



## 坛紫菜响应高光胁迫的分子机制

张宝<sup>1,2,3</sup>, 徐燕<sup>1,2,3</sup>, 许凯<sup>1,2,3</sup>, 纪德华<sup>1,2,3</sup>,  
陈昌生<sup>1,2,3</sup>, 王文磊<sup>1,2,3\*</sup>, 谢潮添<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021;

2. 福建省水产生物育种与健康养殖工程研究中心, 福建省发展和改革委员会, 福建 厦门 361021;

3. 农业农村部东海健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021)

**摘要:** 坛紫菜生活于中高潮区, 退潮后会遭受到周期性的强光胁迫, 但高潮复水后坛紫菜叶状体可以快速恢复正常生长, 表明坛紫菜具有极强的耐高光能力。为探究其耐高光机制, 实验挑选了2个耐高光能力具有显著差异的坛紫菜新品系作为研究对象(绿色品系: 9-IV; 桔色品系: WO141-3), 测定了高光胁迫下2个品系藻体的光合速率、抗氧化酶活性等生理指标, 构建了2个品系的差异转录表达谱, 并结合荧光定量分析技术获得了调控坛紫菜耐高光的关键通路和基因。结果显示, 在高光胁迫下, 2个坛紫菜品系叶状体的丙二醛含量均显著上升, 光系统部分基因表达量显著降低, 藻体光合能力显著下降。进一步分析发现, WO141-3品系在高光处理1 h具有更强的高光抗性, 而9-IV品系在处理4 h后具有更强的高光抗性, 造成这种差异的主要原因是: 高光胁迫处理1 h时, WO141-3品系具有更高的活性氧清除能力、更强的非光化学淬灭能力以及更低的色素含量和捕光蛋白基因表达量; 而在高光胁迫处理4 h时, 9-IV品系的活性氧清除能力和非光化学淬灭能力更强, 色素含量和捕光蛋白基因表达量都更低。研究表明, 坛紫菜藻体可以通过激活非光化学淬灭机制和抗氧化系统, 以及降低色素含量和捕光蛋白基因表达应对高光胁迫, 避免遭受过度光损伤和氧化损伤。本研究结果为阐明紫菜的耐高光机理奠定了理论基础。

**关键词:** 坛紫菜; 高光胁迫; 非光化学淬灭; 捕光蛋白

**中图分类号:** S 917.3

**文献标志码:** A

光照是光合生物维持正常生长发育的必要条件, 然而过量的光照会对植物产生高光胁迫, 对其生长发育造成不良影响。植物吸收过量的光, 会产生光抑制现象, 对光合系统造成损伤, 导致光合能力下降、生长发育受阻<sup>[1-2]</sup>。同时, 高光胁迫也会影响叶绿体的形态结构和光合色素的组分<sup>[3-4]</sup>。高光胁迫下, 由于能量过剩会产生过多的活性氧(ROS)<sup>[5-6]</sup>, 从而引起膜系统损伤、核酸损伤等代谢功能的丧失和细胞死亡<sup>[7]</sup>。由此可见,

高光胁迫对植物带来的影响是不可忽略的, 因此开展植物应答高光胁迫的研究具有重要意义。

为应对高光胁迫带来的各种影响, 植物在进化过程中衍生了一套复杂高效的应答机制, 其中, 通过降低叶绿素 *a*(Chl. *a*) 和叶绿素 *b*(Chl. *b*) 等捕光色素的含量以减少光能吸收是植物应对高光胁迫的关键方式之一<sup>[8]</sup>。此外, 研究表明通过热耗散机制应对高光胁迫下过剩的产能是植物应答高光胁迫的重要方式之一<sup>[9]</sup>。植物体内主要存在两

收稿日期: 2021-10-04 修回日期: 2022-04-24

资助项目: 国家重点研发计划(2018YFD0901500, 2018YFD0900106); 国家自然科学基金(41806185); 福建省重大科技专项(2019NZ0803); 现代农业产业技术体系专项(CARS-50)

第一作者: 张宝(照片), 从事坛紫菜响应高光胁迫分子机制研究, E-mail: 1980820210@qq.com

通信作者: 王文磊, 从事坛紫菜良种选育与应用研究, E-mail: wlwang@jmu.edu.cn;

谢潮添, 从事坛紫菜良种选育与应用研究, E-mail: ctxie@jmu.edu.cn



种热耗散保护机制: 非光化学猝灭 (NPQ) 和叶黄素循环。这两种机制均可以保护植物类囊体膜, 防止膜脂过氧化, 增强植物抵抗恶劣环境的能力<sup>[10-11]</sup>。虽然大部分红藻没有叶黄素循环, 但是其叶黄素循环相关色素能起到类似的热耗散作用<sup>[12]</sup>。例如, 条斑紫菜 (*Pyropia yezoensis*) 可以增加叶黄素和  $\beta$ -胡萝卜素含量, 积极运行 NPQ 应对高光胁迫<sup>[13]</sup>。而当热耗散机制不足以清除过多的能量时, 光能过剩会导致电子传递链过度还原, 机体容易产生并积累 ROS<sup>[14]</sup>。此时, 植物就会积极上调抗氧化酶系统以应对 ROS 的过量产生<sup>[15-16]</sup>。

紫菜生长在潮间带, 具有很强的耐高光能力, 是研究植物耐高光机理的理想材料。武焕阳等<sup>[17]</sup>研究发现, 高光条件下坛紫菜藻体发生了光抑制, 藻体的最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ ) 显著降低, 过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 和丙二醛 (MDA) 含量显著升高。高光条件处理下, 条斑紫菜 Chl.a 与藻胆蛋白 (PBP) 的含量均呈先增加后减少的趋势<sup>[18]</sup>, 说明高光胁迫显著影响了紫菜的色素组分。此外, 在坛紫菜应答高光胁迫的研究中发现, 当受到 ROS 损伤时, 藻体可以通过调节抗氧化酶系统以减轻氧化损伤<sup>[19]</sup>。由此可以看出, 目前关于紫菜响应高光胁迫的研究主要聚焦于藻体色素、光合参数、ROS 及抗氧化酶系统等生理生化指标的变化, 而紫菜响应高光胁迫的分子机制仍不清楚。

