



干旱胁迫下发菜光合作用相关基因差异表达分析

马晓蓉, 梁新华, 张 箐, 胡进红, 周思丽, 梁文裕*

(宁夏大学 生命科学学院, 银川 750021)

摘 要: 该研究以不同失水处理的发菜为研究材料, 以充分吸水状态的发菜为对照, 利用高通量测序技术和 qRT-PCR 技术检测了干旱胁迫下发菜光合作用相关基因差异表达规律, 并对光合色素和酶活在干旱胁迫下的变化进行了研究。结果表明: (1) 发菜在不同程度干旱胁迫下有 113 个光合作用相关基因差异表达, 其中失水 30%、75% 和 100% 的发菜分别有 44 个、74 个和 91 个光合作用相关基因差异表达。 (2) 随着干旱胁迫程度的加深藻胆素、叶绿素 a 和类胡萝卜素含量逐渐降低, Rubisco 活性随着干旱胁迫程度的增强先上升后下降, GAPDH 活性随着干旱胁迫的增强呈现下降的趋势。研究表明, 发菜通过光合作用相关基因的差异表达调控光合作用以适应干旱胁迫。该研究结果对进一步研究发菜干旱胁迫响应机制及其耐旱光合机理奠定了基础。

关键词: 发菜; 耐旱性; 光合作用; 差异基因

中图分类号: Q945.78; Q786 **文献标志码:** A

Analysis of Differentially Expressed Genes Related to Photosynthesis in *Nostoc flagelliforme* under Drought Stress

MA Xiaorong, LIANG Xinhua, ZHANG Zheng, HU Jinhong, ZHOU Sili, LIANG Wenyu*

(School of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: In this study, the colonies of *N. flagelliforme* with different water loss treatments were used as the research material, and fully water-absorbent state was used as a control. High-throughput sequencing and qRT-PCR techniques were used to detect the differential expression of photosynthesis-related genes under drought stress, and the changes of photosynthetic pigments were also detected. The results showed that: (1) 113 photosynthesis-related genes were differentially expressed under different degrees of drought stress, and 44, 74 and 91 photosynthesis-related genes were differentially expressed in 30%, 75% and 100% dehydrated colonies, respectively. (2) The contents of phycobilin, chlorophyll and carotenoid decreased gradually with the drought intensifies, the Rubisco activity increased at first and then decreased but the activity of GAPDH decreased with the increase of drought stress. The results showed that *N. flagelliforme* regulates photosynthetic activity through the differential expression of photosynthesis-related genes to adapt to drought stress. The research provides reference value for further research on the drought stress response mechanism of *N. flagelliforme* and lays a foundation for further understanding of the photosynthetic mechanism of *N. flagelliforme* drought tolerance.

Key words: *Nostoc flagelliforme*; drought tolerance; photosynthesis; differential genes

发菜 (*Nostoc flagelliforme*) 是一种分布在中国西北干旱半干旱荒漠草原地区的陆生固氮念珠

藻。发菜为适应干旱的生存环境, 进化出一系列独特的形态结构和生理代谢特性来适应干旱, 如细胞

收稿日期: 2021-04-27; 修改稿收到日期: 2021-06-19

基金项目: 国家自然科学基金 (31960060); 宁夏回族自治区科技创新团队建设项目 (NXKJT2019002)

作者简介: 马晓蓉 (1996—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向为植物资源保护与利用。E-mail: 1257346873@qq.com

* 通信作者: 梁文裕, 博士, 教授, 研究方向为植物资源及植物分子生物学。E-mail: liangwy2009@163.com

被主要成分为多糖的胶质鞘包裹,使发菜具有极强的吸收水分和保持水分的能力,在极端干旱环境下与其他旱生植物相比具有更强的适应能力,干旱胁迫下发菜生理活性降低甚至进入类似休眠状态以度过不良时期^[1]。已有研究表明,陆生念珠藻耐干旱的机理是其结构、生理及分子水平上协调作用的综合反映^[2]。

发菜光合生理研究表明,干旱胁迫下净光合速率先增加然后逐渐下降,且暗呼吸作用持续降低^[3]。干燥的发菜藻体在不断吸水的过程中,光合活性逐渐增强,光系统Ⅱ最大量子产率(F_v/F_m)增加^[4],呼吸作用保持相对稳定。随着发菜藻体水分含量不断减少,光合作用和呼吸作用依次减弱。当发菜藻体完全失水时,光合作用停止,呼吸作用极其微弱^[5]。另有研究认为,发菜失水后重新吸水时需要一定的光照和钾元素来恢复它的光合活性,附加 K^+ 可以使发菜的净光合作用得到显著增强,而其他因子(Fe^{3+} , Mg^{2+} , Na^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} , Cl^-)和微量元素影响较小^[6]。发菜蛋白质组学研究表明,参与光合作用的相关蛋白发生了差异表达^[7],且随着干旱胁迫时间的延长,大多数与光合作用相关蛋白显著上调表达^[8]。因此,干旱胁迫对发菜光合作用确实产生了明显的影响,而且光合作用相关蛋白质发生了明显的差异表达变化。

由于光合作用作为发菜生长发育的生理基础和能量代谢的起点,其相关基因差异表达及其调控的机制对深入理解其生长发育和抗逆机制至关重要,虽然目前对发菜响应干旱胁迫的光合生理及蛋白质表达规律有了初步的认识,然而发菜在干旱胁迫条件下光合机构及光合作用相关基因如何变化以适应干旱胁迫并不明确。因此,本研究采用高通量测序技术及生物信息学方法对发菜干旱胁迫下差异表达的光合作用相关基因进行筛选,采用 qRT-PCR 进一步分析关键基因差异表达规律,并对光合色素和相关酶活性进行检测,进而解析干旱条件下发菜光合相关基因差异表达规律,为深入认识发菜耐旱的光合分子机理奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

将采自宁夏贺兰山自然生长的发菜培植于培养床上,持续培养 10 d,测定光合速率及 Rubisco 活性,与野生状态发菜进行比较,确保发菜处于正常生长状态后对样品进行处理。发菜失水率 0% 的样品为对照组(A),经过失水处理 30 min、60 min 和 48

h 分别获得发菜失水率为 30% 的样品(B)、75% 的样品(C)和 100% 的样品(D)。每组处理重复 3 次。

1.2 方法

1.2.1 RNA 提取及 cDNA 测序文库构建 发菜 RNA 提取采用杨佳^[9]的方法。样品总 RNA 质量检测合格后,构建测序文库。将 RNA 样本充分混合,然后去除 rRNA 富集 mRNA。以 mRNA 为模板,合成第一条 cDNA 链,经过 dNTP 反转录合成第二条 cDNA 链,纯化双链 cDNA 以及做末端修复、加 polyA 并连接测序接头,然后进行片段大小选择,最后进行 PCR 扩增,建立样本转录组测序文库。

使用核酸蛋白定量仪(Qubit2.0)初步定量构建完成的文库,稀释文库至 $1 \text{ ng}/\mu\text{L}$,随后使用安捷伦 2100 生物分析仪(Agilent 2100)对文库的大小进行检测。采用 qRT-PCR 方法将插入片段符合预期的文库准确定量其有效浓度(文库有效浓度 $> 2 \text{ nmol}/\text{L}$),以确保文库质量达到送样要求。

