

脱水对条斑紫菜叶状体 *psbA* 和 *psbD* 基因表达量的影响

杨 芳¹, 王广策², 张宝玉², 陈张帆², 潘光华¹

(1. 天津科技大学, 天津 300457; 2. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 从处于不同脱水复水阶段的条斑紫菜(*Porphyra yezoensis* Ueda)叶状体中提取总 RNA, 用荧光定量 PCR 技术检测条斑紫菜不同脱水和复水过程中 *psbA* 和 *psbD* 基因的转录水平上的相对表达量的变化。实验结果表明, *psbA* 和 *psbD* 基因转录水平上的相对表达量的变化趋势相似但变化幅度不一致。在相对含水量约为 71% 时两种基因转录水平上的相对表达量分别增加了 6.18 倍和 2.13 倍。说明在条斑紫菜叶状体脱水过程中两种基因的转录并非同比例完成; 在轻度脱水状态下 *psbA* 和 *psbD* 基因转录水平上的相对表达量的快速增大可能是藻体暴露在空气中时适应陆地环境的初始响应。

关键词: 条斑紫菜(*Porphyra yezoensis* Ueda); 脱水复水; *psbA*; *psbD*; 转录水平上的相对表达量

中图分类号: S917.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)04-0061-06

潮间带是指大潮高潮线与大潮低潮线之间的海岸带, 是由海洋向陆地过渡的中间地带。该地区在高潮时被海水淹没, 具有一定的海洋环境特性; 低潮时露出, 又具有一定的陆地环境特性, 因此潮间带是研究生物由海洋进化到陆地的关键区域。除了潮水涨落的变化外, 潮间带地区的盐度、光照、温度等其他环境因子水平的变化幅度也很大。在这种海陆交替的特殊地区生存着许多具有特殊生活习性的物种, 构成了独特的生态系统。这些生物不仅适应了潮涨潮落, 对周期性的脱水和复水具有很好的耐受力, 对环境因子水平的大尺度周期性变化 also 具有很强的适应性。

紫菜是重要的潮间带大型红藻。因含有较高含量的蛋白质、矿物质、碳水化合物和膳食纤维, 紫菜早已成为人类的食物^[1]; 紫菜养殖业在中国、日本、韩国等国家也已经成为大规模的大型海藻产业之一。条斑紫菜(*Porphyra yezoensis* Ueda)是紫菜属中的重要物种, 主要生长在太平洋西北部包括中国东部沿岸在内的大部分地区, 日本和韩国沿岸^[2]。研究表明条斑紫菜具有耐干出的特点, 暴露在空气中几天仍然能够在海水中完全恢复^[3]。利用条斑紫菜的耐干出特点, 将其在空气中人工干出已经成为条斑紫菜养殖和保种的重要应用技术之一。条斑紫菜的半浮筏式养殖法就是让附着在养殖网上的紫菜随潮汐涨落经历脱水(干出)复水过程。这种养殖方法很适合在潮汐落差较大的潮间带^[2]。海水养殖业的经验证明, 在空气中适当干出藻体可以增强藻体对病害的抵御

能力, 去除竞争性杂藻, 如硅藻, 从而提高紫菜的质量和产量^[2]。此外, 传统的保存条斑紫菜叶状体的方法是将紫菜放在阴凉处迅速晾干置于-20℃保存, 这种保存方法在发展中国家仍然很常用。如果将藻体脱水至含水量 20% 左右, 藻体可以保存将近 12 个月^[2]。由此可见, 条斑紫菜的养殖和保种都得益于其耐干出特性, 这使得研究脱水对条斑紫菜的影响意义重大。

光合作用受到多种环境因子的影响, 其中影响最大的因素就是水分^[4]。因此, 很多人研究了潮间带大型海藻在脱水过程中的光合活性的变化。研究发现一些潮间带大型海藻在适度脱水时光合速率会显著增强^[3, 5-8]; 而腹枝藻^[9], 坛紫菜^[10]和半叶紫菜^[4]在适度脱水过程中则没有光合速率增大的现象。但是, 这些研究多是停留在生理水平上, 很少有报道涉及大型海藻在脱水过程中的分子水平的变化机制。条斑紫菜作为光能自养型生物, 其光合作用对水分变化十分敏感, 但是其又具有脱水数小时后退水能快速恢复的特性, 并且这种特性被广泛应用于条斑紫菜的养殖和保种业中。因此, 在分子水平上研究条斑紫菜光合作用的相关蛋白对脱水复水的响应机制具

