

## 盐胁迫对莱茵衣藻光合活性及代谢产物的影响

高翔<sup>1,2</sup>, 周维成<sup>1,2</sup>, 张凤格<sup>1,2</sup>, 陈兰州<sup>3</sup>, 王高鸿<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>中国科学院水生生物研究所藻类生物学重点实验室, 武汉430072; <sup>2</sup>中国科学院大学, 北京100049; <sup>3</sup>武汉大学资源环境学院, 武汉430070

**摘要:** 利用单细胞真核模式生物衣藻作为材料, 研究盐胁迫对衣藻细胞生长、光合活性、色素及中性脂肪积累的影响。结果显示, 衣藻细胞生长随盐浓度升高受抑制程度不断增大。盐胁迫下的对数期细胞生长速率、细胞叶绿素a含量和细胞叶绿素b含量都随盐浓度升高而减小。细胞类胡萝卜素含量在低盐胁迫下基本不变, 但在中盐和高盐胁迫中则大幅增高。不同处理的藻细胞中性脂肪积累量都明显上升, 而中盐处理升高的最多。叶绿素荧光动力学参数测定表明盐胁迫抑制电子传递效率和PSII活性。

**关键词:** 莱茵衣藻; 盐胁迫; 色素含量; 光系统II; 中性脂肪

## Effect of Salt Stress on Photosynthetic Activity and Metabolites of *Chlamydomonas reinhardtii*

GAO Xiang<sup>1,2</sup>, ZHOU Wei-Cheng<sup>1,2</sup>, ZHANG Feng-Ge<sup>1,2</sup>, CHEN Lan-Zhou<sup>3</sup>, WANG Gao-Hong<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Algae Biology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; <sup>2</sup>University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; <sup>3</sup>College of Resource and Environment Sciences, Wuhan University, Wuhan 430070, China

**Abstract:** In this study model organism *Chlamydomonas reinhardtii* was used to investigate changes in growth, photosystem II (PSII) activity, pigments and neutral lipids accumulation under different levels of salinity. It was found that the inhibition of salinity on cell growth was depended on salinity levels. The growth rates and the content of chlorophyll a and b of algae cell decreased with the increasing of NaCl concentrations. However the contents of cell carotenoid varied differently as compared to chlorophyll a or b, which remained unchanged in the low salt treatment group but increased significantly in the moderate and high salt stress treatment groups. Additionally, neutral lipids content of cell were significantly increased under salt stress treatment, and which in moderate salinity were highest. Finally the chlorophyll a fluorescence parameters showed that the increased salinity inhibited the electron transduction chain and the activity of PSII.

**Key words:** *Chlamydomonas reinhardtii*; salt stress; pigments; PSII; neutral lipids

盐渍化土壤中的盐、碱是影响植物生长的重要环境因子, 高盐会抑制植物生长, 直接或间接影响其光合、呼吸及其它生命活动。土壤盐渍化严重影响我国的农业生产和生态环境, 是制约现代农业增产、增效和实现农业良性发展的两大土壤因素之一(Liang等2001)。

目前盐胁迫对光合植物生长发育造成影响主要有三种解释: 其一, 盐胁迫降低外界环境水势并打破细胞内环境中的离子平衡, 从而引起膜结构、细胞器的破坏(杨蕾等2012); 其二, 认为盐胁迫降低光合作用速率, 减小同化物与能量的供给, 从而限制植物的生长发育; 其三, 盐胁迫影响某些特定的酶或代谢过程(Munns 1993)。目前关于盐

胁迫对植物生长发育的影响机制尚不明确, 究其原因一方面植物的耐盐性是一个受多基因控制的综合数量性状, 涉及诸多抗盐基因选择性差异表达和多种耐盐生理生化的协调作用(罗秋香等2006), 另一方面, 主要是因为高等植物的结构、代谢和遗传等的复杂性给研究其在胁迫条件下的抗逆机理带来困难。

盐胁迫会对藻类的生命活动产生不同程度的

收稿 2015-07-30 修定 2015-10-04

资助 水体污染控制与治理科技重大专项(水专项)(2014ZX07302-003)。

\* 通讯作者(E-mail: space@ihb.ac.cn; Tel: 027-68780036)。

危害(Haghjou等2014),当前的研究主要集中在盐胁迫引起藻类细胞中活性氧族(ROS)和抗氧化系统等等的变化,以及这些变化对细胞DNA、蛋白质及脂质等的损伤及细胞的一系列适应机制上,如Lindermayr和Durner (2015)、Zuo等(2014)、徐臣善(2014)等人的研究,而关于盐胁迫对光合作用及代谢产物积累的研究较少。莱茵衣藻是一种单细胞真核绿藻,其细胞结构简单,遗传背景清晰,有与高等植物类似的代谢途径,长久以来一直是研究植物光合作用、叶绿体起源和代谢调控的模式生物,并且具有培养周期短、适应能力强、易于培养等优点。因此本研究采用莱茵衣藻作为材料,研究盐胁迫对其生长、光合作用及代谢产物积累的影响,试图为揭示盐胁迫条件下的植物应激机制和耐盐机理奠定一些基础。

