

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

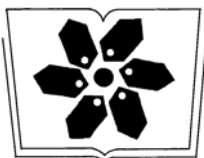
Acta Ecologica Sinica



第 33 卷 第 20 期 Vol.33 No.20 **2013**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 33 卷 第 20 期 2013 年 10 月 (半月刊)

目次

前沿理论与学科综述

- 中小尺度下西北太平洋柔鱼资源丰度的空间变异..... 杨铭霞,陈新军,冯永玖,等 (6427)
- 水分和温度对若尔盖湿地和草甸土壤碳矿化的影响..... 王 丹,吕瑜良,徐 丽,等 (6436)
- 荒漠啮齿动物群落对开垦干扰的响应及其种群生态对策..... 袁 帅,付和平,武晓东,等 (6444)
- 转 Bt 基因棉花对烟粉虱天敌昆虫龟纹瓢虫的影响 周福才,顾爱祥,杨益众,等 (6455)
- 微地形改造的生态环境效应研究进展..... 卫 伟,余 韵,贾福岩,等 (6462)

个体与基础生态

- 丹顶鹤春迁期觅食栖息地多尺度选择——以双台河口保护区为例..... 吴庆明,邹红菲,金洪阳,等 (6470)
- 新疆石河子南山地区表土花粉研究..... 张 卉,张 芸,杨振京,等 (6478)
- 鄱阳湖湿地两种优势植物叶片 C、N、P 动态特征 郑艳明,尧 波,吴 琴,等 (6488)
- 基于高分辨率遥感影像的森林地上生物量估算..... 黄金龙,居为民,郑 光,等 (6497)
- 异质性光照下匍匐茎草本狗牙根克隆整合的耗益..... 陶应时,洪胜春,廖咏梅,等 (6509)
- 湘潭锰矿废弃地栎树人工林微量元素生物循环..... 罗赵慧,田大伦,田红灯,等 (6517)
- 接种彩色豆马勃对模拟酸沉降下马尾松幼苗生物量的影响 陈 展,王 琳,尚 鹤 (6526)
- 生物炭对不同土壤化学性质、小麦和糜子产量的影响 陈心想,何绪生,耿增超,等 (6534)
- 延河流域植物功能性状变异来源分析 张 莉,温仲明,苗连朋 (6543)
- 榆紫叶甲赤眼蜂基础生物学特性及其实验种群生命表..... 王秀梅,臧连生,林宝庆,等 (6553)
- 几种生态因子对拟目乌贼胚胎发育的影响 彭瑞冰,蒋霞敏,于曙光,等 (6560)

种群、群落和生态系统

- 海南铜鼓岭灌木林稀疏规律..... 周 威,龙 成,杨小波,等 (6569)
- 青海三江源区果洛藏族自治州草地退化成因分析..... 赵志平,吴晓蕾,李 果,等 (6577)
- 模拟氮沉降对华西雨屏区苦竹林凋落物基质质量的影响..... 肖银龙,涂利华,胡庭兴,等 (6587)
- 基于光合色素的钦州湾平水期浮游植物群落结构研究 蓝文陆,黎明民,李天深 (6595)
- 基于功能性状的常绿阔叶植物防火性能评价..... 李修鹏,杨晓东,余树全,等 (6604)
- 北京西山地区大山雀与其它鸟类种群间联结分析..... 董大颖,范宗骥,李扎西姐,等 (6614)
- 被动式电子标签用于花鼠种群动态研究的可行性 杨 慧,马建章,戎 可 (6634)

景观、区域和全球生态

- 华北冬小麦降水亏缺变化特征及气候影响因素分析..... 刘 勤,梅旭荣,严昌荣,等 (6643)
- 基于 FAHP-TOPSIS 法的我国省域低碳发展水平评价 胡林林,贾俊松,毛端谦,等 (6652)
- 河漫滩湿地生态阈值——以二卡自然保护区为例..... 胡春明,刘 平,张利田,等 (6662)
- 应用 Le Bissonnais 法研究黄土丘陵区植被类型对土壤团聚体稳定性的影响 刘 雷,安韶山,黄华伟 (6670)
- 不同人为干扰下纳帕海湖滨湿地植被及土壤退化特征..... 唐明艳,杨永兴 (6681)

资源与产业生态

近 10 年北京极端高温天气条件下的地表温度变化及其对城市化的响应 李晓萌,孙永华,孟 丹,等 (6694)

三峡库区小江库湾鱼类食物网的稳定 C、N 同位素分析 李 斌,徐丹丹,王志坚,等 (6704)

研究简报

北京奥林匹克森林公园绿地碳交换动态及其环境控制因子..... 陈文婧,李春义,何桂梅,等 (6712)

植被恢复对洪雅县近 15 年景观格局的影响 王 鹏,李贤伟,赵安玖,等 (6721)

高盐下条斑紫菜光合特性和 S-腺苷甲硫氨酸合成酶基因表达的变化 ... 周向红,易乐飞,徐军田,等 (6730)

学术信息与动态

生态系统服务研究进展——2013 年第 11 届国际生态学大会 (INTECOL Congress) 会议述评 房学宁,赵文武 (6736)

生态系统服务评估——2013 年第 6 届生态系统服务伙伴国际学术年会述评 巩 杰,岳天祥 (6741)

回顾过去,引领未来——2013 年第 5 届国际生态恢复学会大会 (SER 2013) 简介..... 彭少麟,陈宝明,周 婷 (6744)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 320 * zh * P * ¥ 90.00 * 1510 * 33 * 2013-10



封面图说: 荒漠旱獭——旱獭属啮齿目、松鼠科、旱獭属,是松鼠科中体型最大的一种。旱獭多栖息于平原、山地和荒漠草原地带,集群穴居,挖掘能力甚强,洞道深而复杂,多挖在岩石坡和沟谷灌丛下,从洞中推出的大量沙石堆在洞口附近,形成旱獭丘。荒漠啮齿动物是荒漠生态系统的重要成分,农业开垦对功能相对脆弱的荒漠生态系统的干扰极大,往往导致栖息地破碎化,对动植物种产生强烈影响,啮齿动物受到开垦干扰后对环境的响应及其群落的生态对策,是荒漠生态系统生物多样性及其功能维持稳定的重要基础。

彩图及图说提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@ 163.com

DOI: 10.5846/stxb201212291893

周向红, 易乐飞, 徐军田, 李信书, 阎斌伦. 高盐下条斑紫菜光合特性和 S-腺苷甲硫氨酸合成酶基因表达的变化. 生态学报, 2013, 33(20): 6730-6735.