1.2.2 Illumina HiSeq 测序及差异基因筛选 通过高通量 Illumina HiSeq PE150 测序平台对已构建好的文库进行测序获得原始数据。对原始数据进行去除带接头(adapter)的读段(reads)、去除 N(N 表示无法确定碱基信息)的比例大于 10% 的 reads 和去除低质量 reads(碱基质量值 $Phred \text{ score} \leq 5$ 的碱基数占整个读段长度的 50% 以上)的处理,获得测序后的过滤数据(clean reads)。然后以发菜基因组(<http://genome.kazusa.or.jp/cyanobase/Nostoc-flagelliforme> CCNUN1)作为参考基因组进行序列比对。以 $P < 0.05$ 为光合作用相关差异表达基因筛选标准。

1.2.3 光合作用相关基因的 qRT-PCR 分析 选择转录组测序中筛选的部分重要差异光合作用相关基因进行 qRT-PCR 验证。qRT-PCR 定量实验用(Vazyme)诺唯赞生物科技有限公司(中国,南京)试剂盒完成。荧光定量检测用 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒。根据 NCBI 上已发表的发菜基因组信息,用 Primer Premier 5.0 设计目的基因扩增引物(表 1),内参基因 16S rDNA 引物 16S-F 和 16S-R,用 Roche LightCycler480 型荧光定量 PCR 仪进行反应,PCR 扩增条件为 95°C 10 min; 95°C 30 s; 60°C 1 min; 共 41 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法^[10-11] 分析基因的相对表达量,每个反应 3 次重复。

1.2.4 光合色素含量检测 藻蓝素、异藻蓝素、藻红素和藻胆素含量测定参照张薇君等^[12]的方法。

藻蓝素(PC, $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) = $0.187OD_{620} - 0.089OD_{652}$

表 1 基因功能注释及引物序列

Table 1 Gene function annotation and primer sequences

基因名称 Gene name	功能注释 Functional annotation	引物名称 Primer name	引物序列 The sequence of primer(5'→3')
16SrDNA	内参基因 Reference gene	16S-F 16S-R	GGGCTACACACGTACTACAAT TTACTAGCGATTCCCTCCTTCAC
<i>Psb27</i>	光系统 II Psb27 蛋白 Photosystem II Psb27 protein	<i>Psb27</i> -F <i>Psb27</i> -R	CTGTTTCTGGTCTTGGCTCTT TTTCGGGTACTGCACGATTT
<i>PsaK</i>	光系统 I 亚基 X Photosystem I subunit X	<i>PsaK</i> -F <i>PsaK</i> -R	CCCAGGTCACTTTACCCAAA AGCGAATTGTCCGAGGAATAA
<i>gap2</i>	3-磷酸甘油醛脱氢酶 Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	<i>gap2</i> -F <i>gap2</i> -R	TCATCACGACTATGACCACAAC GCCAAACTTATCGTTCAACACC
<i>PsbL</i>	光系统 II PsbL 蛋白 Photosystem II PsbL protein	<i>PsbL</i> -F <i>PsbL</i> -R	AAACAGAATCCCCAGAACGA ATGGTAGAAAGATCGCCCAA
<i>PetE</i>	质体蓝素 Plastocyanin	<i>PetE</i> -F <i>PetE</i> -R	CAGCTAAGGACGGCACTTTA GGTTCGCAGTAGAAGGTGTAG
<i>PsbX</i>	光系统 II PsbX 蛋白 Photosystem II PsbX protein	<i>PsbX</i> -F <i>PsbX</i> -R	ATGACGCCTTCTTTAGCAAATT CGCTGAATTTTATCTTTTGGC
<i>PsaB</i>	光系统 I P700 叶绿素载脂蛋白 A ₂ Photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A ₂	<i>PsaB</i> -F <i>PsaB</i> -R	GAATGGCAACGTGAACAAGG TGGGATGCGGACGAACA
<i>CrtW</i>	β-胡萝卜素酮醇酶 Beta-carotene ketolase	<i>CrtW</i> -F <i>CrtW</i> -R	TTGGTGATGTTCTTCGTGGTAG CGTGAACCAATGGGAGGTAT
<i>CRTISO5</i>	类胡萝卜素异构酶 5 Carotenoid isomerase 5	<i>CRTISO5</i> -F <i>CRTISO5</i> -R	ACATTAGCACCACCAGGTAAG CTGTCCAACCAGTACCTCTTAAA
<i>ZDS</i>	ζ-胡萝卜素去饱和酶 Zeta-carotene desaturase	<i>ZDS</i> -F <i>ZDS</i> -R	GAAGTCAGAGGCACGAAAGT CACCTTGGGCACTACTATAACC
<i>PetJ</i>	细胞色素 c6 Cytochrome c6	<i>PetJ</i> -F <i>PetJ</i> -R	CATCAATCTTATTAGCAGCCCAG TTAGGACCAACGTGAGGATAGC
<i>PetH</i>	铁氧还蛋白-NADP ⁺ 还原酶 Ferredoxin-NADP ⁺ reductase	<i>PetH</i> -F <i>PetH</i> -R	TGCCGTTCTTGCTCTAATCCTG ACTTACCGTCCCAATGCTCC

异藻蓝素(APC,mg·mL⁻¹) = 0.196OD₆₅₂ - 0.041OD₆₂₀

藻红素(PE,mg·mL⁻¹) =0.104OD₅₆₂ -0.253PC -0.088APC

藻胆蛋白(w,%) = PC% + APC% + PE%

叶绿素 a、类胡萝卜素含量测定参照马增岭^[13]的方法。

叶绿素 a 含量:Ca (μg·mL⁻¹) = 16.29 × OD₆₆₅ - 8.54 × OD₆₅₂

类胡萝卜素含量:C (μg·mL⁻¹) = 7.6 × (OD₄₈₀ - 1.49 × OD₅₁₀)。

1.2.5 干旱胁迫下 Rubisco 和 GAPDH 活性测定

采用苏州科铭生物技术有限公司对 Rubisco 活性进行测定。在 340 nm 吸光度的变化可计算还原型辅酶 I 氧化速率,还原型辅酶 I 氧化速率可反映 Rubisco 的活性。25℃中 1 mg 蛋白 1 min 氧化 1 nmol NADH,按样本蛋白浓度计算 Rubisco 活性。

GAPDH 活性测定采用苏州科铭生物技术有限公司试剂盒。通过分光光度计测定 340 nm 处 NAD-

PH 减少量计算 GAPDH 活性,每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

1.3 数据处理

所得实验数据用 SPSS Statistics 26.0、Origin 和 Excel 进行方差分析检验结果的差异显著性并作图。

2 结果与分析

2.1 测序数据质量评价

样本测序数据中,每个样本的错误率≤0.03%,测序碱基质量值大于 20 的碱基占总体碱基的百分比在 97%以上、大于 30 的碱基在 93%以上。GC 含量占总碱基的 45%左右。测序数据具有较高的准确性。对发菜 4 个的不同样本进行相关性检测,样本间的相关系数均大于 0.88,表明测序数据可靠、样本间重复性良好且变异不大。

2.2 干旱胁迫下发菜光合作用相关基因的差异表达

对发菜干旱胁迫下所有差异表达基因通过 KEGG pathway 显著性富集进行分析,选择显著富集到光合作用途径的相关基因(P<0.05),包含 113

个差异基因(表 2)。以失水率 0%(A)为对照,失水率 30%(B)发菜光合作用的差异基因共有 44 个,失水率 75%(C)发菜光合作用的差异表达基因共有 74 个,失水率 100%(D)发菜光合作用差异表达基因共有 91 个。B、C 和 D 均有显著差异基因的个数为 31 个(图 1)。进一步分析表明,B 样上调基因为