## 材料与方法

### 1 实验材料

实验用莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii* Dang.) cw15株,购自美国杜克大学衣藻遗传中心(Chlamydomonas Genetic Center, Duke University, USA)。采用TAP (Tris/Acetate/Phosphate)培养基,在25 °C、光照强度100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、转速130  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床上培养。

### 2 实验方法

#### 2.1 NaCl梯度设置

取培养藻液,195×g离心10 min,使用TAP培养基将沉淀重悬至OD<sub>750</sub>值为0.2,分别设置0(空白对照)、75(低)、150(中)和225(高)  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  4个NaCl浓度梯度。每个梯度设3次重复,每个100 mL。

#### 2.2 衣藻生长测定

采用浊度法,无菌条件下取藻液,使用紫外可见分光光度计(普析,北京)测量藻液OD<sub>750</sub>值。

#### 2.3 衣藻细胞色素含量测定

用分光光度计法测定衣藻叶绿素a、b及类胡萝卜素的含量。室温下取2 mL藻液,4 °C,737.5×g下离心1 min,弃上清后加入等体积(2 mL) 95%的乙醇,避光置于4 °C冰箱抽提24 h。使用紫外可见分光光度计测量抽提液在665、649和470 nm处的OD值。叶绿素a含量(Chla)、叶绿素b含量(Chlb)、类胡萝卜素含量计算公式如下(Sartory和Grobbelaar 1984):

$$\text{Chla}=13.7\times\text{OD}_{665}-5.76\times\text{OD}_{649}$$

$$\text{Chlb}=24.96\times\text{OD}_{649}-7.32\times\text{OD}_{665} \text{ (李合生2000)}$$

$$\text{类胡萝卜素含量}=(1\ 000\times\text{OD}_{470}-2.05\times\text{Chla})/245$$

### 2.4 中性脂肪含量测定与观察

取藻液离心,使用各自盐胁迫培养基重悬至OD<sub>750</sub>=0.3。按以下体系配置200  $\mu\text{L}$ 尼罗红(Nile Red)孵化液:藻液149  $\mu\text{L}$ , 0.1  $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 尼罗红染料1  $\mu\text{L}$ , 二甲基亚砜50  $\mu\text{L}$ 。上述孵化液涡旋混匀后,在40 °C恒温箱中孵化10 min,多功能酶标仪(Spectra Max M5Molecular Devices美国)中设置激发光波长530 nm、发射光波长575 nm进行测量(Chen等2009)。

第6天采用上述相同的方法对各样品进行染色孵化,取样制片,荧光显微镜下观察并拍照。实验中利用衣藻细胞在缺氮条件下会大量积累中性脂肪,设置缺氮胁迫实验组作为阳性对照,阳性对照中性脂肪含量测定和染色观察方法同上所述。

### 2.5 叶绿素荧光动力学参数的测定

取10 mL藻液,195×g离心5 min收集后,使用各自盐胁迫培养基进行重悬,并调节各自OD<sub>750</sub>值为1。取200  $\mu\text{L}$ 各重悬后藻液均匀涂布于对应NaCl浓度的TAP琼脂固体平板上(1.3%的琼脂粉),重新进行4 h光照恢复培养。4 h后对涂布于固体平板上的藻落暗适应30 min,用Handy PEA (Plant Efficiency Analyser Hansatech Instrument Ltd, UK)测定叶绿素荧光动力学参数。测定光源为6个发光二极管提供的波长为650 nm的红光,光照强度为3 000  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,荧光信号的记录时程为2 s,并记录3次重复。

### 3 统计分析

采用SPASS 8.01对数据进行统计分析,采用Duncan's法进行多重比较分析。

## 实验结果

### 1 不同浓度盐胁迫对衣藻细胞生长的影响

由图1可见,第2天时各实验组细胞OD<sub>750</sub>值达到最大分别为1.25、1.10、0.57和0.42,3个盐处理和对照最大值之间出现明显差异( $P<0.05$ )。并且在前三天的生长过程中各实验组细胞生长速率也出现明显差异,3个盐处理的生长速率分别为对照的88.6%、34.63%和20.7%。自第2天之后各实验组衣藻细胞生长进入稳定期,其OD<sub>750</sub>值出现明显差

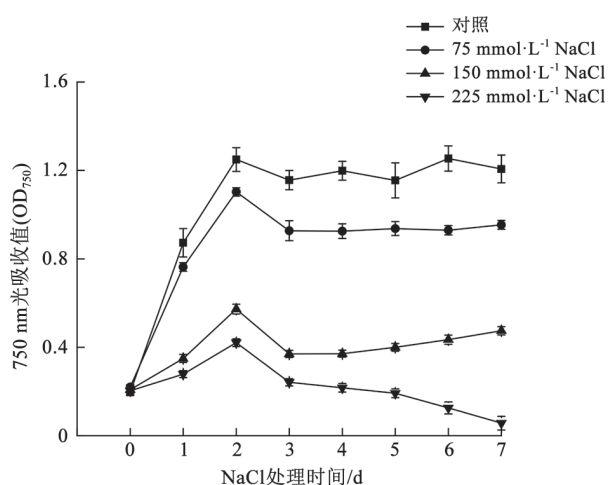


图1 不同浓度NaCl胁迫下衣藻细胞生长曲线  
Fig.1 The growth curve of *C. reinhardtii* under different NaCl concentrations