Zhou X H, Yi L F, Xu J T, Li X S, Yan B L. Photosynthetic characteristics and SAMS gene expression in the red alga *Porphyra yezoensis* Ueda under high salinity. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(20): 6730-6735.

高盐下条斑紫菜光合特性和 S-腺苷甲硫氨酸 合成酶基因表达的变化

周向红^{1, 2}, 易乐飞², 徐军田², 李信书², 阎斌伦^{1, *}

(1. 淮海工学院江苏省海洋生物技术重点实验室, 连云港 222005; 2. 淮海工学院海洋学院, 连云港 222005)

摘要: 为了研究条斑紫菜耐盐机理, 对条斑紫菜叶状体进行了高盐胁迫处理, 继而采用氧电极法测量了光合放氧速率和呼吸耗氧速率的变化, 采用实时荧光定量 PCR 技术测量了 S-腺苷甲硫氨酸合成酶(命名为 PySAMS)基因的表达变化。结果显示藻体的光合与呼吸作用均受到高盐度海水的显著影响, 随着盐度的增加, 光合放氧率逐渐降低, 呼吸耗氧率也逐渐降低。高盐度海水对 PySAMS 基因表达量也产生了显著影响, 40 和 50 盐度的海水诱导了 PySAMS 表达, 但 60 至 80 盐度的海水却不同程度地抑制了 PySAMS 表达。据此推测, 在面对较高盐度胁迫时条斑紫菜叶状体将逐步降低体内新陈代谢以度过不良环境。

关键词: 条斑紫菜; 盐胁迫; S-腺苷甲硫氨酸合成酶(SAMS); 基因表达; 光合作用; 呼吸作用

Photosynthetic characteristics and SAMS gene expression in the red alga *Porphyra yezoensis* Ueda under high salinity

ZHOU Xianghong^{1, 2}, YI Lefei², XU Juntian², LI Xinshu², YAN Binlun^{1, *}

1 Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China

2 School of Marine Science & Technology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China

Abstract: The intertidal red alga *Porphyra yezoensis* is an important marine crop which has a high stress tolerance. The salinity of the remaining water on the surface of the *P. yezoensis* thalli increases significantly during emersion, however, thalli can survive this severe osmotic dehydration. In order to investigate the mechanism of high salinity tolerance in *P. yezoensis*, the effects of high salinity on S-Adenosylmethionine synthetase (designated as PySAMS) gene expression and photosynthetic characteristics in *P. yezoensis* were determined. At first the thalli of *P. yezoensis* were subjected to seawater with high salinities (40, 50, 60, 70 or 80 salinity) for 1h. Then the oxygen evolution and consumption in cellular processes of photosynthesis and respiration were measured using the Oxygraph oxygen electrode system. And the relative mRNA expression levels of PySAMS gene were investigated using the real-time PCR. The results show that both photosynthesis and respiration were significantly influenced by seawater with 50, 60, 70 or 80 salinity in *P. yezoensis* thalli. The higher was the salinity of seawater, the lower was the oxygen evolution rate, and the lower was the oxygen consumption rate. The PySAMS gene expression was also influenced by seawater with high salinities significantly in *P. yezoensis* thalli. Seawater with 40 and 50 salinity induced the expression of PySAMS gene. However seawater with 60, 70 and 80 salinity repressed the expression of PySAMS gene. Based upon these we speculated that *P. yezoensis* thalli reduce the metabolism rate gradually to survive the unsuitable environmental condition when thalli suffer high salinity stress.

基金项目: 江苏省海洋生物技术重点实验室开放课题(2012HS013); “十二五”科技支撑重大项目(2011BAD13B03)

收稿日期: 2012-12-29; **修订日期:** 2013-07-08

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yanbinlun1962@163.com

Key Words: *Porphyra yezoensis*; salinity stress; S-Adenosylmethionine synthetase (SAMS); gene expression; photosynthesis; respiration

条斑紫菜(*Porphyra yezoensis* Ueda)是红藻门中的一种大型海藻,作为重要的经济藻类广泛栽培于中国长江口以北、日本和韩国的近海区域,其 2008 年的产量已达 5.5 万吨干重,产值达 13 亿美元^[1]。条斑紫菜不仅具有较高的食用和保健价值,还具有较高的学术研究价值。条斑紫菜叶状体生长于潮间带,由于潮汐变化其每天都会周期性地经历干出与覆水过程,期间可能遭受到盐度、温度、水分、光照和紫外线变化引起的多种非生物胁迫^[2],但是长期的演化使得条斑紫菜适应了这种潮间带生活。因此条斑紫菜特殊的生活习性和胁迫适应机理引起了学者们的广泛兴趣。

