

盐度对中肋骨条藻响应高光强的光合特性影响

王奕斐,柳清杨,臧纱纱,严芳,王磊,吴红艳

(鲁东大学 生命科学学院;山东省高校海洋生物技术重点实验室,山东 烟台 264039)

摘要:本研究以硅藻中肋骨条藻为实验材料,设置两个不同盐度条件(35 和 15)对藻细胞进行培养,以探讨盐度水平对中肋骨条藻响应高光强的光合生理特性的影响。结果表明:盐度 15 下中肋骨条藻具有较低的光合效率 α 和 PsbA 蛋白含量,生长速率降低;高光强照射下两种盐度条件的藻细胞最大光化学效率 F_v/F_m 均受到抑制;相较于高盐度下,低盐度藻细胞具有较高的 K_{pi} 值,细胞易于发生光失活,且其修复速率较低。盐度 15 下,藻细胞应对光失活除依赖 PsbA 蛋白的周转外,还诱导产生较高的非光化学淬灭 NPQ ,以耗散过剩光能,并提高超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性。

关键词:中肋骨条藻;盐度;光失活;硅藻;光合作用

中图分类号:Q945.79 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-8020(2020)04-0353-08

全球气候变化导致海水升温,海冰覆盖减少,并将进一步增加降水的可能性,特别是在中、高纬度地区,大气温度升高将会加强沿海区域的淡水径流量^[1]。当来自河口的淡水径流与海水混合时,盐度显著降低,并且具有不同的持续时间和范围。例如,由于气候变暖引发的季节性融冰导致格林兰西部沿海盐度平均减少约 5 个单位^[2],而在我国,辽宁省东港市近年来由于连续较大的降雨量以及其近岸海水受鸭绿江和大洋河两条河流影响,5—10 月近岸海水盐度由之前的 23~36 降至 12~28^[3]。盐度是影响优势种形成的重要物理因子,因此有关盐度变化对海洋生物影响的研究备受关注。

在近海海域,海洋硅藻占浮游植物数量和种类的 90% 以上,其光合产量达到海洋初级生产力的 40%^[4-5]。国内外学者对于环境因素如营养盐、水温、盐度、浊度、pH 及微量元素等对硅藻的种群时空分布及赤潮发生机制等展开了大量研究^[6-11],其中有关盐度变化对硅藻影响的研究报道也主要集中在对其种群动态的调查研究方面^[12-15]。少数研究探讨了盐度变化对硅藻形态及生理生化特性的影响,如研究发现盐度的降低可引起硅藻的形态变化,包括细胞体积增加,叶绿

体被压缩,原生质体变成粒状和细胞质退缩^[16],并导致其光合固碳速率降低等^[17]。另一方面,盐度过高则会抑制藻细胞的分裂,甚至对藻细胞自身的细胞结构产生严重的破坏^[18-20]。在对小新月菱形藻的研究中也发现,在 70 的高盐度培养条件下,藻细胞最大光合速率及光合效率下降,且对无机碳的亲和力也明显下降^[21]。由此可见,过高或过低的盐度对于硅藻的细胞形态、结构及光合作用均产生影响。

中肋骨条藻是一种在全球近岸海域分布极广的浮游硅藻,常在我国自北至南各海区特定季节中成为优势种群,并形成中肋骨条藻藻华^[22-23],其在盐度为 13~36 的范围内均可生长。不同海域中肋骨条藻最适增殖盐度有所不同,如广东大亚湾海域中肋骨条藻高频率、高密度出现的盐度范围为 30.6~31.6^[23]。陈炳章等研究发现 18~35.7 的大洋海水盐度均适合中肋骨条藻的生长^[10]。而朱晓文等报道在 17~20 的盐度下,中肋骨条藻呈现最大生长速率^[24]。另外,硅藻往往在混合力度比较大的近岸海水中成为优势种群,经受频繁且大幅度的光强变化,盐度变化将如何影响其对高光强的光合响应及机制尚不清楚。本研究在前期报道的中肋骨条藻生长范围基础上,

收稿日期:2020-07-10;修回日期:2020-09-07

基金项目:山东省自然科学基金面上项目(ZR2019MC015);山东省自然科学基金青年基金(ZR2017QD007);山东省农业重大应用技术创新项目(SD2019YY010);山东省重点研发计划(2019GSF107091);鲁东大学荣成海洋产业技术研究院开放课题(KF20180001,KF20180003)

第一作者简介:王奕斐(1996—),女,山东潍坊人,硕士研究生,研究方向为藻类生理生态。E-mail:lfz8026@163.com

通信作者简介:吴红艳(1976—),女,山东泰安人,教授,硕士研究生导师,博士,研究方向为藻类生物技术。E-mail:sdwuhongyan@126.com

选择 35 和 15 两个盐度水平,探讨中肋骨条藻在高、低盐度水平下应对高光强的响应及机制。

1 材料与方法

1.1 藻种与培养

中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*, Greville, 1873)取自厦门大学环境科学研究中心藻种室。采用人工海水培养基基于恒温光照培养箱中培养,光照强度 $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,温度为 $18\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$,光暗周期 12 h:12 h。