8 个,占光合作用总差异基因 18.2%,下调基因为 36 个,占光合作用总差异基因 81.2%;C 样上调基因为 21 个,占光合作用总差异基因 28.4%,下调基因为 53 个,占光合作用总差异基因 71.6%;D 样上调基因为 46 个,占光合作用总差异基因 50.5%,下调基因为 45 个,占光合作用总差异基因 49.5%。

表 2 不同发菜样品参与光合作用相关的差异表达基因

Table 2 Differentially expressed photosynthesis-related genes from <i>N. flagelliforme</i> with different water loss						
基因 ID Gene ID	基因名称 Gene name	log ₂ (B/A)	log ₂ (C/A)	log ₂ (D/A)	上调/下调 Up/Down	基因注释 Gene description
COO91_03928	<i>CRTISO5</i>	1.886 1	2.916 4	3.004 3	↑	类胡萝卜素异构酶 5 Carotenoid isomerase 5
COO91_05771	<i>CrtW</i>	1.415 2	2.659 2	3.238 5	↑	β-胡萝卜素酮醇酶 Beta-carotene ketolase
COO91_00204	<i>CruP</i>	0.600 03	/	/	↑	番茄红素环化酶 lycopene cyclase
COO91_04679	<i>PDS</i>	/	/	0.475 76	↑	15-顺-八氢番茄红素去饱和 15-cis-phytoene desaturase
COO91_04720	<i>CrtH</i>	/	/	1.293 6	↑	番茄红素异构酶 Prolycopene isomerase
COO91_04602	<i>PsaB</i>	1.221 6	0.187 16	0.666 05	↑	光系统 I P700 叶绿素载脂蛋白 A ₂ Photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A ₂
COO91_03113	<i>PsaK</i>	/	0.502 92	0.779 74	↑	光系统 I 亚基 X Photosystem I subunit X
COO91_02476	<i>PsbA</i>	0.369 41	/	0.406 02	↑	光系统 II P680 反应中心 D ₁ 蛋白 Photosystem II P680 reaction center D ₁ protein
COO91_04701	<i>PetJ</i>	/	2.000 2	2.405 7	↑	细胞色素 c6 Cytochrome c6
COO91_06519	<i>PsbH</i>	/	0.350 23	0.702 35	↑	光系统 II PsbH 蛋白 Photosystem II PsbH protein
COO91_04702	<i>PetE</i>	/	0.325 49	0.555 26	↑	质体蓝素 Plastocyanin
COO91_02880	<i>PsbX</i>	/	0.306 99	1.033 1	↑	光系统 II PsbX 蛋白 Photosystem II PsbX protein
COO91_11277	<i>PsbT</i>	/	0.241 33	0.639 71	↑	光系统 II PsbT 蛋白 Photosystem II PsbT protein
COO91_07431	<i>Psb27</i>	/	0.209 37	0.221 89	↑	光系统 II Psb27 蛋白 Photosystem II Psb27 protein
COO91_04453	<i>PsaE</i>	/	/	0.266 65	↑	光系统 I 亚基 IV Photosystem I subunit IV
COO91_03029	<i>COX15</i>	/	/	0.749 87	↑	细胞色素 C 氧化酶装配蛋白亚基 15 Cytochrome c oxidase assembly protein subunit 15
COO91_06385	<i>PsbD</i>	/	/	0.623 89	↑	光系统 II P680 反应中心 D ₂ 蛋白 Photosystem II P680 reaction center D ₂ protein
COO91_04603	<i>PsaA</i>	/	/	0.594 88	↑	光系统 I P700 叶绿素载脂蛋白 A ₁ Photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A ₁
COO91_05897	<i>PetC</i>	/	/	0.587 7	↑	细胞色素 b6-f 复合铁硫亚基 Cytochrome b6-f complex iron-sul- fur subunit
COO91_05323	<i>PsbD</i>	/	/	0.530 67	↑	光系统 II P680 反应中心 D ₂ 蛋白 Photosystem II P680 reaction center D ₂ protein
COO91_06833	<i>PsaC</i>	/	/	0.513 32	↑	光系统 I 亚基 VII Photosystem I subunit VII
COO91_04549	<i>PsaL</i>	/	/	0.464 32	↑	光系统 I 子亚基 XI Photosystem I subunit XI
COO91_04447	<i>Psb28</i>	/	/	0.442 62	↑	光系统 II 13 kDa 蛋白 Photosystem II 13 kDa protein
COO91_05322	<i>PsbC</i>	/	/	0.507 36	↑	光系统 II CP43 叶绿素载脂蛋白 Photosystem II CP43 chloro- phyll apoprotein
COO91_03856	<i>PsbB</i>	/	/	0.488 53	↑	光系统 II CP47 叶绿素载脂蛋白 Photosystem II CP47 chloro- phyll apoprotein
COO91_05753	<i>PsbO</i>	/	/	0.321 75	↑	光系统 II 析氧增强蛋白 1 Photosystem II oxygen-evolving enhan- cer protein 1
COO91_05985	<i>rbcL</i>	/	0.639 86	1.215	↑	核糖二磷酸羧化酶大链 Ribulose-bisphosphate carboxylase large chain
COO91_05983	<i>rbcS</i>	/	0.740 47	1.390 3	↑	核糖二磷酸羧化酶小链 Ribulose-bisphosphate carboxylase small chain
COO91_04661	<i>PRK</i>	/	0.213 18	0.247 18	↑	磷酸核糖激酶 Phosphoribulokinase
COO91_05200	<i>xfp</i>	0.594 47	1.088 4	1.681 5	↑	果糖-6-磷酸酮醇酶 Fructose-6-phosphate ketolase
COO91_05909	<i>rpe</i>	/	/	0.584 41	↑	3-磷酸核糖异构酶 Ribulose-phosphate 3-epimerase