异( $P<0.05$ ), 对照>低盐>中盐>高盐。

## 2 不同浓度盐胁迫对衣藻细胞色素含量的影响

由图2-A、B可知, 培养第1天, 各实验组细胞Chla和Chlb含量出现小幅下降。从培养第2天开始, 各实验组细胞Chla和Chlb含量出现分化, 对照的细胞Chla和Chlb含量不断升高, 最终分别维持在 $10 \text{ mg} \cdot (10^{10} \text{ 个})^{-1}$ 及 $7.25 \text{ mg} \cdot (10^{10} \text{ 个})^{-1}$ 左右。高盐处理的细胞Chla和Chlb含量从第2天开始大幅下降, 之后明显小于对照及其它处理, 分别维持在 $3.94 \sim 5.92 \text{ mg} \cdot (10^{10} \text{ 个})^{-1}$ 和 $1.88 \sim 3.33 \text{ mg} \cdot (10^{10} \text{ 个})^{-1}$ 范围内, 最低仅为对照的37.42%和24.83%。低盐和中盐处理的细胞Chla、Chlb含量从第2天开始先升高后减少, 最终分别维持稳定在一定范围内, 且中盐处理的细胞Chla、Chlb含量都小于低盐。

由图2-C可知, 各处理的细胞类胡萝卜素含量变化趋势不完全一致。对照和低盐处理的没有明显变化, 并且二者数值无显著差异。中盐处理的类胡萝卜素含量从第2天开始出现明显升高, 到第4天达到最大值, 最大值较于对照上升65.77%; 然后小幅降低。高盐处理的类胡萝卜素含量从第2天开始急剧升高, 第3天开始与对照差异显著( $P<0.05$ ), 到第7天达到最高值 $14.52 \text{ mg} \cdot (10^{10} \text{ 个})^{-1}$ , 为对照的3.67倍。

## 3 不同浓度盐胁迫对衣藻细胞中性脂肪酸含量的影响

由图3可见, 盐胁迫的荧光值显著高于对照( $P<0.05$ ), 低盐、中盐和高盐处理的荧光强度分别

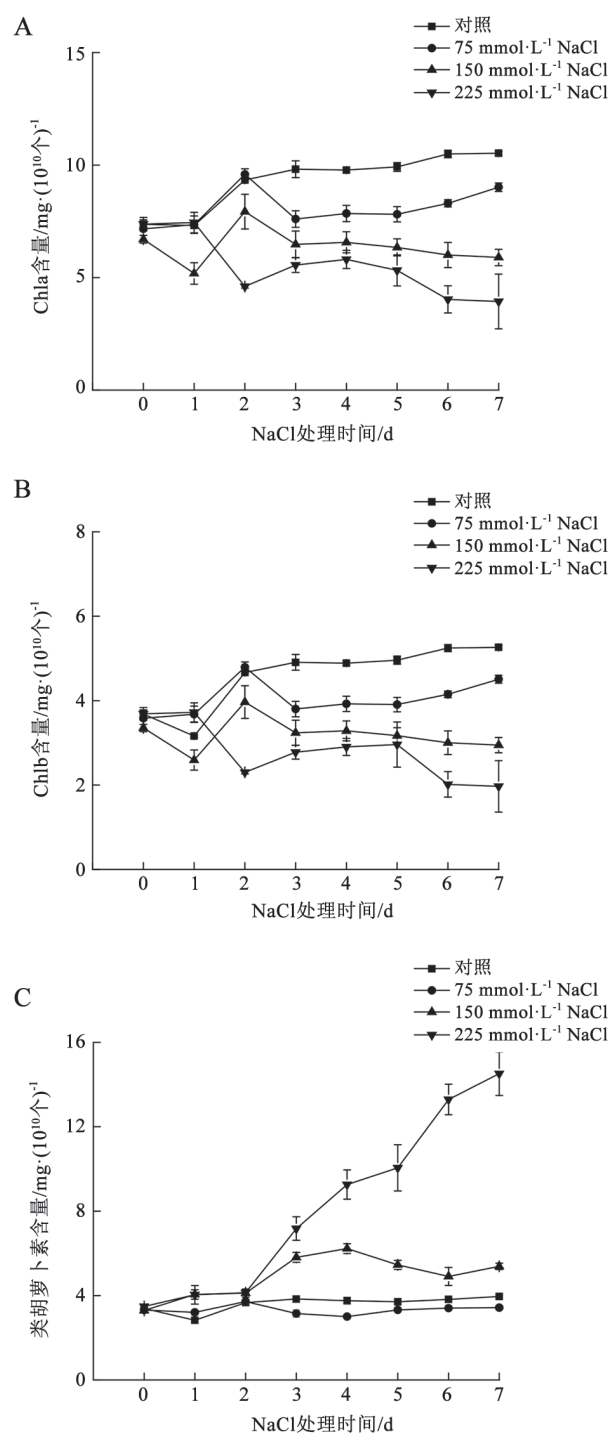


图2 不同浓度NaCl胁迫下衣藻细胞Chla、Chlb和类胡萝卜素含量的变化

Fig.2 Changes in contents of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid under different concentrations of NaCl

