

## 亚硫酸氢钠在藻类光合生理中的浓度效应

马为民\*

上海师范大学生命与环境科学学院生物科学与技术系, 上海200234

**摘要:** 由于大气污染物SO<sub>2</sub>在生理pH的水中主要形成HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 因此人们就NaHSO<sub>3</sub>在藻类光合生理中的功能角色进行了广泛研究。研究发现, 低浓度NaHSO<sub>3</sub>处理可增加围绕光系统I的环式电子传递, 优化ATP/NADPH比例和改善光合碳同化; 中浓度NaHSO<sub>3</sub>处理可与超氧阴离子反应, 建立厌氧环境, 激活氢化酶和促进光合放氢; 高浓度NaHSO<sub>3</sub>处理则抑制了上述光合生理现象。本文主要围绕NaHSO<sub>3</sub>在藻类光合生理中的浓度效应进行简要综述。

**关键词:** 亚硫酸氢钠; 浓度效应; 光合碳同化; 光合放氢; 藻类

亚硫酸氢钠(NaHSO<sub>3</sub>)是一种强还原剂, 也是SO<sub>2</sub>在生理pH条件下溶于水的主要形式(Puckett等1973)。由于SO<sub>2</sub>是大气污染物的主要成分之一, 因此, 人们日益重视NaHSO<sub>3</sub>在藻类等光合生物中的功能角色研究。

藻类细胞结构简单、繁殖速度快、光合效率高, 是研究光合生理的重要模式生物之一。藻类细胞能够把吸收的光能转变成电能, 并传递给光系统I处的铁氧还蛋白(ferredoxin, Fd)。Fd的电子可用于多种用途, 包括光合碳同化和光合放氢。近来的研究表明, NaHSO<sub>3</sub>的浓度能够改变Fd电子的用途(Wang等2010)。如图1所示, 低浓度NaHSO<sub>3</sub>处理增加了光合碳同化, 中浓度NaHSO<sub>3</sub>处理诱导了光合放氢, 而高浓度NaHSO<sub>3</sub>处理则抑制了上述两种光合生理功能。本文简要地综述了NaHSO<sub>3</sub>在藻类光合生理中的浓度效应。

### 1 低浓度增加光合碳同化

#### 1.1 增加现象

大约40年前, Soldatini等(1978)发现低浓度NaHSO<sub>3</sub> (<1 mmol·L<sup>-1</sup>)处理单细胞绿藻小球藻(*Chlorella vulgaris*)明显增加了其碳同化速率和生长速率。后来, Wang等(2003a)发现低浓度NaHSO<sub>3</sub> (20~200 μmol·L<sup>-1</sup>)处理单细胞蓝藻集胞藻PCC 6803 (*Synechocystis* sp. strain PCC 6803)能够显著地提高其光合放氧速率和细胞干物质积累量。最近, Wang等(2010)发现用50 μmol·L<sup>-1</sup> NaHSO<sub>3</sub>处理丝状蓝藻鱼腥藻PCC 7120 (*Anabaena* sp. strain PCC 7120)能够增加其光合放氧速率20%~30%。因此, 低浓度NaHSO<sub>3</sub>处理能够促进藻类的光合作用(图1; 蓝箭头)。

#### 1.2 功能机理

α-羟基磺酸和NaHSO<sub>3</sub>处理的体外实验结果

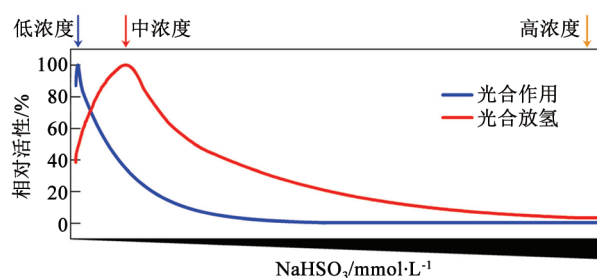


图1 NaHSO<sub>3</sub>在藻类光合生理中的浓度效应

Fig.1 Concentration effect of NaHSO<sub>3</sub> on algal photosynthetic physiology