续表 2 Continued Table 2						
基因 ID Gene ID	基因名称 Gene name	log ₂ (B/A)	log ₂ (C/A)	log ₂ (D/A)	上调/下调 Up/Down	基因注释 Gene description
COO91_04287	<i>FBP</i>	/	/	0.327 99	↑	1,6-果糖二磷酸酶 Fructose-1,6-bisphosphatase I
COO91_06695	<i>E. 2. 2. 1. 1</i>	/	/	0.273 81	↑	转酮酶 transketolase
COO91_07008	<i>fbaB</i>	/	/	0.833 89	↑	果糖二磷酸醛缩酶 I 类 Fructose-bisphosphate aldolase class I
COO91_06769	<i>chlH</i>	0.903 6	0.551 99	1.107 5	↑	镁螯合酶亚基 H Magnesium chelatase subunit H
COO91_05967	<i>bchM</i>	/	0.428 47	0.404 21	↑	镁原卟啉 O-甲基转移酶 Magnesium-protoporphyrin O-methyl-transferase
COO91_03164	<i>hemH</i>	/	0.396 93	0.848 93	↑	铁螯合酶 Ferrochelatase
COO91_03539	<i>EARS</i>	/	0.328 81	0.407 92	↑	谷氨酰-tRNA 合成酶 Gglutamyl-tRNA synthetase
COO91_06186	<i>CobA</i>	/	/	0.645 22	↑	尿卟啉原Ⅲ甲基转移酶 Uroporphyrinogen Ⅲ methyltransferase
COO91_03826	<i>BLVRA</i>	/	/	0.515 07	↑	胆绿素还原酶 Biliverdin reductase
COO91_04291	<i>CobB</i>	/	/	0.510 62	↑	咕啉酸二酰胺合酶 Cobyrinic acid diamide synthase
COO91_05393	<i>CpeR</i>	/	0.401 11	0.566 95	↑	藻红蛋白相关的接头蛋白 Phycoerythrin-associated linker protein
COO91_01509	<i>cpcF</i>	/	/	0.409 85	↑	藻蓝蛋白裂解酶 β 亚基 Phycocyanobilin lyase β subunit
COO91_04612	<i>cpcG</i>	/	/	0.384 78	↑	藻胆体核心连接蛋白 Phycobilisome rod-core linker protein
COO91_02325	<i>apcD</i>	/	/	0.260 58	↑	藻蓝蛋白 B Phycocyanin-B
COO91_04615	<i>K22221</i>	1.979 1	2.088 5	2.354 3	↑	HEAT 重复 HEAT repeat
COO91_05392	<i>Cy</i>		0.589 01	0.520 48	↑	花青素 Calycin
COO91_04678	<i>CrtB</i>	-0.316 89	/	/	↓	八氢番茄红素合酶 Phytoene synthase
COO91_05714	<i>ZDS</i>	-0.510 04	-0.429 58	-0.532 97	↓	ζ-胡萝卜素去饱和酶 Zeta-carotene desaturase
COO91_08941	<i>PsbI</i>	-0.414 59	-0.401 37	-0.303 12	↓	光系统Ⅱ PsbI 蛋白 Photosystem Ⅱ PsbI protein
COO91_11275	<i>PetM</i>	-0.462 4	/	/	↓	细胞色素 b6-f 复合亚基 7 Cytochrome b6-f complex subunit 7
COO91_03763	<i>ATPF0A</i>	-0.483 5	-0.525 13	-0.711 71	↓	F 型 H ⁺ 转运 ATP 酶亚基 α F-type H ⁺ -transporting ATPase subunit α
COO91_03757	<i>ATPF1G</i>	-0.510 27	-0.379 37	-0.214 33	↓	F 型 H ⁺ 转运 ATPase 亚基 γ F-type H ⁺ -transporting ATPase subunit gamma
COO91_03762	<i>ATPF0C</i>	-0.527 97	-0.285 57	-0.665 76	↓	F 型 H ⁺ 转运 ATP 酶亚基 c F-type H ⁺ -transporting ATPase subunit c
COO91_03761	<i>ATPF0B</i>	-0.660 87	-0.380 62	-0.582 15	↓	F 型 H ⁺ 转运 ATP 酶亚基 b F-type H ⁺ -transporting ATPase subunit b
COO91_04988	<i>PetA</i>	-0.297 7	-0.184 98	/	↓	脱辅基细胞色素 f Apocytochrome f
COO91_06533	<i>ATPF1B</i>	-0.303 63	-0.179 33	/	↓	F 型 H ⁺ 转运 ATPase 亚基 β F-type H ⁺ -transporting ATPase subunit beta
COO91_03760	<i>ATPF0B</i>	-0.849 11	-0.635 35	-0.874 74	↓	F 型 H ⁺ 转运 ATPase 亚基 b F-type H ⁺ -transporting ATPase subunit b
COO91_03759	<i>ATPFA1</i>	-0.577 3	-0.414 29	-0.489 08	↓	F 型 H ⁺ 转运 ATP 酶亚基 δ F-type H ⁺ -transporting ATPase subunit delta
COO91_04552	<i>PsaF</i>	/	-0.216 93	-0.238 07	↓	光系统Ⅰ亚基Ⅲ Photosystem I subunit Ⅲ
COO91_04989	<i>PetC</i>	/	-0.225 28	/	↓	细胞色素 b6-f 复合铁硫亚基 Cytochrome b6-f complex iron-sul-fur subunit
COO91_05649	<i>PetB</i>	/	-0.225 67	/	↓	细胞色素 b6 cytochrome b6
COO91_04703	<i>psbV</i>	/	-0.278 79	/	↓	光系统Ⅱ细胞色素 c550 Photosystem Ⅱ cytochrome c550
COO91_04660	<i>petH</i>	/	-0.301 34	-0.345 17	↓	铁氧还蛋白-NADP ⁺ 还原酶 Ferredoxin-NADP ⁺ reductase
COO91_03598	<i>psbP</i>	/	-0.391 34	-0.604 04	↓	光系统Ⅱ析氧增强剂蛋白 2 Photosystem Ⅱ oxygen-evolving en-hancer protein 2
COO91_06438	<i>PsbU</i>	/	-0.538 82	/	↓	光系统Ⅱ PsbU 蛋白 Photosystem Ⅱ PsbU protein
COO91_03645	<i>PsbE</i>	/	-0.549 13	/	↓	光系统Ⅱ细胞色素 b559 亚基 α PhotosystemⅡ cytochrome b559 subunit alpha
COO91_03825	<i>PetF</i>	/	/	-0.229 1	↓	铁氧还蛋白 Ferredoxin
COO91_03740	<i>PsbL</i>	/	-1.115 8	-1.023 3	↓	光系统Ⅱ PsbL 蛋白 Photosystem Ⅱ PsbL protein
COO91_09004	<i>PsbY</i>	/	/	-0.575 62	↓	光系统Ⅱ PsbY 蛋白 Photosystem Ⅱ PsbY protein
COO91_10290	<i>CpeU</i>	/	/	-2.058 6	↓	胆素生物合成蛋白 Bilin biosynthesis protein
COO91_04568	<i>HemB</i>	-0.279 38	-0.213 18	-0.398 75	↓	胆色素原合酶 Porphobilinogen synthase
COO91_01779	<i>bchE</i>	-0.306 45	-0.380 71	-0.756 32	↓	原卟啉镁Ⅸ单甲酯环化酶 Magnesium-protoporphyrin Ⅸ mono-methyl ester
COO91_04621	<i>HemC</i>	-0.327 87	-0.416 06	-0.878 72	↓	羟甲基胆碱合酶 Bydroxymethylbilane synthase
COO91_05107	<i>HMOX</i>	-0.338	-0.193 85	-0.443 78	↓	血红素加氧酶 Heme oxygenase
COO91_04214	<i>HemL</i>	-0.341 05	-0.240 54	/	↓	谷氨酸-1-半醛-氨基变位酶 Glutamate-1-semialdehyde-amin-omutase

