

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2013.01310

海洋酸化对海洋生物大分子影响的研究进展

丁兆坤, 刘伟茹, 许友卿

广西大学 水产科学研究所, 广西 南宁 530004

摘要: 海洋酸化可通过影响海洋生物脂质储存、脂肪酸氧化酶、RNA/DNA 比值、生物矿化、能量代谢和细胞应激基因表达等途径, 影响海洋生物的核酸、蛋白质和脂肪酸组成与含量, 而这些生物大分子的组成与含量对海洋生物的生存、生长与发育发挥决定性作用。目前由于缺少海洋酸化对海洋生物大分子影响的研究, 影响机理尚不明确, 因此, 亟待加强用多学科、多层次探索海洋酸化对海洋生物特别是脊椎和无脊椎动物核酸、蛋白质及脂肪酸等生物大分子的影响, 并用现代分子生物学技术, 从遗传学、蛋白质组学及关键基因等方面, 综合探究海洋酸化对海洋生物影响的机理, 了解海洋酸化影响的本质, 揭示、掌握其规律, 从而为预测未来海洋酸化对海洋生物和生态系统的影响提供依据。本文主要综述海洋酸化对海洋生物核酸、蛋白质和脂肪酸的影响和机理, 旨在更好地研究海洋酸化对海洋生物大分子的影响及其机理, 为控制海洋酸化、保护海洋生态环境和海洋生物提供分子生物学依据, 同时也为科学调控养殖海水提供参考。

关键词: 海洋酸化; 核酸; 脂肪酸; 蛋白质; 海洋生物

中图分类号: S949

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2013)06-1310-09

海洋酸化(OA)是大气 CO_2 浓度持续升高, 导致海水酸度不断增加的过程^[1-2]。由于人类大量燃烧矿物燃料等, 导致大气 CO_2 增长速度比过去 2 100 万年中的任何时期都高^[3]。由于海洋与大气间的气体缓慢而持续地保持动态平衡, 海洋不断地从大气吸收 CO_2 , 目前海洋已吸收人为排放 CO_2 的 25%, 导致 1 800 年以来海水 pH 下降了 0.1 个单位。预测至 2100 年, 海洋表面 pH 将再降 0.3~0.4^[4-5], 即 2100 年海水 pH 将由工业革命前的 8.2 下降至 7.8, 海水酸度增加约 150%^[3]。海水酸性的增加, 打破了海水碳酸盐化学平衡, 将导致海洋生物和生态系统面临巨大威胁。海洋酸化所产

生的生物效应是负面的, 并因生物种类而异^[6]。近年已开始从生物化学、细胞学、酶学、代谢生理学、组织行为学、生态学及生物地球化学等方面研究海洋酸化对生物的影响。但是, 目前对海洋酸化影响的研究主要集中于钙化生物^[7]、软体动物、甲壳动物和棘皮动物等无脊椎动物^[8-10]。对脊椎动物的研究尚少^[11]。海洋生物特别是在其早期生命阶段, 脂肪酸^[12]、蛋白质、核酸^[13]和基因表达^[14-16]等对海洋酸化敏感, 这些指标能准确地反映海洋生物生长发育的细微变化。例如用核酸(如总 RNA、RNA/DNA 等)、蛋白质和脂肪酸为指标研究仔稚鱼的生长潜能^[17]。本文主要综述海

收稿日期: 2012-10-28; 修订日期: 2012-11-25.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31360639); 教育部博导课题(20104501110002); 生物学博士点建设项目(P11900116, P11900117); 广西省自然科学基金项目(2012GXNSFAA053182, 2013GXNSFAA019274); 广西科技项目(1298007-3, 1140002-2-2); 广西高校科研资助项目(200103YB006); 广西研究生教育创新计划资助项目(105931001004, 105931001021, GXU11732587).

作者简介: 丁兆坤(1957-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事环境生物学、水生动物营养、生理、生化和分子生物学研究.

E-mail: zhaokund@hotmail.com

通信作者: 许友卿, 教授, 博士生导师, 主要从事环境生物学、水生动物营养、生理、生化和分子生物学研究.

E-mail: youqing.xu@hotmail.com

海洋酸化对海洋生物核酸、蛋白质和脂肪酸的影响和机理,旨在更好地研究海洋酸化对海洋生物大分子的影响及其机理,为控制海洋酸化、保护海洋生态环境和海洋生物提供分子生物学依据,同时也为科学调控养殖海水提供参考。

1 海洋酸化对海洋生物生物大分子的影响

1.1 海洋酸化对核酸的影响

核酸作为维持生命最基本的物质之一,在生长、遗传、变异等一系列重大生命现象中起决定作用。海洋酸化对海洋生物核酸影响的研究主要包括 RNA/DNA 比值和基因表达两方面。

1.1.1 海洋酸化影响海洋生物 RNA/DNA 比值 正常生命活动中,机体细胞 DNA 含量不变,而 RNA 含量与蛋白质合成密切相关^[18],RNA/DNA 比值或 RNA 总量是蛋白质合成的指标之一。红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)肌肉 RNA/DNA 的比值与增重率呈线性关系,其肌肉 RNA/DNA 比值能非常灵敏地反映海洋生物的生长^[19]。肌肉 RNA/DNA 比值较其他组织更敏感^[20],其定量分析,可评估海洋生物生长及健康状况^[21-22],是研究海洋生物的重要指标之一^[13, 23-24]。而某一生命活动的关键基因表达,更是探究变化机理不可或缺的一部分^[25-26]。通过研究 RNA/DNA、RNA 总量、基因表达等,能直观、全面、深入地了解环境变化或其他因子对生物体的影响^[27]。

