

藻类无机碳营养的研究进展(Ⅱ) ——藻类利用无机碳的机理及其调节

PROGRESS OF INORGANIC CARBON ACQUISITION BY ALGAE(Ⅱ): MECHANISM AND REGULATION

岳国峰^{1,2} 王金霞³ 朱明远¹ 周百成³

(¹ 国家海洋局第一海洋研究所 青岛 266061)

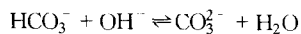
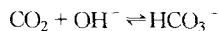
(² 青岛市海洋与渔业局 青岛 266071)

(³ 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

中图分类号 Q945.11 文献标识码 A 文章编号 1000-3096(2003)06-0031-04

许多研究表明,不具有 C₄ 途径的海洋藻类却具有与 C₄ 植物相似的特征:低光呼吸速率、低氧抑制、低二氧化碳补偿点。这是因为海洋植物可吸收利用海水中的 HCO₃⁻,使海水中可利用的无机碳浓度([CO₂] + [HCO₃⁻])达到 2.0 mmol/L,相当于 4 500 × 10⁻⁶ 的 CO₂,是大气中 CO₂ 浓度的 150 倍。CO₂ 的充足供应,降低了光呼吸和 O₂ 抑制。随着无机碳的利用,海水的 pH 升高,整个 CO₂ 平衡体系向右移动,游离 CO₂ 浓度逐渐降低;在 pH 9 以上,游离 CO₂ 的浓度已接近于零,而 HCO₃⁻ 仍可提供藻类所需的无机碳。因此,绝大多数能吸收利用 HCO₃⁻ 的藻类均具有较低的 CO₂ 补偿点。

在 pH>8 时,大气中的二氧化碳溶解在海水中,经一系列化学反应,形成 HCO₃⁻ 和 CO₃²⁻:

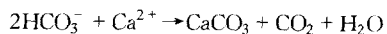


HCO₃⁻ 不仅是水体中二氧化碳的储存库,经自发脱水化保证了游离二氧化碳源源不断的供应,而且还可以直接作为藻类外源无机碳的吸收形式,但 CO₃²⁻ 却不能被藻类吸收利用。因此,藻类对 HCO₃⁻ 吸收利用指的是 HCO₃⁻ 自发脱水化以外的无机碳的供应,如 HCO₃⁻ 经载体蛋白主动运输进入藻体细胞内(HCO₃⁻ 的直接转运),或经膜外 CA 催化反应,加快了 CO₂ 形成和供应速度(HCO₃⁻ 的间接吸收)。CO₂

是线性非极性分子,呈电中性,它可以自由扩散细胞双层脂膜,而 HCO₃⁻ 是极性带负电荷分子,对细胞脂膜不能自由透过。因此,HCO₃⁻ 的吸收利用必然有其特定的机制。

1 HCO₃⁻ 的直接转运

HCO₃⁻ 的直接转运指的是经过细胞质膜表面载体蛋白或阴离子交换蛋白,直接把 HCO₃⁻ 转运到细胞内,在胞内经碳酸酐酶转化成 CO₂ 或直接以 HCO₃⁻ 的形式由叶绿体膜蛋白运输到叶绿体内,经碳酸酐酶转化成 CO₂ 供 RUBP 羧化/加氧酶固定^[1~3];对于胞内钙化的微藻,钙化过程可能与光合固碳有关,因为藻类胞内形成碳酸钙的同时,可以产生相当数量的二氧化碳供给 Rubisco 利用:



随着二氧化碳不断被 Rubisco 固定,使得上述化学平衡向右移动,从而加速了钙化过程。至今关于藻类直接转运 HCO₃⁻ 机理的研究仍不够深入。判断

第一作者:岳国锋,生于 1971 年,博士,副研究员。研究方向:海洋生物学。E-mail: drygf@hotmail.com

收稿日期:2001-10-16;修回日期:2002-03-14

有无 HCO_3^- 直接转运的标准主要有以下 3 种: (1) 藻类在没有依赖膜外碳酸酐酶间接吸收 HCO_3^- 的基础上, HCO_3^- 自发脱水产生二氧化碳的速度不能满足藻类光合碳需求, Cook 于 1986 年采用此方法证明 17 种大型海藻 (15 种红藻和两种褐藻) 主要通过主动运输来利用 HCO_3^- , 然而他的实验结论却因对膜外 CA 检测的精度而受到质疑^[4]。 (2) 在膜外 CA 存在的前提下, CA 催化 HCO_3^- 水解产生 CO_2 的速度仍不能满足藻类对无机碳的需求。 Hangland 等发现海带属中的糖海带正是这种情况, 因此推断糖海带对无机碳的利用尽管主要以 HCO_3^- 间接吸收利用为主, 但仍存在 HCO_3^- 的直接转运途径。 (3) 不论膜外 CA 存在与否, 藻类对无机碳的利用受 HCO_3^- 直接转运蛋白抑制剂的抑制, 也可作为判断 HCO_3^- 直接转运的标准。 3 种海洋微藻 *Chrysochromulina kappia* (PCC K)、*Coccolithus pelagicus* (DCC 182)、*Gephyrocapsa oceanica* (PCC NZ90) 培养在不同无机碳浓度下, 均检测不到膜外 CA, 膜外 CA 的抑制剂 DBS 也没有对 3 种微藻的生长产生抑制, 但 DIDS 可明显抑制这 3 种藻对无机碳的利用速率, 证明这 3 种海洋微藻具有离子交换机制来直接把 HCO_3^- 转运到细胞内^[5]。 Thielmann 等发现钒酸盐 (Van) 可通过抑制质膜 ATPase 的活性来抑制 *Scenedesmus obliquus* 对 HCO_3^- 的主动运输。

2 碳酸酐酶在藻类间接吸收 HCO_3^- 中的作用

碳酸酐酶 (EC 4.2.1.1 carbonic anhydrase 或 carbonic dehydrase 简称 CA) 催化 $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ 的可逆化学反应。自从 1932 年人类首次在动物的红细胞中发现碳酸酐酶以来, 科学工作者陆续在一系列的陆生高等植物以及水生原核藻类、真核藻类中发现碳酸酐酶^[4,6]。不同来源的碳酸酐酶都有其各自的动力学特性, 绝大多数离体的 CA 都有较高的转换速率 (turnover time), 例如, 人的 CA 离体酶可以在 1 秒钟内催化 1 500 000 个 CO_2 分子水化。

碳酸酐酶的定位有质膜外和质膜内两种。质膜外碳酸酐酶通过金属离子与细胞壁内表面相连接, 催化细胞扩散层 (boundary layer) 中海水 HCO_3^- 迅速水解成游离 CO_2 , 从而保证了细胞 CO_2 的快速供应。

因此, 质膜外碳酸酐酶的存在是藻类间接吸收 HCO_3^- 的证据。迄今约对 77 种大型海藻的研究结果表明: 只利用 CO_2 的有 10 种, 约占 13%; 能利用 HCO_3^- 的有 67 种, 约占 87%, 其中 17 种没有膜外 CA, 39 种具有质膜外 CA, 占能利用 HCO_3^- 的大型海藻的 58%, 其它 11 种还不确定。上述结果中部分海藻不具有质膜外碳酸酐酶的结论是由 Cook 等提出的, 但他们的结果因其检测方法的精度而受到质疑。 Mercado 等的研究表明: 质膜外 CA 的抑制剂几乎全部抑制大型红、褐藻 (墨角藻属除外) 对无机碳的吸收, 而部分抑制绿藻及墨角藻属对无机碳的吸收^[4,6]。能利用 HCO_3^- 的单细胞藻类质膜外 CA 也并非普遍存在^[5]。因此, 藻类对 HCO_3^- 的吸收包括三条途径: 依赖于质膜外 CA 对 HCO_3^- 的间接吸收, 依赖于质膜离子交换蛋白对 HCO_3^- 的直接转运以及上述两种方式并存的途径 (图 1)。质膜内 CA 存在于细胞质或叶绿体内^[7], 催化 HCO_3^- 快速水解成 CO_2 , 供 RUBPase 固定。 Spalding 及 Moroney 等均发现质膜内 CA 的抑制剂能引起胞内无机碳的积累, 并显著降低光合速率。 Mercado 等发现质膜外 CA 的抑制剂虽只部分抑制绿藻对无机碳的吸收, 但质膜内 CA 的抑制剂几乎全部抑制其对无机碳的固定^[4]。