续表 2 Continued Table 2						
基因 ID Gene ID	基因名称 Gene name	log ₂ (B/A)	log ₂ (C/A)	log ₂ (D/A)	上调/下调 Up/Down	基因注释 Gene description
COO91_04475	<i>HemA</i>	−0.412 3	−0.893 71	−1.466 1	↓	谷氨酰-tRNA 还原酶 Glutamyl-tRNA reductase
COO91_04226	<i>cobA</i>	−0.472 72	−0.408 6	−0.909 74	↓	尿卟啉原Ⅲ甲基转移酶 Uroporphyrinogen Ⅲ methyltransferase
COO91_06715	<i>chlN</i>	−0.565 31	−0.284 31	/	↓	不依赖光的原叶绿素还原酶亚基 N Light-independent protochlorophyllide reductase subunit N
COO91_04100	<i>chlH</i>	−0.570 97	−0.497 1	−0.659 28	↓	镁螯合酶亚基 H Magnesium chelatase subunit H
COO91_06713	<i>chlL</i>	−0.604 79	/	/	↓	不依赖光的原叶绿素还原酶亚基 L Light-independent protochlorophyllide reductase subunit L
COO91_00302	<i>cobI</i>	−0.657 15	/	−0.607 25	↓	前咕啉-2-甲基转移酶 Precorrin-2 methyltransferase
COO91_03837	<i>chlP</i>	−0.308 74	−0.423 41	−0.917 62	↓	香叶基还原酶 Geranyl reductase
COO91_04273	<i>cobH</i>	/	−0.746 77	−0.966 51	↓	前咕啉-8 甲基化酶 Precorrin-8X methylmutase
COO91_00702	<i>cbiGH</i>	/	−0.622 34	/	↓	钴前原蛋白 5A 水解甲基转移酶 Cobalt-precorrin 5A hydrolase methyltransferase
COO91_07185	<i>cobL</i>	/	−0.888 57	−1.394 8	↓	前原蛋白-6Y C5, 15-甲基转移酶 Precorrin-6Y, C5, 15-methyl- transferase
COO91_02674	<i>CPOX</i>	/	−0.239 06	−0.249 87	↓	协同原卟啉原Ⅲ氧化酶 Coproporphyrinogen Ⅲ oxidase
COO91_03030	<i>cyoE</i>	/	−0.259 94	/	↓	原血红素Ⅸ法尼基转移酶 Protoheme Ⅸ farnesyltransferase
COO91_00565	<i>cobN</i>	/	−0.449 71	−0.399 71	↓	钴螯合酶 Cobaltochelatase
COO91_03568	<i>chlB</i>	/	/	−0.236 34	↓	不依赖光的原叶绿素还原酶亚基 B Light-independent protochlorophyllide reductase subunit B
COO91_06340	<i>hemE</i>	/	/	−0.312 88	↓	尿卟啉原脱羧酶 Uroporphyrinogen decarboxylase
COO91_06817	<i>cbiB</i>	/	/	−0.659 91	↓	腺苷辅酶磷酸合成酶 Adenosylcobinamide-phosphate synthase
COO91_03588	<i>cobH</i>	/	/	−0.982 11	↓	咕前原蛋白-8 甲基化酶 Precorrin-8X methylmutase
COO91_06930	<i>hemN</i>	/	/	−1.118 3	↓	不依赖氧的原卟啉Ⅲ氧化酶 Oxygen-independent coproporphyrinogen Ⅲ oxidase
COO91_00217	<i>gap2</i>	−0.277 9	−0.214 55	−0.490 78	↓	3-磷酸甘油醛脱氢酶 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
COO91_04476	<i>glpX</i>	−0.405 9	−0.212 52	−0.398 29	↓	果糖-1,6-双磷酸酶Ⅱ Fructose-1,6-bisphosphataseⅡ
COO91_06512	<i>TPI</i>	−0.498 84	−0.419 31	−0.787 67	↓	磷酸三糖异构酶 Triosephosphate isomerase
COO91_07090	<i>PGK</i>	/	−0.345 69	/	↓	磷酸甘油酸激酶 Phosphoglycerate kinase
COO91_03788	<i>rpiA</i>	/	−0.347 7	/	↓	5-磷酸核糖异构酶 A Ribose 5-phosphate isomerase A
COO91_02470	<i>ppc</i>	/	−0.268 15	/	↓	磷酸烯醇丙酮酸羧化酶 Phosphoenolpyruvate carboxylase
COO91_01238	<i>cpeS</i>	−0.677 78	−1.010 5	−2.066	↓	藻红蛋白相关的接头蛋白 Phycoerythrin-associated linker protein
COO91_01512	<i>cpcC</i>	−0.320 47	−0.446 58	−0.441 57	↓	藻蓝蛋白相关的杆状接头蛋白 Phycocyanin-associated rod linker protein
COO91_01236	<i>cpeD</i>	−0.714 19	−0.970 93	−2.017 1	↓	藻红蛋白相关的接头蛋白 Phycoerythrin-associated linker protein
COO91_01235	<i>cpeC</i>	−0.723 24	−0.942 94	−1.695	↓	藻红蛋白相关的接头蛋白 Phycoerythrin-associated linker protein
COO91_01515	<i>cpcB</i>	−0.240 7	−0.218 24	/	↓	藻蓝蛋白 β 链 Phycocyanin beta chain
COO91_01510	<i>cpcE</i>	/	−0.407 43	/	↓	藻蓝素裂解酶亚基 α Phycocyanobilin lyase subunit alpha
COO91_03782	<i>apcC</i>	/	−0.479 15	−0.721 78	↓	藻胆体核心接头蛋白 Phycobilisome core linker protein
COO91_01511	<i>cpcD</i>	/	−0.494 58	−0.551 66	↓	藻蓝蛋白相关的棒 Phycocyanin-associated rod
COO91_03779	<i>apcE</i>	/	−0.165 08	/	↓	藻胆体核心膜接头蛋白 Phycobilisome core-membrane linker protein
COO91_01514	<i>cpcA</i>	/	−0.260 67	/	↓	藻蓝蛋白 α 链 Phycocyanin alpha chain
COO91_01239	<i>cpeT</i>	/	/	−2.216 2	↓	CpeT 蛋白 CpeT protein
COO91_05322	<i>PsbC</i>	/	−0.197 09	/	↓	光系统Ⅱ CP43 叶绿素载脂蛋白 Photosystem Ⅱ CP43 chloro- phyll apoprotein
COO91_03164	<i>hemH</i>	−0.295 79	/	/	↓	铁螯合酶 Ferrochelatase
COO91_03539	<i>EARS</i>	−0.436 94	/	/	↓	谷氨酰-tRNA 合成酶 Glutamyl-tRNA synthetase
COO91_06695	<i>E. 2. 2. 1. 1</i>	−0.271 51	/	/	↓	转酮酶 Transketolase

注: log₂(B/A), B/A 表达量的比值; log₂(C/A), C/A 表达量的比值; log₂(D/A), D/A 表达量的比值。“/”表示无显著差异

Note: log₂(B/A), B/A expression ratio; log₂(C/A), C/A expression ratio; log₂(D/A), D/A expression ratio. “/” show no significant difference

2.3 干旱胁迫下发菜光合作用相关差异基因的 qRT-PCR 分析

对于干旱胁迫下发菜 12 个光合相关基因进行 qRT-PCR 分析。结果表明,随着干旱胁迫程度的加深,*Psb27*、*gap2*、*PsbL*、*PetE*、*PsbX*、*ZDS* 和 *PetJ* 先下降然后上升最后又下降,且都在失水率为 75% 时表达量最高。*PsaK*、*CrtW*、*CRTISO5*、*PetH* 和 *PsaB* 呈现出先上升后下降的趋势,且 *PsaK*、*CrtW*、*CRTISO5* 基因在失水率为 75% 时表达量最高,而 *PetH* 和 *PsaB* 基因在失水率为 30% 时表达量最高。实时荧光定量反应的结果与 RNA-seq 数据基本一致,从而证实了发菜干旱胁迫下这些基因的表达模式(图 2)。

2.4 干旱胁迫下发菜光合色素含量及相关酶活性分析

发菜藻蓝素、异藻蓝素、藻红素和藻胆素随着干

旱胁迫的加强,其含量呈显著降低的趋势。藻蓝素、异藻蓝素、藻红素和藻胆素含量在失水率为 0% 时与 30%、75% 和 100% 时呈现显著差异,但在失水率为 30%、75% 和 100% 时,相互之间没有显著性差异(图 3)。

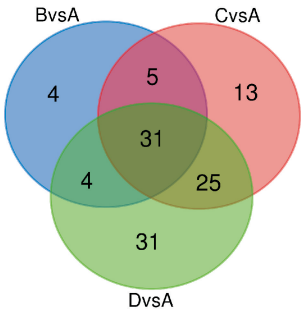
发菜叶绿素 a 和类胡萝卜素含量随干旱胁迫的增加呈显著下降趋势。失水率为 0% 时与 30%、75% 和 100% 时叶绿素 a 和类胡萝卜素含量呈现显著差异,但类胡萝卜素含量分别在失水率为 0% 和 30% 时及 30% 和 75% 时没有显著性差异(图 3)。

