

快速光响应曲线的优化及在底栖甲藻光适应特性研究中的应用

黄凯旋, 陈亨, 徐帅帅, 刘莎莎, 吕颂辉

(暨南大学 赤潮与海洋生物学研究中心, 广东 广州 510632)

摘要: 利用快速光响应曲线(RLCs)技术研究了不同光背景下的底栖甲藻 *Coolia tropicalis* 的光合作用特性, 比较了 RLCs 的不同序列(正序、反序和非序)和不同光照时间(10, 30 和 60 s)对光合参数的影响。结果表明: 正序 RLCs 由于序列内非光化学淬灭(NPQ)的快速累积, 造成曲线的不饱和以及光合参数最大相对电子传递速率($rETR_{max}$)和半饱和光强(E_k)的高估。反序和非序 RLCs 均出现光饱和或光抑制, 步长 30 s 和 60 s 的光合参数在不同光背景下的趋势基本一致。在底栖甲藻的光合生理研究中, 可考虑采用步长 30 s 的反序 RLCs 进行测定。

关键词: 叶绿素荧光; 快速光响应曲线; 底栖甲藻; 非光化学淬灭; 光合生理参数

中图分类号: Q178.53 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2020)01-0106-07

DOI: 10.11759/hyxx20190505002

底栖甲藻(benthic dinoflagellate)是指附着在海洋基底, 如沙砾、珊瑚、大型海藻、岩石等基质上的甲藻生态类群^[1]。野外调查发现水深 0~5 m 是底栖甲藻丰度最高区域^[2], 这一区域因潮汐周期存在着复杂多变的光场。因此, 底栖甲藻的一个重要的挑战是避免强光照射造成光损伤。在长期演变中, 藻类进化出一系列保护机制适应强光照射, 其中非光化学淬灭(non-photochemical quench, NPQ)起到了重要的作用^[3]。

NPQ 主要是由叶黄素循环, 通过去环氧化过程将部分光能以无损害的热能形式耗散^[4]。硅甲藻黄素循环是在甲藻和硅藻 NPQ 中已知的起到重要作用的叶黄素循环, 占据将近 90%的非光化能耗散^[5]。该循环一个重要特点是较小的 ΔpH 差就可以驱动硅甲藻黄素的去环氧化^[6]。因此相对于高等植物, 硅藻和甲藻的 NPQ 所需的光强更小, 并且诱导时间也更短^[7-8]。此外, 黑暗或低光条件, 部分底栖硅藻的 NPQ 不会完全释放, 甚至出现上升的情况, 称之为黑暗 NPQ (dark NPQ)^[9], 类似的情况同样在底栖甲藻中发现。通过以上不同的叶黄素循环机制, 使得硅甲藻的 NPQ 过程变得更为灵活, 能快速的响应光环境变化^[10]。

Beer 等^[11]发现光化反应下的电子传递速率(electronic transport rate, ETR)与 O_2 或 CO_2 代谢有着密切的关系。以 ETR 绘制的光合作用曲线, 称为快速光响应曲线(rapid light curves, RLCs), 类似于以光合放氧为基础的曲线。RLCs 由一组上升的光强梯度组成, 通过叶绿素荧光技术进行测定, 其中每个光强梯度

一般不超过 60 s, 整个过程不超过 10 min, 因此适用于快速变化的光场^[12]。RLCs 能够反映光合生物的长期或短期的光适应情况, 因此 RLCs 在野外调查中已经有广泛的应用, 在大型海藻^[13], 底栖微藻^[14]和珊瑚^[15]等底栖生物的调查均起到重要的作用。但 RLCs 的测定中存在内生的光适应, 能够改变叶绿素 a 荧光的激发, 进而导致 ETR 测定产生偏离。如初始 PSII 电子受体醌受体 A(Q_A)的氧化或 NPQ 在 RLCs 测定过程中产生光适应, 影响了荧光的测定, 甚至由于过高的 NPQ 导致曲线不饱和情况。Perkins 等^[16]提出用反序的光强梯度, 即光强下降的顺序用于底栖硅藻的 RLCs 测定, 能一定程度降低内生光合作用变化的影响, 更为真实的反映实际光合作用状态。非序光曲线(non-sequence light curves, N-SLCs)是每一个光梯度均用单独的, 未经任何测定的样品进行测定光曲线, 并且光梯度的测定无需按照顺序进行测定^[16-17]。由于每一个光梯度的样品均是独立的, 能基本去除内生光适应效应。