为此, 本研究拟选取 2 个耐高光能力存在显著差异的坛紫菜品系为研究对象, 结合转录组测序和生理生化指标测定, 探究坛紫菜应答高光胁迫的分子机制, 并分析 2 个坛紫菜品系应答高光胁迫的异同点, 为解析紫菜的耐高光机制提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

本实验材料取自福建省坛紫菜种质资源库: WO141-3(桔色)和 9-IV(绿色), 选择处于生长盛期(长度约 15 cm), 健康完整的坛紫菜藻体进行后续的实验处理, 培养条件: 光强为 50~60  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ , 光周期 12 L : 12 D, 培养温度 20~22  $^{\circ}\text{C}$ , 每 2 天更换 1 次培养液, 充气培养。

### 1.2 高光胁迫处理

藻体放置于 500 mL 锥形瓶中, 每瓶 3 株藻体, 用冷光 LED 灯进行高光胁迫处理, 光强为 1 000  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ , 以正常培养光强为对照, 处理

后的藻体用于后续各项实验指标的测定(以上所有处理均设置 3 个生物学重复)。

### 1.3 最大光化学效率与非光化学淬灭的测定

用 Diving-PAM(WALZ 公司, 德国)测定坛紫菜的  $F_v/F_m$  与 NPQ, 具体方法参照文献 [20-21]。

### 1.4 活性氧及抗氧化酶活性测定

实验测定了超氧化物歧化酶 (SOD)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、超氧阴离子 ( $O_2^-$ )、 $H_2O_2$ 、MDA 和过氧化物酶 (POD) 的含量。使用苏州科铭公司试剂盒测定, 方法参照试剂盒说明书。

### 1.5 Chl. a 与藻胆蛋白测定

Chl.a 的提取测定参照文献 [22] 测定。取 0.01 g 鲜重的藻体于 90%(V/V) 丙酮中充分研磨, 4  $^{\circ}\text{C}$  避光放置 24 h; 4  $^{\circ}\text{C}$  离心 20 min (10 000 r/min), 取上清液。测定上清液在 666 nm 和 730 nm 波长下的吸光值。

PBP 的测定参照文献 [23] 进行, 取 0.01 g 鲜重的藻体于 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH=6.8) 中充分研磨, 将研磨液放置于 -20  $^{\circ}\text{C}$  避光冷冻。待完全冷冻后, 室温避光解冻, 反复冻融 6 次以上, 以完全提取 PBP; 4  $^{\circ}\text{C}$  离心 20 min (10 000 r/min), 取上清液。测定上清液在 565、615、650 和 730 nm 波长下的吸光值。Chl.a 和 PBP 的含量参照文献 [24-25]。

### 1.6 RNA 的提取与转录组测序

采用 E.Z.N.Z 植物提取试剂盒 (OMEGA, 美国) 提取藻体 RNA, 由广州基迪奥生物测序公司检测样品质量, 并进行测序、数据拼接与分析。将组装所获得的 Unigene 序列通过序列比对软件 Blast+在 7 大数据库 (Nr、Swissport、KEGG、GO、COG、KOG、Pfam) 中进行序列比对, 进而得到该 Unigene 的功能注释信息。通过 GO 和 KEGG 数据对比进行代谢通路富集分析。

### 1.7 数据分析

以上实验均进行 3 次生物学重复, 运用 Excel 和 SPSS 22.0 软件对数据进行统计学分析, 使用 GraphPad Prism 8.0 软件进行作图。

## 2 结果

### 2.1 高光胁迫下坛紫菜 $F_v/F_m$ 和 NPQ 变化

随着高光胁迫处理时间的延长, 2 个品系藻

体的  $Fv/Fm$  都逐渐下降 (图 1-a)。在高光胁迫处理 1 h 后, WO141-3 品系的  $Fv/Fm$  显著高于 9-IV 品系; 高光胁迫 4 h 后, WO141-3 品系的  $Fv/Fm$  显著低于 9-IV 品系。因此, 挑选 1 h 和 4 h 作为高光胁迫处理时间点, 以正常培养光强为对照组。NPQ

测定结果显示, 高光处理 1 h 后 2 个品系的 NPQ 分别高于各自对照组, 但 WO141-3 品系的 NPQ 值高于 9-IV 品系 (图 1-b); 与 1 h 相反, 高光胁迫处理 4 h 后 2 个品系的 NPQ 值均低于各自对照组, 并且 WO141-3 品系的 NPQ 值低于 9-IV 品系 (图 1-b)。

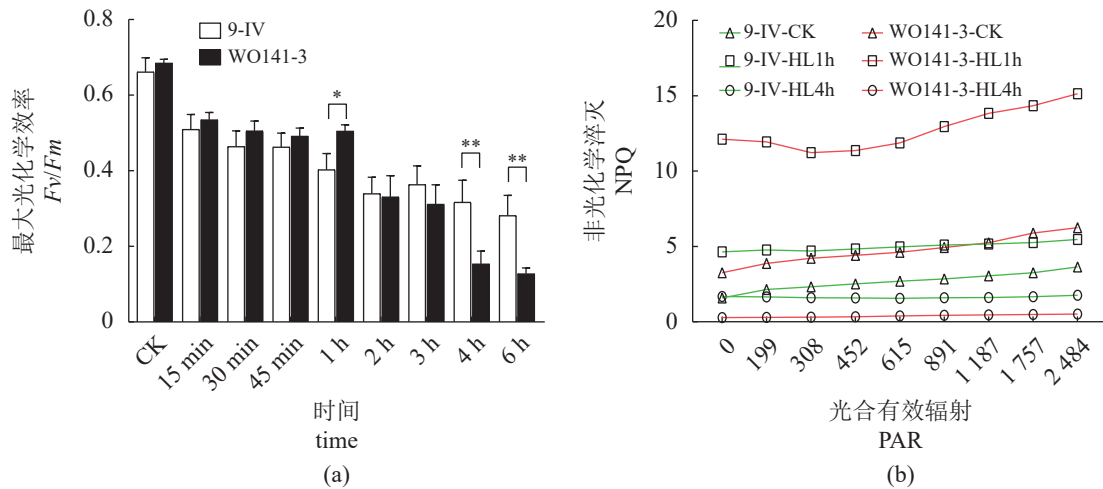


图 1 高光  $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  处理下两种坛紫菜的  $Fv/Fm$ (a) 和 NPQ(b)