用盐度计 (LS10T, 广州)测定人工海水培养基盐度为 31。参照 Parkhill 等的方法^[25],通过向人工海水中添加固体 NaCl 得到盐度 35 的培养基,并通过用蒸馏水稀释得到盐度 15 的培养基。将对数生长期的中肋骨条藻分别接种在盐度 15、35 条件下,进行半连续培养,每天固定时间对藻细胞数目增长情况进行计数,并分别用相应盐度的培养基进行细胞数目回调,将细胞数目维持在 1×10^6 个/mL 左右,待比生长速率达到稳定后,进行高光抑制实验。每个盐度条件设置 4 个平行。

1.2 比生长速率的测定

比生长速率 (μ) 由以下公式计算得到:
$$\mu(d^{-1}) = (\ln x_2 - \ln x_1)/(t_2 - t_1),$$
式中 μ 为比生长速率, x_1 和 x_2 分别代表培养时间为 t_1 和 t_2 时藻液的细胞浓度。细胞数目在显微镜下用血球计数板计数得到。

1.3 高光处理实验

为测定盐度变化对中肋骨条藻响应高光强的光合生理影响,将盐度 15 和 35 下培养的藻进行高光照射处理。将藻液平均分成两组,其中一组加入 $300\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的林肯霉素^[26],以阻遏 PsbA 蛋白合成,抑制 PSII 修复,于黑暗条件下放置 10 min。然后将两组藻液置于 $500\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光强下照射 120 min,然后转移生长光强下 ($100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 进行恢复处理 30 min。在此过程中,分别在高光处理 0、15、30、60、90、120 min 及在生长光强下 30 min 恢复时取样,测定其叶绿素荧光参数。

1.4 叶绿素荧光参数测定

叶绿素荧光参数使用可调制式叶绿素荧光仪

PAM(WATER-PAM, Walz, Germany)进行测定。藻样暗适应 5 min,最大饱和脉冲设为 $4000\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, PSII 最大光化学效率 (F_v/F_m) 是通过测量暗适应条件下藻细胞的最大叶绿素荧光 (F_m), 利用 Genty 等描述的公式计算如下^[27]:

$$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m,$$

式中, F_m 为最大荧光,是在暗适应状态下,当 PSII 的所有反应中心处于完全关闭状态并且所有的非光化学过程处于最小时的荧光值; F_o 为初始荧光,是在暗适应状态下,当 PSII 的所有反应中心处于完全开放状态并且所有的非光化学过程处于最小时的荧光值; F_v 为暗适应状态下,当所有的非光化学过程处于最小时的 最大可变荧光, $F_v = F_m - F_o$ 。 PSII 光失活速率常数 (K_{pi}, s^{-1}) 和修复速率常数 (K_{rec}, s^{-1}) 根据 Gao 等的方法计算^[28]。

持续的非光化学淬灭 NPQ_s 在高光处理时诱导产生并且在测定前暗适应 5 min 时仍持续存在^[29],通过以下公式计算:

$$NPQ_s = (F_{m_{t_0}} - F_m)/F_m,$$

其中, $F_{m_{t_0}}$ 为高光照射开始 (t_0) 时,暗适应后藻细胞的最大荧光值; F_m 是在高光处理过程中每个测定时间点藻细胞的最大荧光值。

1.5 快速光曲线的测定

快速光曲线 (Rapid Light Curve, RLC) 的测定参考 White 和 Critchley 等的方法^[30],设置 9 个光强梯度 (90、162、226、334、486、707、1075、1586、2343 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), 间隔光适应时间为 10 s。 PSII 的相对电子传递速率 rETR 的计算公式^[31]如下:

$$\text{rETR} = \text{Yield} \times 0.5 \times \text{PFD}.$$

其中:Yield 为光系统 II 的有效光化学效率,系数 0.5 代表所有吸收的光量子中约 50% 分配到光系统 II, PFD 则为光化光的强度。

最大电子传递速率 rETR_{max} ,快速光曲线的初始斜率 α 及光饱和参数 E_k 通过以下公式^[32]获得:

$$\begin{aligned}\text{rETR} &= \text{rETR}_{\text{max}} \times \tanh(\alpha \times \text{PAR}/\text{rETR}_{\text{max}}), \\ E_k &= \text{rETR}_{\text{max}}/\alpha.\end{aligned}$$

1.6 超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性的测定

用 GF/F (Whatman, 25 mm) 滤膜过滤收集 20 mL 混合均匀的藻液,并迅速放于液氮中快速冷冻。测定时取出带有藻样的滤膜放入 2 mL 破碎管中,

加入 1.2 mL 的酶提取液,利用破碎仪震荡破碎 ($6\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$, 45 s) 3 次,每次间隔 5 min。破碎后,离心 3 min ($13\,000\text{ g}$),随后转移上清液(即粗酶提取液)至离心管中。