本研究目标是优化 RLCs 程序, 减少 RLCs 内生偏差, 改善 RLCs 技术在底栖甲藻的应用。*Coolia*

收稿日期: 2019-05-05; 修回日期: 2019-10-15

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(41706126)

[Foundation: National Natural Science Foundation of China, No.41706126]

作者简介: 黄凯旋(1982-), 女, 广东海丰人, 硕士, 研究方向: 近海环境与赤潮生态, 电话: 020-85221562, E-mail: babyblue02@163.com; 吕颂辉, 通信作者, 教授, 电话 020-85222720, E-mail: lusonghui1963@163.com

(Ostreopsidaceae, Dinophyceae)是全球分布并具有潜在毒性的底栖甲藻,在我国亚热带海域广泛分布^[18]。本文选用 *Coolia tropicalis*, 通过不同光背景短期驯化的细胞, 分别测定不同光序列结构和不同光梯度时长的 RLCs, 对比 N-SLCs, 进而评估 RLCs 光曲线过程中诱导的快速光适应的积累和反序 RLCs 的可行性。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

藻种 *Coolia tropicalis* 分离自海南岛, 保种于暨南大学赤潮与海洋生物研究中心。细胞培养在 f/2 培养基加富的自然海水中, 培养温度为 25℃, 光强为 100 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ (12 h/12 h, 光暗周期), 光强度由光度计 QSI2100 (Biospherical Instrument Inc., USA)测定。取处于指数生长期的细胞进行后续实验。

1.2 实验方法

1.2.1 快速光响应曲线测定

60 mL 藻液分装在玻璃试管(高 20 cm, 半径 2 cm)中, 在 LED(150 W)下照射 60 min, 通过试管包裹不同层数的中性网获得不同光强(210, 350, 400, 500, 800, 1 000 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$), 其中 210 和 1 000 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 分别记作 LL 和 HL 用于显示的 RLCs 曲线和 NPQ 诱导曲线结果。照射期间, 由循环水控温装置 CA-1111(EYELA, Japan)进行控温(25℃)。取 1 mL 样品于 2 mL 棕色离心管中黑暗 15 min, 随后测定快速光响应曲线。

使用浮游植物分析仪 Phyto-PAM(Walz, Germany)对叶绿素荧光进行测定, 共设置 64, 164, 264, 464, 664, 864, 1 264, 1 664 和 2 064 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 9 个光化光步数, 每个光化光步长(即照射时间)为 10, 30 或 60 s, 光化光序列采用 3 种序列, (1)正序(Up), 即光化光强度从低到高顺序; (2)反序(Down), 即光化光强度从高到低顺序; (3)非序(NS), 即每个光化光强度均由单独的样品进行测定, 不存在先后顺序。每个序列 3 个重复, 由 3 次独立实验完成。

1.2.2 叶绿素荧光参数

每一个光化光强度, 有效光化学效率(Yield')由调制式饱和脉冲技术测定。200 ms、4 000 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 饱和脉冲能够将光系统 II(PSII)受体侧完全处于还原态, 诱导实时荧光(F')升高至最大荧光(F'_m):

$$\text{Yield}'=(F'_m-F')/F'_m, \quad (1)$$

Phyto-PAM 提供 4 个波段的 Yield', 选取波段 470 nm(由于甲藻含有叶绿素 c 和类胡萝卜素, 520 nm 同样也激发)的 Yield'值用于计算相对电子传递速率(rETR):

$$\text{rETR}=1/2\times\text{PAR}\times\text{Yield}', \quad (2)$$

式中 1/2 代表两个光系统平分一个光子, PAR 为光化光强度。

非光化学淬灭(NPQ)计算公式为:

$$\text{NPQ}=F'_{m\max}/F'_m-1, \quad (3)$$

硅甲藻黄素-硅藻黄素色素循环依赖的 NPQ 在黑暗中依旧能够维持黑暗 NPQ 如通过叶绿体呼吸(chlororespiration)途径。暗适应测定的最大荧光产量 F'_m 不能够体现真实值。因此 NPQ 计算用 RLCs 中的最大荧光产率 $F'_{m\max}$ 替代 F'_m ^[16]。