\*. 差异显著,  $P < 0.05$ ; \*\*. 差异极显著,  $P < 0.01$ 。; CK. 对照组; HL1h. 高光胁迫处理 1 h; HL4h. 高光胁迫处理 4 h, 下同

Fig. 1  $Fv/Fm$  (a) and NPQ (b) of two kinds of *P. haitanensis* under high light  $1000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  treatment

\*. significant difference,  $P < 0.05$ ; \*\*. extremely significant difference,  $P < 0.01$ . CK. control group; HL1h. high light stress treatment for 1 h; HL4 h. high light stress treatment for 4 h, the same below

## 2.2 高光胁迫下 2 个不同品系坛紫菜抗氧化酶和 ROS 含量

9-IV 品系和 WO141-3 品系藻体的  $\text{O}_2$  含量和  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量在高光胁迫处理 1 h 后均无显著变化, 但 WO141-3 品系藻体的  $\text{O}_2$  含量和  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量在高光胁迫处理 4 h 后显著上升 (图 2-a~b)。9-IV 品系藻体 MDA 含量则在高光胁迫处理 1 h 后显著上升, 在高光胁迫处理 4 h 后显著下降, 而 WO141-3 品系藻体 MDA 含量在高光胁迫处理 4 h 后显著上升 (图 2-c)。9-IV 品系藻体的 SOD 含量和 APX 含量在高光处理后没有显著变化 (图 2-d~f), POD 含量在高光胁迫处理 1 h 后显著下降, 高光胁迫处理 4 h 后显著上升 (图 2-e)。WO141-3 的 SOD 含量在高光胁迫处理 1 h 时显著上升, 高光胁迫处理 4 h 时没有显著变化 (图 2-d), POD 含量在高光胁迫处理 4 h 后显著下降 (图 2-e), 而 APX 含量在高光胁迫处理下没有显著变化 (图 2-f)。在高光胁迫处理 1 h 时, WO141-3 品系藻体拥有更高的 SOD、POD 和 APX 活性; 而在高光胁迫处理 4 h 时, WO141-3 品系藻体中的 SOD 含量更高, 9-IV

品系藻体中的 POD 活性更高 (图 2-d~f)。

## 2.3 色素蛋白含量

9-IV 品系藻体的色素含量随高光胁迫时间的延长逐渐下降 (图 3-a~e)。WO141-3 品系的 Chl. a 含量在高光胁迫处理 1 h 后显著下降, 在高光胁迫处理 4 h 后相对稳定 (图 3-a), PBP、藻蓝蛋白 (PC) 和别藻蓝蛋白 (APC) 含量在高光胁迫处理后均没有显著变化 (图 3-b, d, e), 但其藻红蛋白 (PE) 含量在高光胁迫处理 1 h 后显著上升, 在高光胁迫处理 4 h 后有所下降。对比 2 个品系的色素含量发现, 在对照组以及高光胁迫下, WO141-3 品系的 PE 含量均显著高于 9-IV 品系, PC 含量和 Chl. a 均显著低于 9-IV 品系。除此之外, 对照组和高光胁迫处理 1 h 组 9-IV 的 Chl. a、PBP 和 APC 含量更高 (图 2-a, b, e)。

## 2.4 转录组数据主成分分析 (PCA) 和差异基因数目统计

利用高通量测序技术进行转录组测序, 去除低质量和接头序列后得到的高质量序列 (clean

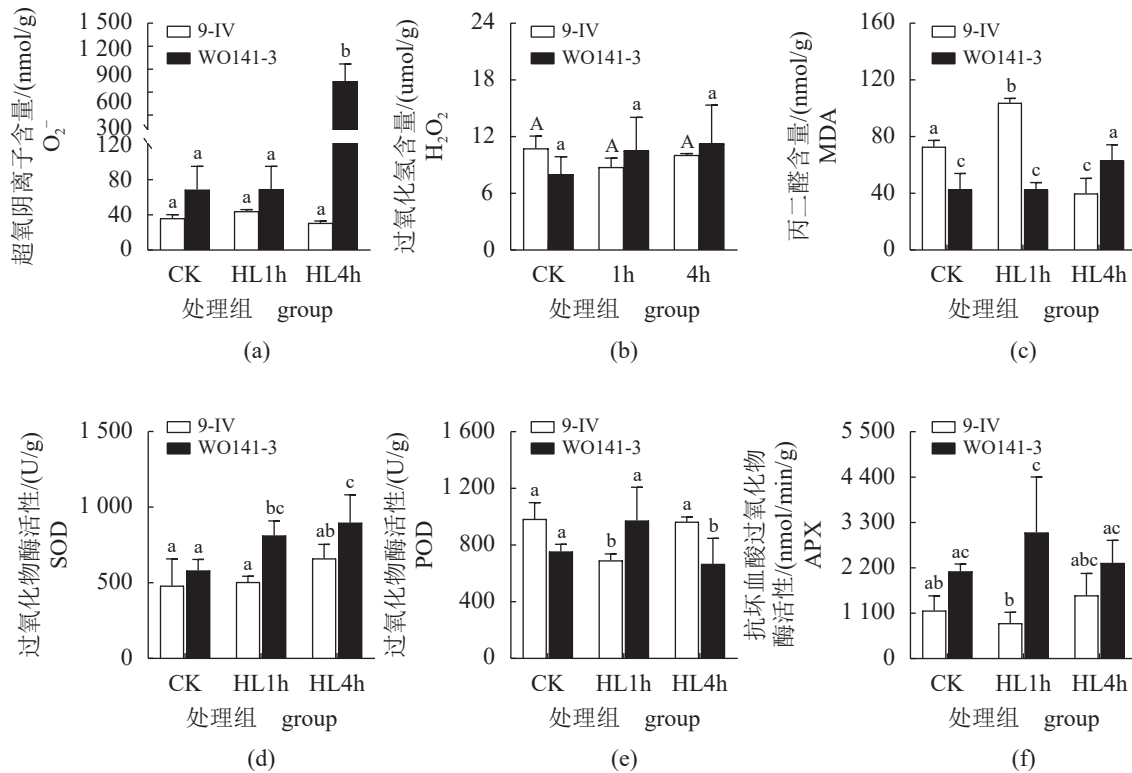


图 2 高光胁迫下两种坛紫菜活性氧及抗氧化酶含量

相同字母代表差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 不同字母代表差异显著 ( $P < 0.05$ )