收稿日期: 2010-10-26; 修回日期: 2011-01-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(30830015, B49082401); 科技部“十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD09A04); 国家863计划项目(2006AA10A402, 2007AA09Z406, 2006AA10A413)

作者简介: 杨芳(1985-), 女, 硕士, 研究方向为藻类遗传与发育, 电话: 022-60601305, E-mail: yangfang051228@163.com; 王广策, 通信作者, 研究员, 博士, 电话: 0532-82898574, E-mail: gcwang@qdio.ac.cn

有十分重要的意义。

叶绿体是进行光合作用非常重要的细胞器。条斑紫菜的叶绿体为星状,很不规则,从进化的角度上说属于很低等的^[11]。在条斑紫菜叶绿体内的类囊体膜上镶嵌有光系统 I (PS_I) 和光系统 II (PS_{II}) 蛋白复合体。PS_I 的反应中心是反应中心蛋白结合 P680、去镁叶绿素等电子传递体的复合物,该复合物将电子由 PS_{II} 传递给 PS_I,从而完成光合作用重要步骤^[12]。PS_I 的 D1 和 D2 两个反应中心蛋白分别由叶绿体基因 *psbA* 和 *psbD* 编码。因此,研究藻类的 *psbA* 和 *psbD* 基因对研究其光合作用具有重要意义。对于条斑紫菜,陈张帆等人研究了其不同生长阶段——壳孢子、孢子体和叶状体, *psbA* 和 *psbD* 基因转录水平的不同,结果表明不同阶段的条斑紫菜 *psbA* 和 *psbD* 转录水平上的相对表达量不同,认为壳孢子发育成叶状体的过程需要光合作用提供能量^[13]。而有关条斑紫菜的 *psbA* 和 *psbD* 在脱水复水过程中表达量的变化尚未见报道。

本实验选取处于不同脱水和复水阶段的条斑紫菜叶状体为材料,对其 *psbA* 和 *psbD* 转录水平上的相对表达量进行研究,以探讨组装 PS_I 的中心蛋白(D1, D2 蛋白)的基因在条斑紫菜处于不同脱水复水阶段时的变化。

1 材料与方法

1.1 样品的采集及制备

条斑紫菜叶状体于 4 月份采于青岛第一海水浴场,用灭菌海水冲洗干净。吸干藻体表面可见水珠,称取适量藻体于密闭塑料袋中, -80℃ 冰箱保存,作为相对含水量为 100% 的实验材料。将剩余藻体进行阴干处理,让其于实验室条件下自然脱水 15 min、60 min 和 105 min, 分别于密闭塑料袋中 -80℃ 冰箱保存。剩余藻体进行复水 30 min 处理后于密闭塑料袋中 -80℃ 冰箱保存。

1.2 样品相对含水量的测定及定量 PCR 分析

1.2.1 条斑紫菜体叶状体相对含水量测定

相对含水量测定方法:吸干藻体表面可见水珠,用分析天平称初始质量。与 1.1.2 同种处理方法对藻体进行脱水处理,每 15 min 测定 1 次藻体质量。最后 1 次称质量后,将藻体置于 60℃ 烘箱中,烘干至恒质量(约 48 h),作为藻体干质量,并计算相对含水量(3 个平行样)。

相对含水率(R_{WC})计算公式:

$$R_{WC} (\%) = \frac{W_t - W_d}{W_0 - W_d} \times 100$$

其中, W_0 为初始质量(g), W_t 为特定时间藻体质量(g), W_d 为藻体干质量(60℃, 48 h)。

1.2.2 总 RNA 提取

将 100 mg 条斑紫菜叶状体样品分别于液氮中充分研磨至粉末状,转移到 1.5 mL 离心管中。加入 1 mL Trizol(Invitrogen)试剂混匀,室温放置 5 min。13 000 g, 4℃, 离心 10 min。取上清移至新离心管中。加入 200 μL 预冷的氯仿,振荡 15 s,室温下静置 2~3 min。13000 g, 4℃, 离心 15 min。取上清移至新离心管中。加入 500 μL 预冷的异丙醇,于 -20℃ 冰箱中静置 20~30 min。13 000 g, 4℃, 离心 10 min。弃上清,沉淀中加入 1 mL 预冷的 75% 乙醇洗涤沉淀。10 000 g, 4℃, 离心 5 min。弃上清,于超净工作台中风干 5 min。加入适量的 DEPC 水溶解 RNA,于 -80℃ 保存。琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 的质量。