Phyto-PAM 一个 Gain 水平上最高记录 1 870 units, F'_m 或 $F'_{m\max}$ 超过 1 870 units 都记录为 1 870 units; 而在 RLCs 诱导过程中, F'_m 信号低于 100 units 则会出现过载。因此, 过高或过低的 F' 信号都会导致 NPQ 值出现偏差。根据藻种的特性, 通过 Gain 的调整, 获得大约 500~600 units, F' 信号可避免上述情况的发生。

1.3 统计分析

根据文献^[19], RLCs 由公式(5)进行拟合。

$$\text{rETR}=P_s\times(1-\exp(-\alpha\times I/P_s))\times\exp(-\beta\times I/P_s), \quad (4)$$

式中 P_s 是与最大相对电子传递速率(rETR_{\max})相关参数, I 为光化光强度, α 为初始斜率, β 为抑制率。

$$\text{当 } \beta=0 \text{ 时, } \text{rETR}_{\max}=P_s, \quad (5)$$

$$\text{当 } \beta>0 \text{ 时, } P_s>\text{rETR}_{\max}, \text{rETR}_{\max}=P_s\times(\alpha/(\alpha+\beta))\times(\beta/(\alpha+\beta))^{(\beta/\alpha)}, \quad (6)$$

E_k 为半饱和光强(light saturation coefficient, $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$),

$$E_k=\text{rETR}_{\max}/\alpha, \quad (7)$$

数据由 SPSS16.0 的 One-way Anova 的 Tukey 或 Duncan 法进行统计分析, $P<0.05$ 为显著。

2 结果

2.1 快速光响应曲线

如图 1 所示, 在 LL(210 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)和 HL(1000 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)光强条件驯化下, 非序和反序 RLCs 分别在光强 664 和 864 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 之后出现了光饱和或光抑制, 而正序 RLCs 并未出现光饱和或光抑制点。各 RLCs 序列的 30 s 和 60 s 的 rETR 之间无显著差异($P>0.05$), 二者均显著高于 10 s 的 rETR(HL 的反序 RLCs 除外)($P<0.05$)。