低浓度: <1 mmol·L<sup>-1</sup>; 中浓度: 1~20 mmol·L<sup>-1</sup>; 高浓度: >20 mmol·L<sup>-1</sup>。参考Wang等(2010)一文。

暗示: 低浓度NaHSO<sub>3</sub>处理能够抑制乙醇酸的氧化, 从而降低光呼吸和增加光合作用(Zelitch 1957, 1966; 张贤泽和庞士铨1984)。然而, 谭实和沈允钢(1987)的实验结果表明低浓度NaHSO<sub>3</sub>在促进光合作用的同时并未降低光呼吸速率。因此, 人们仍然不清楚低浓度NaHSO<sub>3</sub>处理促进光合作用的原因。

光合生物的生长总是伴随着各种胁迫条件, 例如波动光和高低温。因此, ATP/NADPH的比例通常是偏低的。然而, 这些胁迫条件均能增加围绕光系统I的环式电子传递(CET), 进而建立跨类囊体膜质子梯度, 提供额外ATP, 改善ATP/NADPH比例和优化光合作用。2003年, Wang等(2003a)发现低浓度NaHSO<sub>3</sub>处理蓝藻细胞能够增加它的CET活性和ATP/NADPH比例, 从而改善了光合作用。这一增加发生在大多数的光合生物中(魏家绵等1989; Wang等2000a, b; Guo等2006; Wu等2011), 但是不在高

收稿 2016-08-01 修定 2016-10-07

资助 国家自然科学基金(31570235和31370270)。

\* E-mail: wma@shnu.edu.cn

CET活性的突变体株系中(Wang等2003b; He等2013; Zhao等2014), 进一步支持了Wang等(2003a)的实验结果。随后的研究也发现, 这一低浓度 $\text{NaHSO}_3$ 处理增加活性的CET途径最可能是由NDH-1复合体介导的(Wu等2011; He等2013)。

## 2 中浓度诱导光合放氢

### 2.1 发现

由于藻类氢化酶对 $\text{O}_2$ 极度敏感(Happe等1994; Ghirardi等1997; Happe和Kaminski 2002; Stripp等2009), 因此, 自然条件下的光合放氢通常仅仅发生在暗光转换的瞬间(Gaffron和Rubin 1942)。黑暗中, 呼吸作用能够消耗 $\text{O}_2$ , 从而建立厌氧环境和激活氢化酶; 而在打开作用光的瞬间, 光合电子能够从Fd传递给活化的氢化酶, 进而促进光合放氢。然而, 打开作用光生产光合电子的同时也产生 $\text{O}_2$  (水的光解), 进而迅速导致氢化酶失活。因此, 藻类在自然条件下的光合放氢现象是短暂的, 大约仅仅持续几分钟。

在阅读Wang等(2003a)文献时, 作者发现中浓度 $\text{NaHSO}_3$ 处理(低浓度的对照组)能够显著地降低蓝藻细胞的光合放氧速率。这一发现暗示中浓度 $\text{NaHSO}_3$ 处理有可能通过降低 $\text{O}_2$ 、建立厌氧环境, 从而激活氢化酶和促进持续光合放氢。进一步的实验结果证实了上述猜想: 中浓度( $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )  $\text{NaHSO}_3$ 处理鱼腥藻PCC 7120, 可提高其光合放氢大约10倍, 持续时间超过了24 h (Wang等2010)。随后, 中浓度( $13 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )  $\text{NaHSO}_3$ 处理莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*), 可提高其光合放氢高达200倍, 持续时间至少36 h (Ma等2011)。最近, 我们的实验结果进一步发现: 中浓度 $\text{NaHSO}_3$ 处理能够不同程度地提高各种藻株(包括高放氢突变株)的光合放氢速率及持续时间(数据未发表)。因此, 中浓度 $\text{NaHSO}_3$ 处理能够诱导藻类的光合放氢功能(图1; 红箭头)。