1.2.3 总 RNA 中微量 DNA 的去除

提取的总 RNA 中加入 RQ1 Rnase-Free Dnase (Promega), 37℃, 30 min 消化 DNA。加入 4 μL Stop Solution, 65℃ 反应 10 min, 终止消化反应。

1.2.4 cDNA 合成

根据 M-MLV 逆转录酶(Promega)的说明书,在新的离心管中加入随机引物(100 μmol/L)2.7 μL, 消化好的 RNA 模板 10.65 μL。70℃, 变性 5 min。转移到冰上冷却 2 min。在离心管中加入: M-MLV 5× Reaction Buffer 5 μL, dNTP mix(10 mmol/L)5 μL, RNase Inhibitor 0.65 μL, M-MLV RT 1 μL。36℃, 反转录 60 min。稀释 1 000 倍作为荧光定量 PCR 的模板,于 -20℃ 保存待用。

1.2.5 荧光定量 PCR

荧光定量 PCR 所用引物及反应条件引用陈张帆的实验方法^[13], 引物由上海生工合成。每个样品均重复 3 管, 设空白对照。

1.2.6 数据分析

根据 CT 法^[14]分析数据。计算 *psbA* 和 *psbD* 的相对表达量的差异,采用 *t* 检验方法进行两两比较以判断有无显著差异。

2 结果

2.1 条斑紫菜叶状体相对含水量测定结果

在条斑紫菜干出过程中每隔 15 min 测定一次材

料的质量,计算出实验所用条斑紫菜叶状体的相对含水量,并拟合出相对含水量与材料脱水时间的关系曲线。根据所得数据可以确定条斑紫菜在未脱水,脱水 15 min、60 min 和 105 min 时藻体的相对含水量分别约为 100%、71%、34%和 21%。

2.2 样品总 RNA 的检测

获得的样品的总 RNA 在电泳图谱(图 1)中出现 28S, 18S rRNA 清晰的电泳带, 1, 2, 3, 4, 5 所对应的条带从下到上分别为 5S, 18S, 28S rRNA。本研究使用的总 RNA 含量较高, 纯度好且无降解。

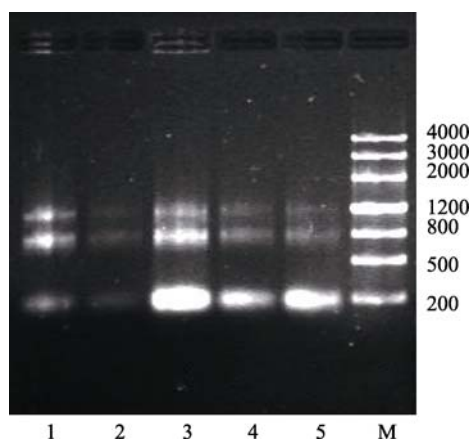


图 1 条斑紫菜总 RNA 琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of RNA extracted from *Porphyra yezoensis* with various relative water content (RWC) of rehydration

M, DNA Marker 3; 电泳条带 1、2、3、4、5 分别代表相对含水量为 100%、71%、34%、21%和复水 30 min 的样品。

M, DNA Marker 3; 1. sample with relative water content (RWC) 100%; 2. sample with RWC 71%; 3. sample with RWC 34%; 4. sample with RWC 21%; 5. samples after 30 min of rehydration