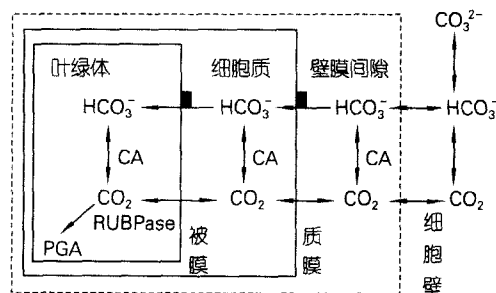
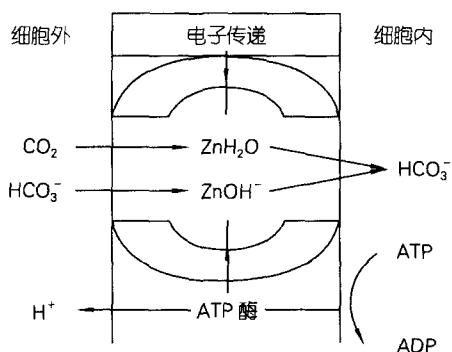


图 1 藻类对无机碳的吸收利用途径

3 CO_2 主动或载体运输

虽然水体中游离 CO_2 分子可以自由透过细胞质膜, 并且 HCO_3^- 经质膜外 CA 催化水解成游离 CO_2 后以 CO_2 分子形式扩散进入细胞膜的观点也普遍被接受。但 Badger 和 Andrews 于 1982 年提出的蓝藻

图2 蓝藻对 CO_2 和 HCO_3^- 的主动吸收

中同时存在 CO_2 和 HCO_3^- 主动或载体运输的模式(图2)也得到了有力的支持,其载体蛋白是类似于CA的含金属Zn离子的活性位点,证据如下:(1)在游离 CO_2 充足供应的情况下,细胞内无机碳的积累需要消耗能量;(2) CO_2 分子的类似物——碳的氧硫化物(carbon oxysulphide COS)可以同时阻断细胞对 CO_2 和 HCO_3^- 的吸收;(3)在无机碳转运过程中, CO_2 分子与 HCO_3^- 存在竞争关系;(4)载体蛋白抑制剂——乙氧喹磺胺(EZ)可以抑制 CO_2 和 HCO_3^- 的吸收。

4 藻类对无机碳利用的调节

4.1 同一物种在不同无机碳条件下利用 HCO_3^- 的能力不同

微藻生长和繁殖速度快,适应环境能力较强,当环境无机碳浓度发生改变时,微藻可以通过改变利用无机碳的形式和机理来迅速适应新的生长环境。莱因衣藻和淀粉核小球藻在高浓度 CO_2 (2%)培养时只利用 CO_2 ,而在低 CO_2 浓度培养时则主要利用 HCO_3^- 。Findenegg 等用同位素标记 $\text{H}^{14}\text{CO}_3^-$ 的方法证明5种单细胞绿藻在低 CO_2 浓度(0.03%)下,均能直接转运 HCO_3^- ,而在高浓度 CO_2 时,则优先利用游离 CO_2 。三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)、*Emiliania huxleyi* 及 *Pleurochrysis carterae* 3种微藻质膜外CA的活性同时受 CO_2 和 HCO_3^- 浓度的调节,当二者同时受到限制时,才能诱导质膜外CA的产生^[5]。而多种硅藻质膜外CA的调节只与 CO_2 浓度有关,而与总无机碳浓度无关^[5,7]。中肋骨条藻只在游离 CO_2 浓度降低到 $0.5 \mu\text{mol/L}$ 以下时才诱导质膜外CA的活性,从而通过 HCO_3^- 的间接吸收进一步利用外源无机碳^[7]。在大型海藻中,这方面

的报道不多,Bjork 等于1992年报道了绿藻硬石莼(*Ulva rigida*)在天然海水中主要吸收利用 HCO_3^- ,而在pH 6.5的海水中,无机碳主要以 CO_2 的形式存在, HCO_3^- 含量较低,此时硬石莼只利用 CO_2 ,不吸收 HCO_3^- 。