在高水平 CO₂ 环境下生长发育的生物体,其 RNA/DNA 比值降低,蛋白质合成减少,表明海洋酸化导致了这些生物系统负效应^[13, 23]。Franke 和 Clemmese^[13]报道,在海洋酸化[pCO₂ 分别为(1 260 ± 218) μatm、(1 859 ± 240) μatm、(2 626 ± 197) μatm、(2 903 ± 204) μatm、(4 635 ± 340) μatm; pH 8.08 ± 0.07 和 7.05 ± 0.03]条件下,底栖大西洋鲱(*Clupea harengus* L.)的胚胎形成和孵化率未受影响,但 CO₂ 分压与其胚胎 RNA/DNA 比值之间存在明显的负线性关系。Talmage^[23]发现,德州宝石帘蛤(*Mercenaria mercenaria*)和海湾扇贝(*Argopecten irradians*)幼体经短期高浓度 CO₂ 暴露后,其生长率、RNA/DNA 比值、钙化率和脂肪含量均下降。

于 pH 7.2 胁迫下,日本对虾(*Marsupenaeus japonicus*)肌肉 RNA/DNA 比值随胁迫时间延长而不断下降,至 72 h 后趋于稳定,与 pH 8.2 对照组比较,差异极显著($P < 0.01$)^[28-29]。

当海水 pH 变化,DNA 和 RNA 表达以及蛋白质合成随之改变,这直接影响生物种群数量之补充,进而影响整个生态系统和渔业发展。Talmage^[23]报道,高 CO₂ 对双壳类幼体的短期生理影响,是导致生长率、RNA/DNA 比值、钙化率和脂肪含量降低的原因,这些都可促进生态系统中的双壳类死亡增加,对其种群数量的补充影响很大。

1.1.2 海洋酸化影响海洋生物基因表达

(1) 海洋酸化影响生物矿化基因表达 研究海洋酸化对钙化生物矿化的影响,已从研究钙化率、壳合成率等深入到对钙化基因表达的影响。在 CO₂ 导致的酸化条件下,紫海胆(*Strongylocentrotus purpuratus*)幼体重要细胞过程的基因表达都发生变化^[30]。2012 年,Hammond 等^[14]报道,海水 CO₂ 浓度升高,导致紫海胆早期胚胎形成的重要基因 *Wnt8*、骨针形成和生物矿化基因 *SM30b* 的表达显著下调。海水酸化和升温协同影响合浦珠母贝(*Pinctada fucata*)壳基质蛋白基因 *aspein*、*nacrein*、钙调蛋白 *calmodulin*、*she-7-F10* 和热休克蛋白 *HSP70* 基因表达,影响程度各异,其中 pH 降低、pH 与温度交互作用导致珍珠贝钙化相关基因表达下调^[15]。这一结果与 pCO₂ 对紫海胆^[30]和贻贝(*Mytilus edulis*)^[31]的负面影响一致。高浓度 CO₂ 导致绿海胆(*Lytechinus pictus*)与能量代谢、生物矿化相关的基因下调,而与离子调节和酸碱平衡相关的少数基因上调^[16]。

然而,海洋酸化对海洋生物的影响因物种而异。Martin 等^[32]发现,在 pH 7.5~7.25 环境中,拟球海胆(*Paracentrotus lividus*)幼虫减慢生长和推迟发育,但未直接影响其形态或钙化。在 pH 7.78 条件下,南极帽贝(*Laternula elliptica*)壳质形成的关键酶—几丁质酶(*CHS*)基因表达显著上调^[33]。Zippay 等^[34]报道,pH 降低并不改变红鲍(*Haliotis*

rufescens)早期成壳基因 *engrailed* 和 *ap24* 的表达。这些结果表明,海洋生物物种在其早期生命阶段对低 pH 的效应相异,是生物个体对环境变化长期适应的结果。

暴露于酸化环境时间的长短对生物钙化的影响不同。2012 年,Form 等^[35]报道,把冷水珊瑚(*Lophelia pertusa*)暴露于高 CO₂(pH 降低 1 个单位)1 周,致其钙化率降低 26%~29%,而暴露于高 CO₂ 6 个月,其钙化率却轻微升高,这可能是珊瑚适应海洋酸化的结果。

Talmage^[23]研究表明,在高浓度 CO₂ 下,双壳贝类幼体钙化能力减弱。这和其他双壳类钙化率降低的证据,都支持酸化海水和沉积物导致钙化双壳贝类存活率降低的潜在机制^[37]。

(2) 海洋酸化影响能量代谢基因表达 在酸化条件下,与海胆能源供应(ATP 合成)和需要(ATP 利用)有关的基因都下调,其中三羧酸循环中编码琥珀酰辅酶 A 合成酶的编码基因 *Suclg1*、电子传递链中编码 ATP 合成酶 F1 复合体 β 亚基的 *Atp5b* 基因和编码 ATP 载体蛋白 1 的基因 *Slc25a4* 均显著下调,有关蛋白合成的基因(如 *eEF1B δ*)及 Na⁺/K⁺-ATPase 的表达也显著下调。可能是海胆幼虫为了更好地适应酸化环境而减速代谢,下调能量代谢和钙化基因的表达^[16]。暴露于 pH7.6 的钩虾(*Gammarus locusta*),其代谢酶甘油醛-3-磷酸编码基因(*gapdh*)的表达比在 pH7.8、8.1 下显著增加,说明酸化诱导机体代谢变化^[38]。对能量需求调节机制的补偿反应会导致生长减慢,存活率和生殖潜能降低,种群数量减少,并由此严重影响生态系统及渔业^[39]。

(3) 海洋酸化影响细胞应激基因表达 海洋酸化对应激蛋白基因表达的影响因生物而异。Cummings 等^[33]把南极帽贝暴露于不同 pH (pCO₂ 735 μ atm, pH 7.78; pCO₂ 187 μ atm, pH 8.32), 发现其热休克蛋白 HSP70 表达增加。2012 年, Liu 等^[15]报道,海水变暖和酸化能激活合浦珠母贝的热休克反应,导致珍珠贝 *hsp70* 基因表达上调,表明 CO₂ 水平升高会增加珍珠贝对温度变化的敏感