紫菜耐受盐度胁迫的机理是复杂的、多方面的,全面细致的机理仍然知之甚少^[1],不过目前已有学者研究了紫菜在盐度胁迫下的一些生理和生化变化过程,为阐明紫菜盐度胁迫适应机理奠定了基础。45—65 盐度的海水能诱导条斑紫菜积累渗透调节剂甘露醇,同时高盐也诱导了脂质过氧化产物丙二醛的急剧增加,随后丙二醛会被自由基清除系统清除^[3]。在 1/16×—1×海水范围内,紫红紫菜(*P. purpurea*)的渗透调节剂红藻糖苷(fluidoside)含量随着盐度的降低而降低,在 1×—3×海水范围内,红藻糖苷含量随着盐度的增加而增加^[4]。在 9‰以上的 NaCl 胁迫下 4 种紫菜的光化效率先急剧下降后缓慢下降,高盐胁迫解除后光化效率先急剧上升后缓慢上升,最后恢复正常,其中 2 种高潮位紫菜(*P. suborbiculata* 和 *P. pseudolinearis*)的光化学效率比 2 种低潮位紫菜(*P. seriata* 和 *P. yezoensis*)的恢复得快^[5]。研究还发现了高盐在光合系统的至少 3 个过程中影响紫菜(*P. perforate*)的光合作用^[6]。

生物对逆境的适应与其生活习性密不可分,面对常态化的逆境,不同的生物采用不同的生存策略。仙人掌科植物采用特化的组织器官来适应常年的干旱环境,其根系发达,叶子退化成针状,茎表覆以蜡质,从而减少水分蒸发和阳光照射。处于活动状态的酵母、线虫和缓步类动物会以一种称之为隐生(cryptobiosis)的休眠机制来应对逆境,当面对干旱、低温、高盐 and 高压时,它们的新陈代谢、生长、繁殖和衰老等活动均趋于减弱或暂时性停止,当环境条件一旦恢复后,将立即恢复到活动状态^[7]。例如干燥条件下,缓步类动物身体失水高达 95%,身体收缩成桶状,此时新陈代谢完全停止,机体依靠海藻糖和热激蛋白等保护细胞基本结构免遭损害,隐生状态下的缓步类动物能抵抗极端的冷、热、旱、化学物质以及离子辐射^[7-8]。

在紫菜中尚未发现有特化的组织器官来应对常态化的环境剧变^[9],因此紫菜有可能采用了类似隐生的休眠机制来度过逆境,这样它们能将能耗和损伤降低到最低限,这在理论上是有意义的。为此,本文拟从分子和生理两个层面上来进行举证。在生理水平上主要研究高盐度胁迫对条斑紫菜光合放氧与呼吸耗氧的影响,在分子水平上主要研究高盐度胁迫对抗逆基因 S-腺苷甲硫氨酸合成酶(S-Adenosylmethionine synthetase,命名为 PySAMS)表达的影响。

1 材料与方法

1.1 条斑紫菜叶状体采集及胁迫处理

条斑紫菜叶状体于 2012 年 1 月从连云港海区的紫菜养殖场采集,选取健康叶片并剪成 2 cm×2 cm 大小,暂养于 30 盐度的过滤海水中,控制培养温度为 8℃、光照为 100 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、光周期为 12L:12D,24h 通空气,每天更换海水和 ES 培养基。暂养 1 周后将叶状体分别转移到 30,40,50,60,70 和 80 盐度的海水中进行盐度胁迫处理,处理于每日的 10:00—14:00 之间进行,每个处理 3 个重复,处理 1h 后取样。

1.2 条斑紫菜叶状体光合特性的检测

采用氧电极法测定条斑紫菜叶状体在盐胁迫下的光合特性。参照邹定辉等^[10]的方法,用卤钨灯提供照明,通过调节卤钨灯距离将光照强度设定为 400 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$;用低温恒温槽的循环水流将测定温度控制在 8℃。Oxygraph 液相氧电极和配套软件的使用参考仪器说明书进行,并且在正式测量之前先在 8℃下标

定氧电极。然后取盐胁迫处理后的藻体小片块约 20mg 加入到氧电极反应杯中,杯中反应介质为相应盐度的灭菌海水,连续搅拌反应介质并记录反应杯中氧的时间进程曲线。首先暗培养并记录耗氧数据,以此作为藻体的呼吸强度;然后再在光照下培养并记录放氧数据,以此作为藻体的光合强度。

1.3 条斑紫菜叶状体 PySAMS 基因表达的检测

总 RNA 抽提参照 TRIzol 试剂(Invitrogen)说明书进行,抽提后的总 RNA 按 DNase I(Fermentas)说明书进行处理,以避免残留的微量基因组 DNA 影响定量 PCR 结果的准确性。使用核酸蛋白定量仪(Bio-Rad)检测总 RNA 的纯度及浓度,电泳检测总 RNA 的完整性。

根据易乐飞等^[11]克隆的 PySAMS 基因序列(FJ404748)设计定量 PCR 引物,正向引物是 5' AACCAGAGCGAGGACCTGATG 3',反向引物是 5' CGTGCTGCCTGCTGATGAC 3',预期扩增产物长 199bp。参考周向红等^[12]的方法,选用 18S rRNA 序列(DQ666486)作内参进行上样误差校正和标准化,其定量 PCR 的正向引物是 5' TGCCAGCACTGCGTTCTTACC 3',反向引物是 5' AGCCTTCCGACCCAGGACTATC 3',预期扩增产物长 163bp。所有引物均由生工生物工程(上海)有限公司合成。

以 Oligo (dT)和 Random 6 mers 为引物,使用 PrimeScript[®] RT reagent Kit(TaKaRa)进行反转录反应。在 IQ5 PCR 仪(Bio-Rad)上进行实时荧光定量 PCR 反应。25 μ L 的反应体系中包含 12.5 μ L 2 $\times$ SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II(TaKaRa)、0.2 μ mol/L 每种引物和 2 μ L 反转录产物。采用两步 PCR 法进行扩增,即首先 95 $^{\circ}$ C 预变性 1min;然后进入 45 个循环,每个循环中 95 $^{\circ}$ C 变性 10s,62 $^{\circ}$ C 延伸 30s;循环结束后,从 55 $^{\circ}$ C 缓慢升温到 95 $^{\circ}$ C,制备熔解曲线。同时还以 10 $\times$ 系列稀释的反转录产物为模板进行定量 PCR,以制作 PySAMS 和内参的标准曲线。每次反应都设置阴性对照和无模板对照,每个反应设 3 个复孔。