4.2 同一物种不同生长部位对 HCO_3^- 的利用能力存在差异

早在60年代就有关于水生植物不同生长部位光合作用存在差异的报道,周百成等发现条斑紫菜叶状体蓝绿色的基部和红棕色的边缘部位色素组成、光合速率及光饱和点存在明显的差异。条斑紫菜叶状体主要吸收海水中的 HCO_3^- ^[9],因此,其光合特性的差异很可能预示着条斑紫菜不同生长部位对 HCO_3^- 的利用能力存在差异。Prins 等1989年发现水生高等植物 *Myriophyllum spicatum* 的茎部只利用 CO_2 ,而其叶部则可以利用 HCO_3^- ,*Eelodea nuttallii* 也具有类似的情况;Prins 等1986年还发现 *Stratiotes aloides* 的同一叶片幼嫩部位和老化部位对 HCO_3^- 的利用能力亦存在显著的差异。

表1 三角褐指藻不同品系的质膜外CA(U/mg chl a)

品系	培养条件		胞内CA占总酶活的百分比(%)
	未通 CO_2 气体	通 CO_2 气体	
UTEX640	206 ± 63.8	52.6 ± 9.7	89
UTEX642	0	0	100
UTEX646	184 ± 51.1	22.1 ± 6.8	87
UTEX2089	218 ± 67.8	19.6 ± 4.0	81
1052/1A	0	0	100
1052/1B	190 ± 22.1	41.1 ± 0.6	80
1052/6	96 ± 36.0	20.3 ± 0.5	83
B31	0	0	100
B552	154 ± 33.3	31.1 ± 7.9	85
B640	427 ± 72.1	67.9 ± 8.7	33
B738	0	0	100

注:摘自 John-McKay 等^[8]

4.3 同一物种的不同品系间对 HCO_3^- 的利用机理不完全相同

这方面的研究只在微藻中有过报道。三角褐指藻质膜外碳酸酐酶的存在与否一直存有争议,Burns 等1987年和 Dionisio-Sese 等1992年均证明该藻具有依赖于质膜外碳酸酐酶对 HCO_3^- 的间接利用能力,但其它的研究结果却得出了完全相反的结论^[8]。John-McKay 等对三角褐指藻11个品系质膜外CA的检测结果(表1)则可对上述的矛盾结果做出解释:

不同品系膜外 CA 存在情况不同,其中的 7 个品系具有质膜外 CA,可以间接利用海水中的 HCO_3^- ,而另外 4 个品系则 CA 没有质膜外 CA,不具有间接吸收 HCO_3^- 的机制。

毫无疑问,除 CO_2 外, HCO_3^- 同样作为藻类重要的无机碳源已得到普遍认可。藻类利用无机碳形式和机理的调节是藻类对环境条件的变化做出的生理反应,能够吸收 HCO_3^- 的藻类比单纯利用游离 CO_2 的藻类更具有生存竞争能力^[4]。藻类无机碳营养的研究结果还表明:生长在同一环境中的藻类群落,不同物种之间的可利用无机碳浓度不可能完全相同,因此,区分营养盐的利用形式和机理是藻类生理生态学不可忽视的问题。

参考文献

- 1 Beer S, Rehnberg J. The acquisition of inorganic carbon by the seagrass *Lostera marima*. *Aquatic Bot*, 1997, 56: 277-283
- 2 Bjork M, Weil A, Semesi S, et al. Photosynthetic utilization of inorganic carbon by seagrass from Zanzibar, East Africa. *Mar Biol*, 1997, 129: 363-366
- 3 Larsson C, Axelsson L, Ryberg H, et al. Photosynthetic carbon utilization by *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) from a Swedish rockpool. *Eur J Phycol*, 1997, 32: 49-54
- 4 Mercado J M, Gordillo F J L, Figueroa F L, et al. External carbonic anhydrase and affinity of inorganic carbon in intertidal macroalgae. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1998, 221: 209-220
- 5 Nimer N A, Iglesias-Rodriguez M D, Merrett M J. Bicarbonate utilization by marine phytoplankton species. *J Phycol*, 1997, 33: 625-631
- 6 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* Thur. in LeJollis. *Planta*, 1997a, 201: 319-325
- 7 Nimer N A, Wsrren M, Merrett M J. The regulation of photosynthetic rate and activation of extracellular carbonic anhydrase under CO_2^- limiting conditions in the marine diatom *Skeletonema costatum*. *Plant Cell Environ*, 1998, 21: 805-812
- 8 John-McKay M E, Colman B. Variation in the occurrence of external carbonic anhydrase among strains of the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae). *J Phycol*, 1997, 33: 988-990
- 9 岳国峰,周百成.条斑紫菜对无机碳的利用.海洋与湖沼,2000, 31:246-251

(本文编辑:张培新)