性。这些结果可以证实,海水 pH 降低和变暖会影响珍珠贝的生理过程及其对未来海洋变暖和海洋酸化的适应能力^[15]。与此相反, Nakamura 等^[40]发现,在酸化条件下,指轴孔珊瑚(*Acropora digitifera*)幼虫热休克蛋白 HSP70、HSP90 及热休克转录因子 HSF1 三者表达显著不同。

除上述关键基因表达变化外,2012 年, Strobel^[41]发现,海水 pCO₂ 升高导致乌贼(*Sepia officinalis*)体内与能量贮存、渗透压维持及蜕皮过程调节相关的呼吸蛋白—血蓝蛋白亚型表达发生变化。而血蓝蛋白亚型表达不同很可能会导致蛋白表达量或活性变化^[42]。

1.2 海洋酸化对海洋生物蛋白质的影响

1.2.1 海洋酸化影响蛋白质结构及转运 海洋酸化影响海洋生物蛋白质的完整性和折叠。2012 年, Kaniewska 等^[26]研究发现,暴露于高 CO₂(pCO₂ 1 010~1 350 μ atm, pH 7.6~7.7)环境下的多孔鹿角珊瑚(*Acropora millepora*),其编码细胞防御、维持蛋白质完整性(分子伴侣)和蛋白质折叠相关的基因转录均下调,这可能是该组织不再具有维持蛋白质完整功能的信号。然而,另外两个主要热休克蛋白基因(*hsp70*、*hsp90*)维持较高表达水平,可能是维护新生蛋白质完整性所需。而钙调蛋白和 α -甘露糖酶表达上调,以增加能量调控,提高对内质网蛋白质(将被移至高尔基体)的折叠能力^[26, 43]。在 pCO₂ 为 540 μ atm 和 1 020 μ atm 环境生长的紫海胆棱镜期幼虫的基因与对照组(380 μ atm)比较,有 251 个基因表达显著不同,并表现为蛋白质折叠、蛋白质水解及细胞凋亡的基因下调或不变^[44]。研究发现,凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)鳃丝 Na⁺-K⁺-ATPase 活力随着 pH 7.0~7.5 处理时间的增加呈峰值变化,于 9 h 达到最大值,3 d 恢复正常,因此认为 pH 能诱导蛋白构象化进而影响酶的反应过程,以应对 pH 变化带来的影响^[29]。

海洋酸化还影响海洋生物蛋白质的运输。经高 CO₂ (pCO₂ 1 010~1 350 μ atm, pH 7.6~7.7)处理 28 d,多孔鹿角珊瑚的膜运输发生改变,尤其是质子通道(V 型质子 ATPase)、膜磷酸盐和蛋白转

运下调^[26]。

1.2.2 海洋酸化影响蛋白质代谢 海洋酸化可抑制蛋白质代谢, 而代谢抑制通常被认为是动物应对血碳酸过多症, 以求生存的一种适应策略^[45-46]。已知某些动物体内酸中毒或环境血碳酸过多症可触发代谢抑制。代谢抑制是许多动物暴露于短期血碳酸过多症、组织缺氧或无食物时固有的生存策略^[47]。

由高 CO_2 或低 pH 引起浮游动物的代谢抑制是通过减少其蛋白质合成或生物体繁殖而实现的^[48]。在严重酸中毒条件下[细胞外 pH (pH_e) 6.50, 细胞内 pH(pH_i) 6.98 ± 0.07], 短头壮绵鲷(*Pachycara brachycephalum*) 和 雅 南 极 鱼 (*Lepidonotothen kemp*) 肝细胞蛋白合成率下降约 80%^[49]。肝作为鱼类次生代谢的中心, 主要负责生物体内各种必需蛋白质合成和分泌。由于 pCO_2 升高显著降低蛋白质的合成代谢, 可能对肝及肝功能的完整性有负面影响。这个过程可以归咎于动物整体对 CO_2 升高水平耐受的局限性^[49]。于 pH 6.7, 海洋蠕虫方格星虫(*Sipunculus nudus*)肌肉蛋白质合成降低约 60%^[50]。Frank 等^[13]指出, 蛋白质合成减少可导致生长降低, 对幼鱼影响巨大, 因为小而生长慢的个体因觅食成功率低和掠夺死亡增加而导致幸存的可能性降低。

预示机体生长和蛋白质合成的 RNA/DNA 比值^[51]与 pH、 pCO_2 相关。研究表明, 波罗的海鳕(*Gadus morhua*)的 RNA/DNA 比值与 pCO_2 呈负线性关系^[13]。海洋酸化不但降低蛋白质合成, 而且增加蛋白质的降解。2012 年, Moya 等^[36]检测到酸化增加蛋白质的降解率。这与热应激对浅窝珊瑚(*Montastrea faveolata*)影响的研究结果一致^[52]。

1.2.3 海洋酸化影响功能性蛋白 海洋酸化主要导致海洋生物体内氧化还原酶、钙蛋白酶及碳酸酐酶的表达变化。暴露于高 CO_2 (pCO_2 1 010~1 350 μatm , pH 7.6~7.7)28 d 后, 多孔鹿角珊瑚体内许多与细胞防御有关的和维持蛋白质完整性(分子伴侣)的转录基因下调; 然而, 那些通过氧化还原酶(如过氧化氢酶、与 FAD 连接的氧化酶