较对照提高了4.54、5.33和1.57倍, 中盐处理的荧光值最高。但是盐胁迫的荧光值都远小于缺氮胁迫处理, 最高仅为缺氮胁迫的48.55%。

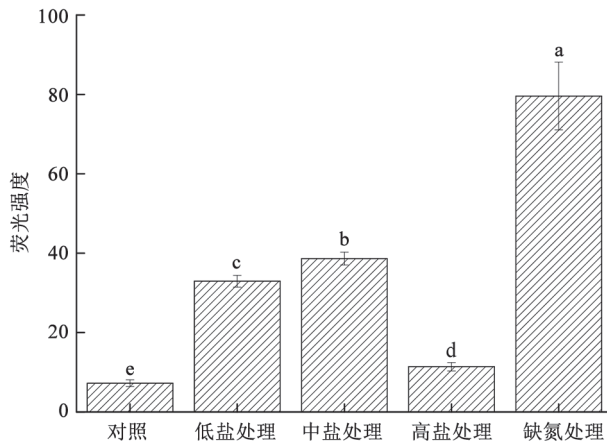


图3 不同处理下衣藻细胞中性脂肪含量变化  
Fig.3 Changes in contents of neutral lipids under different treatments

不同小写字母表示不同处理间差异达显著水平( $P<0.05$ )。

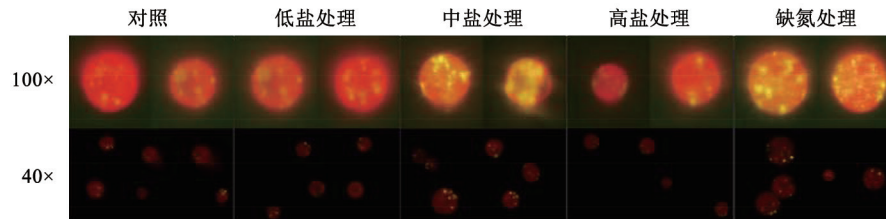


图4 不同处理下中性脂肪酸尼罗红染色后细胞显微图像

Fig.4 The cell microscopic image of neutral lipids with Nile red staining under different treatments

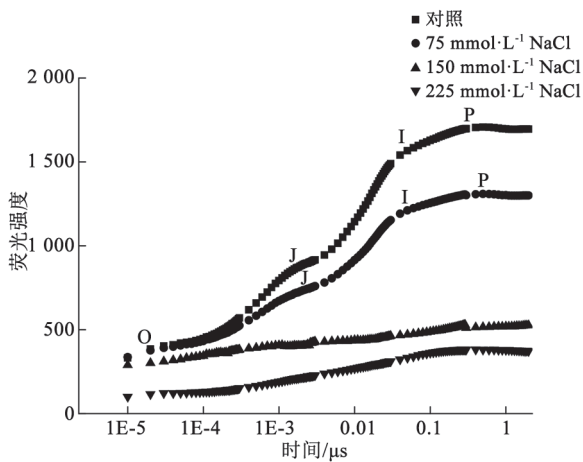


图5 不同浓度NaCl胁迫下衣藻叶绿素荧光诱导曲线  
Fig.5 The chlorophyll fluorescence induction curve in *C. reinhardtii* under different concentrations of NaCl

单位面积吸收的光能( $ABS/CS_M$ )和对照之间存在显著性差异, 较于对照都明显降低, 并且随着盐浓度

从图4中可以观察到与图3相同的规律。即在2种放大倍数下, 3个盐处理的黄色荧光区显著多于对照, 但少于缺氮胁迫, 中盐处理的黄色荧光区域明显多于其它盐处理, 低盐处理的黄色荧光区域多于高盐处理。