### 2.2 作用机制

如图2所示, 在高光条件下, 亚硫酸氢根离子( $\text{HSO}_3^-$ )能够与光系统I处的超氧阴离子( $\text{O}_2^-$ )发生反应, 生成硫酸根离子( $\text{SO}_4^{2-}$ ; Wei等2016)。这一反应间接地降低了细胞内 $\text{O}_2$ 水平、建立了厌氧环境, 从而激活了氢化酶和诱导了光合放氢。进一步研究发现, 除了莱茵衣藻外, 这一降低 $\text{O}_2$ 的作用机制

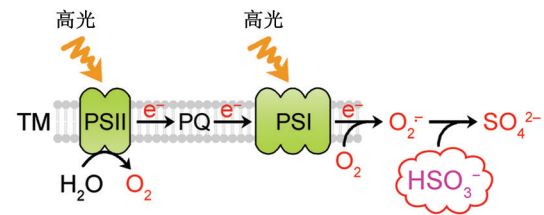


图2 亚硫酸氢盐在高光下移除氧气的作用机理模式图

Fig.2 Schematic model representing the mechanism that bisulfite removes oxygen upon exposure of cells to high light  
TM: 类囊体膜; PSII: 光系统II; PQ: 质体醌; PSI: 光系统I。参考Wei等(2016)一文。

也广泛地存在其他藻类中, 例如小球藻和集胞藻PCC 6803 (数据未发表)。另外, 这一降低 $\text{O}_2$ 的作用机制也曾经报道在菠菜叶绿体(Asada和Kiso 1973)和烟草类囊体膜(Wu等2011)中。

### 2.3 应用举例

由于光合放氧的存在和氢化酶对氧气的极度敏感, 因此, 藻类细胞在正常生长条件下通常是无法检测到其放氢现象。为了激活氢化酶和研究藻类的光合氢代谢, 人们在如何为氢化酶建立一个厌氧环境等方面做了大量的研究工作, 也获得了许多重要的研究进展(Melis等2000; Melis和Happe 2001; Xiong等2015)。其中代表性研究成果是缺硫培养(Melis等2000; Melis和Happe 2001)。然而, 这一方法存在实验程序繁琐和放氢延迟(通常在缺硫24 h后)等缺陷, 因此不太适合藻类光合氢代谢相关突变株的筛选等研究工作。

中浓度 $\text{NaHSO}_3$ 处理具有操作简单、放氢速度快、高效等优点, 因此特别适合光合氢代谢相关突变株的筛选等研究工作。目前, 作者课题组已经利用中浓度 $\text{NaHSO}_3$ 处理就藻类转座子突变体文库进行高光合放氢突变株筛选, 并获得了许多与光合氢代谢相关的突变株(数据未发表)。因此, 中浓度 $\text{NaHSO}_3$ 处理可应用于藻类光合氢代谢的网络调控研究, 也将为光合氢能的工业化生产提供理论基础。

## 3 高浓度抑制光合生理

高浓度 $\text{NaHSO}_3$ 处理拥有破坏藻类膜结构(Lüttge等1972)和漂白其叶绿素(Wang等2010)等属性, 从而抑制藻类光合碳同化和光合放氢等多种生理活性(图1; 黄箭头)。

#### 4 展望

NaHSO<sub>3</sub>处理促进藻类细胞进行光合碳同化、光合放氢还是死亡取决于它的浓度。低浓度NaHSO<sub>3</sub>处理增加围绕光系统I的环式电子传递, 优化ATP/NADPH比例, 改善光合作用。然而, 低浓度NaHSO<sub>3</sub>处理如何增加围绕光系统I的环式电子传递的作用机制仍然是不清楚的。另外, 中浓度NaHSO<sub>3</sub>处理可通过HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>与O<sub>2</sub><sup>-</sup>反应生成SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, 从而间接地减少O<sub>2</sub>、激活氢化酶和促进光合放氢。然而其他硫化物如Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>是否也具有类似属性还有待于进一步研究。