及硒蛋白)活性对抗氧化应激保护细胞和细胞凋亡的基因上调^[26]。与此同时, 多孔鹿角珊瑚的细胞骨架肌动蛋白 1、中心体肌动蛋白、衣被蛋白亚基和根蛋白的表达均下调。而在膜-细胞骨架的相互作用、信号转导、细胞分化和凋亡中发挥重要作用的钙蛋白酶表达上调^[26]。2012 年, Esbaugh 等^[53]报道, 海湾豹蟾鱼(*Opsanus beta*)在 1 900 μatm CO_2 分别暴露 8 h、24 h、72 h 后胞质中碳酸酐酶(CA)基因表达显著下调; 暴露 24 h 导致 Na^+/K^+ ATP-酶活性显著降低。Moya 等^[36]于 2012 年也发现, CO_2 所致的酸化导致多孔鹿角珊瑚中大量碳酸酐酶的表达下调。在 pH 分别为 7.2、8.2、9.2 胁迫下, 日本对虾(*Marsupenaeus japonicus*)酚氧化酶活力先升后降^[28]。

2012 年, Matozzo 等^[46]报道, 降低 pH 导致鸡帘蛤(*Chamelea gallina*)及紫贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)的溶菌酶活性显著降低, 用海水 pH 7.4 处理, 这两种双壳贝类的血淋巴蛋白浓度显著下降。挪威对虾(*Nephrops norvegicus*)暴露于 pH 7.7 的环境中 4 个月, 其免疫因子被显著抑制^[54]。

1.3 海洋酸化对海洋生物脂肪酸的影响

脂肪酸是具有重要生物学功能的独特生物活性物质, 是水产动物的重要营养物质。脂肪酸不仅可作为机体的结构成分和能量来源, 为海洋生物提供生长、发育、繁殖等所需的能量, 还可通过影响基因表达而改变脂类、糖类和蛋白质代谢, 影响细胞增殖和分化^[55-57]。多不饱和脂肪酸(poly unsaturated fatty acids, PUFAs)作为神经细胞及其他细胞膜的重要组分, 可通过影响机体脂类代谢、基因表达、细胞膜功能、机体免疫及血液生化特性等, 在海洋生物生长、发育、免疫和存活中发挥重要作用^[58], 其中二十二碳六稀酸(DHA)、二十碳五烯酸(EPA)、花生碳四烯酸(AA)是海水鱼类尤其仔、稚鱼生长发育所必需, EPA 和 AA 还是类二十烷活性物质的前体, 对神经传导、信息传递发挥重要作用^[55]。

生物体的内源性脂肪酸主要来自机体的糖和蛋白转变; 而外源性脂肪酸主要受食物脂肪酸含

量和组成的影响。2012 年, Frommel 等^[59]发现, 当 $p\text{CO}_2$ 增加, 大西洋鳕 (*Gadus morhua*) 幼鱼生长表现为脂质储存而非蛋白增加。然而, Rossoll 等^[60]报道, 高 CO_2 (750 μatm) 培养的硅藻 (*Thalassiosira pseudonana*) 总脂肪酸、长链多不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸比值 (PUFA : SFA) 均显著下降; 高 CO_2 培养的桡足类 (*Eurytemora affinis*) 体内总必需脂肪酸下降为原来的 1/10, 饱和脂肪酸 (SFA) 下降为原来的 1/3。在海洋酸化影响下, 纹藤壶 (*Balanus amphitrite*) 线粒体内脂肪酸氧化产能所必需的长链酰基辅酶 A 脱氢酶表达上调^[61]。当把具有重要经济及生态价值的双壳贝类, 如硬壳蛤 (*Mercenaria mercenaria*)、海湾扇贝 (*Argopecten irradians*) 和美洲牡蛎 (*Crassostrea virginica*) 幼体暴露于不同 CO_2 水平 (250 ppm、390 ppm、750 ppm、1 500 ppm), 短期内此 3 种贝类幼体的生长率、RNA/DNA 比率、钙化率、脂质含量都下降, 而这些效应无疑会促进生物体在生态系统中消亡^[23]。

目前, 有关海洋酸化对生物体内脂肪酸影响的研究较少^[62], 亟待加强研究。因为脂肪酸特别是多不饱和脂肪酸在生物存活、生长、发育、免疫、能量代谢和基因表达等发挥巨大作用^[55-58]。

2 海洋酸化对海洋生物大分子影响的机理

2.1 影响海洋生物相关基因的表达

海洋酸化可通过调节相关基因的表达来实现对海洋生物的影响。例如, Todgham 等^[30]把紫海胆幼体暴露于中等浓度 CO_2 (540 ppm CO_2 , pH 7.96 ± 0.01) 时, 测定其 1 057 个基因中有 83 个基因的 mRNA 转录水平表达下调, 其中与生物矿化、细胞应激及能量代谢相关的基因占 50%; 把紫海胆幼体暴露于高浓度 CO_2 (1 020 ppm CO_2 , pH 7.88 ± 0.02) 时, 导致其 178 个基因表达异常, 其中有 90% (160 个) 基因 mRNA 转录水平显著下降, 与细胞凋亡、细胞应激和代谢相关的基因占 70%。2012 年, Kaniewska 等^[26]发现, CO_2 升高会降低珊瑚光合作用和呼吸作用, 基因表达变化与代谢抑制、氧化应激、细胞凋亡和共生体减少一致。暴

露于 pH 7.6 的纹藤壶有 9 个蛋白基因表达异常, 能鉴别的 7 个蛋白基因中有 4 个表达显著上调, 3 个表达下调^[61]。Moya 等^[36]发现, 在中度 CO_2 (750 ppm, pH 7.96) 和高度 CO_2 (1 000 ppm, pH 7.86) 条件下, 多孔鹿角珊瑚分别有 12% 基因 (5% 下调, 7% 上调) 和 19% 的基因 (7% 下调, 12% 上调) 表达发生变化。而胞外区域的 71 个编码糖蛋白、胶原蛋白、脂蛋白、外源凝集素、富含半胱氨酸蛋白、肽链端解酶和金属蛋白酶的基因 (见表 S2 补充资料) 在中浓度 CO_2 (750 ppm, pH 7.96)、高浓度 CO_2 (1 000 ppm CO_2 , pH 7.86) 处理下分别有 68% 和 92% 基因的表达发生变化。