#### 4 不同浓度盐胁迫对衣藻细胞光合系统的影响

##### 4.1 不同浓度盐胁迫对衣藻的叶绿素荧光诱导曲线的影响

由图5可知, 对照的叶绿素荧光诱导动力学曲线上O、J、I、P四相明显, 低盐处理的四相出现一定程度下移, 而中盐和高盐处理的无法明显观察到O、J、I、P四相。

##### 4.2 不同浓度盐胁迫对PSII反应中心及PSII受体侧相关叶绿素荧光动力学参数的影响

由图6-A可看出, 在第6天中盐、高盐处理的

升高,  $ABS/CS_M$ 值减小得越多。单位面积捕获的光能( $TR_O/CS_M$ )也存在类似的规律, 其值较于对照明显降低, 并且随着盐浓度升高,  $TR_O/CS_M$ 值减小得越多。单位面积电子传递的量子产额( $ET_O/CS_M$ )出现了分化, 高盐处理的明显低于对照, 而低盐、中盐处理的则高于对照。单位面积热耗散( $DI_O/CS_M$ )和单位反应中心吸收的光能( $ABS/RC$ )、单位反应中心耗散掉的能量( $DI_O/RC$ )、单位反应中心捕获的用于还原 $Q_A$ 的能量( $TR_O/RC$ )四项指标与 $ET_O/CS_M$ 具有相同的规律, 即都出现了分化, 高盐处理的明显低于对照, 而低盐、中盐处理的则高于对照。

由图6-B知, 盐胁迫的最大光化学效率( $\phi P_o$ )和对照之间存在显著性差异( $P<0.05$ ), 较于对照都有所降低, 其中高盐处理的降低最多, 为对照的73.94%, 中盐处理次之, 低盐处理变化最小, 下降了7%。3个盐处理的O-J-I-P荧光诱导曲线的初始斜率( $M_0$ )值都出现变化, 高盐降低到仅为对照的



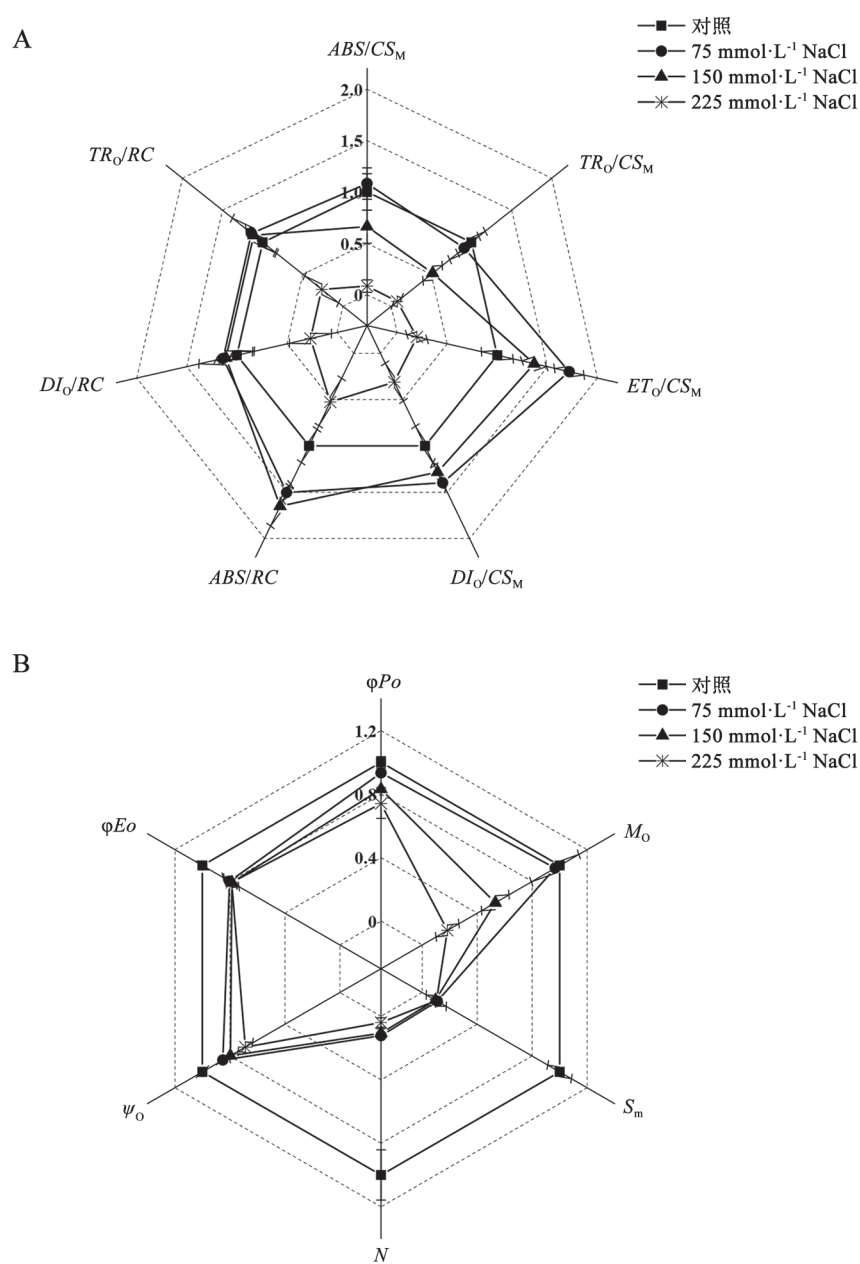


图6 不同浓度NaCl胁迫下衣藻叶绿素荧光诱导动力学参数图

Fig.6 The kinetic parameters of chlorophyll fluorescence induction in *C. reinhardtii* under different concentrations of NaCl