Rubisco 活性随着干旱胁迫的增加呈现先上升后下降的趋势(图 3),且失水率为 30% 的时候 Rubisco 活性达到最大值,但在失水率为 0%、75% 和 100% 时相互之间没有显著性差异。随着干旱胁迫的增加,GAPDH 的活性逐渐下降,失水率为 0% 时与 30%、75% 和 100% 时 GAPDH 的活性差异显著,但在失水率为 75% 和 100% 时没有显著性差异(图 3)。

3 讨 论

3.1 干旱胁迫对发菜光合色素及相关基因差异表达的影响

光合色素包括叶绿素、反应中心色素和辅助色素等,存在于类囊体膜上,主要参与光能吸收、传递,以及原初光化学反应等过程。与高等植物相比,蓝藻有其特殊的光捕获系统,主要由藻胆体(PBSs)组成,而藻胆体由藻胆蛋白和接头多肽组成。藻胆体主要分为藻蓝素(PC)、异藻蓝素(APC)和藻红素(PE)。PE 吸收的光能先迁移到 PC,然后转移到 APC,最后转移到叶绿素 a^[14]。本研究发现 12 个参与光合作用的捕光色素复合体基因显著下调表达,



A. 失水率为 0% 的样品;B. 失水率为 30% 的样品;C. 失水率为 75% 的样品;D. 失水率为 100% 的样品;vs. 比较;下同
图 1 干旱胁迫下发菜光合作用相关差异表达基因
A. Water loss 0%; B. Water loss 30%; C. Water loss 75%;
D. Water loss 100%; vs. Control; the same as below

Fig. 1 Differential expression genes related to photosynthesis of *N. flagelliforme* under drought stress

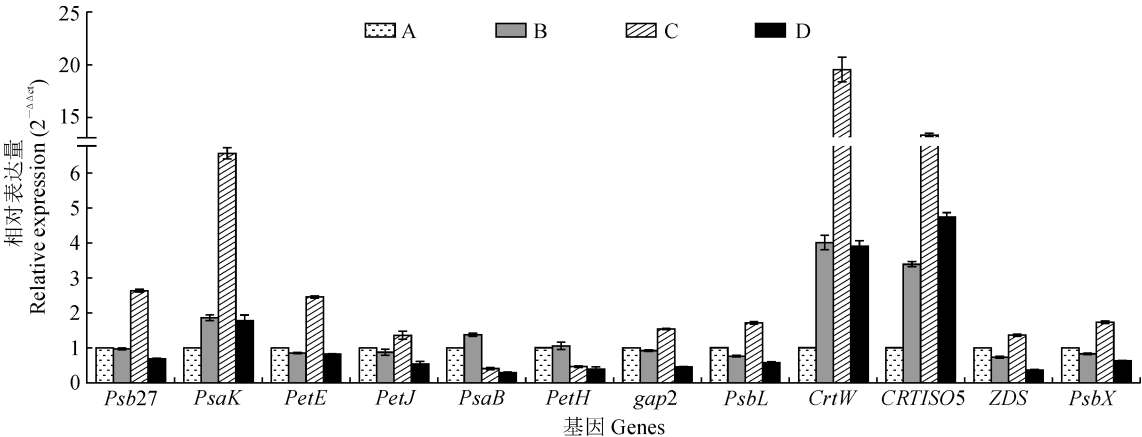
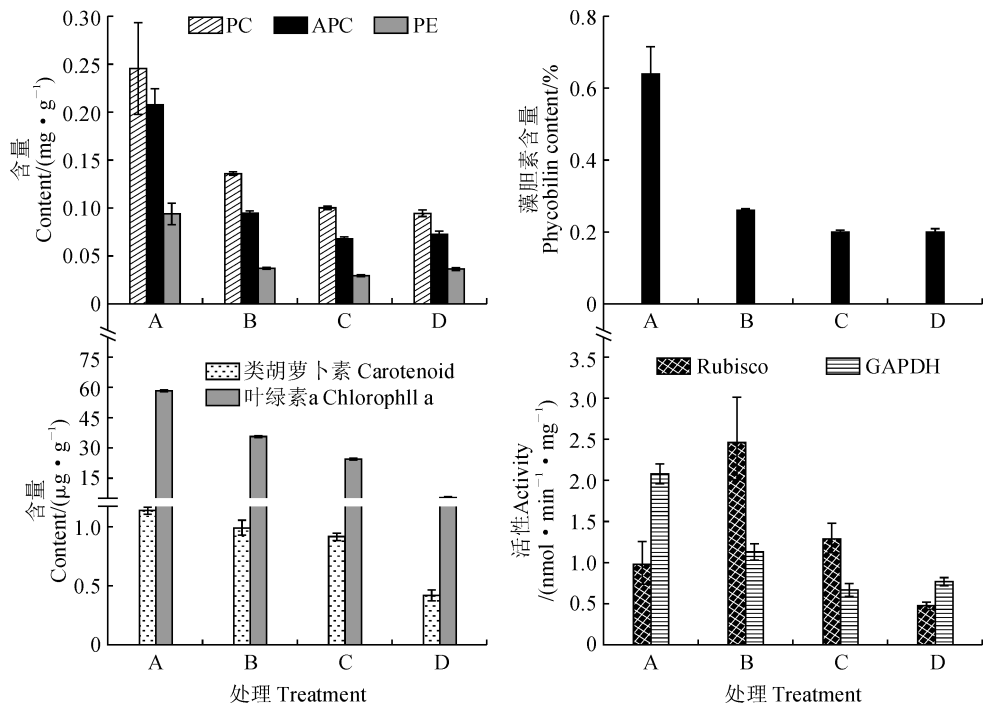


图 2 不同干旱胁迫下发菜光合相关基因的 qRT-PCR 分析

Fig. 2 Analysis of qRT-PCR data of photosynthesis-related genes from *N. flagelliforme* under drought stress



PC. 藻蓝素; APC. 异藻蓝素; PE. 藻红素

图3 干旱胁迫下发菜色素含量和酶活性检测

PC. Phycocyanin; APC. Allophycocyanin; PE. Phycocerythrin

Fig. 3 Detection of pigment contents and enzyme activities of *N. flagelliforme* under drought stress

而且随着干旱胁迫的持续增加,发菜藻蓝素、藻红素和异藻蓝素含量有所下降,即藻胆素含量总体下降,同时叶绿素 a 的含量明显降低。因此,推测干旱胁迫致使大部分发菜光合作用捕光色素复合体基因下调表达,光合色素蛋白减少,捕获光能的能力减弱,光合作用受到抑制,从而降低发菜在干旱胁迫条件下光合系统遭受破坏的风险,这也是发菜适应干旱胁迫的一种光保护调节机制。

类胡萝卜素具有捕获光能并将其传递给叶绿素的功能^[15]。由于干旱胁迫会导致水稻叶片中水分缺失,细胞膜被破坏或消失,类囊体膜出现解体,使得叶绿素和类胡萝卜素含量降低,进而影响光合作用的进行^[16],而本研究发现发菜叶绿素 a 和类胡萝卜素含量随干旱胁迫的增加呈显著下降趋势,暗示干旱胁迫会使发菜叶绿素 a 和类胡萝卜素合成相关蛋白(酶)的基因差异表达,进而导致其含量下降而影响光合作用。目前已经确认, *ZDS*、*crtW* 和 *CRTISO* 基因参与类胡萝卜素生物合成和分解代谢途径。*ZDS* 是类胡萝卜素生物合成途径上游控制 β-胡萝卜素生成的关键酶,它催化 9,9-双顺-β-胡萝卜素脱氢生成 7,9,7,9-四顺式-番茄红素^[17],该酶的活性和表达量的多少直接决定了 β-胡萝卜素的产量,是调控 β-胡萝卜素合成量的关键酶。*crtW* 基