2.2 影响海洋生物的能量代谢

在海洋酸化环境中, 生物体要消耗更多的能量来对抗高浓度 CO_2 的影响, 导致机体能量代谢等生化指标改变。2012 年, Dickinson 等^[63]发现, $p\text{CO}_2$ 升高和/或低 pH 导致东方牡蛎 (*Crassostrea virginica*) 软组织负生长, 死亡率增加, 组织能量 (脂肪、糖原) 储存下降, 但组织 ATP 水平不变, 可能是因为牡蛎消耗了机体所储存的糖原和脂肪, 用以维持细胞能量代谢平衡。同时生物体通过减少对应激不利的耗能途径 (如减少蛋白质合成和繁殖) 以集中对抗压力环境^[48]。改变蛋白质磷酸化状态, 维持一个特殊的耗能途径 (离子泵) 和下调蛋白质合成是代谢抑制的生化机制之一^[45]。赵先银等^[29]认为, pH 胁迫对日本对虾生理指标的影响, 主要是由于机体为了维持体内的 pH 平衡而消耗过多的能量, 进而引起虾体代谢失调或组织损伤, 免疫及抗病能力下降。海洋酸化还可影响氧化磷酸化耦联及线粒体 ATP 合成与释放, 进而影响细胞生命活动的其他代谢。如低 pH 抑制胚胎发育过程中离子主动吸收, 导致新陈代谢变慢, 卵黄转变为结构物质的比例降低, 更多的营养物质被用于抵御低 pH 影响之需^[64]。

海洋酸化主要通过影响机体内源性脂肪酸的代谢和储存、外源性脂肪酸的含量和组成影响海洋生物的脂肪酸水平与组成。Wong 等^[62]把纹藤壶暴露于 pH 7.6, 发现其线粒体内脂肪酸氧化所

必需的长链酰基辅酶 A 脱氢酶表达上调, 柠檬酸合成酶和转酮醇酶这两种关键生物能量酶糖基化位点发生变化, 他们推测这是海洋酸化诱导藤壶脂肪酸与 NADPH 和/或 ATP 之间转化所致。2012 年, Kaniewska 等^[26]发现, 把多孔鹿角珊瑚暴露于高浓度 CO_2 (pCO_2 1 010~1 350 μatm ; pH 7.6~7.7) 28 d 后, 其体内甘油三酯酶和酰基辅酶 A 脱氢酶基因表达上调, 珊瑚体内脂质转运也上调。Rossoll 等^[60]于 2012 年发现, 高浓度 CO_2 (pCO_2 750 μatm) 影响硅藻的脂肪酸含量及组成, 进而影响摄食硅藻的桡足类脂肪酸成分变化。由于硅藻-桡足类-鱼类链是最具生产力的生态系统, 因此海洋酸化可通过改变初级生产者的生物大分子的营养质量进而对海洋食物链产生深远影响。

2.3 影响热休克蛋白的表达

热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)是生物体内广泛存在的一种应激蛋白, 在提高机体应激能力、防止蛋白凝聚和细胞死亡中发挥重要作用。海洋酸化作为一种应激因子对 HSPs 产生广泛的影响。Wong 等^[61]报道, 高浓度 CO_2 会抑制藤壶热休克蛋白 83(HSP83)的表达。这与 Hofmann 等^[65]综述酸化等环境因素会抑制某些基因表达相一致。暴露于海洋酸化后接着热刺激 1 h, 可使红海胆(*Strongylocentrotus franciscanus*)幼体 HSP70 的表达极大地降低和延迟^[66]。Hernroth 等^[67]发现, 暴露在 pH 7.7 环境下 1 周, 波罗的海海星(*Asterias rubens*)体腔液 pH 显著降低, 热休克蛋白 70(HSP70)的表达显著升高; 而暴露于 pH 7.7 下 6 个月, HSP70 的水平恢复正常, 但免疫力的损伤进一步恶化。

另外值得注意的是, 2012 年, Kaniewska 等^[26]报道, 多孔鹿角珊瑚暴露于高浓度 CO_2 , 第 1 天热休克蛋白 HSP40 表达上调, 第 28 天却不变; 然而, 另两个主要热休克蛋白(HSP70, HSP90)维持在高表达水平, 没有时间差异。

2.4 影响生物体中酸碱平衡和大分子运输

海水 pH 变化可引起生物细胞内液和细胞外液 pH 改变, 影响细胞内的酸碱平衡。Langenbuch

等^[49]研究短头壮绵鲷(*Pachycara brachycephalum*)和雅南极鱼(*Lepidonotothen kempi*)的离体肝细胞, 发现胞内 pH 随胞质中 pH 降低而显著下降, 且呈线性关系(ANOVA; $F=339.535$, $P=0.003$)。2012 年, Catarino 等^[24]指出, 海胆体液 pH 与海水 pH 呈正相关。在 1 900 μatm 、1 000 μatm pCO_2 暴露 15 min 的海湾豹蟾鱼出现酸中毒, 并分别于 2、4 h 后完全补偿; 于 1 900 μatm pCO_2 暴露 24 h 后其白肌细胞 pH 显著升高^[53]。

海水 pH 变化可引起大分子运输发生变化。把多孔鹿角珊瑚暴露于高浓度 CO_2 (pCO_2 1 010~1 350 μatm ; pH 7.6~7.7) 28 d 后, 其细胞膜上的转运者发生变化, 尤其是细胞膜上质子通道(V 型质子 ATPases)、碳酸盐转运者和蛋白转运者下调; 与此同时, Na^+ 载体、 K^+ 载体、膜受体和 ABC 转运者表达上调^[26]。2012 年, Esbaugh 等^[53]把海湾豹蟾鱼暴露于 pCO_2 1 900 μatm 24 h 后, 发现 Na^+/K^+ -ATP 酶活性显著下降, 并在 72 h 后恢复至原来水平; V 型 H^+ ATPase 酶活性也呈相似趋势。