2.3 *psbA*、*psbD* 相对表达量的变化

如图 2 所示, *psbA*、*psbD* 基因在脱水过程中相对表达量呈先增大后减小的趋势, 并且 *psbA* 基因的相对表达量的变化幅度比 *psbD* 基因要大。在含水量约为 71%时两基因的相对表达量均达到最大, 此时, *psbA* 基因的相对表达量是正常状态(相对含水量 100%)下该基因的相对表达量的 7.18 倍($P < 0.01$); *psbD* 基因的相对表达量是正常状态下该基因的相对表达量的 3.13 倍($P < 0.01$); *psbA* 基因的相对表达量是 *psbD* 基因的相对表达量的 2.29 倍($P < 0.05$)。进一步脱水的过程中, 两个基因的相对表达量都降低, 当含水量达到 21%时两基因的相对表达量基本持平, 且都比正常状态下的相对表达量低($P < 0.01$)。复水

后, *psbA* 基因的相对表达量是正常状态下的 0.68 倍($P < 0.01$); *psbD* 基因的相对表达量是正常状态下的 0.30 倍($P < 0.01$); 此时, *psbA* 基因的相对表达量是 *psbD* 基因的相对表达量的 2.25 倍($P < 0.01$)。

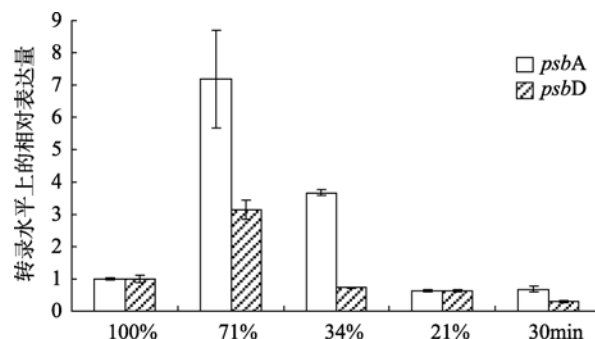


图 2 Real-time PCR 检测不同脱水复水阶段的条斑紫菜细胞中 *psbA*、*psbD* 基因的转录水平上相对表达量的变化

Fig. 2 Variations in *psbA* and *psbD* transcript levels using real-time PCR. Total RNA was isolated from samples with various relative water content (RWC) of rehydration

3 讨论

条斑紫菜叶状体中具有很高的多糖和蛋白含量, 这给提取纯度较高质量较好的 RNA 带来了困难。本研究通过 Trizol 法得到了条斑紫菜叶状体的总 RNA 中 18S 和 28S rRNA, 其电泳条带都较清晰且没有拖尾降解现象, 表明通过这种方法提取的 RNA 质量较好。荧光定量 PCR 技术是一种可以检测低丰度基因表达的技术。本实验中使用能非特异性地渗入 DNA 双链中发生荧光信号的 SYBR Green 染料, 因此在实验中要避免产生非特异性扩增与引物二聚体。所采用的三对特异性引物(*psbA*、*psbD* 和 18S rRNA 的引物)均使用陈张帆^[13]已被证实的引物。实验数据处理上采用了相对定量法, 有效降低了各种误差。

有关缺水对高等植物光合作用影响的研究已经比较深入。早期有研究表明, PS 对脱水甚至是轻微脱水都很敏感, 严重时会发生损伤^[15]。但也有研究指出, PS 甚至整个光合作用复合体可以积极抵御缺水胁迫^[16-17]。对于高等植物在水分胁迫下的 *psbA*、*psbD* 表达量的变化已有人研究。刘文娟等人对两种小麦品种绵农 4 号和 5 号的研究表明水分胁迫下, 两种小麦的 PS 主要基因(*psbA*、*psbD*)的转录水平下降^[18]; Yuan Shu 等^[19]对大麦的研究结果也表明水分胁迫下, 大麦的 PS 主要基因(*psbA*、*psbD*)的转录

水平会下降; He 等^[20]的研究结果表明, 小麦 (*Triticum aestivum* L. cv. Longchun No. 10) 的 *psbA*、*psbD* 在缺水情况下表达量降低是由于转录水平降低或者 mRNA 的稳定性降低; Collett 等^[21]发现 *Xerophyta humilis* 的 *psbR*, *ChlP*, *psbA* 和 *psbP* 基因在该植物脱水过程中分别呈现不同程度的转录水平上的表达量下降趋势; Zhang 等^[22]的研究结果则表明沙漠植物 *Ammopiptanthus mongolicus* 在缺水的情况下的 *cab* 基因会下调, 但是 *psbA* 基因则没有很大变化。对于高等植物缺水状态下的光合作用的分子变化机制的研究不仅局限于此, 但是有关潮间带大型海藻对脱水的研究却多在生理水平上, 几乎没有深入到分子水平的相关研究。