将 1.5 mL 粗酶提取液(使抑制达到 50% 左右的酶浓度为最佳)加入到盛有 3 mL 的反应混合液 (14.5 mM 甲硫氨酸:EDTA:NBT:核黄素为 27:1:1:1) 中,置于光照培养箱 ($100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 中照光 10 min,随后以不加酶液的照光管为对照迅速测定 560 nm 下的光密度,计算反应被抑制的百分比。以能抑制反应 50% 的酶量为一个 SOD 单位。

SOD (superoxide dismutase) 活性根据以下公式计算^[33]:

$$\text{SOD 活性}(\text{U}\cdot\text{mg protein}^{-1}) = \frac{(\text{对照管吸光度} - \text{测定管吸光度})}{\text{对照管吸光度}} \times 50\% \times \frac{\text{加入粗酶液中的蛋白含量}(\text{mg})}{\text{测定管吸光度}}$$

根据 Aebi 提供的方法测定 CAT 活性^[34]。取 0.2 mL H_2SO_4 和 FeSO_4 混合液(1:4)和 0.5 mL 的 K_2SO_4 缓冲液加入到 4 mL H_2O_2 混合液中,室温下反应 20 min 后测定其在 492 nm 处的吸光值(A_0)。取 0.5 mL 粗酶提取液加入到 4 mL H_2O_2 溶液 (30 mM) 中,随后加入 0.2 mL H_2SO_4 和 FeSO_4 混合液(1:4)和 0.3 mL KSCN 溶液,反应 20 min 后测定其在 492 nm 处的吸光值(A_1)。将 0.5 mL 粗酶提取液加入到 4 mL 磷酸盐缓冲液 (50 mM, pH 7.0) 中测其在 492 nm 处的吸收值(A_2),去除干扰后酶与 H_2O_2 反应液的吸光值为(A_1-A_2)。

CAT (catalase) 活性根据下式计算:

$$\text{CAT 活性}(\text{U}\cdot\text{mg protein}^{-1}) = \frac{[A_0 - (A_1 - A_2)]}{\text{所加粗酶液中蛋白含量}(\text{mg})}$$

1.7 蛋白含量测定

用 GF/F (Whatman, 25 mm) 滤膜过滤收集 20 mL

混合均匀的藻液, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。总蛋白含量采用快速微量 Lowry 法蛋白含量测定试剂盒 (上海荔达) 测定。通过 Western-blot 蛋白免疫印迹分析 PsbA 蛋白的变化情况。配置 6% 的浓缩胶和 12% 的分离胶,每孔上样 0.2 μg 总蛋白, SDS-PAGE 电泳后采用湿转法将凝胶中的蛋白转移到 0.22 μm PVDF 膜上。转膜后用 5% 的脱脂奶粉封闭 1 h,然后用一抗 (PsbA: Agrisera, 1:50 000) 和二抗 (羊抗兔 IgG SA0001-2, 1:3000) 孵育,最后用 HRP 发光液 (MA01821, USA) 浸染,于化学发光成像仪 (天能 5200) 中显色,用 Tanno Gis 图像处理软件进行分析。摩尔水平的 PsbA (www. Agrisera. se standard: AS01017S) 采用量化免疫印迹法^[35] 进行测定。根据 Gao 的方法^[28] 分析林肯霉素存在时高光处理下 fmol PsbA $\cdot\text{ }\mu\text{g protein}^{-1}$ 随时间变化的曲线图,得到其指数衰减速率,即 PsbA 的清除速率常数 ($K_{\text{PsbA}}, \text{s}^{-1}$)。

1.8 数据分析

实验数据采用 One-way ANOVA 和 t-test 进行差异性分析,置信区间为 95%。

2 结果

盐度显著影响中肋骨条藻的生长。表 1 为不同盐度下,中肋骨条藻的光合生理指标。如表 1 所示,中肋骨条藻在盐度 35 条件下,其比生长速率为 1.04 d^{-1} ,而盐度 15 条件下比生长速率则为 0.8 d^{-1} ($P<0.05$)。盐度 35 下藻细胞具有较高的 PSII 最大光化学效率 (F_v/F_m) 及光合效率 (α),而光饱和点 (E_k) 和相对最大电子传递速率 (rETR_{max}) 在两种盐度条件下并没有显著性差异 ($P>0.05$)。

表 1 不同盐度下,中肋骨条藻的比生长速率(μ)、最大光化学效率 (F_v/F_m) 及快速光曲线相关参数

Tab. 1 The specific growth rate, maximum photochemical efficiency of PSII and photosynthetic parameters of rapid light curve in *S. costatum* cultures grown under different salinity

盐度	比生长速率 μ/d^{-1}	PSII 最大光化学效率 F_v/F_m	光合效率 α	光饱和点 E_k	相对最大电子传递速率 rETR_{max}
35	1.04 ± 0.031^a	0.713 ± 0.007^a	0.261 ± 0.009^a	798.9 ± 75.8^a	199.3 ± 18.0^a
15	0.80 ± 0.030^b	0.688 ± 0.020^b	0.232 ± 0.003^b	806.7 ± 135.3^a	210.8 ± 37.8^a

注:表中数值为平均值 $\pm$ 标准偏差 ($n=4$),不同字母代表处理间具有显著差异 ($P<0.05$)

