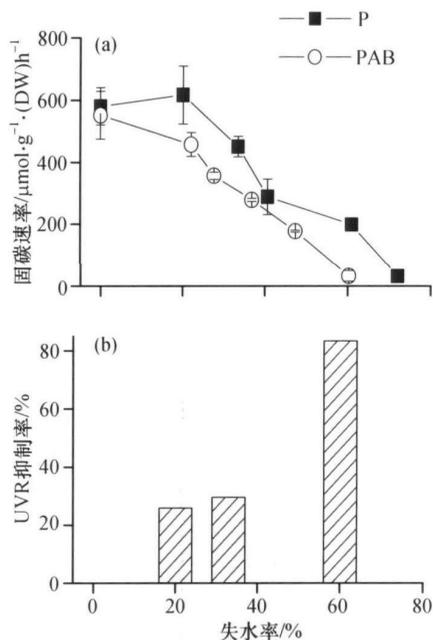


图 5 室外阳光下, 坛紫菜营养组织在干出状态下只接受 PAR (P) 和全阳光辐射 PAR+UV-A+UV-B (PAB) 处理, 其光合固碳速率随失水率的变化 ($n = 3$) (a) 和 UVR 引起的光合作用相对抑制率随失水率的变化 (b)

340 W/m^2 ; 藻体的固碳速率同样随失水率增大而降低, 在失水 20% 时, P 处理下没有显著降低 ($p > 0.05$), 但 PAB 处理下已降低为起始的 51%, 随着进一步的失水, P 处理下固碳速率也持续降低 (图 6(a)). 在实验所测的各失水阶段, 从失水 20% 开始, P 处理下藻体的光合固碳速率大都显著高于 PAB 处理下的, UVR 引起的光合作用抑制率随失水率的增大而增高 (图 5(b), 6(b)); 失水约 70% 时, PAB 处理下藻体的光合固碳作用首先降到测不出。

3 讨论

用刚采集的坛紫菜叶状体进行长时间干出, 紫外吸收物质的含量没有进一步增高, 可能正如 Gröniger 等^[16] 以及 Karsten 和 West^[6] 认为的那样, 是因为藻体中紫外吸收物质的起始含量很高。

坛紫菜叶状体的 chl *a* 含量不仅受高 PAR 的影响, 还进一步受到 UVR 的影响, 这与紫菜 *P. leucosticta*^[17] 是一致的, chl *a* 含量在下午的恢复受 UVR 抑制. 高光强 PAR 照射下, 藻体因为吸收过多的能量而形成较多激发态的叶绿素 (¹chl 和 ³chl),

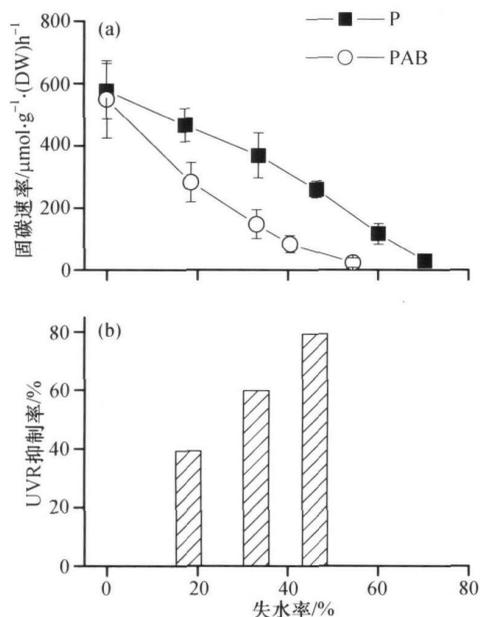


图 6 室内太阳模拟器下, 坛紫菜营养组织在干出状态下接受 PAR (P) 和 PAR+UV-A+UV-B (PAB) 处理, 其光合固碳速率随失水率的变化 ($n=3$) (a) 和 UVR 引起的光合作用相对抑制率随失水率的变化 (b)

后者与 O_2 作用而产生大量的单线态氧, 色素被氧化损伤, 或是由于光子传递速率超过了电子从 PS II 向 PS I 的传递速率, 电子传递链上还原状态的质体 Q_A 库能介导一种反馈调节机制, 通过影响基因的表达来限制色素的合成^[18]. 在 UVR 漂白色素时, 主要是 UV-B 起作用, 叶绿素的卟啉环是 UV-B 的光敏剂, 产生的单线态氧使色素发生光氧化, 从而造成直接的损伤; 另外, UV-B 还影响电子的传递, 叶绿素吸收光而激发的高能电子传不出去, 积累的高能量导致卟啉环发生光氧化-开环, 从而造成间接的破坏^[18].