#### 参考文献

- Asada K, Kiso K (1973). Initiation of aerobic oxidation of sulfite by illuminated spinach chloroplasts. *Eur J Biochem*, 33 (2): 253–257
- Gaffron H, Rubin J (1942). Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae. *J Gen Physiol*, 26 (2): 219–240
- Ghirardi ML, Togasaki RK, Seibert M (1997). Oxygen sensitivity of algal H<sub>2</sub> production. *Appl Microbiol Biotechnol*, 63–65: 141–151
- Guo Y, Hu M, Zhou H, Zhang L, Su J, Wang H, Shen YG (2006). Low concentrations of NaHSO<sub>3</sub> increase photosynthesis, biomass, and attenuate photoinhibition in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu Marc.*) plants. *Photosynthetica*, 44 (3): 333–337
- Happe T, Kaminski A (2002). Differential regulation of the Fe-hydrogenase during anaerobic adaptation in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eur J Biochem*, 269 (3): 1022–1032
- Happe T, Mosler B, Naber JD (1994). Induction, localization and metal content of hydrogenase in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eur J Biochem*, 222 (3): 769–774
- He ZH, Li HW, Shen Y, Li ZS, Mi H (2013). Comparative analysis of the chloroplast proteomes of a wheat (*Triticum aestivum* L.) single seed descent line and its parents. *J Plant Physiol*, 170 (13): 1139–1147
- Lüttge U, Osmond CB, Ball E, Brinckmann E, Kinze G (1972). Bisulfite compounds as metabolic inhibitors: nonspecific effects on membranes. *Plant Cell Physiol*, 13 (3): 505–514
- Ma W, Chen M, Wang L, Wei L, Wang Q (2011). Treatment with NaHSO<sub>3</sub> greatly enhances photobiological H<sub>2</sub> production in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Bioresour Technol*, 102 (18): 8635–8638
- Melis A, Happe T (2001). Hydrogen production: green algae as a source of energy. *Plant Physiol*, 127 (3): 740–748
- Melis A, Zhang L, Forestier M, Ghirardi ML, Seibert M (2000). Sustained photobiological hydrogen gas production upon reversible inactivation of oxygen evolution in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol*, 122 (1): 127–136
- Puckett KJ, Nieboer E, Flora WP, Richardson DHS (1973). Sulphur dioxide: Its effect on photosynthetic <sup>14</sup>C fixation in lichens and suggested mechanisms of phytotoxicity. *New Phytol*, 72 (1): 141–154
- Soldatini GF, Ziegler I, Ziegler H (1978). Sulfite: Preferential sulfur source and modifier of CO<sub>2</sub> fixation in *Chlorella vulgaris*. *Planta*, 143 (2): 225–231
- Stripp ST, Goldet G, Brandmayr C, Sanganas O, Vincent KA, Haumann M, Armstrong FA, Happe T (2009). How oxygen attacks [FeFe] hydrogenases from photosynthetic organisms. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106 (41): 17331–17336
- Tan S, Shen YG (1987). The effects of sodium bisulfite on photosynthetic apparatus and its operation. *Acta Phytophysiol Sin*, 13 (1): 42–50 (in Chinese with English abstract) [谭实, 沈允钢(1987). 亚硫酸氢钠对光合机构及其运转的影响. *植物生理学报*, 13 (1): 42–50]
- Wang H, Mi H, Ye J, Deng Y, Shen Y (2003a). Low concentrations of NaHSO<sub>3</sub> increase cyclic photophosphorylation and photosynthesis in cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Photosynth Res*, 75 (2): 151–159
- Wang H, Wei J, Shen Y (2000a). Enhancement of wheat leaf photophosphorylation and photosynthesis by spraying low concentration of NaHSO<sub>3</sub>. *Chin Sci Bull*, 45 (14): 1308–1311
- Wang H, Wei J, Shen Y, Zhang R, Yang T (2000b). Enhancement of photophosphorylation and photosynthesis in rice by low concentrations of NaHSO<sub>3</sub> under field conditions. *Acta Bot Sin*, 42 (12): 1295–1299
- Wang HW, Su JH, Shen YG (2003b). Difference in response of photosynthesis to bisulfite between two wheat genotypes. *J Plant Physiol Mol Biol*, 29 (1): 27–32
- Wang L, Chen M, Wei L, Gao F, Lü Z, Wang Q, Ma W (2010). Treatment with moderate concentrations of NaHSO<sub>3</sub> enhances photobiological H<sub>2</sub> production in the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *Int J Hydrogen Energy*, 35 (23): 12777–12783
- Wei JM, Shen YG, Li DY, Xu CH (1989). Stimulatory effect of sodium bisulfite on cyclic-photophosphorylation of chloroplasts under low light intensity. *Acta Phytophysiol Sin*, 15 (1): 101–104 (in Chinese with English abstract) [魏家绵, 沈允钢, 李德耀, 徐春和(1989). 亚硫酸氢钠在低光强下对叶绿体循环光合磷酸化的促进作用. *植物生理学报*, 15 (1): 101–104]
- Wei L, Yi J, Wang L, Huang T, Gao F, Wang Q, Ma W (2016). Light intensity is important for hydrogen production in NaHSO<sub>3</sub>-treated *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell Physiol*, (accepted)
- Wu Y, Zheng F, Ma W, Han Z, Gu Q, Shen Y, Mi H (2011). Regulation of NAD(P)H dehydrogenase-dependent cyclic electron transport around PSI by NaHSO<sub>3</sub> at low concentrations in tobacco chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 52 (10): 1734–1743
- Xiong W, Zhao X, Zhu G, Shao C, Li Y, Ma W, Xu X, Tang R (2015). Silicification-induced cell aggregation for the sustainable production of H<sub>2</sub> under aerobic conditions. *Angew Chem Int Ed*, 54 (41): 11961–11965
- Zelitch I (1957).  $\alpha$ -Hydroxysulfonates as inhibitors of the enzymatic oxidation of glycolic and lactic acids. *J Biol Chem*, 224 (1): 251–260
- Zelitch I (1966). Increased rate of net photosynthetic carbon dioxide uptake caused by the inhibition of glycolate oxidase. *Plant Physiol*, 41 (10): 1623–1631