Fig. 2 Content of active oxygen and antioxidant enzymes in two kinds of *N. haitanensis* under high light stress

The same letters represent no significant differences ( $P > 0.05$ ), Different letters represent significant differences ( $P < 0.05$ )

reads)、GC 含量等初始数据。利用 trinity 软件对 clean reads 从头组装后共获得 27 492 条 Unigenes (表 1)。主成分分析结果显示, 各处理组的 3 个重复样本主成分接近、变异度小、样本重复性高, 而不同处理组之间的离散程度区别明显 (图 4-a)。差异表达分析结果显示 (图 4-b), 与各自对照组相比, 高光胁迫处理 1 h 后 WO141-3 品系和 9-IV 品系中的上调基因分别有 1 750 条和 1 268 条, 下调基因分别有 2 683 条和 1 733 条。高光胁迫处理 4 h 后 WO141-3 品系和 9-IV 品系中的上调基因分别有 2 043 条和 2 093 条, 下调基因分别有 914 条和 1 433 条。

## 2.5 高光胁迫下 2 个坛紫菜品系的差异基因筛选

光系统相关基因 相较于对照组, 高光胁迫处理 1 h 后, WO141-3 品系的光系统相关差异基因中有 3 条基因上调, 4 条基因下调; 9-IV 品系中有 2 条基因上调, 7 条基因下调。而高光胁迫处理 4 h 后, WO141-3 品系的光系统相关差异基因中有 5 条基因上调, 14 条基因下调; 9-IV 品系

有 6 条基因上调, 11 条基因下调 (图 5)。

光合作用-天线蛋白相关基因 对于光合作用-天线蛋白通路, 相比于 CK 组, 在高光胁迫处理 1 h 后 WO141-3 品系中 1 条基因上调, 10 条基因下调; 9-IV 品系中 1 条基因上调, 12 条基因下调。而高光胁迫处理 4 h, WO141-3 品系和 9-IV 品系中分别存在 16 条和 21 条下调表达的基因 (图 5)。

## 3 讨论

### 3.1 高光胁迫下坛紫菜的非光化学淬灭 (NPQ) 机制

NPQ 是植物的一种能量耗散机制, 在植物的光保护方面起着至关重要的作用。当植物机体产能过剩时, NPQ 会耗散掉过多的能量, 减少机体损伤<sup>[26]</sup>。研究表明, NPQ 机制有利于甘薯适应高光条件<sup>[27]</sup>。而当植物长时间暴露在高光条件下, 由于光系统的损伤, NPQ 反而会下降<sup>[28]</sup>。吴雅娟等<sup>[29]</sup> 研究发现, 在油蒿 (*Artemisia ordosica*) NPQ 的日变化中, 上午 11 点 NPQ 达到最大值, 之后

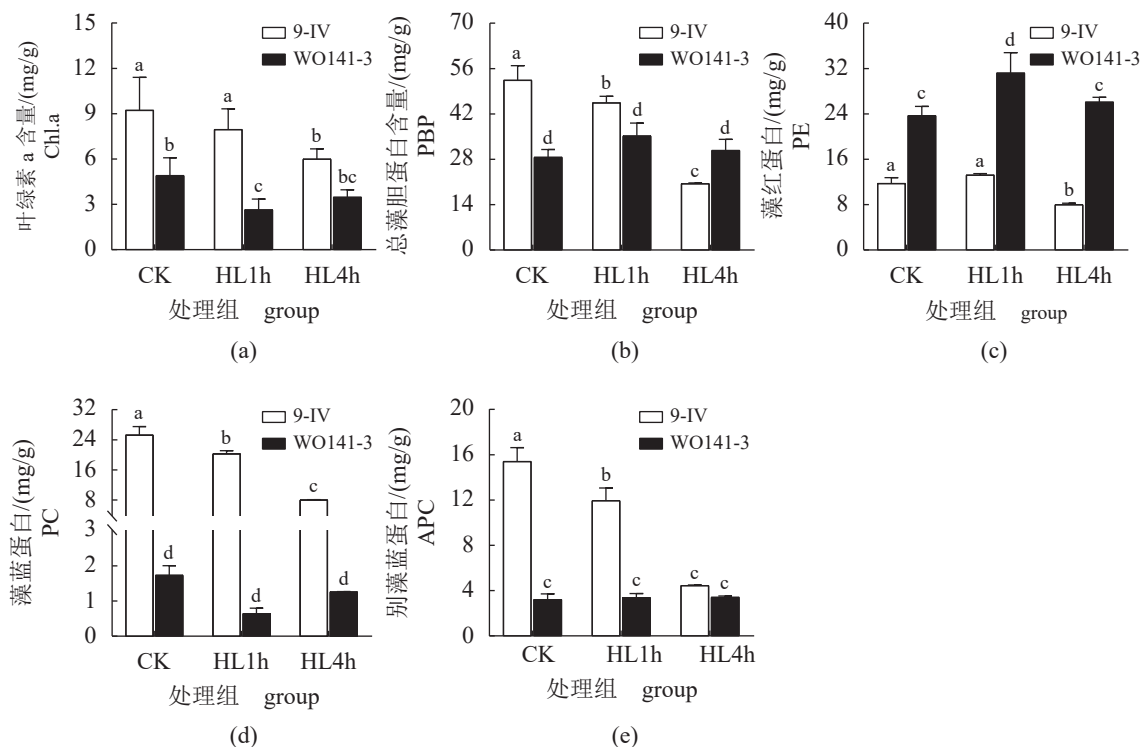


图3 高光胁迫下2个坛紫菜色素蛋白的含量

相同字母代表差异不显著 ( $P>0.05$ ), 不同字母代表差异显著 ( $P<0.05$ )

Fig. 3 The content of two kinds of *P.haitanensis* pigment protein under high light stress

The same letters represent no significant differences ( $P>0.05$ ), Different letters represent significant differences ( $P<0.05$ )