因编码 *crtW* 型 β-胡萝卜素酮醇酶,β-类胡萝卜素经 β-胡萝卜素酮醇酶催化形成角黄素^[18]。*CRTISO* 是催化番茄红素由顺式结构转变为反式结构的关键异构酶^[19],*CRTISO* 的下调表达使果实中 β-胡萝卜素的含量提高^[20],而且 *CRTISO* 表达量的降低抑制了类胡萝卜素降解反应的进行,还可能会导致烟草中类胡萝卜素的积累^[21]。在本研究中,随着干旱胁迫的增加, *ZDS* 基因显著下调, *crtW* 和 *CRTISO*5 基因显著上调,说明这些基因抑制了干旱胁迫下发菜类胡萝卜素的增加,导致类胡萝卜素捕获光能并将其传递给叶绿素的功能减弱,进而影响光合速率。

3.2 干旱胁迫对发菜光反应与卡尔文循环相关基因差异表达的影响

PsaK 和 *PsaB* 是光系统 I 中重要的核心蛋白,且在 PS I 捕光复合物中起重要作用^[22-23]。*JIA* 等^[24]发现在盐碱胁迫下,海棠中 *PsaK* 等 6 种与光合作用相关的蛋白显著上调,且这些蛋白可以作为 PS I 修复系统的调节剂。而在镉胁迫下,由于烟草中 *PsaK* 和 *PsaB* 显著下调而使 PS I 系统受到严重的光抑制作用^[25]。*PetE* 和 *PetJ* 是光合作用中电子传递链重要的组成成分,有助于提高光反应的电子传递效率^[26]。有研究发现虽然 *PetE* 基因失活

没有影响藻细胞的生长速率,但影响了光合电子传递链的氧化还原状态^[27]。Psb27 蛋白是 PS II 重要的组装修复因子之一,它位于 PS II 核心复合体的囊腔侧,可使 Mn 与 PS II 放氧复合体 OEC 更容易结合^[28]。在低温、高光或干旱等胁迫条件下,对维持 PS II 的高效组装修复起着重要作用。本研究发现,干旱胁迫下发菜 *PsaK*、*PsaB*、*PetE*、*PetJ* 和 *Psb27* 均呈上调表达,表明干旱胁迫诱导了这些基因的表达,有利于稳定 PS II 和 PSI 的结构以免受到干旱胁迫的破坏,且修复受损的 PS I 和 PS II,稳定光合电子传递链的氧化还原状态,为发菜恢复吸水后快速进入光合作用奠定了结构基础。PsbL 参与了 PS II 中电子转移的调节,在 PS II 电子转移过程中具有重要作用^[29]。另外, *PetH* 是光合电子传递链上的催化酶,可以将电子从 PS I 传递到 NADP⁺,产生的 NADP 会参与到 CO₂ 的同化, *PetH* 酶活性的降低会影响 CO₂ 的同化过程,进而影响植物的光合反应^[30]。有研究发现高浓度锌胁迫下, *PetH* 基因显著上调,从而维持了正常的电子传递效率^[31]。但本研究发现随着干旱胁迫的增加, *PsbL* 和 *PetH* 却显著下调表达。由于发菜在持续失水状态下水分的亏缺会导致光合活性下降^[32],推测 *PetH* 和 *PsbL* 基因显著下调抑制了光合电子传递链的活性,导致光合活性维持在较低水平甚至光合作用停止,这与 QIU 等^[33]的结论一致。

参考文献:

[1] MAGER D M, THOMAS A D. Extracellular polysaccharides from cyanobacterial soil crusts: A review of their role in dryland soil processes[J]. *Journal of Arid Environments*, 2011, **75**(2): 91-97.

[2] 张爱红,邱保胜,刘志礼. 陆生念珠藻的耐干旱机制[J]. *西北植物学报*, 2003, (3): 516-521.

ZHANG A H, QIU B S, LIU Z L. Mechanism of desiccation tolerance in the terrestrial Nostoc[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2003, (3): 516-521.

[3] QIU B S, ZHANG A H, LIU Z L, *et al.* Studies on the photosynthesis of the terrestrial cyanobacterium *Nostoc flagelliforme* subjected to desiccation and subsequent rehydration[J]. *Phycologia*, 2004, **43**(5): 521-528.

[4] WANG B, LIN Y, ZHANG Y, *et al.* Investigation of the dynamical expression of *Nostoc flagelliforme* proteome in response to rehydration[J]. *Journal of Proteomics*, 2018, 192: S529147824.

[5] 毕永红,胡征宇. 水分对发状念珠藻生理活性的影响[J]. *武汉植物学研究*, 2003, (6): 503-507.

BI Y H, HU Z Y. Effect of Water on Physiological Activity of *Nos-*

干旱胁迫除了对发菜光反应过程有影响外,对其暗反应过程也产生了影响。Rubisco 作为卡尔文循环的关键酶之一,可催化卡尔文循环中 RUBP 与 CO₂ 形成两分子 3-磷酸甘油酸(3-PG)^[34]。在 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)的催化下三磷酸甘油酸被还原为了三磷酸甘油醛,它不仅是合成核酮糖-5-磷酸的底物,也是光合产物输出的一种途径, GAPDH 活性水平与卡尔文循环的运转速率有关^[35]。有研究表明,逆境胁迫引起的 Rubisco 活性下降,并降低核酮糖-1,5-二磷酸和 3-磷酸甘油的含量,从而抑制无机磷的再生,进而影响光合作用^[36]。此外, Sen 等^[37]发现随着干旱胁迫的增加,鱼腥藻 PCC 7120 的 Rubisco 酶活性下降,从而导致光合活性降低。本研究表明,随着干旱胁迫的增加, GAPDH 的活性呈现下降的趋势, Rubisco 活性升高后下降,表明随着干旱胁迫的增加,这两种酶活性的下降可能导致光合碳同化效率的降低,进而影响发菜的光合活性。

综上所述,干旱胁迫下发菜有 113 个光合作用相关基因发生了差异表达,干旱胁迫诱导部分光合作用相关基因上调表达,而另一些基因下调表达,共同调控发菜响应干旱胁迫,这可能是发菜应对干旱不利环境的一种光保护和光适应机制。研究结果为深入认识发菜耐旱的光合机理奠定了基础,为后续发菜抗性基因的挖掘、筛选以及研究发菜干旱胁迫响应机制提供了重要的参考价值。

toc flagelliforme [J]. *Plant Science Journal*, 2003, (6): 503-507.

[6] GAO K, QIU B, XIA J, *et al.* Light dependency of the photosynthetic recovery of *Nostoc flagelliforme* [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1998, **10**(1): 51-53.

[7] LIANG W, ZHOU Y, WANG L, *et al.* Ultrastructural, physiological and proteomic analysis of *Nostoc flagelliforme* in response to dehydration and rehydration [J]. *Journal of Proteomics*, 2012, **75**(18): 5 604-5 627.

[8] WANG L, LEI X, JIA Y, *et al.* Comparative transcriptome analysis reveals that photosynthesis contributes to drought tolerance of *Nostoc flagelliforme* (Nostocales, Cyanobacteria) [J]. *Phycologia*, 2018, **57**(1): 113-120.

[9] 杨 佳. 发菜响应干旱胁迫的差异基因及其代谢网络研究[D]. 银川:宁夏大学, 2015.