3 小结与展望

综上所述, 海洋酸化通过影响海洋生物脂质储存、脂肪酸氧化酶、RNA/DNA 比值、生物矿化、能量代谢和细胞应激基因表达等途径, 影响海洋生物的核酸、蛋白质和脂肪酸组分与含量。这些生物大分子的组分与含量对海洋生物的生长、发育和存亡发挥决定性作用。然而, 目前缺少研究海洋酸化对海洋生物大分子的影响, 而且机理未明。因此, 亟待加强研究, 用多学科、多层次探索海洋酸化对海洋生物特别是脊椎和无脊椎动物核酸、蛋白质及脂肪酸等生物大分子的影响, 进一步用现代分子生物学技术, 从遗传学、蛋白质组学及关键基因等方面, 综合探究海洋酸化对海洋生物影响的机理, 理解海洋酸化影响的本质, 揭示、掌握其规律, 争取主动, 为预测未来海洋酸化对海洋生物和生态系统的影响提供依据, 为采取应对措施防止或减少海洋酸化的影响提供科学参考。

参考文献:

- [1] Caldeira K, Wickett M E. Anthropogenic carbon and ocean pH[J]. Nature, 2003, 425: 365. doi: 10.1038/425365a.
- [2] Fabry V J, Seibel B A, Feely R A, et al. Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes[J]. ICES J Mar Sci, 2008, 65: 414–423.
- [3] Solomon S, Qin D, Manning M, et al (Eds). Intergovernmental Panel on Climate Change, Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.
- [4] Form AU, Riebesell U. Acclimation to ocean acidification during long-term CO₂ exposure in the cold-water coral *Lophelia pertusa*[J]. Global Change Biol, 2012, 18(3): 843–853. doi: 10.1111/j.1365-2486.2011.02583.x.
- [5] Rees A P. Pressures on the marine environment and the changing climate of ocean biogeochemistry[J]. Phil Trans R Soc A, 2012, 370(1980): 5613–5635. doi: 10.1098/rsta.2012.0399.
- [6] Kroeker K J, Kordas R L, Crim R N, et al. Meta-analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms[J]. Ecol Lett, 2010, 13(11): 1419–1434.
- [7] Fabry V J. Ocean science marine calcifiers in a high-CO₂ ocean[J]. Science, 2008, 320: 1020–1022.
- [8] Havenhand J N, Buttler F R, Thorndyke M C, et al. Near-future levels of ocean acidification reduce fertilization success in a sea urchin[J]. Curr Biol, 2008, 18: R651–R652.
- [9] Ellis R P, Bersey J, Rundle S D, et al. Subtle but significant effects of CO₂ acidified seawater on embryos of the intertidal snail, *Littorina obtusata*[J]. Aquat Biol, 2009(5): 41–48.
- [10] Dupont S, Lundve B, Thorndyke M. Near future ocean acidification increases growth rate of the lecithotrophic larvae and juveniles of the sea star *Crossaster papposus*[J]. J Exp Zool (Mol Dev Evol), 2010, 314B: 382–389.
- [11] Bodenstein S. Einfluss von Ozeanversauerung und Temperatur auf Chloridzellen der Embryonen und Larven des Atlantischen Herings (*Clupea harengus*)[D]. Christian Albrechts Universität zu Kiel, 2012: 1–73.
- [12] Yamada N, Suzumura M. Effects of Seawater Acidification on Hydrolytic Enzyme Activities[J]. J Oceanog, 2010, 66: 233–241.
- [13] Franke A, Clemmesen C. Effect of ocean acidification on early life stages of Atlantic herring (*Clupea harengus* L.) [J]. Biogeosciences, 2011(8): 3697–3707.
- [14] Hammond L T M, Hofmann G E. Early developmental gene regulation in *Strongylocentrotus purpuratus* embryos in response to elevated CO₂ seawater conditions[J]. J Exp Biol, 2012, 215: 2445–2454.
- [15] Liu W, Huang X, Lin J, et al. Seawater Acidification and Elevated Temperature Affect Gene Expression Patterns of the Pearl Oyster *Pinctada fucata*[J]. PLoS ONE, 2012, 7(3): e33679.
- [16] O'Donnell M J, Todgham A E, Sewell M A, et al. Ocean acidification alters skeletogenesis and gene expression in larval sea urchins[J]. Mar Ecol Prog Ser, 2010, 398: 157–171.
- [17] 佟雪红, 徐世宏, 刘清华, 等. 条斑星鲷幼鱼变态期间核酸及蛋白的变化[J]. 海洋科学, 2010, 34(5): 41–47.
- [18] Tanaka Y, Gwak W S, Tanaka M, et al. Ontogenetic changes in RNA, DNA and protein contents of laboratory-reared Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*[J]. Fish Sci, 2007, 73: 378–384.
- [19] 梁萌青, 王成刚, 陈超, 等. 几种添加剂对红鳍东方鲀的促生长效果与 RNA/DNA 关系[J]. 海洋水产研究, 2001, 22(2): 38–41.
- [20] Olivar M P, Diaz M V, Alexandra C M. Tissue effect on RNA: DNA ratios of marine fish larvae[J]. Sci Mar (Barc), 2009, 73(1): 171–182.
- [21] Buckley L J, Caldarone E M, Clemmesen C. Multi-species larval fish growth model based on temperature and fluorometrically derived RNA/DNA ratios: results from a meta-analysis[J]. Mar Ecol Prog Ser, 2008, 371: 221–232.
- [22] Björnsson B T, Stefánsson S O, McCormick S D. Environmental endocrinology of salmon smoltification[J]. Gen Comp Endocrinol, 2011, 170(2): 290–298.
- [23] Talmage S C. The effects of elevated carbon dioxide concentrations on the early life history of bivalve shellfish[D]. New York: State University of New York, 2011. <http://hdl.handle.net/1951/56134>.
- [24] Catarino A I, Bauwens M, Dubois P. Acid–base balance and metabolic response of the sea urchin *Paracentrotus lividus* to different seawater pH and temperatures[J]. Environ Sci Pollut Res, 2012, 19(6): 2344–2353. DOI 10.1007/s11356-012-0743-1.
- [25] Deigweier K, Koschnick N, Pörtner H O. et al. Acclimation of ion regulatory capacities in gills of marine fish under environmental hypercapnia[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2008, 295(5): 1170–1660.
- [26] Kaniewska P, Campbell P R, Kline DI, et al. Major cellular and physiological impacts of ocean acidification on a reef building coral[J]. PLoS ONE, 2012, 7(4): e34659.
- [27] Xu Y, Ding Z, Zhang H, et al. Different ratios of docosa-hexaenoic and eicosapentaenoic acids do not alter growth,