1.4 数据分析

应用 PFAFFL^[13]建立的数学模型对定量 PCR 数据进行处理,从而获得 PySAMS 在不同盐度下的相对表达量;藻体放氧和耗氧速率以每克鲜叶片每小时产生和消耗的 O₂ 的量为单位。所有数据采用 SPSS 进行统计分析,并以均数 $\pm$ 标准差表示。因为各组数据都通过了正态性和方差齐性检验,所以组间差异采用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间多重比较采用 Duncan 检验, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 条斑紫菜叶状体光合特性

将藻体从 30 盐度转移至 40 盐度的海水中培养 1h 后,光合放氧率从 197.3 μ molO₂·g⁻¹鲜重·h⁻¹下降至 182.2 μ molO₂·g⁻¹鲜重·h⁻¹;虽然 40 盐度下的放氧率稍有降低,但是与 30 盐度的无显著差异。更高盐度(50—80 盐度)的海水显著性地抑制了藻体光合作用,光合放氧率下降至 149.7—118.2 μ molO₂·g⁻¹鲜重·h⁻¹范围,而且盐度越高,光合放氧率越低(图 1)。高盐度海水培养的藻体呼吸强度的变化趋势类似于光合作用的变化。在 40 盐度海水条件下,呼吸耗氧率与 30 盐度的几乎没有变化,维持在 22.6 μ molO₂·g⁻¹鲜重·h⁻¹左右。更高盐度(50—80 盐度)的海水则显著性地抑制了藻体呼吸作用,呼吸耗氧率下降至 15.1—12.1 μ molO₂·g⁻¹鲜重·h⁻¹范围,而且盐度越高,呼吸耗氧率越低,但彼此间尚无显著差异(图 1)。

高盐度海水培养不同程度地抑制了藻体的光合和呼吸作用。放氧率降低表明藻体的有机物合成下降,耗氧率降低表明藻体的生理活性下降,因此 50—80 盐度不利于藻体生长,而且盐度越大则影响越大。

2.2 条斑紫菜叶状体 PySAMS 基因表达

核酸分离纯化是各类分子操作的第一步,因此总 RNA 质量对后续反转录与 PCR 反应具有较大影响。本实验中,抽提的所有总 RNA 经检测后显示 A₂₆₀/A₂₈₀ 的比值介于 1.9—2.1, A₂₆₀/A₂₃₀ 的比值介于 2.0—2.3,而且经普通琼脂糖凝胶电泳后显示出明亮且清晰的 28S 和 18S rRNA 条带以及一些细胞器 rRNA 条带。上述结果表明总 RNA 中没有明显的蛋白质、多糖或多酚等残留,总 RNA 片段完整且没有明显降解,进一步的 DNase I 处理清除了总 RNA 中残留的 DNA。因此总 RNA 质量可以满足后续实验要求。

PySAMS 基因的扩增曲线呈规则的“S”形,基线平整、指数区明显;熔解曲线仅显示单一的特异峰;标准曲

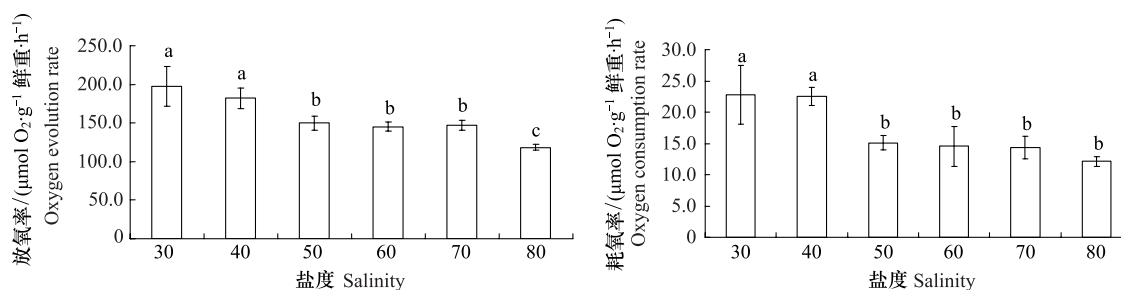


图1 条斑紫菜叶状体在不同盐度海水培养 1h 后的光合特性

Fig.1 Photosynthetic characteristics of *P. yezoensis* thalli under salinity stress

图中各数据表示为平均值±标准差 ($n=3$), 柱形图上的不同字母表示差异的显著性 ($P<0.05$)

线的斜率为 3.45, 扩增效率为 95%, 相关系数是 0.998。阴性对照和无模板对照的扩增曲线均呈水平直线状, 复孔间扩增曲线基本重叠。这些说明扩增产物特异性高, 无引物二聚体及非特异性扩增, 确保了定量的准确性。

定量 PCR 结果显示高盐度的海水对 PySAMS 基因的相对表达量具有显著影响 (图 2)。将条斑紫菜叶状体转移至 40 盐度海水中培养, 1h 后检测到 PySAMS 被诱导表达, 该表达量是 30 盐度下的 1.58 倍, 且与之差异显著。50 盐度海水培养 1h 后也检测到 PySAMS 表达量升高, 该表达量是 30 盐度下的 1.43 倍。更高盐度 (60—80 盐度) 海水胁迫后, PySAMS 的表达量不但没有升高反而不同程度的下降, 是 30 盐度下的 0.70—0.73 倍, 且与之差异显著。