Zhang ST, Pang SC (1984). The effects of NaHSO<sub>3</sub> on the yield increase of soybean. *Sci Agric Sin*, 17 (1): 36–39 (in Chinese with English abstract) [张贤泽, 庞士铨(1984). 亚硫酸氢钠对大豆的增产作用. *中国农业科学*, 17 (1): 36–39]

Zhao J, Gao F, Zhang J, Ogawa T, Ma W (2014). NdhO, a subunit of NADPH dehydrogenase, destabilizes medium size complex of the enzyme in *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *J Biol Chem*, 289 (39): 26669–26676

## Concentration effect of NaHSO<sub>3</sub> on algal photosynthetic physiology

MA Wei-Min\*

*Department of Bioscience and Biotechnology, College of Life and Environment Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China*

**Abstract:** Under physiological pH conditions, bisulfite is a main type after the atmospheric pollutant SO<sub>2</sub> dissolves in water. Consequently, the functional role of NaHSO<sub>3</sub> on algal photosynthetic physiology has been extensively studied. Recent experimental results showed that NaHSO<sub>3</sub> in a low amount improved photosynthetic efficiency via increasing cyclic electron transport around photosystem I and optimizing the ratio of ATP to NADPH; in a moderate amount could enhance the yield of H<sub>2</sub> photoproduction by the reaction of bisulfite with superoxide anion produced at the acceptor side of photosystem I, and consequently building an anaerobic environment and activating hydrogenase; and in a high amount suppressed the aforementioned photosynthetic reactions, including photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation and H<sub>2</sub> photoproduction. This mini-review describes mainly the concentration effect of NaHSO<sub>3</sub> on algal photosynthetic physiology.

**Key words:** NaHSO<sub>3</sub>; concentration effect; photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation; H<sub>2</sub> photoproduction; algae

Received 2016-08-01 Accepted 2016-10-07

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 31570235 and 31370270).

\*E-mail: wma@shnu.edu.cn