本实验用荧光定量 PCR 技术检测了条斑紫菜叶状体不同脱水复水阶段中的 *psbA* 基因(编码 D1)和 *psbD* 基因(编码 D2)在转录水平上的相对表达量的变化。选用脱水 15 min, 60 min, 105 min(即对应相对含水量为 71%, 34%, 21%)分别代表轻微脱水、中度脱水和严重脱水 3 个阶段。结果表明在轻微脱水状态下, *psbA*、*psbD* 相对于 18S rRNA (管家基因)的表达量呈现先增大后降低的趋势(图 2)。这个研究结果与高等植物在脱水过程中的相应研究结果相差甚远, 但是恰恰与之前本组实验人员通过调制叶绿素荧光仪研究的条斑紫菜在脱水过程中 PS 活性的变化趋势相一致: 即 PS 活性在藻体轻度脱水状态下反而比正常状态下的略有升高, 并且随着脱水程度的加剧, 其活性逐渐降低至接近于零(未发表资料)。根据这些实验结果推测: 由于条斑紫菜在轻度脱水时仅是藻体细胞表层水分蒸发, 使藻体细胞能够更好的接触到空气中较多的 CO₂, 导致藻体本身需要更多的化学能来固定碳, 因此形成反馈调节。为促使光反应增强, 编码 PS 的中心蛋白的 *psbA*、*psbD* 基因会表现出较高的转录水平以满足其需求, 从而导致了 PS 的活性出现暂时增强的现象。由此, 作者推断在轻度脱水状态下 *psbA* 和 *psbD* 基因转录水平上的相对表达量的快速增大可能是藻体暴露在空气中时适应陆地环境的初始响应。而随着脱水程度的加剧, 细胞本身水分挥发, 没有足够的水进行正常的生命活动, 光合作用的光化学反应也没有足够的水以备裂解。表现为 PS 的活性迅速降低, 藻体本身不再需要大量的 PS 中心蛋白。因此, *psbA*、*psbD* 基因会有较低的转录水平以减少物质消耗而处于光合作用减弱甚至是休眠状态。

然而, 在测定 PS 的中心蛋白 D1、D2 的 mRNA 分子表达水平的变化时发现, 虽然 *psbA*、*psbD* 的相对表达量都呈现相同的变化趋势, 但增大的幅度却相差很大(图 2)。Kapoor 等^[23]在水稻的生长发育过程中也发现, 虽然 *psbA* 和 *psbD* 基因的表达均增大, 但是它们的增大倍数不同。这与本研究的结果一致, 表明虽然 D1 蛋白和 D2 蛋白在 PS 反应中心复合物中以同比例装配, 但是 *psbA* 和 *psbD* 基因的 mRNA 水平上的表达量变化幅度并不同步。此外, 有关 D1 蛋白的研究表明, D1 蛋白暴露于强光下或处于强光与环境胁迫相偶联的环境时, 其降解速率就会超过合成速率^[24-25]。类囊体膜发生损伤时, D1 蛋白开始周转, 同时 PS 伴随着新合成的 D1 蛋白的合成重新组装。对蓝藻 *Synechocystis* sp. PCC6803 的研究表明, 对蛋白合成过程中的表达步骤的控制是在高光强下 PS 光抑制的主要原因^[26], 而 *psbA* 基因的 mRNA 的翻译是 D1 蛋白合成的关键调控步骤^[27-28], 这使得研究 *psbA* 基因 mRNA 的表达量具有更重要意义。条斑紫菜脱水过程中 *psbA* 基因转录水平上的相对表达量高于 *psbD* 基因, 可能是由于脱水过程导致 D1 蛋白快速周转, 因此需要大量的 *psbA* 基因的 mRNA 来支持 D1 蛋白的快速周转。同时说明, 对于不同的 *psbA* 和 *psbD* 基因的 mRNA 水平的相对表达量而言, 二者的有效翻译率或组装率必定不同。