表1 两种品系坛紫菜高光  $1\ 000\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  处理下转录组测序数据

Tab. 1 Transcriptome sequencing data of two strains of *P.haitanensis* under high-light  $1\ 000\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  processing

内容 content	数量 amount
基因数目 genes Num	27 492
GC含量/% GC percentage	70.313 1
N50长度 N50 length/bp	1 386
平均长度/bp average length	863
总碱基数 total assembled bases	23 739 311

随着高光时间的延长 NPQ 逐渐下降。在本研究中, 高光胁迫处理 1 h 时, 2 个坛紫菜品系的 NPQ 都显著上调; 而在高光胁迫处理 4 h, 2 个坛紫菜品系的 NPQ 都显著下降 (图 1-b)。通过结合藻体的 *Fv/Fm* 变化 (图 1-a) 和光系统基因的差异表达结果 (图 5) 推测, NPQ 的下降可能是由于藻体光系统受损所导致。同样, 条斑紫菜孢子体的 NPQ 在高光胁迫处理前期显著增强, 一段时间后显著降低<sup>[12]</sup>。因此, NPQ 可能是坛紫菜适应高光胁迫的重要应答机制之一。

### 3.2 高光胁迫下坛紫菜的色素蛋白调节机制

叶绿素在光合作用中起着捕获、传递光能的作用<sup>[30]</sup>。藻类还含有特有的辅助捕光色素 PBP, PBP 能将捕获的光能传递给反应中心色素, 使得光合作用有效地进行<sup>[31]</sup>。Huang 等<sup>[32]</sup>研究发现, 高光胁迫会降低拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的叶绿素含量, 并且光合作用-捕光蛋白大部分基因都在高光胁迫处理后下调表达。聚球藻 (*Synechococcus*) 中光合作用-捕光蛋白的相关基因和蛋白的表达量均在高光条件下下降<sup>[33]</sup>。捕光色素含量的降低有利于淡水藻类海绵念珠藻 (*Nostoc spongiaeforme*) 和海洋藻类佛米草 (*Phormidium corium*) 减少对光能的吸收, 以增强对高光条件的适应能力<sup>[34]</sup>。本研究也发现, 坛紫菜藻体的叶绿素和 PBP 含量在高光胁迫处理后都显著下降 (图 3), 同时, 光合作用-捕光蛋白大部分基因显著下调表达 (图 5)。以上结果表明, 适当降低捕光蛋白含量可能是坛紫菜适应高光胁迫的另一个重要方式。

### 3.3 高光胁迫下坛紫菜的抗氧化机制

为了应对 ROS 带来的损伤, 需氧生物进化

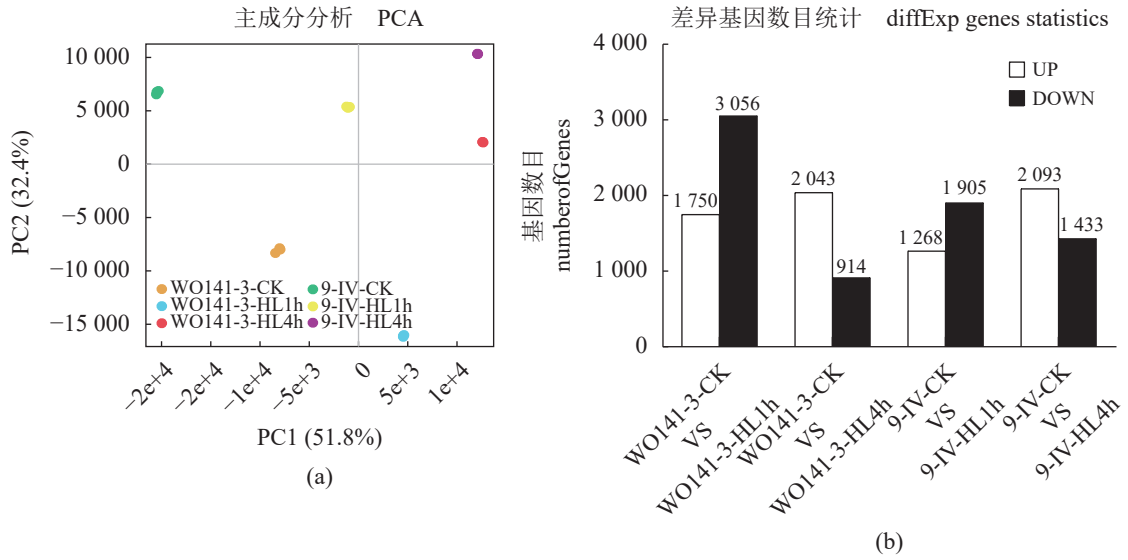


图 4 主成分分析与转录组差异基因统计

(a) 主成分分析; (b) 差异基因数目统计。UP. 上调表达基因, DOWN. 下调表达基因

Fig. 4 Principal component analysis and transcriptome differential gene statistics

(a) PCA, principal component analysis; (b) the number of differential genes. UP. up-regulated gene; DOWN. down-regulated gene