将比生长速率达到稳定的中肋骨条藻细胞置于高光强下照射,发现盐度 35 和 15 条件下培养的藻细胞 PSII 活性均表现较轻程度的抑

制, F_v/F_m 分别下降为初始值的 92% 和 89% (图 1 (a)),两者之间无显著性差异 ($P>0.05$)。当将藻细胞转移到生长光强下 30 min 后其 F_v/F_m 值

均表现一定程度的恢复。与此相对照,在加入林肯霉素处理组,中肋骨条藻的光化学效率受到显著抑制,高光处理 120 min 后盐度 35 和 15 条件下 F_v/F_m 分别下降为初始值的 10% 和 7.8% (图 1(a)),且在转移到生长光强下, F_v/F_m 也未表现

恢复。同时,高光处理诱导 NPQ_s 的产生,高光处理 120 min 后,盐度 35 和 15 培养下的中肋骨条藻细胞 NPQ_s 值分别增加了 29% 和 50%,而添加林肯霉素时, NPQ_s 表现大幅上升(图 1(b))。

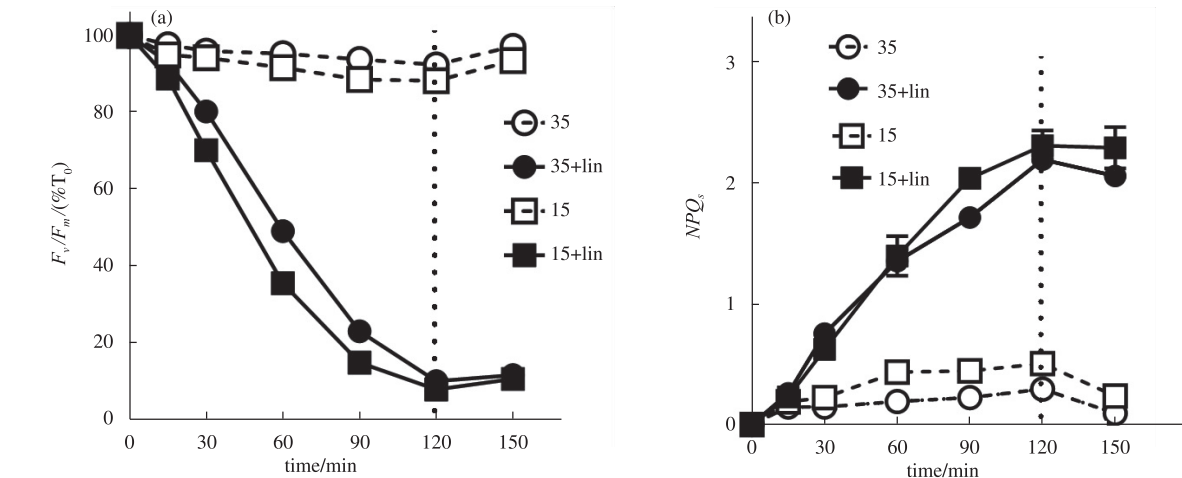


图 1 不同盐度下,中肋骨条藻细胞 PSII 最大光化学效率 F_v/F_m 和 NPQ_s 对高光强的响应,黑色符号显示为添加叶绿体蛋白合成抑制剂林肯霉素实验组,图中数值为平均值 $\pm$ 标准偏差($n=4$)

Fig. 1 Responses of PSII maximum photochemical yield (F_v/F_m) and sustained NPQ (NPQ_s) to high light in *S. costatum* cultures grown under different salinity. Cells were treated with or without the chloroplast protein synthesis inhibitor lincomycin. The data are the means $\pm$ SD ($n=4$)

对高光处理过程中藻细胞 PSII 反应中心关键蛋白 PsbA 蛋白的含量进行检测发现,盐度 35 和 15 条件下,PsbA 蛋白初始含量不同,分别为 $68 \text{ fmol} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ 和 $37.8 \text{ fmol} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ 。随着高光处理时间推移,两种盐度条件下 PsbA 蛋白含量均呈现逐渐下降趋势,120 min 后,盐度 35 和 15 条

件下 PsbA 蛋白含量分别下降为初始值的 78% 和 69% ($P<0.05$),将藻细胞转移至生长光强下 30 min 后其含量分别恢复到初始值的 88% 和 74% ($P<0.05$),而在加入林肯霉素时,PsbA 蛋白含量显著下降,仅为初始值的 46% 和 49% ($P<0.05$)(图 2)。