18.33%, 中盐降低为对照的53.14%, 而低盐则变化较小。另外对于标准化后的O-J-I-P荧光诱导曲线荧光强度 $F=F_M$ 及y轴之间的面积( $S_m$ )及从开始照光至到达 $F_M$ 的时间段内 $Q_A$ 被还原的次数( $N$ )两项参数, 盐处理的与对照之间都有明显差异( $P < 0.05$ ), 3组盐处理的对应数值都剧烈减小。2 ms时有活性的反应中心开放程度( $\psi_o$ )、用于电子传递的量子产额( $\phi E_o$ )出现相同的变化规律, 其值

都较对照实验组显著性降低, 且高盐>低盐>中盐处理。

## 讨 论

微藻细胞生长与培养基营养成分、光照强度、代谢产物积累量、光合作用活性等因素相关。本研究结果表明盐(NaCl)胁迫对衣藻生长有显著影响, 随着盐浓度的升高, 细胞对数生长期生

长速率下降, 稳定期时细胞数量减小。这可能是因为在盐处理条件下衣藻细胞分裂、光合作用等各项生理活动都受到影响。

叶绿素a、b是植物进行光合作用的物质基础, 是间接反映光合植物生物量的指标, 因此其含量变化能较好地反映植物各阶段的生长发育及光合作用状况。本研究中我们发现盐胁迫对衣藻细胞叶绿素a、b含量有显著性影响, 低浓度和中浓度NaCl处理的细胞叶绿素a、b含量呈先升高后降低的趋势, 并且随着NaCl胁迫浓度增大, 叶绿素a、b含量降低, 而高浓度NaCl处理的叶绿素a含量剧烈降低。这与杜军华等(2000)、翁锦周等(2008)在蚕豆和桉树幼苗中观察得到的结果是一致的。另外, 在微藻中同样观察到类似现象(Martínez-Roldán等2014)。造成这种现象的可能原因是: 较低盐浓度下, 盐离子促进叶绿素的合成; 而长时间或高盐浓度下, 细胞内Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>含量增加, 使叶绿素与叶绿素蛋白质之间的亲和性降低, 最终叶绿素游离, 同时高盐胁迫会抑制叶绿素合成关键酶的活性, 激活叶绿素酶, 加速叶绿素降解(王智明等2014)。

类胡萝卜素是生物体内通过类异戊二烯途径合成, 呈现黄色、橙红色和红色的一大类萜类色素物质, 在植物光合作用中具有吸收和传递电子的能力, 并在清除光合作用中产生的叶绿素三线态、单线态氧及超氧阴离子等自由基方面起着重要的作用(Bartle和Scolnik 1995; Tracewell等2001)。在本研究中我们发现, 低盐处理组藻细胞类胡萝卜素含量较对照没有显著性差异, 但中、高浓度盐处理组细胞类胡萝卜素含量则明显升高。特别是高浓度盐处理组其细胞类胡萝卜素含量较于对照提高了3.48倍。这说明类胡萝卜素在细胞应对中高盐胁迫中发挥了重要作用。很多学者的研究也有类似的结果, 如Wang等(2010)、Yang等(2008)分别在UV-B胁迫和盐胁迫中观察到类胡萝卜素含量升高, 并指出类胡萝卜素能够高效地消除植物细胞在胁迫过程中产生的叶绿素三线态、单线态氧、过氧自由基。而对于实验中的低盐处理组类胡萝卜素含量变化很小, 而高盐胁迫组类胡萝卜素含量变化较大, 则可能是因为类胡萝卜素的产生存在胁迫强度的剂量效应。

中性脂肪主要指三酰甘油(triacylglycerol,

TAG), 是动植物细胞贮脂的主要形式。尼罗红(9-diethylamino-5H-benzo [α] phenoxazine-5-one)是一种亲脂性的恶嗪类荧光染料, 通过与脂类物质的结合并发出荧光检测信号, 可以快速、灵敏、可靠地定量测定活细胞内的脂类成分(石玉新等2012)。大量研究表明, 可以通过尼罗红染色对微藻细胞中的油脂进行定量分析(Cooksey等1987; Lee等1998; Elsey等2007)。本实验中设置的缺氮阳性对照细胞经尼罗红染色后荧光强度较高, 这说明尼罗红染色法检测衣藻CW15株细胞中性脂肪含量是可行的(王顺昌等2008)。