- nucleic acid and fatty acids of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) [J]. *Lipids*, 2009, 44: 1091–1104.
- [28] 赵先银, 李健, 李吉, 等. pH 胁迫对日本对虾非特异性免疫因子及 RNA/DNA 比值的影响[J]. *渔业科学进展*, 2011, 32(1): 60–66.
- [29] 赵先银. pH 胁迫对三种养殖对虾生理生化指标的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011: 1–66.
- [30] Todgham A E, Hofmann G E. Transcriptomic response of sea urchin larvae *Strongylocentrotus purpuratus* to CO₂-driven seawater acidification[J]. *J Exp Biol*, 2009, 212: 2579–2594.
- [31] Berge JA, Bjerkeng B, Pettersen O, et al. Effects of increased sea water concentrations of CO₂ on growth of the bivalve *Mytilus edulis* L.[J]. *Chemosphere*, 2006, 62: 681–687.
- [32] Martin S, Richier S, Pedrotti M L, et al. Early development and molecular plasticity in the Mediterranean sea urchin *Paracentrotus lividus* exposed to CO₂ driven ocean acidification[J]. *J Exp Biol*, 2011, 214: 1357–1368.
- [33] Cummings V, Hewitt J, Van R A, et al. Ocean acidification at high latitudes: potential effects on functioning of the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*[J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(1): 160–169. doi: 10.1371/journal.pone.0016069.
- [34] Zippay M, Hofmann GE. Effect of pH on gene expression and thermal tolerance of early life history stages of red abalone (*Haliotis rufescens*)[J]. *J Shellfish Res*, 2010, 29: 429–439.
- [35] Form AU, Riebesell U. Acclimation to ocean acidification during long - term CO₂ exposure in the cold water coral *Lophelia pertusa*[J]. *Glob Chan Biol*, 2012, 18: 843–853.
- [36] Moya A, Huisman L, Ball E E, et al. Whole transcriptome analysis of the coral *Acropora millepora* reveals complex responses to CO₂-driven acidification during the initiation of calcification [J]. *Mol Ecol*, 2012, 21(10): 2440–2454.
- [37] Green M A, Waldbusser G G, Reilly S L, et al. Death by dissolution: sediment saturation state as a mortality factor for juvenile bivalves[J]. *Limnol Oceanogr*, 2009, 54(4): 1037–1047.
- [38] Hauton C, Tyrrell T, Williams J E. The subtle effects of sea water acidification on the amphipod *Gammarus locusta*[J]. *Biogeosciences*, 2009 (6): 1479–1489.
- [39] Denman K, Christian J R, Steiner N, et al. Potential impacts of future ocean acidification on marine ecosystems and fisheries: current knowledge and recommendations for future research[J]. *ICES J Mar Sci*, 2011, 68(6), 1019–1029.
- [40] Nakamura M, Morita M, Kurihara H, et al. Expression of hsp70, hsp90 and hsf1 in the reef coral *Acropora digitifera* under prospective acidified conditions over the next several decades[J]. *Biology Open*, 2012(1): 75–81.
- [41] Strobel A, Hu M Y, Gutowska M A, et al. Influence of temperature, hypercapnia, and development on the relative expression of different hemocyanin isoforms in the common cuttlefish *Sepia officinalis*[J]. *J Exp Zool*, 2012, 9999A: 1–13.
- [42] Schulte P M. Changes in gene expression as biochemical adaptations to environmental change: a tribute to Peter Hochachka[J]. *Comp Biochem Physiol B*, 2004, 139(3): 519–529.
- [43] Hirayama H, Seino J, Kitajima Y, et al. Free oligosaccharides to monitor glycoprotein endoplasmic reticulum-associated degradation in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285: 12390–12404.
- [44] Evans T G and Hofmann G E. Defining the limits of physiological plasticity: how gene expression can assess and predict the consequences of ocean change[J]. *Phil Trans R Soc B*, 2012, 367(1596): 1733–1745.
- [45] Guppy M, Withers P Metabolic depression in animals: physiological perspectives and biochemical generalizations[J]. *Biol Rev*, 1999, 74: 1–40.
- [46] Matozzo V, Chinellato A, Munari M, et al. First evidence of immunomodulation in bivalves under seawater acidification and increased temperature[J]. *Plos One*, 2012, 7(3): e33820. doi: 10.1371/journal.pone.0033820.
- [47] Seibel B A, Maas A E, Dierssen H M. Energetic plasticity underlies a variable response to ocean acidification in the Pteropod, *Limacina helicina antarctica*[J]. *Plos One*, 2012, 7(4): e30464. doi: 10.1371/journal.pone.0030464.
- [48] Kurihara H, Shimode S, Shirayama Y. Effects of raised CO₂ concentration on the egg production rate and early development of two marine copepods (*Acartia steueri* and *Acartia erythraea*)[J]. *Mar Pollut Bull*, 2004, 49(9-10): 721–727.
- [49] Langenbuch M, Pörtner H O. Energy budget of hepatocytes from Antarctic fish (*Pachycara brachycephalum* and *Lepidonotothen kempi*) as a function of ambient CO₂: pH-dependent limitations of cellular protein biosynthesis?[J]. *J Exp Biol*, 2003, 206: 3895–3903.
- [50] Langenbuch M, Bock C, Leibfritz D, et al. Effects of environmental hypercapnia on animal physiology: A ¹³C NMR study of protein synthesis rates in the marine invertebrate *Sipunculus nudus*[J]. *Comp Biochem Physiol*, 2006, 144A: 479–484.
- [51] Frommel A Y, Schubert A, Piatkowski U, et al. Egg and early larval stages of Baltic cod, *Gadus morhua*, are robust to high levels of ocean acidification[J]. *Mar Biol*, 2012, doi: 10.1007/s00227-011-1876-3.