3 讨论

光合与呼吸作用是植物体内非常重要的生理过程, 但容易受到外界环境的影响。研究表明叶绿体的类囊体膜是光能吸收、传递和转换的结构基础; 盐胁迫下, 过量盐离子积累会使类囊体膜糖脂含量显著下降, 不饱和脂肪酸含量降低, 饱和脂肪酸含量升高, 垛叠状态的类囊体膜的比例减少, 类囊体排列紊乱、膨大, 基粒排列方向改变, 基粒和基质片层界限模糊不清, 叶绿素含量降低, 从而降低了植物对光量子的有效吸收、传递和利用, 使激发能不能迅速传递和转化, 降低了光能转化为生物化学能的效率, 最终降低了光合能力^[14]。本文研究结果也显示了类似的抑制效应, 即盐度越高对藻体光合作用的抑制越强 (图 1)。

呼吸作用为植物的生命活动提供大部分能量, 当然也为植物抵御盐胁迫提供能量; 植物积累或拒绝盐离子以及合成有机渗透调节物来适应或抵抗盐胁迫等一系列过程都需要消耗大量能量, 因此低浓度盐胁迫下或盐胁迫早期植物呼吸强度通常会增加, 然而更高强度的盐胁迫会抑制呼吸^[14]。本文研究结果与高等植物的略有不同。条斑紫菜体细胞能正常生长发育的盐度范围在 19.6—32.8 之间^[15], 因此 40 盐度已属轻度盐胁迫。虽然盐度越高对藻体呼吸作用的抑制越强, 但是轻度盐胁迫 (40 盐度) 并没有增加藻体的呼吸强度 (图 1B)。类似现象在其它耐盐或耐旱的藻类中也有发现。例如, 培养液中 NaCl 浓度的升高引起发状念珠藻 (*Nostoc flagelliforme*, 俗称“发菜”) 藻体呼吸作用的降低, 在 0—0.1 mol/L NaCl 条件下, 呼吸维持在 3.57—3.60 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 一旦盐度增加到 0.2 mol/L NaCl, 呼吸迅速下降至 2.44 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 而且盐度越高呼吸作用越低^[16]。将 1.5 mol/L NaCl 培养的杜氏盐藻 (*Dunaliella salina*) 转移至 2.5 mol/L NaCl 中培养 20 min, 呼吸作用也显著降低^[17]。

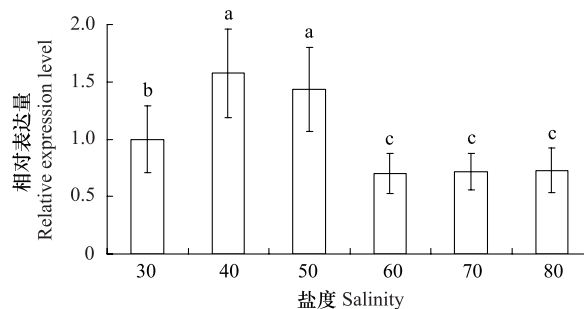


图2 条斑紫菜叶状体 PySAMS 基因在盐度胁迫下的相对表达量

Fig.2 The relative mRNA expression levels of PySAMS gene in *P. yezoensis* thalli under salinity stress

图中各数据表示为平均值±标准差 ($n=3$), 柱形图上的不同字母表示差异的显著性 ($P<0.05$)

SAMS 在生物体内催化 ATP 和 L-甲硫氨酸反应生成 S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosylmethionine, SAM), SAM 作为重要的中间代谢物参与转甲基、转硫和转氨丙基等反应^[18], 反应能生成乙烯、多胺、还原型谷胱甘肽和甜菜碱等分子^[11], 这些物质能参与植物对逆境的抵抗过程, 因此 SAMS 在植物的抗逆过程中发挥着积极作用。大量数据表明 SAMS 基因的确受环境胁迫的诱导表达^[19-21], 而且超表达 SAMS 还能提高转基因植物的抗逆能力^[22-23]。与陆地棉 (*Gossypium hirsutum*)^[24]、裙带菜 (*Undaria pinnatifida*)^[25] 等这些陆生植物和海洋藻类的 SAMS 一样, PySAMS 受到盐胁迫的诱导表达。但是, PySAMS 又有着其特殊的表达模式, 即在 40 和 50 盐度时 PySAMS 诱导表达明显, 在更高盐度 (60、70 和 80 盐度) 胁迫下不被诱导 (图 2)。

综合生理和分子水平上的数据来看, 30 至 40 盐度范围内条斑紫菜光合与呼吸作用均不受影响, 那么在 40 盐度下被诱导表达的 PySAMS 则可能参与维持了细胞内环境稳定, 进而维持光合与呼吸作用的正常进行。在 50 盐度下, 虽然 PySAMS 被诱导表达, 但是 PySAMS 等抗逆基因以及渗透调节物质可能不足以维持内环境的稳定, 于是光合与呼吸作用受到了盐胁迫的抑制。更高盐度 (60 至 80 盐度) 下, 藻体的光合与呼吸作用以及 PySAMS 基因表达都受到了明显抑制; 光合作用的减弱将直接影响到藻体生长, 呼吸作用的减弱将直接减少细胞内能量的产生, PySAMS 表达量的减少将削弱维持细胞内环境稳定的能力。这些数据验证了我们的推断, 即在面对逆境时条斑紫菜叶状体可能采用隐生策略来逐步降低体内新陈代谢以度过不良环境。这一假设也得到了其它数据的支持, 例如随着脱水的增加, 条斑紫菜叶状体光合和呼吸都逐步减弱, 最后几近暂停^[26], 抗逆基因 HSP70 和 HSP90 的表达也受抑制^[27-28]。虽然隐生的具体机理不详, 但一般认为高浓度海藻糖可代替丢失的水, 在细胞内形成氢键框架以抵御胁迫, 热激蛋白则在胁迫解除后的恢复过程中发挥作用^[29]。红藻含有高浓度的可溶性糖——红藻糖苷 (floridoside), 其在细胞质内也可以形成氢键框架^[9]。因此这些数据暗示着条斑紫菜叶状体可能采用隐生策略来度过不良环境。