类胡萝卜素是重要的光保护色素, 能有效减弱高 PAR 造成的损伤, 因为类胡萝卜素可以淬灭单线态氧 ($^1\text{O}_2$), 也可以被脱环氧化而直接淬灭激发态的叶绿素 (^1chl 和 ^3chl), 以避免单线态氧的产生^[19]. 对绿藻石莼 *Ulva lactuca* 的研究显示, 叶黄素含量在滤除阳光 UVR 后明显增大, 表明 UVR 对高 PAR 诱导的光保护机制有负面影响^[20]. 本文的长时间干出实验中, P 处理下坛紫菜叶状体的类胡萝卜素含量增高了 16%, 而 PAB 处理下则没有

明显变化, UVR 的存在可能抑制了高 PAR 对类胡萝卜素合成的诱导.

从长时间干出实验可以看出, 坛紫菜叶状体的光合活性急剧降低, 而且 UVR 还引起了进一步的抑制. 对不同水分含量的海藻叶状体的叶绿素荧光分析表明, 干燥最先产生的有害影响是抑制 PS I 与 PS II 间的电子传递, 当叶状体失水 60%—70% 时, 从水光解向 PS II 的电子传递终止, PS II 的反应中心失活, 从而导致光合作用停止^[21-23]. 对紫菜 *P. linearis* 的研究发现, 叶状体的光合活性受干出失水的影响虽然很大, 但再回水后能很快恢复^[24]. 而本文也显示, 干出照光的时间越长, 坛紫菜藻体的有效光化学效率完全恢复所需要的时间也越长 (图 4), 表明光抑制程度主要是与接受的辐射剂量有关, 而且只照射过 PAR 的藻体能较快恢复, 这一点在大型红藻角叉菜 *Chondrus crispus* 中也有报道^[25]. 坛紫菜叶状体的净光合速率, 在不同光强下都随干出程度的加深而不断降低^[8], 本文也验证了这一点 (图 5, 6), 而且发现 UVR 引起的光合作用抑制率随失水率的增大而增高. 实验期间, 自然阳光的 UV-B/PAR 为 0.48%, 而室内太阳模拟器下则高达 0.97%, 所以不难理解在失水 20% 时, 光合固碳速率在室外的各辐射处理下都没有降低, 而在室内, 尽管 P 处理下也没有降低, 但 PAB 处理下却已显著降低为起始值的 51% 了, 说明增强的 UVR 尤其是 UV-B 辐射较快地产生了抑制作用.

本文结果表明, 阳光紫外辐射对坛紫菜叶状体的光合色素以及光合活性都有明显的抑制作用, 低潮时的干出虽有助于保持藻体的紫外吸收物质, 从而能一定程度上减轻紫外辐射的危害, 但干出并不能诱导紫外吸收物质的进一步合成, 而干出导致的反应中心失活更使得藻体对紫外辐射的抵抗力减弱.

参 考 文 献

- Franklin LA, Forster RM. The changing irradiance environment: Consequences for marine macrophyte physiology, productivity and ecology. *Eur J Phycol*. 1997, 32: 207-232
- Karsten U, Friedl T, Schumann R, et al. Mycosporine-like amino acids and phylogenies in green algae: *Prasiola* and its relatives from the Trebouxiophyceae (Chlorophyta). *J Phycol*. 2005, 41: 557-566