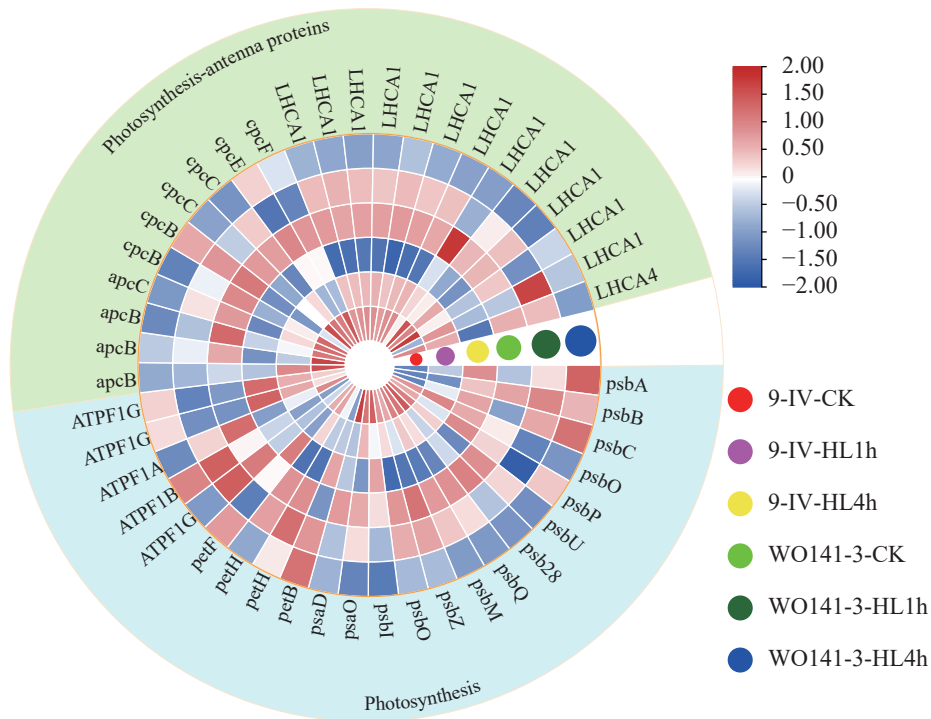


图 5 高光胁迫对 2 个品系坛紫菜光系统、光合作用-捕光蛋白的影响

以各个处理下的基因表达量作归一化热图, 以表达量差异两倍以上作为差异基因

Fig. 5 Effect of high light stress on the photosystem and photosynthesis-light harvesting protein of two strains of *P.haitanensis*

The gene expression level under each treatment was used as a normalized heat map, and the expression level difference was more than twice as the differential gene

出了一套高效的活性氧清除系统, 即抗氧化系统。在失水胁迫<sup>[35]</sup>、高光胁迫<sup>[36]</sup>、高温胁迫<sup>[37]</sup>等条件

处理下, 植物体都会产生过量活性氧, 同时体内的抗氧化酶系统也会积极响应以减少活性氧带来

的损伤。醛类是脂质过氧化产物的主要部分,并且具有化学毒性,MDA就是其中一种<sup>[38]</sup>。通过对 $O_2^-$ 、 $H_2O_2$ 和MDA的测定发现在高光胁迫处理1h后,9-IV品系受到较严重的脂质氧化损伤,而WO141-3品系在高光胁迫处理4h后受到脂质氧化损伤程度更为严重(图2-a~c)。此外,2个品系藻体的SOD、POD和APX等抗氧化酶在高光胁迫处理后均出现不同程度变化(图2-d~f)。SOD、POD和APX是植物在逆境条件下清除ROS的重要酶类<sup>[39-40]</sup>。有研究已证实,这3种抗氧化酶对于坛紫菜应答高温、失水等逆境胁迫中维持氧化还原平衡非常关键<sup>[41-43]</sup>。因此,SOD、POD和APX的启动有助于避免高光胁迫对坛紫菜藻体造成的氧化损伤。

### 3.4 2个坛紫菜品系应答高光胁迫能力差异的原因分析

结合藻体的Fv/Fm变化(图1-a)、 $O_2^-$ 、 $H_2O_2$ 和MDA的含量变化(图2-a~c)和光系统基因的差异表达(图5)可以看出,在高光胁迫处理1h时,WO141-3品系的氧化损伤和光系统损伤程度弱于9-IV品系;而在高光胁迫处理4h时,WO141-3品系的氧化损伤和光系统损伤程度较9-IV更严重。出现这种差异可能由以下原因造成:不同胁迫时间点藻体色素含量和相关基因表达量差异与其受损伤程度呈负相关,与NPQ能力和抗氧化酶含量呈正相关,而色素含量降低可以降低高光造成的损伤<sup>[34]</sup>,NPQ的高低代表胁迫下机体能量耗散能力的高低<sup>[27]</sup>,抗氧化酶活性高低代表维持氧化还原平衡能力的强弱<sup>[41]</sup>。因此,是否高效运行NPQ和抗氧化系统,以及及时调节捕光蛋白和色素含量可能是2个坛紫菜品系出现耐高光差异的主要原因。

## 4 总结

综上所述,高光胁迫下坛紫菜藻体中产生了过量的ROS,导致其光系统受损,光合能力下降。而藻体可以通过激活NPQ和抗氧化系统,降低光合作用-捕光蛋白和色素含量积极应答高光胁迫,并且这些方面的差异使得2个坛紫菜品系的耐高光能力有所差异。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

## 参考文献 (References):

- [1] Foyer C H, Noctor G. Leaves in the dark see the light[J]. *Science*, 1999, 284(5414): 599-601.
- [2] 许大全. 植物光胁迫研究中的几个问题[J]. *植物生理学通讯*, 2003, 39(5): 493-495.  
Xu D Q. Several problems in the research of plant light stress[J]. *Plant Physiology Communications*, 2003, 39(5): 493-495 (in Chinese).
- [3] Findinier J, Delevoeye C, Cohen M M. The dynamin-like protein fzl promotes thylakoid fusion and resistance to light stress in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *PLoS Genetics*, 2019, 15(3): e1008047.
- [4] Lichtenthaler H K, Kuhn G, Prenzel U, et al. Chlorophyll-protein levels and degree of thylakoid stacking in radish chloroplasts from high-light, low-light and bentazon-treated plants[J]. *Physiologia Plantarum*, 1982, 56(2): 183-188.
- [5] Lee H Y, Back K. Melatonin induction and its role in high light stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Journal of Pineal Research*, 2018, 65(3): e12504.
- [6] 刘聪,董腊媛,林建中,等. 逆境胁迫下植物体内活性氧代谢及调控机理研究进展[J]. *生命科学研究*, 2019, 23(3): 253-258.  
Liu C, Dong L A, Lin J Z, et al. Research advances on regulation mechanism of reactive oxygen species metabolism under stresses[J]. *Life Science Research*, 2019, 23(3): 253-258 (in Chinese).
- [7] Mallick N, Mohn F H. Reactive oxygen species: response of algal cells[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2000, 157(2): 183-193.
- [8] 张金玲. 臭柏对光胁迫的生理生态响应研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2021.  
Zhang J L. Study on physiological and ecological response to light stress in *Juniperus sabina* L. [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2021 (in Chinese).
- [9] Schubert N, García-Mendoza E, Pacheco-Ruiz I. Carotenoid composition of marine red algae[J]. *Journal of Phycology*, 2006, 42(6): 1208-1216.
- [10] Tikkanen M, Rantala S, Aro E M. Electron flow from PSII to PSI under high light is controlled by *PGR5* but not by *PSBS*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 521.
- [11] Jahns P, Latowski D, Strzalka K. Mechanism and regulation of the violaxanthin cycle: the role of antenna proteins and membrane lipids[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 2009, 1787(1): 3-14.