本研究结果显示3个盐胁迫的中性脂肪积累量都明显上升, 分别为对照的4.54、5.33和1.57倍。这与华雪铭等(1998)和孙妮等(2014)分别在绿色巴夫藻和栅藻中观察到盐胁迫条件下藻细胞中性脂肪含量会大量积累是一致的。他们推测藻细胞中性脂肪含量的增加, 是藻细胞应对高盐浓度下细胞膜渗透压和流动性下降, 维持细胞膜完整性的一种适应机制。看来积累中性脂肪很可能是藻细胞应对盐胁迫的一种适应策略。另外Shaw和Suen等人很早之前就给出了藻细胞积累中性脂肪的机制解释, 他们的解释是当藻类受到盐胁迫时, 脂肪合成模式发生改变, 由于光合作用并未中断, 碳元素的同化作用仍继续进行, 此时合成的较多TAG, 以油滴的形式贮藏在细胞质中(Shaw 1966; Suen等1987)。在本实验中我们还发现高盐和低盐的中性脂肪含量虽然会增加, 但积累量明显低于中盐。这说明只有适宜的胁迫盐浓度才能够使衣藻细胞最大量的积累脂肪。王冬梅等(2014)采用不同浓度NaCl处理杜氏藻时也发现, 当NaCl浓度在0.44~2.00 mol·L<sup>-1</sup>范围时, 藻细胞总脂含量随盐浓度升高而增加, 但当盐浓度超过2.00 mol·L<sup>-1</sup>时藻细胞总脂含量出现下降, 这与本实验观察到的现象类似。实验中可能由于低盐浓度下光合作用碳元素的同化作用仍继续进行, 但仅有部分脂肪合成模式发生改变。而中等盐度处理下大部分脂肪合成模式发生改变, 此时TAG大量积累, 故中盐处理组细胞中中性脂肪积累量多于低盐处理组。而对于高盐处理组虽然大部分脂肪合成模式发生改变但此时光合作用的碳元素的同化作用减弱, 故高盐处理组细胞中中性脂肪积累量最少。因此

我们推测藻细胞内中性脂肪含量的变化一方面是藻细胞应对盐胁迫的一种策略,另一方面会受到光合作用影响。

快速叶绿素a荧光诱导动力学方法是一种快速、无损伤的研究光合机理的方法,被广泛用来探测和评价PSII结构和功能,并逐渐应用在环境胁迫对植物光合作用影响等方面(Lichtenthaler和Miehe 1997)。结合叶绿素荧光诱导动力学曲线和具体参数我们发现,首先NaCl胁迫引起了PSII反应中心的变化。单位面积吸收的光能( $ABS/CS_M$ )下降,这表明盐胁迫可能一方面使反应中心降解或失活,另一方面改变了天线色素的结构或者使天线色素降解,从而使捕获的光能下降,进而导致单位面积上用来还原 $Q_A$ 的激发能( $TR_O/CS_M$ )减少,另外从实验中我们发现胁迫的盐浓度越高,上述现象越明显。同时盐胁迫导致单位叶面积热耗散( $DI_O/CS_M$ )增加,表明细胞遭受盐胁迫后启动了相应的防御机制,使得细胞中的过剩激发能得以及时耗散。随着盐浓度升高,每个有活性的反应中心吸收的光能( $ABS/RC$ )增加,热耗散( $DI_O/RC$ )增加,用来还原 $Q_A$ 的激发能( $TR_O/RC$ )也增加,表明剩余的有活性的反应中心的耗能效率提高了。因此通过实验我们得出低盐和中盐胁迫的确会引起衣藻PSII反应中心的变化,高盐处理组由于盐浓度过高已经引起PSII反应中心活性根本性改变。

其次,NaCl胁迫引起PSII受体侧变化。盐胁迫处理组的最大光化学效率( $\phi P_o$ )下降,同时PSII受体侧的电子传递体( $S_m$ )减少,捕获的光能把电子传递到电子传递链中超过 $Q_A^-$ 的电子受体的概率( $\phi E_o$ )下降,这说明较多的光能用来还原 $Q_A$ ,并使 $Q_A$ 的还原( $M_o$ )加速。从数据可以看到盐浓度越高上述变化过程变化程度越大。盐胁迫过程中我们还发现 $Q_A$ 的还原次数( $N$ )剧烈下降,这说明 $Q_A$ 传递电子的能力下降,同时2 ms时有活性的反应中心的开放程度( $\psi_o$ )下降也进一步说明了 $Q_A$ 传递电子的能力下降。

研究结果表明,盐胁迫对衣藻细胞生长和光合活性都产生显著抑制作用。同时衣藻细胞也会采取一些策略去应对盐胁迫,这些策略除了常见的抗氧化酶SOD和CAT等含量提高外,本研究还发