为什么高盐胁迫抑制了 PySAMS 基因表达呢? 对于条斑紫菜叶状体, 高盐不仅抑制了 PySAMS 表达, 还抑制了渗透调节物质甘露醇的合成, 45 盐度胁迫后的 12h 内藻体内甘露醇含量远远高于同期 55 和 65 盐度胁迫下的甘露醇含量^[3]。虽然上述现象容易让人认为 PySAMS 和甘露醇不是藻体耐盐的主要物质, 但是我们更倾向于认为: 在细胞内存在某种胞质浓度感应装置, 当胞质浓度增加并超过某一阈值之后细胞将降低体内新陈代谢以度过不良环境; 那么在轻度盐胁迫时, 胞质浓度达到阈值所经历时间长或者达不到阈值, 此期间有更多的机会合成抗逆物质, 反之, 在重度盐胁迫时, 胞质浓度达到阈值所经历时间短, 此期间可能来不及合成抗逆物质。这一假设不仅能解释盐胁迫下的这些特殊现象, 甚至还能对干出胁迫进行部分解释。条斑紫菜叶状体 HSP70 和 HSP90 在失水胁迫后不被诱导表达的原因可能是藻体一旦干出后, 水分会从细胞内迅速流失, 胞质浓度快速达到阈值, 于是没有足够的时间去合成这些基因。

条斑紫菜耐盐度胁迫的机理是复杂的、多方面的, 仍然有许多机理不明^[1], 虽然本文提出了条斑紫菜的隐生假说, 但是藻体如何感知胞质浓度变化, 如何在高盐环境中生存以及如何盐胁迫解除后迅速恢复生长等, 详细的机理还有待于进一步研究。

致谢:感谢朱明副教授在氧电极使用上给予的帮助。

References:

- [1] Blouin N A, Brodie J A, Grossman A C, Xu P, Brawley S H. *Porphyra*: a marine crop shaped by stress. *Trends in Plant Science*, 2011, 16(1): 29-37.
- [2] Davison I R, Pearson G A. Stress tolerance in intertidal seaweeds. *Journal of Phycology*, 1996, 32(2): 197-211.
- [3] Feng C, Lu X Z, Yu W G. Biochemical and physiological effects of adversity stress on *Porphyra yezoensis*. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2004, 26(3): 22-26.
- [4] Reed R H, Collins J C, Russell G. The effects of salinity upon galactosyl-glycerol content and concentration of the marine red alga *Porphyra purpurea* (Roth) C.Ag. *Journal of experimental botany*, 1980, 31(6): 1539-1554.
- [5] Hong D D, Kim T H, Hwang M S, Chung I K, Lee C H. Effects of salinity on chlorophyll fluorescence from *Porphyra thalli* and comparison of species with different intertidal distribution. *Journal of Fisheries Science and Technology*, 1998, 1(1): 122-128.
- [6] Satoh K, Smith C M, Fork D C. Effects of salinity on primary processes of photosynthesis in the red alga *Porphyra perforata*. *Plant Physiology*, 1983, 73(3): 643-647.

- [7] Schill R O, Mali B, Dandekar T, Schnölzer M, Reuter D, Frohme M. Molecular mechanisms of tolerance in tardigrades: New perspectives for preservation and stabilization of biological material. *Biotechnology Advances*, 2009, 27(4): 348-352.
- [8] Su L N, Li X C. Overview on dormancy of tardigrada. *Sichuan Journal of Zoology*, 2006, 25(1): 191-195.
- [9] Liu Y-C. Mechanism for differential desiccation tolerance in *Porphyra* species [D]. Boston: Northeastern University, Department of Biology, 2009.
- [10] Zou D H, Gao K S. The effects of elevated inorganic carbon concentration on photosynthesis of *Ulva lactuca* under different temperature. *Marine Sciences*, 2002, 26(3): 49-52.
- [11] Yi L F, Wang P, Zhou X H, Liu C W. cDNA cloning and bioinformatic analysis of SAMS gene from *Porphyra yezoensis*. *China Biotechnology*, 2009, 29(7): 43-49.
- [12] Zhou X H, Yi L F, Li X S, Wang P, Yang P L. Molecular cloning and expression pattern of glutathione S-transferase gene in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta). *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(9): 1354-1361.
- [13] Pfaffl M W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic acids research*, 2001, 29(9): e45.
- [14] Yang X H, Jiang W J, Wei M, Yu H J. Review on plant response and resistance mechanism to salt stress. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science)*, 2006, 37(2): 302-305, 308.
- [15] Yan X H, Jiang H B. Effects of salinity on the growth and development of somatic cells and preliminary observation of lower salinity Resistant in *Porphyra yezoensis*. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 1993, 2(1): 34-40.
- [16] Bi Y H, Deng Z Y, Hu Z Y, Xu M. Response of *Nostoc flagelliforme* to salt stress. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, 29(2): 125-129.
- [17] Liu X D, Shen Y G. Salt shock induces state II transition of the photosynthetic apparatus in dark-adapted *Dunaliella salina* cells. *Environmental and Experimental Botany*, 2006, 57(1/2): 19-24.
- [18] Zhang J G, Li X H, Yuan Z Y. Research advances in gene and structure of S-adenosyl-L-methionine synthetase. *Industrial Microbiology*, 2005, 35(3): 39-44.
- [19] Ma X, Wang Z, Qi Y, Zhao Y, Zhang H. Isolation of S-adenosylmethionine synthetase gene from *Suaeda salsa* and its differential expression under NaCl stress. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45(11): 1359-1365.
- [20] Lin F Y, Wang S Q, Hu Y G, He B R. Cloning of a S-adenosylmethionine synthetase gene from broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) and its expression during drought and re-watering. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34(5): 777-782.
- [21] Hwang S S, Cheah S C, Kulaveerasingam H, Tan S H. Molecular Cloning and Characterization of S-adenosylmethionine Synthetase Isolated from Suspension Culture Cdna Library of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2003, 6(16): 1468-1475.
- [22] Fan J P, Bai X, Li Y, Ji W, Wang X, Cai H, Zhu Y M. Cloning and function analysis of gene SAMS from Glycine soja. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34(9): 1581-1587.
- [23] Hua Y, Zhang B X, Cai H, Li Y, Bai X, Ji W, Wang Z Y, Zhu Y M. Stress-inducible expression of GsSAMS2 enhances salt tolerance in transgenic *Medicago sativa*. *African Journal of Biotechnology*, 2012, 11(17): 4030-4038.
- [24] Zhou K, Song L Y, Ye W W, Wang J J, Wang D L, Fan B X. Cloning and expression of GhSAMS gene related to salt-tolerance in *Gossypium hirsutum* L. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, 37(6): 1012-1019.
- [25] Qiao K. Cloning, analysis and prokaryotic expression of SAMS gene in *Undaria pinnatifida* [D]. Dalian: Liaoning Normal University, 2011.
- [26] Gao K, Aruga Y. Preliminary studies on the photosynthesis and respiration of *Porphyra yezoensis* under emersed conditions. *Journal of the Tokyo University of Fisheries*, 1987, 47(1): 51-65.
- [27] Zhou X, Wang P, Yan B, Li X, Yi L. Characterization and expression patterns of two 70-kDa heat shock protein genes in the intertidal red alga *Porphyra yezoensis*. *Botanica Marina*, 2011, 54(5): 447-455.
- [28] Zhou X H, Li X S, Wang P, Yan B L, Teng Y J, Yi L F. Molecular cloning and expression analysis of HSP90 gene from *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta). *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(12): 1844-1852.
- [29] Welnicz W, Grohme M A, Kaczmarek L, Schill R O, Frohme M. Anhydrobiosis in tardigrades — the last decade. *Journal of insect physiology*, 2011, 57(5): 577-583.