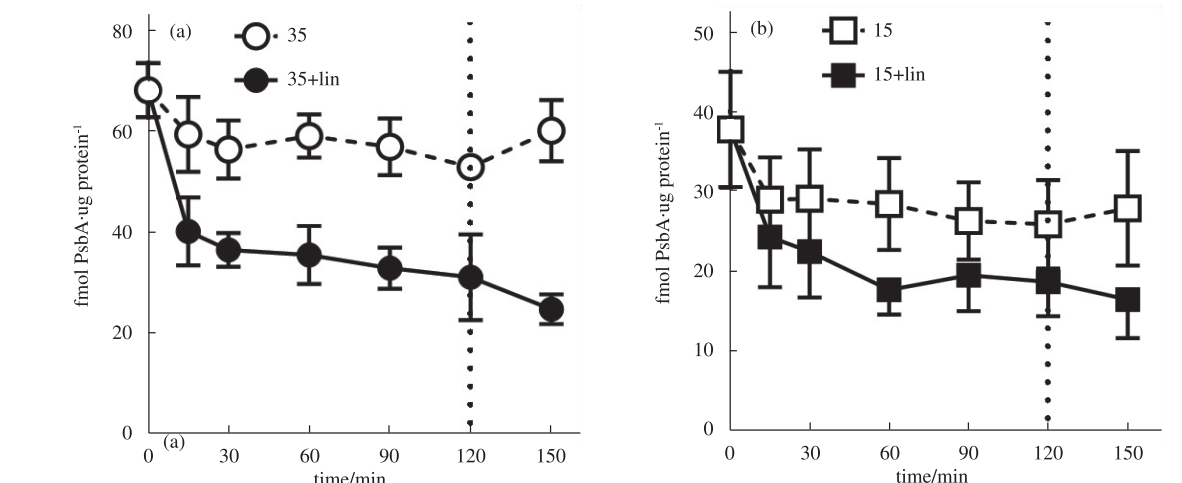


图 2 不同盐度条件下,高光处理时中肋骨条藻细胞 PsbA 蛋白含量变化,黑色符号显示为添加叶绿体蛋白合成抑制剂林肯霉素实验组,图中数值为平均值 $\pm$ 标准偏差($n=4$)

Fig. 2 Changes of the PsbA protein content in *S. costatum* cultures grown under different salinity during high light challenge. Cells were treated with or without the chloroplast synthesis inhibitor lincomycin. The data are the means $\pm$ SD($n=4$)

进一步计算分析藻细胞在高光照射时光失活、受损 PSII 蛋白的清除及修复情况表明,盐度 15 的藻细胞具有较高的光失活速率常数(K_{pi}, s^{-1}),而两

种盐度条件下 PsbA 蛋白去除速率常数(K_{PsbA}, s^{-1})并无显著差异($P>0.05$)(表 2),盐度 35 下藻细胞具有较高的修复速率常数(K_{rec}, s^{-1})(图 3)。

表 2 不同盐度下中肋骨条藻响应高光强的 PSII 光失活速率常数 (K_{pi})、PsbA 清除速率常数 (K_{PsbA}) 及 K_{pi}/K_{PsbA} 比率
Tab.2 The PSII photoinactivation rate constant (K_{pi}), PsbA clearance rate constant (K_{PsbA}) and K_{pi}/K_{PsbA} ratio of *S. costatum* grown under different salinity in response to high light

盐度	光失活速率常数 K_{pi}/s^{-1}	PsbA 清除速率常数 K_{PsbA}/s^{-1}	K_{pi}/K_{PsbA}
35	2.09×10^{-4} (1.50×10^{-5}) ^a	1.70×10^{-4} (2.20×10^{-5}) ^a	1.23
15	2.55×10^{-4} (1.50×10^{-5}) ^b	1.58×10^{-4} (1.80×10^{-5}) ^a	1.61

注:表中数值为平均值±标准偏差($n=4$),不同字母代表处理间具有显著差异($P<0.05$)

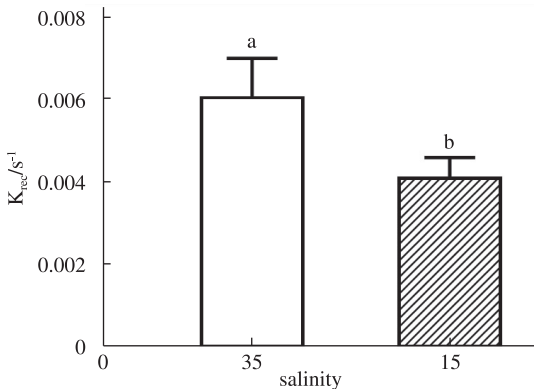


图 3 不同盐度下,中肋骨条藻响应高光强的修复速率常数 K_{rec} 变化
Fig.3 Changes of the repair rate constant (K_{rec}) in *S. costatum* cultures grown under different salinity when exposed to high light

此外,我们对藻细胞应对高光强的抗氧化酶活性进行了监测,发现盐度 15 条件下培养的藻细胞具有较高的 SOD 和 CAT,且在高光强照射过程中也保持显著高于盐度 35 下的活性(图 4)。

3 讨论

前人研究已知中肋骨条藻是一种广盐性浮游硅藻,其在 13 ~ 36 的盐度范围内均可生长,而其最适增值盐度随海域不同有所变化^[36—37]。本研究结果表明中肋骨条藻在盐度 15 时显著低于盐度 35 时的生长速率。有关高盐度胁迫对藻类生长的抑制效应已有大量报道,低盐度对藻类生长及光合作用的影响还相对较少。近年来有研究报道了低盐度对大型海藻如 *Ulva linza*、*Sargassum fusiforme* 生长的抑制作用^[38—39],对海洋微藻(*Tetraselmis suecica*)的研究也发现低盐度下其生长速率受到抑制,细胞形态发生变化且光合速率降低^[40]。本研究发现中肋骨条藻在低盐度下最大