现衣藻可通过调控光合电子传递途径、提高热耗散、增加类胡萝卜素及中性脂肪积累量等措施来应对盐胁迫环境。

## 参考文献

- 杜军华,冯桂莲,高榕(2000). 盐胁迫对蚕豆(*Vicia faba* L.)叶绿素a和b含量的影响. 青海师范大学学报:自然科学版, (4): 36~38
- 华雪铭,陈鹏,周洪琪,丁卓平,张登沂(1998). 盐度对微藻的生长总脂肪含量以及脂肪酸组成的影响. 上海水产大学学报, 7 (5): 338~344
- 李合生主编(2000). 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 134~138
- 罗秋香,管清杰,金淑梅,柳参奎(2006). 植物耐盐性分子生物学研究进展. 分子植物育种, (S2): 57~64
- 石玉新,穆迪,武洪庆,齐树亭,李志刚(2012). 微藻油脂含量的几种快速测定方法. 安徽农业科学, 40 (21): 11067~11069
- 孙妮,曹广霞,彭娟(2014). 盐胁迫对栅藻 SP-01抗氧化酶和代谢产物的影响. 南方农业学报, 45 (9): 1574~1578
- 王冬梅,王玮蔚,孙雪,徐冬军(2014). 一株杜氏藻的分子鉴定与耐盐特性. 植物生理学报, 50 (3): 315~323
- 王顺昌,王陶,赵世光,吴跃进,余增亮(2008). 不同氮源对蛋白核小球藻生长、色素和中性脂肪积累的影响. 激光生物学报, 17 (2): 197~201
- 王智明,张峰举,许兴(2014). 植物耐盐生理生化指标研究进展. 湖北农业科学, 53 (7): 1493~1496
- 翁锦周,林江波,林加耕,张梅坤,陈水快,曾日秋,吴水金(2008). 盐胁迫对桉树幼苗的生长及叶绿素含量的影响. 热带作物学报, 28 (4): 15~20
- 徐臣善(2014). 钙对盐胁迫下小金海棠幼苗生物量及抗氧化系统的影响. 植物生理学报, 50 (6): 817~822
- 杨蕾,于海峰,贺韵雅(2012). 蓝藻对盐胁迫响应的研究进展. 山东轻工业学院学报:自然科学版, 26 (3): 10~14
- Bartley GE, Scolnik PA (1995). Plant carotenoids: pigments for photo protection, visual attraction and human health. *Plant Cell*, 7 (7): 1027~1038
- Chen W, Zhang C, Song L, Sommerfeld M, Hu Q (2009). A high throughput Nile red method for quantitative measurement of neutral lipids in microalgae. *J Microbiol Meth*, 77 (1): 41~47
- Cooksey KE, Guckert JB, Williams SA, Callis PR (1987). Fluorometric determination of the neutral lipid content of micro algal cells using Nile Red. *J Microbiol Meth*, 6 (6): 333~345
- Elsley D, Jameson D, Raleigh B, Cooney MJ (2007). Fluorescent measurement of microalgal neutral lipids. *J Microbiol Meth*, 68 (3): 639~642
- Haghjou MM, Colville L, Smirnoff N (2014). The induction of menadione stress tolerance in the marine microalga, *Dunaliella viridis*, through cold pretreatment and modulation of the ascorbate and glutathione pools. *Plant Physiol Bioch*, 84: 96~104
- Lee SJ, Yoon BD, Oh HM (1998). Rapid method for the determination of lipid from the green alga *Botryococcus braunii*. *Biotechnol Tech*, 12 (7): 553~556
- Liang Y, Yang C, Shi H (2001). Effects of silicon on growth and mineral composition of barley grown under toxic levels of alumi-

- num. *J Plant Nutr*, 24 (2): 229~243
- Lichtenthaler HK, Miehe JA (1997). Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. *Trends Plant Sci*, 2 (8): 316~320
- Lindermayr C, Durner J (2015). Interplay of reactive oxygen species and nitric oxide: nitric oxide coordinates reactive oxygen species homeostasis. *Plant Physiol*, 167 (4): 1209~1210
- Martínez-Roldán A, Perales-Vela H, Cañizares-Villanueva R, Torzillo G (2014). Physiological response of *Nannochloropsis* sp. to saline stress in laboratory batch cultures. *J Appl Phycol*, 26 (1): 115~121
- Munns R (1993). Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant Cell Environ*, 16 (1): 15~24
- Sartory D, Grobbelaar J (1984). Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia*, 114 (3): 177~187
- Shaw R (1966). The polyunsaturated fatty acids of microorganisms. *Adv. Lipid Res*, 4: 107
- Suen Y, Hubbard JS, Holzer G, Tornabene TG (1987). Total lipid production of the green alga *Nannochloropsis* sp. Qii under different nitrogen regimes. *J Phycol*, 23 (s2): 289~296
- Tracewell CA, Vrettos JS, Bautista JA, Frank HA, Brudvig GW (2001). Carotenoid photooxidation in photosystem II. *Arch Biochem Biophys*, 385 (1): 61~69
- Wang G, Hao Z, Huang Z, Chen L, Li X, Hu C, Liu Y (2010). Raman spectroscopic analysis of a desert cyanobacterium *Nostoc* sp. in response to UV-B radiation. *Astrobiology*, 10 (8): 783~788
- Yang C, Jianaer A, Li C, Shi DC, Wang DL (2008). Comparison of the effects of salt-stress and alkali-stress on photosynthesis and energy storage of an alkali-resistant halophyte *Chloris virgata*. *Photosynthetica*, 46 (2): 273~278
- Zuo Z, Chen Z, Zhu Y, Bai Y, Wang Y (2014). Effects of NaCl and Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> stresses on photosynthetic ability of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biologia*, 69 (10): 1314~1322