参考文献:

- [3] 冯琛, 路新枝, 于文功. 逆境胁迫对条斑紫菜生理生化指标的影响. *海洋湖沼通报*, 2004, 26(3): 22-26.
- [8] 苏丽娜, 李晓晨. 缓步动物休眠现象研究进展. *四川动物*, 2006, 25(1): 191-195.
- [10] 邹定辉, 高坤山. 不同温度条件下无机碳浓度增高对石莼光合作用的影响. *海洋科学*, 2002, 26(3): 49-52.
- [11] 易乐飞, 王萍, 周向红, 刘楚吾. 条斑紫菜 SAMS 基因克隆与生物信息学分析. *中国生物工程杂志*, 2009, 29(7): 43-49.
- [12] 周向红, 易乐飞, 李信书, 王萍, 阎斌伦. 条斑紫菜谷胱甘肽 S-转移酶基因的克隆与表达分析. *水产学报*, 2011, 35(9): 1354-1361.
- [14] 杨晓慧, 蒋卫杰, 魏珉, 余宏军. 植物对盐胁迫的反应及其抗盐机理研究进展. *山东农业大学学报(自然科学版)*, 2006, 37(2): 302-305+308.
- [15] 严兴洪, 江海波. 盐度对条斑紫菜体细胞生长发育的影响及耐低盐变异体的初步观察. *上海水产大学学报*, 1993, 2(1): 34-40.
- [16] 毕永红, 邓中洋, 胡征宇, 徐敏. 发状念珠藻对盐胁迫的响应. *水生生物学报*, 2005, 29(2): 125-129.
- [18] 张建国, 李新华, 袁中一. 腺苷甲硫氨酸合成酶的基因及结构研究进展. *工业微生物*, 2005, 35(3): 39-44.
- [20] 林凡云, 王士强, 胡银岗, 何蓓如. 糜子 SAMS 基因的克隆及其在干旱复水中的表达模式分析. *作物学报*, 2008, 34(5): 777-782.
- [22] 樊金萍, 柏锡, 李勇, 纪巍, 王希, 才华, 朱延明. 野生大豆 S-腺苷甲硫氨酸合成酶基因的克隆及功能分析. *作物学报*, 2008, 34(9): 1581-1587.
- [24] 周凯, 宋丽艳, 叶武威, 王俊娟, 王德龙, 樊保香. 陆地棉耐盐相关基因 GhSAMS 的克隆及表达. *大连: 作物学报*, 2011, 37(6): 1012-1019.
- [25] 乔坤. 裙带菜 SAMS 基因的克隆、分析及原核表达 [D]. 大连: 辽宁师范大学, 2011.
- [28] 周向红, 李信书, 王萍, 阎斌伦, 滕亚娟, 易乐飞. 条斑紫菜 HSP90 基因的克隆与表达分析. *水产学报*, 2010, 34(12): 1844-1852.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.33, No.20 Oct., 2013 (Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- Spatial variability of small and medium scales' resource abundance of *Ommastrephes bartramii* in Northwest Pacific YANG Mingxia, CHEN Xinjun, FENG Yongjiu, et al (6427)
- The effect of moisture and temperature on soil C mineralization in wetland and steppe of the Zoige region, China WANG Dan, LV Yuliang, XU Li, et al (6436)
- Response and population bionomic strategies of desert rodent communities towards disturbance of cultivation YUAN Shuai, FU Heping, WU Xiaodong, et al (6444)
- Effects of Bt-cotton on *Propylea japonica*, an Enemy Insect of *Bemisia tabaci* (Gennadius) ZHOU Fucui, GU Aixiang, YANG Yizhong, et al (6455)
- Research progress in the ecological effects of micro-landform modification WEI Wei, YU Yun, JIA Fuyan, et al (6462)