- 3 Oren A. Mycosporine-like amino acids as osmotic solutes in a community of halophilic cyanobacteria. *Geomicrobiol J*, 1997, 14: 231—240
- 4 Portwich A, Garcia-Pichel F. Ultraviolet and osmotic stresses induce and regulate the synthesis of mycosporines in the cyanobacterium *Chlorogloopsis* PCC 6912. *Arch Microbiol*, 1999, 172: 187—192
- 5 Jiang H, Gao K, Helbling EW. UV-absorbing compounds in *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta) with special reference to effects of desiccation. *J Appl Phycol*, 2008, 20: 387—395
- 6 Karsten U, West JA. Living in the intertidal zone—seasonal effects on heterosides and sun-screen compounds in the red alga *Bangia atropurpurea* (Bangiales). *J Exp Mar Biol Ecol*, 2000, 254: 221—234
- 7 Gao K, Aruga Y. Preliminary studies on the photosynthesis and respiration of *Porphyra yezoensis* under emersed conditions. *J Tokyo Univ Fish*, 1987, 47: 51—65
- 8 Zou D, Gao K. Effects of desiccation and CO₂ concentrations on emersed photosynthesis in *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta), a species farmed in China. *Eur J Phycol*, 2002, 37: 587—592
- 9 Gao K, Yu H, Brown MT. Solar PAR and UV radiation affects the physiology and morphology of the cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120. *J Photochem Photobiol B: Biol*, 2007, 89: 117—124
- 10 Genty BE, Briantais JM, Baker NR. Relative quantum efficiencies of the two photosystems of leaves in photorespiratory and non-photorespiratory conditions. *Plant Physiol Biochem*, 1989, 28: 1—10
- 11 徐军田, 高坤山. 阳光紫外辐射对绿藻石莼光化学效率的影响. *海洋学报*, 2007, 29(1): 127—132
- 12 Dunlap WC, Rae GA, Helbling EW, et al. Ultraviolet-absorbing compounds in natural assemblages of antarctic phytoplankton. *Antarct J*, 1995, 30: 323—326
- 13 Porra RJ. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*. *Photosynth Res*, 2002, 73: 149—156
- 14 Wellburn AR. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J Plant Physiol*, 1994, 144: 307—313
- 15 Häder DP, Lebert M, Marangoni R, et al. ELDONET-European Light Dosimeter Network hardware and software. *J Photochem Photobiol B: Biol*, 1999, 52: 51—58
- 16 Gröniger A, Hallier C, Häder DP. Influence of UV radiation and visible light on *Porphyra umbilicalis*: Photoinhibition and MAA concentration. *J Appl Phycol*, 1999, 11: 437—445
- 17 Figueroa FL, Salles S, Aguilera J, et al. Effects of solar radiation on photoinhibition and pigmentation in the red alga *Porphyra leucosticta*. *Mar Ecol Prog Ser*, 1997, 151: 81—90
- 18 Franklin LA, Osmond CB, Larkum AWD. Photoinhibition, UV-B and algal photosynthesis. In: Larkum AWD et al., eds. *Photosynthesis in Algae*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2003, 351—384
- 19 Roy S. Strategies for the minimisation of UV-induced damage. In: de Mora SJ et al., eds. *Effects of UV Radiation in the Marine Environment*. New York: Cambridge University Press, 2000, 177—205
- 20 Bischof K, Käbs G, Wiencke C, et al. Solar ultraviolet radiation affects the activity of ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase-oxygenase and the composition of photosynthetic and xanthophyll cycle pigments in the intertidal green alga *Ulva lactuca* L. *Planta*, 2002, 215: 502—509
- 21 Wiltens J, Schreiber U, Vidaver W. Chlorophyll fluorescence induction: An indication of photosynthetic activity in marine algae undergoing desiccation. *Can J Bot*, 1978, 56: 2787—2794
- 22 Wu B, Chen Y, Zang R, et al. Three-stage transformation of chlorophyll transient fluorescence pattern under sustained dehydration and the discovery of critical water content in seaweeds. *Acta Bot Sin*, 2001, 43(11): 1134—1139
- 23 夏建荣, 邹定辉. 利用OJIP叶绿素a荧光评估干出对石莼(*Ulva lactuca*)光系统II的影响. *海洋通报*, 2007, 26(4): 50—55
- 24 Lipkin Y, Beer S, Eshel A. The ability of *Porphyra linearis* to tolerate prolonged periods of desiccation. *Bot Mar*, 1993, 36: 517—523
- 25 Sagert S, Forster RM, Feuerpfeil P, et al. Daily course of photosynthesis and photoinhibition in *Chondrus crispus* (Rhodophyta) from different shore levels. *Eur J Phycol*, 1997, 32: 363—371