- [12] Xie X J, Lu X P, Wang L P, *et al.* High light intensity increases the concentrations of  $\beta$ -Carotene and Zeaxanthin in Marine Red Macroalgae[J]. *Algal Research*, 2020, 47: 101852.
- [13] Krause G H, Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1991, 42: 313-349.
- [14] 周娜娜, 冯素萍, 高新生, 等. 植物光合作用的光抑制研究进展[J]. *中国农学通报*, 2019, 35(15): 116-123.  
Zhou N N, Feng S P, Gao X S, *et al.* Photoinhibition of plants photosynthesis: research progress[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2019, 35(15): 116-123 (in Chinese).
- [15] Takahashi S, Badger M R. Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage[J]. *Trends in Plant Science*, 2011, 16(1): 53-60.
- [16] Li Z R, Wakao S, Fischer B B, *et al.* Sensing and responding to excess light[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2009, 60: 239-260.
- [17] 武焕阳. 大型海藻生长和光合功能对不同光环境条件的响应研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2016.  
Wu H Y. Study on the responses of the growth and photosynthetic functions of marine macroalgae to diverse light environments[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016 (in Chinese).
- [18] 陈昌生, 纪德华, 谢潮添, 等. 坛紫菜耐低盐品系的选育及经济性状的比较[J]. *集美大学学报 (自然科学版)*, 2009, 14(01): 1-7.  
Chen C S, Ji D H, Xie C T, *et al.* Breeding Selection and Comparison of the Economic Traits on the Low Salinity Resistant Strains of *Porphyra haitanensis*[J]. *Journal of Jimei University (Natural Science)*, 2009, 14(01): 1-7 (in Chinese).
- [19] 陈陆丹, 许凯, 徐燕, 等. 坛紫菜应答高光强胁迫的生理指标分析[J]. *应用海洋学学报*, 2016, 35(3): 399-404.  
Chen L D, Xu K, Xu Y, *et al.* Analysis of physiological indexes in blades of *Pyropia haitanensis* under high light stress[J]. *Journal of Applied Oceanography*, 2016, 35(3): 399-404 (in Chinese).
- [20] Ralph P J, Gademann R. Rapid light curves: a powerful tool to assess photosynthetic activity[J]. *Aquatic Botany*, 2005, 82(3): 222-237.
- [21] Schreiber U. Pulse-amplitude-modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: An overview[M]//Papageorgiou G C. Chlorophyll a Fluorescence: a signature of photosynthesis. Dordrecht: Springer, 2004: 279-319.
- [22] Jensen A. Chlorophylls and carotenoids[M]//Hellebust J, Craigie J S. Handbook of Phycological Methods: physiological and biochemical methods. Cambridge: Cambridge University Press, 1978.
- [23] Chen X, Wu M H, Yang Q, *et al.* Preparation, characterization of food grade phycobiliproteins from *Porphyra haitanensis* and the application in liposome-meat system[J]. *Lwt*, 2017, 77: 468-474.
- [24] 连跃斌, 许凯, 王文磊, 等. 坛紫菜色素突变体产生原因的初步研究[J]. *集美大学学报 (自然科学版)*, 2020, 25(3): 161-170.  
Lian Y B, Xu K, Wang W L, *et al.* Preliminary studies on the formation of pigment mutants of *Pyropia haitanensis*[J]. *Journal of Jimei University (Natural Science)*, 2020, 25(3): 161-170 (in Chinese).
- [25] 昌晶, 陈陆丹, 徐燕, 等. 高光胁迫下坛紫菜定量PCR内参基因的筛选[J]. *水产学报*, 2017, 41(7): 1064-1072.  
Chang J, Chen L D, Xu Y, *et al.* Selection of the internal control gene for expression analyses of *Pyropia haitanensis* under high light stress by quantitative real-time PCR[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(7): 1064-1072 (in Chinese).
- [26] Muller P, Li X P, Niyogi K K. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy[J]. *Plant Physiology*, 2001, 125(4): 1558-1566.
- [27] Lin H H, Lin K H, Jiang J Y, *et al.* Comparisons between yellow and green leaves of sweet potato cultivars in chlorophyll fluorescence during various temperature regimes under high light intensities[J]. *Scientia Horticulturae*, 2021, 288: 110335.
- [28] 韩旖旎. 两种沙生灌木适应波动环境的非光化学淬灭调节 [D]. 北京: 北京林业大学, 2016.  
Han Y N. Regulation of non-photochemical quenching in photosynthetic acclimation of two xerophytic shrubs to fluctuating environments[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2016 (in Chinese).
- [29] 吴雅娟, 查天山, 贾昕, 等. 油蒿(*Artemisia ordosica*)光化学量子效率和非光化学淬灭的动态及其影响因素[J]. *生态学杂志*, 2015, 34(2): 319-325.  
Wu Y J, Zha T S, Jia X, *et al.* Temporal variation and controlling factors of photochemical efficiency and non-photochemical quenching in *Artemisia ordosica*[J].