Autecology & Fundamentals

- A multi-scale feeding habitat selection of Red-crowned crane during spring migration at the Shuangtaihekou Nature Reserve, Liaoning Province, China WU Qingming, ZOU Hongfei, JIN Hongyang, et al (6470)
- Surface pollen research of Nanshan region, Shihezi City in Xinjiang ZHANG Hui, ZHANG Yun, YANG Zhenjing, et al (6478)
- Dynamics of leaf carbon, nitrogen and phosphorus of two dominant species in a Poyang Lake wetland ZHENG Yanming, YAO Bo, WU Qin, et al (6488)
- Estimation of forest aboveground biomass using high spatial resolution remote sensing imagery HUANG Jinlong, JU Weimin, ZHENG Guang, et al (6497)
- Cost-benefits of the clonal integration of *Cynodon dactylon*, a stolon herbaceous plant, under heterogeneous lighting condition TAO Yingshi, HONG Shengchun, LIAO Yongmei, et al (6509)
- Biological cycling of *Koeleria paniculata* plantation microelements in Xiangtan Manganese Mine wasteland LUO Zhaohui, TIAN Dalun, TIAN Hongdeng, et al (6517)
- Effects of ectomycorrhizal fungi (*tinctorius* (Pers.) Coker & Couch) on the biomass of masson pine (*Pinus massoniana*) seedlings under simulated acid rain CHEN Zhan, WANG Lin, SHANG He (6526)
- Effects of biochar on selected soil chemical properties and on wheat and millet yield CHEN Xinxiang, HE Xusheng, GENG Zengchao, et al (6534)
- Source of variation of plant functional traits in the Yanhe river watershed: the influence of environment and phylogenetic background ZHANG Li, WEN Zhongming, MIAO Lianpeng (6543)
- The general biology and experimental population life table about *Asynacta ambrostomae* WANG Xiumei, ZANG Liansheng, LIN Baoqing, et al (6553)
- Effect of several ecological factors on embryonic development of *Sepia lycidas* PENG Ruibing, JIANG Xiamin, YU Shuguang, et al (6560)

Population, Community and Ecosystem

- The thinning regular of the the shrubbery at Tongguling National Nature Reserve on Hainan Island, China ZHOU Wei, LONG Cheng, YANG Xiaobo, et al (6569)
- The cause of grassland degradation in Golog Tibetan Autonomous Prefecture in the Three Rivers Headwaters Region of Qinghai Province ZHAO Zhiping, WU Xiaopu, LI Guo, et al (6577)
- Effects of simulated nitrogen deposition on substrate quality of litterfall in a *Pleioblastus amarus* plantation in Rainy Area of West China XIAO Yinlong, TU Lihua, HU Tingxing, et al (6587)
- Phytoplankton community structure based on pigment composition in Qinzhou bay during average water period LAN Wenlu, LI Mingmin, LI Tianshen (6595)
- Functional trait-based evaluation of plant fireproofing capability for subtropical evergreen broad-leaved woody plants LI Xiupeng, YANG Xiaodong, YU Shuquan, et al (6604)
- Interspecific associations between *Parus major* and other bird communities in Beijing Xishan region DONG Daying, FAN Zhongji, LI Zhaxijie, et al (6614)

- Feasibility analysis of passive integrated transponders in population ecology studies of Siberian chipmunk
..... YANG Hui, MA Jianzhang, RONG Ke (6634)

Landscape, Regional and Global Ecology

- Dynamic variation of water deficit of winter wheat and its possible climatic factors in Northern China
..... LIU Qin, MEI Xurong, YAN Changrong, et al (6643)
- Study on the levels' evaluation of provincial low-carbon development in China based on the FAHP-TOPSIS method
..... HU Linlin, JIA Junsong, MAO Duanqian, et al (6652)
- An investigation of the safety threshold of a floodplain wetland: a case study of the Er-Ka Nature Reserve, China
..... HU Chunming, LIU Ping, ZHANG Litian, et al (6662)
- Application of le bissonnais method to study soil aggregate stability under different vegetaion on the loess plateau
..... LIU Lei, AN Shaoshan, Huang Huawei (6670)
- Analysis of vegetation and soil degradation characteristics under different human disturbance in lakeside wetland, Napahai
..... TANG Mingyan, YANG Yongxing (6681)

Resource and Industrial Ecology

- Changes of land surface temperature and its response to urbanization under the extreme high-temperature background in recent
ten years of Beijing LI Xiaomeng, SUN Yonghua, MENG Dan, et al (6694)
- Stable isotope (^{13}C and ^{15}N) analysis of fish food web of the Xiaojiang Bay in Three Gorges Reservoir
..... LI Bin, XU Dandan, WANG Zhijian, et al (6704)

Research Notes

- Dynamics of CO_2 exchange and its environmental controls in an urban green-land ecosystem in Beijing Olympic Forest Park
..... CHEN Wenjing, LI Chunyi, HE Guimei, et al (6712)
- Effects of vegetation restoration on landscape pattern of Hongya Country in recent 15 years
..... WANG Peng, LI Xianwei, ZHAO Anjiu, et al (6721)
- Photosynthetic characteristics and SAMS gene expression in the red alga *Porphyra yezoensis* Ueda under high salinity
..... ZHOU Xianghong, YI Lefei, XU Juntian, et al (6730)

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索生态学奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,300 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

本期责任副主编 宋金明

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 33 卷 第 20 期 (2013 年 10 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 20 (October, 2013)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel: (010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail: journal@ cspg. net	Distributed by	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel: (010)64034563 E-mail: journal@ cspg. net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add: P.O.Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发刊

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 90.00 元