- [52] DeSalvo M K, Voolstra C R, Sunagawa S, et al. Differential gene expression during thermal stress and bleaching in the Caribbean coral *Montastraea faveolata*[J]. *Mol Ecol*, 2008, 17: 3952–3971.
- [53] Esbaugh A J, Heuer R, Grosell M. Impacts of ocean acidification on respiratory gas exchange and acid–base balance in a marine teleost, *Opsanus beta*[J]. *J Comp Physiol B*, 2012, 182(7): 921–934.
- [54] Hernroth B, Sköld H N, Wiklander K et al. Simulated climate change causes immune suppression and protein damage in the crustacean *Nephrops norvegicus*[J]. *Fish Shellfish Immun*, 2012, 33(5): 1095–1101.
- [55] 许友卿, 李伟峰, 丁兆坤. 多不饱和脂肪酸对鱼类免疫与成活的影响及机理[J]. *动物营养学报*, 2010, 22(3): 551–556.
- [56] 许友卿, 逢邵楠, 丁兆坤. 多不饱和脂肪酸对基因表达的影响及其机理[J]. *饲料工业*, 2011, 32(2): 56–60.
- [57] 岳彦峰, 彭士明, 施兆鸿, 等. 脂肪酸营养对鱼类生长、脂代谢及免疫性能影响的研究进展[J]. *现代渔业信息*, 2011, 26(11): 11–19.
- [58] Bureau D P, Hua K, Harris A M, et al. The Effect of dietary lipid and long-chain n-3 PUFA levels on growth, energy utilization, carcass quality, and immune function of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. *J World Aquac Soc*, 2008, 39: 1–21.
- [59] Frommel A Y, Maneja R, Lowe D, et al. Severe tissue damage in Atlantic cod larvae under increasing ocean acidification[J]. *Nature Climate Change*, 2012(2): 42–46.
- [60] Rossoll D, Bermúdez R, Hauss H, et al. Ocean acidification-induced food quality deterioration constrains trophic transfer[J]. *Plos One*, 2012, 7(4): e34737. doi: 10.1371/journal.pone.0034737.
- [61] Wong K K W, Lane A C, Leung P T Y, et al. Response of larval barnacle proteome to CO₂-driven seawater acidification[J]. *Comp Biochem Physiol D*, 2011, 6 (3): 310–321.
- [62] 王艳, 胡先成, 罗颖. 盐度对鲈鱼稚鱼的生长及脂肪酸组成的影响[J]. *重庆师范大学学报*, 2007, 24(2): 1–5.
- [63] Dickinson G H, Ivanina A V, Matoo O B, et al. Interactive effects of salinity and elevated CO₂ levels on juvenile eastern oysters, *Crassostrea virginica*[J]. *J Exp Biol*, 2012, 215: 29–43.
- [64] 郭宪光, 张耀光, 陈达丽, 等. 酸性水对鱼类的影响[J]. *淡水渔业*, 2003, 33(1): 46–49.
- [65] Hofmann G E, Todgham A E. Living in the now: physiological mechanisms to tolerate a rapidly changing environment[J]. *Annu Rev Physiol*, 2010, 72: 127–145.
- [66] O'Donnell M J, Hammond L M, Hofmann G E. Predicted impact of ocean acidification on a marine invertebrate: elevated CO₂ alters response to thermal stress in sea urchin larvae[J]. *Mar Biol*, 2009, 156: 439–446.
- [67] Hernroth B, Baden S, Thorndyke M, et al. Immune suppression of the echinoderm *Asterias rubens* L. following long-term ocean acidification[J]. *Aquat Toxicol*, 2011, 103(3–4): 222–224.

Effects and mechanisms of ocean acidification on macromolecules of marine organisms

DING Zhaokun, LIU Weiru, XU Youqing

Institute of Fishery Sciences, Guangxi University, Nanning 530004, China

Abstract: Ocean acidification (OA) affects macromolecules of marine organisms by affecting acid-base balance, energy metabolism, cellular stress response, macromolecular transportation and gene expression, while the composition and contents of the macromolecules play a decisive role on the existence, growth and development of marine organism. Up to now, seldom reports are on this field and the mechanism of OA effects has not been cleared. The present paper reviews the studies on the effects and mechanisms of OA on marine biological nucleic acids, proteins and fatty acids which, provides a basic information for the control of OA at the molecular level, and provides reference for the protection of marine ecological environment and organisms as well as scientific regulation of aquaculture seawater.

Key words: ocean acidification; nucleic acid; protein; fatty acid; marine organism

Corresponding author: XU Youqing. E-mail: youqing.xu@hotmail.com