另外, 有研究表明 D1 蛋白的合成还受 PS 中其他蛋白质协同表达的影响。在缺失 *psbD* 的 *Chlamydomonas reinhardtii* 中, 尽管 D1 蛋白的 mRNA 含量正常, 但由于 D2 蛋白不能被合成, 因此 D1 蛋白也不存在^[29]; 反之, 在 *psbA* 失活的 *Synechocystis* 6803 的突变体中, D1 蛋白不能形成, D2 蛋白也不积累^[30]。即真正组装的 PS 的中心蛋白的量是由相对含量较少的蛋白决定的。本实验中, 虽然在轻度(RWC 71%)和中度(RWC 34%)脱水状态下 *psbA* 基因的相对表达量是 *psbD* 基因的相对表达量的 2.29 倍($P < 0.05$)和 5 倍($P < 0.01$), 但 *psbD* 基因的相对表达量较低, 因此认为真正组装的 PS 的中心蛋白的量不是由 *psbA* 基因的 mRNA 决定, 而是由 *psbD* 基因的 mRNA 决定。有关引起 *psbA* 和 *psbD* 基因的表达量变化趋势不一致的原因还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Noda H. Health benefits and nutritional properties of

- noru [J]. J Appl Phycol, 1993, 5: 255-258.
- [2] 马家海, 蔡守清. 条斑紫菜的栽培与加工 [M]. 北京: 科学出版社, 1996: 1-120.
- [3] Lipkin Y, Beer S, Eshel A. The ability of *Porphyra linearis* (Rhodophyta) to tolerate prolonged periods of desiccation [J]. Bot mar, 1993, 36: 517-523.
- [4] Lin A P, Wang G C, Yang F, et al. Photosynthetic parameters of sexually different parts of *Porphyra katadai* var. *hemiphylla* (Bangiales, Rhodophyta) during dehydration and re-hydration [J]. Planta, 2009, 229: 803-810.
- [5] Quadir A, Harrison P J, Dewreede R E. The effects of emergence and submergence on the photosynthesis and respiration of marine macrophytes [J]. Phycologia, 1979, 18: 83-88.
- [6] Johnston A M, Raven J A. The analysis of photosynthesis in air and water of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. [J]. Oecologia, 1986, 69: 288-295.
- [7] Madsen T V, Maberly S C. A comparison of air and water as environments for photosynthesis by the intertidal alga *Fucus spiralis* (Phaeophyta) [J]. J Phycol, 1990, 26(1): 24-30.
- [8] Sampath-Wiley P, Neefus C D, Jahnke L S. Seasonal effects of sun exposure and emersion on intertidal macroalgae physiology: Fluctuations in antioxidant contents, photosynthetic pigments and photosynthetic efficiency in the red alga *Porphyra umbilicalis* Kützting (Rhodophyta, Bangiales) [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2008, 361(2): 83-91.
- [9] Hodgson L M. Photosynthesis of the red alga *Gastrolonium coulteri* (Rhodophyta) in response to changes in temperature, light intensity, and desiccation[J]. J Phycol, 1981, 17(1): 37-42.
- [10] Zou D H, Gao K S. Effects of desiccation and CO₂ concentrations on emersed photosynthesis in *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta), a species farmed in China[J]. Eur J Phycol, 2002, 37: 587-592.
- [11] 李映霞. 三种红藻光合作用色素系统的比较研究[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所博士论文, 2007: 1-110.
- [12] Buchanan B B. Biochemistry and Molecular Biology of Plants [M]. Beijing: Science Press, 2000: 586-601.
- [13] 陈张帆, 王广策. 条斑紫菜光系统 反应中心蛋白编码 *psbA* 和 *psbD* 的表达分析 [J]. 海洋科学, 2008, 32(7): 52-56.
- [14] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using Real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCT} method [J]. Methods, 2001, 25: 402-408.
- [15] Havaux M, Canani O, Malkin S. Photosynthetic responses to water stress in leaves expressed by photoacoustics and related methods. II. The effect of rapid drought on the electron transport and relative activities of the two photosystems [J]. Plant Physiol, 1986, 82: 834-839.
- [16] Cornic G. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture — not by affecting ATP synthesis [J]. Trends Plant Sci, 2000, 5: 187-188.
- [17] Havaux M. Stress tolerance of photosystem II in vivo: antagonistic effects of water, heat, and photoinhibition stresses [J]. Plant Physiol, 1992, 100: 424-432.
- [18] 刘文娟, 袁 澍, 张年辉, 等. 水分胁迫对不同小麦品种光系统 功能基因 *psbA*, *psbD* 及 *cab* 表达的影响 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(4): 714-718.
- [19] Yuan S, Liu W J, Zhang N H, et al. Effects of water stress on major photosystem II gene expression and protein metabolism in barley leaves [J]. Physiol Plantarum, 2005, 125(4): 464-473.
- [20] He J X, Wen J Q, Chong K, et al. Changes in transcript levels of chloroplast *psbA* and *psbD* genes during water stress in wheat leaves [J]. Physiol Plantarum, 2002, 102(1): 49-54.
- [21] Collett H, Butowt R, Smith J, et al. Photosynthetic genes are differentially transcribed during the dehydration-rehydration cycle in the resurrection plant, *Xerophyta humilis* [J]. J Exp Bot, 2003, 54(392): 2593-2595.
- [22] Zhang L X, Li W R, Bi Y R, et al. Water availability affects photosynthetic gene expression in the desert plant *Ammopiptanthus mongolicus* [J]. Israel J Plant Sci, 2002, 50: 243-250.
- [23] Kapoor S, Maheshwari S C, Tyagi A K. Developmental and light-dependent cues interact to establish steady-state levels of transcripts for photosynthesis-related genes(*psbA*, *psbD*, *psaA* and *rbcL*) in rice(*Oryza sativa* L.) [J]. Curr Genet, 1994, 25: 362-366.
- [24] Anderson J M, Park Y I, Chow W S. Photoinhibition and photoprotection of photosystem in nature [J]. Physiol Plant, 1997, 100: 214-223.
- [25] Niyogi K. Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches [J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1999, 50: 333-359.
- [26] Yokota A, Takahara K, Akashi K. Water stress. Madhava Rao K V, Raghavendra A S, Janardhan Reddy K (eds.). Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants[M], Springer Netherlands, 2006: 15-39.