光化学效率 F_v/F_m 降低,快速光曲线的初始斜率 α 降低,说明了光合器官对有效光能的吸收利用效率降低。因此,低盐度对光合作用的负面影响可能是导致其生长速率降低的主要原因。

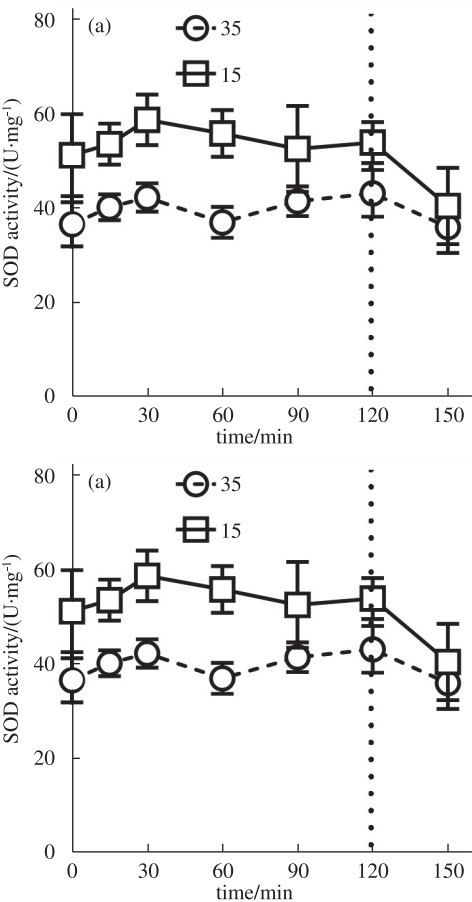


图 4 不同盐度下,高光处理对中肋骨条藻 SOD 和 CAT 活性的影响,图中数值为平均值±标准偏差($n=4$)
Fig.4 Changes of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity in *S. costatum* cultures grown under different salinity during the high light exposure. The data are the means ±SD($n=4$)

两种盐度条件下生长的中肋骨条藻在接受同样的高光强处理时,其光合生理响应不同。低盐度下,由于膨压增大改变细胞内离子强度,可能影响光合作用相关过程。在经过高光处理 120 min 后,尽管盐度 35 和 15 下藻细胞的最大光化学效率 F_v/F_m 下降程度没有显著性差异,但盐度 15 的藻细胞具有较高的光失活速率常数 K_{pi} ,表明其更易于发生光失活,且低盐度下藻细胞具有较低的修复速率常数 K_{rec} ,藻细胞受光抑制程度取决于失活与修复之间的平衡^[41],因此高光照射下藻细胞表现光抑制。PSII 反应中心 PsbA 蛋白的快速周转在 PSII 修复过程中起到重要的作用。Allakhverdiev 等研究指出,盐胁迫并非直接损伤 PSII,而是抑制 PSII 光损伤的修复过程^[42]。本研究中,盐度 15 下藻细胞 PsbA 蛋白含量显著降低,低盐度有可能通过改变细胞内离子强度,影响相关蛋白及酶的合成。而在加入 PsbA 蛋白合成抑制剂林肯霉素时,PsbA 蛋白含量在两种盐度条件下均表现不同程度下降,与未添加林肯霉素情况下相比,120 min 高光处理后,盐度 35 和 15 下 PsbA 含量分别减少了 $21.8 \text{ fmol} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ 和 $7.2 \text{ fmol} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ 。由此可见,盐度 35 条件下,藻细胞应对高光强的 PSII 修复对于 PsbA 蛋白的快速周转更为依赖。

我们前期研究发现,当光失活速率超过 PsbA 清除速率时,诱导产生 NPQ_s ^[29]。本研究中两种盐度条件下 K_{pi}/K_{PsbA} 均大于 1,在高光处理过程中诱导产生 NPQ_s ,且低盐度藻细胞具有较高的 K_{pi}/K_{PsbA} ,在高光处理过程中诱导产生高于盐度 35 下的 NPQ_s ,表明在 PsbA 的周转不足以完全修复 PSII 的光失活时,藻细胞额外启动 NPQ_s 机制,从而通过耗散过量激发能以减轻藻细胞的光损伤。而在添加林肯霉素情况下, NPQ_s 值在高光下显著增加,进一步证实当 PSII 修复被阻止时,细胞对于通过耗散过剩吸收光能来减少光损伤的这种保护机制的依赖性增加。

除了 NPQ 机制,硅藻通常也具有一套抗氧化系统来应对环境胁迫^[28,43]。盐度 15 条件下培养的藻细胞具有显著高于盐度 35 下的 SOD 和 CAT 活性,且在高光处理过程中也保持着较高的活性,从而清除胁迫条件下产生的活性氧(ROS, reactive oxygen species)利于 PSII 的修复。