[10] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR [J]. *Methods*, 2002, **25**(4): 402-408.

[11] ADNAN M, MORTON G, HADI S. Analysis of *rpoS* and *bolA* gene expression under various stress-induced environments in planktonic and biofilm phase using 2^{ΔΔCT} method [J]. *Molecular & Cellular Biochemistry*, 2011, **357**(1-2): 275-282.

[12] 张薇君,郝纯彦. 出口螺旋藻粉中藻胆蛋白测定方法的研究

- [J]. 光谱仪器与分析, 1999, (3): 10-13.
- ZHANG W J, HAO C Y. Study on the determination of phycoobiliprotein in spirulina powder for export[J]. *Spectral Instrument and Analysis*, 1999, (3): 10-13.
- [13] 马增岭. 阳光辐射变化对经济蓝藻螺旋藻形态、光合作用及生长的影响[D]. 广东汕头: 汕头大学, 2008.
- [14] 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**(4): 803-810.
- [15] 韩嘉宁, 邵慧慧, 胡增辉, 等. 金鱼草 *AmPDS* 基因克隆及调节类胡萝卜素合成功能分析[J]. 西北植物学报, 2020, **40**(2): 193-201.
- HAN J N, SHAO H H, HU Z H, *et al.* Cloning of *AmPDS* gene in snapdragon and analysis of its function to regulate carotenoid synthesis[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2020, **40**(2): 193-201.
- [16] 杨 喆, 唐才宝, 钱婧雅, 等. 外源 6-BA 和 BR 对干旱胁迫下水稻分蘖期光合色素含量及抗氧化系统的影响[J]. 分子植物育种, 2020: 1-11.
- YANG Z, TANG C B, QIAN J Y, *et al.* Effects of exogenous 6-BA and BR on photosynthetic pigment content and antioxidant system of rice at the tillering stage under drought stress[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020: 1-11.
- [17] 赵文恩, 李艳杰, 崔艳红, 等. 类胡萝卜素生物合成途径及其控制与遗传操作[J]. 西北植物学报, 2004, (5): 930-942.
- ZHAO W E, LI Y J, CUI Y H, *et al.* Carotenoid biosynthetic pathway and its control, and aenetic manipulation[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2004, (5): 930-942.
- [18] STEIGER S, SANDMANN G. Cloning of two carotenoid ketolase genes from *Nostoc punctiforme* for the heterologous production of canthaxanthin and astaxanthin[J]. *Biotechnol Lett*, 2004, **26**(10): 813-817.
- [19] BREITENBACH J, SANDMANN G. zeta-Carotene cis isomers as products and substrates in the plant poly-cis carotenoid biosynthetic pathway to lycopene[J]. *Planta*, 2005, **220**(5): 785-793.
- [20] KATO M, IKOMA Y, *et al.* Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit[J]. *Plant Physiol*, 2004, **134**(2): 824-837.
- [21] 史艳梅, 王 燃, 杨 军, 等. 烟草类胡萝卜素异构酶基因的克隆及功能研究[J]. 中国烟草学报, 2014, **20**(6): 138-143.
- SHI Y M, WANG R, YANG J, *et al.* Cloning and functional analysis of *CRTISO* gene in *Nicotiana tabacum* [J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2014, **20**(6): 138-143.
- [22] YADAVALLI V, MALLEDA C, SUBRAMANYAM R. Protein-protein interactions by molecular modeling and biochemical characterization of PSI-LHCI supercomplexes from *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Mol Biosyst*, 2011, **7**(11): 3 143-3 151.
- [23] JENSEN P E, GILPIN M, *et al.* The PSI-K subunit of photosystem I is involved in the interaction between light-harvesting complex I and the photosystem I reaction center core[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, **275**(32): 24 701-24 708.
- [24] JIA X M, ZHU Y F, HU Y, *et al.* Integrated physiologic, proteomic, and metabolomic analyses of *Malus halliana* adaptation to saline-alkali stress[J]. *Horticult Ture Research*, 2019, **6**(1): 91.
- [25] ZHANG H, XU Z, GUO K, *et al.* Toxic effects of heavy metal Cd and Zn on chlorophyll, carotenoid metabolism and photosynthetic function in tobacco leaves revealed by physiological and proteomics analysis[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 202: 110 856.
- [26] 阿的鲁骥, 周 健, 李 洁, 等. 土荆芥化感胁迫下蚕豆叶绿体超微结构和光合关键基因表达的变化[J]. 西南农业学报, 2018, **31**(12): 2 527-2 532.
- ADE L J, ZHOU J, LI J, *et al.* Effect of allelochemical stress from *Chenopodium ambrosioides* L. on chloroplast ultrastructure and photosynthetic key gene expression in leaves of *Vicia faba* seedlings[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2018, **31**(12): 2 527-2 532.
- [27] 王小琴. 铁限制及 *petE* 基因失活对蓝藻光合生理的影响[D]. 武汉: 华中师范大学, 2014.
- [28] KAWAKAMI K, UMENA Y, KAMIYA N, *et al.* Structure of the catalytic, inorganic core of oxygen-evolving photosystem II at 1.9 Å resolution[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2011, **104**(1-2): 9-18.
- [29] OHAD I, BOSCO C D, HERRMANN R G, *et al.* Photosystem II proteins PsbL and PsbJ regulate electron flow to the plastoquinone pool. [J]. *Biochemistry*, 2004, **43**(8): 2 297-2 308.
- [30] DESIKAN R, A-H-MACKERNESS S, HANCOCK J T, *et al.* Regulation of the Arabidopsis transcriptome by oxidative stress[J]. *Plant Physiol*, 2001, **127**(1): 159-172.
- [31] SONG A, PING L, FAN F, *et al.* The effect of silicon on photosynthesis and expression of its relevant genes in rice (*Oryza sativa* L.) under high-zinc stress[J]. *Plos One*, 2014, **9**(11): e113782.
- [32] 梁文裕. 发菜(*Nostoc flagelliforme*)不同生长状态差异蛋白质组学研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2011.
- [33] QIU B, GAO K. Photosynthetic characteristics of the terrestrial blue-green alga, *Nostoc flagelliforme* [J]. *European Journal of Phycology*, 2001, **36**(2): 147-156.
- [34] 马 超, 张 均, 宋 鹏, 等. 外源海藻糖对 PEG 渗透胁迫下小麦 Rubisco 及其活化酶的影响[J]. 西北植物学报, 2019, **39**(7): 1 241-1 249.
- MA C, ZHANG J, SONG P, *et al.* Effect of exogenous trehalose on rubisco and its activase in wheat under PEG osmotic stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, **39**(7): 1 241-1 249.
- [35] 张爱军, 商振清, 董永华, 等. 6-BA 和 KT 对干旱条件下小麦旗叶甘油醛-3-磷酸脱氢酶及光合作用的影响[J]. 河北农业大学学报, 2000, (2): 37-41.
- ZHANG A J, SHANG Z Q, DONG Y H, *et al.* Effect of 6-BA and KT on glyceraldehy-3-phospate dehydrogenase activity and photosynthesis in wheat flag leaves under soil drought[J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2000, (2): 37-41.
- [36] DELFINE S, MARCO G D, LORETO F. Estimation of photorespiratory carbon dioxide recycling during photosynthesis[J]. *Functional Plant Biology*, 1999, **26**(8): 733-736.
- [37] SEN S, RAI S, YADAV S, *et al.* Dehydration and rehydration-induced temporal changes in cytosolic and membrane proteome of the nitrogen fixing cyanobacterium *Anabaena sp.* PCC 7120[J]. *Algal Research*, 2017, 27: 244-258.