- [27] Staub J M, Maliga P. Translation of *psbA* mRNA is regulated by light via the 5'-untranslated region in tobacco plastids [J]. *Plant J*, 1994, 6(4): 547-553.
- [28] Hirose T, Sugiura M. Cis-acting elements and trans-acting factors for accurate translation of chloroplast *psbA* mRNAs: development of an in vitro translation system from tobacco chloroplasts [J]. *EMBO J*, 1996, 15(7): 1687-1695.
- [29] Erickson J M, Rahire M, Malnoë P, et al. Lack of the D2 protein in a *Chlamydomonas reinhardtii* *psbD* mutant affects photosystem II stability and D1 expression [J]. *EMBO J*, 1986, 5(8): 1 745-1 754.
- [30] Nilsson F, Andersson B, Jansson C. Photosystem II characteristics of a constructed *Synechocystis* 6803 mutant lacking synthesis of the D1 polypeptide [J]. *Plant Mol Biol*, 1990, 14: 1 051-1 054.

Effect of dehydration on the expressions of *psbA* and *psbD* genes of *Porphyra yezoensis*

YANG Fang¹, WANG Guang-ce², ZHANG Bao-yu², CHEN Zhang-fan², PAN Guang-hua¹

(1. College of Marine Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China; 2. Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Received: Oct., 26, 2010

Key words: *Porphyra yezoensis*, dehydration and rehydration, *psbA*, *psbD*, the relative quantification of transcript level

Abstract: The transcription changes of *psbA* (encoding D1 protein) and *psbD* (encoding D2 protein) genes of *Porphyra yezoensis* during dehydration were determined with real-time PCR. The results showed that the relative quantification of transcript levels of *psbA* and *psbD* genes generally appeared to vary in a similar manner but their variation ranges differed to some extent. The moderate dehydration of about 71% R_{WC} (relative water content) increases the relative transcript levels for *psbA* and *psbD* by about 6.18 and 2.13-fold, respectively, suggesting that D1 protein and D2 protein might be differentially synthesized. The significant increases of the relative quantification of transcript levels may be the initial response of *P. yezoensis* to the air to adjust to the terrestrial environment.

(本文编辑: 梁德海)