总之,在低盐度且应对高光强时,中肋骨条藻

细胞启动多种保护和修复机制,将进一步增加细胞的代谢消耗,不利于其生长。随着海水温度升高导致季节性融冰及沿海区域的淡水径流量的增加,海水盐度降低及光照强度的增强会显著影响中肋骨条藻的生长和生存,进而影响其初级生产贡献。

参考文献:

- [1] IPCC. Climate change 2013: the physical science basis [M]. London: Cambridge University Press, 2013.
- [2] KAMENOS N A, HOEY T B, NIENOW P, et al. Reconstructing Greenland ice sheet runoff using coralline algae[J]. Geology, 2012, 40(12): 1095–1098.
- [3] 冷忠业, 车向庆, 吴庆东. 低盐度地区海参养殖存在的问题及建议[J]. 科学养鱼, 2014(8): 45–46.
- [4] 林更铭, 杨清良, 林金美. 厦门岛周围海域浮游植物的种类组成及丰度[J]. 台湾海峡, 1994(4): 353–358.
- [5] STRZEPEK R F, HARRISON P J. Photosynthetic architecture differs in coastal and oceanic diatoms[J]. Nature, 2004, 431(7009): 689–692.
- [6] GALLAGHER J C. Physiological variation and electrophoretic banding patterns of genetically different seasonal populations of *Skeletonema costatum* (*Bacillariophyceae*) in Narragansett Bay [J]. Journal of Phycology, 1982, 18(1): 148–162.
- [7] 黄秀清, 蒋晓山, 王桂兰, 等. 长江口中肋骨条藻赤潮发生过程环境要素分析: 水温、盐度、DO 和 pH 特征[J]. 海洋通报, 1994, 13(4): 35–40.
- [8] 沈竑, 徐韧, 王桂兰. 上海市海岛周围水域浮游植物的调查研究[J]. 海洋通报, 1995, 14(4): 26–37.
- [9] KORB R E, SAVILLE P J, JOHNSTON A M, et al. Sources of inorganic carbon for photosynthesis by three species of marine diatom[J]. Journal of Phycology, 1997, 33: 433–440.
- [10] 陈炳章, 王宗灵, 朱明远, 等. 温度、盐度对具齿原甲藻生长的影响及其与中肋骨条藻的比较[J]. 海洋科学进展, 2005, 23(1): 60–64.
- [11] 黄长江, 王超, 董巧香, 等. 粤东柘林湾中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 种群生态学[J]. 生态学报, 2007, 27(1): 142–151.
- [12] 吴立峰. 厦门同安湾硅藻赤潮与理化环境条件的关系研究[J]. 福建水产, 2006(2): 19–23.
- [13] 徐宁. 中国沿海典型赤潮藻的生态位研究[D]. 广州: 暨南大学, 2006.
- [14] JOHN P S, EUGENE F S. The diatoms: applications to the environmental and earth sciences [M]. London:

- Cambridge University Press,2010.
- [15] 韦洁琳,曹鹏飞,胡文容,等. 南四湖浮游硅藻季节性演替及其与环境因子的相关性[J]. 环境科学研究,2015,28(8):1209-1218.
- [16] KIRST G O. Salinity tolerance of eukaryotic marine algae[J]. Annual Review of Plant Physiology,1990,41(1):21-53.
- [17] LIU M S,HELLEBUST J A. Effects of salinity changes on growth and metabolism of the marine centric diatom *Cyclotella cryptica* [J]. Canadian Journal of Botany,1976,54(9):930-937.
- [18] JUNEAU P, BARNETT A, MÉLÉDER V, et al. Combined effect of high light and high salinity on the regulation of photosynthesis in three diatom species belonging to the main growth forms of intertidal flat inhabiting microphytobenthos [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology,2015,463:95-104.
- [19] IKEDA C E, COCHLAN W P. Effect of salinity changes on the morphology and the cellular processes of diatoms [J]. Journal of Phycology,2016,52:745-760.
- [20] VIDAL L A, VÉLEZ M I, RANGEL O, et al. Sizes of the centric diatom *Actinocyclus normanii* as salinity function, a new tool for the assessment of paleoenvironments[J]. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales,2018,42(165):330-342.
- [21] 余锦兰,夏建荣,邹永东. 小新月菱形藻碳酸酐酶活性和光合作用对高盐度胁迫的响应[J]. 水产学报,2011,35(4):515-523.
- [22] 霍文毅,俞志明,邹景忠,等. 胶州湾中肋骨条藻赤潮与环境因子的关系[J]. 海洋与湖沼,2001(3):311-318.
- [23] 孙大伟,欧林坚,齐雨藻,等. 广东大亚湾中肋骨条藻种群动态及其与环境因子的相关性分析[J]. 热带海洋学报,2010,29(6):46-50.
- [24] 朱晓文,赵卫红,苗辉. 盐度胁迫下中肋骨条藻和东海原甲藻的生长及内源多胺含量的变化[J]. 海洋与湖沼,2015,46(1):50-57.
- [25] PARKHILL J P, ALLAN D C. Effects of salinity, light and inorganic nitrogen on growth and toxigenicity of the marine dinoflagellate *Alexandrium tamarens* from northeastern Canada [J]. Journal of Plankton Research,1999,21(5):939-955.
- [26] BACHMANN K M, EBBERT V, ADAMS III W W, et al. Effects of lincomycin on PSII efficiency, non-photochemical quenching, D1 protein and xanthophyll cycle during photoinhibition and recovery [J]. Functional Plant Biology,2004,31(8):803-813.
- [27] GENTY B, BRIANTAIS J M, BAKER N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects,1989,990(1):87-92.
- [28] GAO G, SHI Q, XU Z, et al. Global warming interacts with ocean acidification to alter PSII function and protection in the diatom *Thalassiosira weissflogii* [J]. Environmental and Experimental Botany,2018,147:95-103.
- [29] WU H, ROY S, ALAMI M, et al. Photosystem II photoinactivation, repair, and protection in marine centric diatoms [J]. Plant Physiology,2012,160(1):464-476.
- [30] WHITE A J, CRITCHLEY C. Rapid light curves: a new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus [J]. Photosynthesis Research,1999,59(1):63-72.
- [31] BEER S, BJORK M, GADEMANN R, et al. Global seagrass research methods: measurements of photosynthetic rates in seagrasses [M]. North Carolina: Meta Press,2001.
- [32] JASSBY A D, PLATT T. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton [J]. Limnology and Oceanography,1976,21(4):540-547.
- [33] GIANNOPOLITIS C N, RIES S K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants [J]. Plant Physiology,1977,59(2):309-314.
- [34] AEBI H. Catalase in vitro [J]. Methods in Enzymology,1984,105:121-126.
- [35] WU H, COCKSHUTT A M, MCCARTHY A, et al. Distinctive photosystem II photoinactivation and protein dynamics in marine diatoms [J]. Plant Physiology,2011,156:2184-2195.
- [36] 王志宝,赵奎峰,梁黎明,等. 温度、盐度和硅酸钠浓度对中肋骨条藻生长的影响[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版),2018,31(3):275-282.
- [37] 赵行行,刘妍忻,宋明,等. 东港赤潮监控区中肋骨条藻生长的主要环境因子影响分析[J]. 环境与发展,2018,30(11):13-15.
- [38] XIE X J, WANG X L, LIN L D, et al. Effects of hypo- and hypersalinity on photosynthetic performance of *Sargassum fusiforme* (Fucales, Heterokontophyta) [J]. Photosynthetica,2016,54(2):210-218.
- [39] GAO G, QU L, XU T, et al. Future CO₂-induced ocean

acidification enhances resilience of a green tide alga to low-salinity stress [J]. ICES Journal of Marine Science, 2019, 76: 2437–2445.

[40] PUGKAEW W, MEETAM M, YOKTHONGWATTANA K, et al. Effects of salinity changes on growth, photosynthetic activity, biochemical composition, and lipid productivity of marine microalga *Tetraselmis suecica* [J]. Journal of Applied Phycology, 2018, 31: 969–979.

[41] GREER D H, BERRY J A, BJÖRKMAN O. Photoinhibition of photosynthesis in intact bean leaves: role of light and temperature, and requirement for chloroplast-protein synthesis during recovery [J]. Planta, 1986, 168: 253–260.

[42] ALLAKHVERDIEV S I, NISHIYAMA Y, MIYAIRI S, et al. Salt stress inhibits the repair of photodamaged photosystem II by suppressing the transcription and translation of psbA genes in *Synechocystis* [J]. Plant Physiology, 2002, 130: 1443–1453.

[43] LI W, GAO K, BEARDALL J. Nitrate limitation and ocean acidification interact with UV-B to reduce photosynthetic performance in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* [J]. Biogeosciences, 2015, 11 (8) : 2383–2393.

Effect of Salinity on Photosynthetic Response of *Skeletonema costatum* to High Light

WANG Yifei, LIU Qingyang, ZANG Shasha, YAN Fang, WANG Lei, WU Hongyan

(School of Life Sciences; Key Laboratory of Marine Biotechnology of Shandong, Ludong University, Yantai 264039, China)

Abstract: The marine diatom *Skeletonema costatum*, which grew under two salinity levels (35 and 15), was selected as experimental material to investigate the effects of salinity on their photophysiological response to high light. The results showed that *S. costatum* that grew under salinity of 15 exhibited lower photosynthetic efficiency parameter (α) and PsbA content, thus the specific growth rate was decreased. When exposed to high light, the maximum quantum yield of PSII (F_v/F_m) of cells was inhibited with the prolonged exposure time regardless of the salinity. In comparison with cells that grew under high salinity, cells under low salinity were more prone to be photoinactivated with higher K_{pi} , and they also showed lower PSII repair rate constant K_{rec} . To alleviate the damage of high light, besides the turnover of PsbA protein, cells that grew under low salinity induced high sustained phase of nonphotochemical quenching, in addition, high activity of both superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) was also examined in low salinity cells before and during the high light exposure.

Keywords: *Skeletonema costatum*; salinity; photoinactivation; diatom; photosynthesis

(责任编辑 李维卫)