- Chinese Journal of Ecology, 2015, 34(2): 319-325 (in Chinese).
- [30] Katz J J, Norris J R, Shipman L L, *et al.* Chlorophyll function in the photosynthetic reaction center[J]. *Annual Review of Biophysics and Bioengineering*, 1978, 7: 393-434.
- [31] Apt K E, Collier J L, Grossman A R. Evolution of the phycobiliproteins[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1995, 248(1): 79-96.
- [32] Huang J Y, Zhao X B, Chory J. The *Arabidopsis* transcriptome responds specifically and dynamically to high light stress[J]. *Cell Reports*, 2019, 29(12): 4186-4199.E3.
- [33] Xiong Q, Feng J, Li S T, *et al.* Integrated transcriptomic and proteomic analysis of the global response of *Synechococcus* to high light stress\*[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2015, 14(4): 1038-1053.
- [34] Bhandari R, Sharma P K. High-light-induced changes on photosynthesis, pigments, sugars, lipids and antioxidant enzymes in freshwater (*Nostoc Spongiaeforme*) and marine (*Phormidium Corium*) cyanobacteria[J]. *Photochemistry and photobiology*, 2006, 82(3): 702-710.
- [35] Shi J Z, Chen Y T, Xu Y, *et al.* Differential proteomic analysis by iTRAQ reveals the mechanism of *Pyropia haitanensis* responding to high temperature stress[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 44734.
- [36] Roeber V M, Bajaj I, Rohde M, *et al.* Light acts as a stressor and influences abiotic and biotic stress responses in plants[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2021, 44(3): 645-664.
- [37] Zheng H Y, Wang W L, Xu K, *et al.* Ca<sup>2+</sup> Influences heat shock signal transduction in *Pyropia haitanensis*[J]. *Aquaculture*, 2020, 516: 734618.
- [38] Sunkar R, Bartels D, Kirch H H. Overexpression of a stress-inducible aldehyde dehydrogenase gene from *Arabidopsis thaliana* in transgenic plants improves stress tolerance[J]. *The Plant Journal*, 2003, 35(4): 452-464.
- [39] 尹永强, 胡建斌, 邓明军. 植物叶片抗氧化系统及其对逆境胁迫的响应研究进展[J]. *中国农学通报*, 2007, 23(1): 105-110.
- Yin Y Q, Hu J B, Deng M J. Latest development of antioxidant system and responses to stress in plant leaves[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007, 23(1): 105-110 (in Chinese).
- [40] 于飞. 低温胁迫下圆柏属植物抗氧化系统在叶片中的亚细胞定位研究[D]. 兰州: 兰州交通大学, 2013.
- Yu F. Research of subcellular localization of antioxidant system in the leaves of *Sabina* under low temperature stress[D]. Lanzhou: Lanzhou Jiaotong University, 2013 (in Chinese).
- [41] 杨华田, 熊玉琴, 杨锐. 高温下芽孢杆菌对坛紫菜生长及生理的影响[J]. *水产学报*, 2018, 42(7): 1009-1018.
- Yang H T, Xiong Y Q, Yang R. Effects of *Bacillus sp.* on *Pyropia haitanensis* at high temperature[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(7): 1009-1018 (in Chinese).
- [42] 周巍巍, 谢潮添, 陈昌生, 等. 低氮、磷胁迫对坛紫菜叶状体生理生化特征的影响[J]. *水产学报*, 2011, 35(4): 543-550.
- Zhou W W, Xie C T, Chen C S, *et al.* Effects on physiological and biochemical indexes of gametophytic blades of *Porphyra haitanensis* under low nitrogen and phosphorus stress[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(4): 543-550 (in Chinese).
- [43] 谢佳, 徐燕, 纪德华, 等. 坛紫菜叶状体对失水胁迫的抗氧化生理响应[J]. *中国水产科学*, 2014, 21(2): 405-412.
- Xie J, Xu Y, Ji D H, *et al.* Physiological response of the antioxidant system in *Pyropia haitanensis* to desiccation stress[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2014, 21(2): 405-412 (in Chinese).

## Molecular mechanism of *Pyropia haitanensis* in response to high light stress

ZHANG Bao<sup>1,2,3</sup>, XU Yan<sup>1,2,3</sup>, XU Kai<sup>1,2,3</sup>, JI Dehua<sup>1,2,3</sup>,  
CHEN Changsheng<sup>1,2,3</sup>, WANG Wenlei<sup>1,2,3\*</sup>, XIE Chaotian<sup>1,2,3\*</sup>

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Fujian Provincial Aquatic Biological Breeding and Health Breeding Engineering Research Center, Fujian Provincial  
Development and Reform Commission, Xiamen 361021, China;

3. Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** *Pyropia haitanensis* lives in the mid-high tide area, and will suffer from periodic strong light stress after the ebb tide. However, the thallus can quickly return to normal growth after high tide rehydration, which indicates *P. haitanensis* has a strong ability to resist high light. To explore the mechanism of high-light resistance, two new strains of *P. haitanensis* with significant differences in high light resistance were selected for the experiment (green strain: 9-IV; orange strain: WO141-3). The physiological indexes such as photosynthetic rate and antioxidant enzyme activity of the two strains under high light stress were measured, the differential transcriptional expression profiles of the two strains were constructed and the key pathways and genes regulating the high light resistance of *P. haitanensis* were obtained by combining with fluorescence quantitative analysis technology. Result showed that under high light stress, the content of MDA in the thallus of the two *P. haitanensis* strains increased significantly, the expression of some genes in the photosystem was appreciably decreased, and the photosynthetic capacity of the algae was decreased noticeably. Further analysis showed that the WO141-3 strain had stronger high light resistance after 1 h of high light treatment, while the 9-IV strain had stronger high light resistance after 4 h of treatment. The main reasons for this difference were: Under high light stress for 1 h, the WO141-3 strain had higher reactive oxygen species scavenging ability and stronger non-photochemical quenching ability, lower pigment content and light-harvesting protein gene expression. Under high light stress for 4 h, 9-IV strain had stronger ability of scavenging reactive oxygen species and stronger non photochemical quenching, lower pigment content and light harvesting protein gene expression. Studies have shown, *P. haitanensis* can respond to high light stress by activating non-photochemical quenching mechanism and antioxidant system, reducing pigment content and light harvesting protein gene expression, so as to avoid excessive light damage and oxidative damage. The results of this study laid a theoretical foundation for elucidating the mechanism of high light tolerance of *P. haitanensis*.

**Key words:** *Pyropia haitanensis*; high light stress; antioxidant systems non-photochemical quenching; light harvesting protein

**Corresponding authors:** WANG Wenlei. E-mail: wlwang@jmu.edu.cn;

XIE Chaotian. E-mail: ctxie@jmu.edu.cn

**Funding projects:** National Key Research and Development Projects (2018YFD0901500, 2018YFD0900106); National Natural Science Foundation of China (41806185); Major Science and Technology Project of Fujian Province (2019NZ0803); China Agriculture Research System (CARS-50)