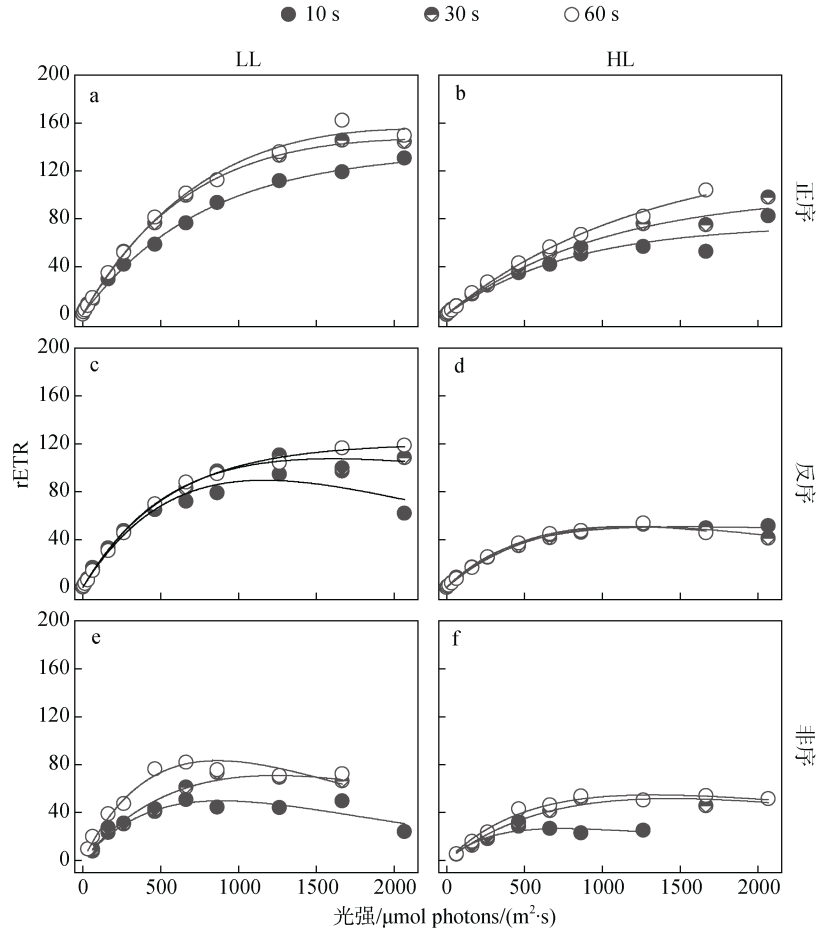


图 1 步长和光序列对 RLCs 的影响

Fig. 1 Impact of light duration and sequence on rapid light curves

巧合的是, HL 驯化下的反序和非序 RLCs 在 30 s 和 60 s 的曲线几乎重合(图 1 d, f)。

2.2 光合生理参数

对从 6 种光背景处理的光曲线所得出的 α , $rETR_{max}$ 和 E_k 进行趋势比较(图 2)。非序 RLCs 的 α 总体趋势呈现随光强的升高而降低, 其中 60 s 的显著高于 10 s 和 30 s 的($P < 0.05$)(图 2 a, b, c)。反序和正序 RLCs 的 α 值高于非序 RLCs($P < 0.05$), 并且在同一步长下表现相似的趋势。其中 10 s 的趋势与 30 s 和 60 s 的不同, 呈现出随光强升高而先升高后降低的趋势, 且反序 RLCs 的 α 显著高于正序($P < 0.05$)。

三种序列的 $rETR_{max}$ 值的排序为: 正序 RLCs > 反序 RLCs > N-SLCs ($P < 0.05$)。非序 RLCs 的 $rETR_{max}$ 也随着光强的升高而降低, 其中 10 s 的显著低于 30 s 和 60 s 的($P < 0.05$)(图 2 d, e, f)。正反序 RLCs 的 $rETR_{max}$ 趋势为随光强升高先轻微上升后下降。步长为 30 s 和 60 s 的正反序 RLCs 的 $rETR_{max}$ 无显著差异

($P > 0.05$), 且均高于 10 s ($P < 0.05$)。

三种序列 RLCs 的 α 和 $rETR_{max}$ 总体而言的趋势是相似的, 但由 $rETR_{max}/\alpha$ 所得出的 E_k 趋势出现分化(图 2 g, h, i)。30 s 和 60 s 正序 RLCs 的 E_k 随光强升高而升高, 与 10 s 的趋势相反。非序和反序 RLCs 的 E_k 在光化光超过 $500 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 呈现下降趋势(10 s, LL 反序 RLCs 结果除外, 图 2 g), 在此之前维持不变或上升趋势。

2.3 NPQ 动力曲线

NPQ 动力曲线受到序列方式和步长的影响。其中反序 RLCs 的曲线与正序和非序完全不同, 其存在 3 个阶段的变化: 第一阶段为光强降低, 但光强较强足以诱导 NPQ, 呈现 NPQ 随光强降低而升高; 第二阶段为光强继续降低, 当光强不足以维持最大 NPQ 时, NPQ 随光强降低而降低; 第三阶段为由于叶绿体呼吸在低光强下 NPQ 重新上升。由于 HL 驯化下的 NPQ 所需诱导的光强强度更低, 所以曲线并未显示

出第二阶段(图 3 d)。正序和非序 RLCs 的 NPQ 均呈现随光强升高而升高的趋势,但正序 RLCs 的 NPQ 上升速度远高于非序 RLCs。

正序 RLCs 在高光强部分的 NPQ 显著高于反序和非序的($P < 0.05$)。正序 RLCs 的 NPQ 在光强 2 064 μmol

$\text{photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时达到最大,比较三种序列在此光强的 NPQ,正序 RLCs 步长 10 s, 30 s 和 60 s 的 NPQ 在 LL 下分别为反序的 2.86, 3.05 和 3.03 倍,是非序的 3.21, 3.21 和 4.11 倍;在 HL 下为反序的 1.64, 3.74 和 3.25 倍,是非序的 5.74, 8.96 和 13.06 倍。

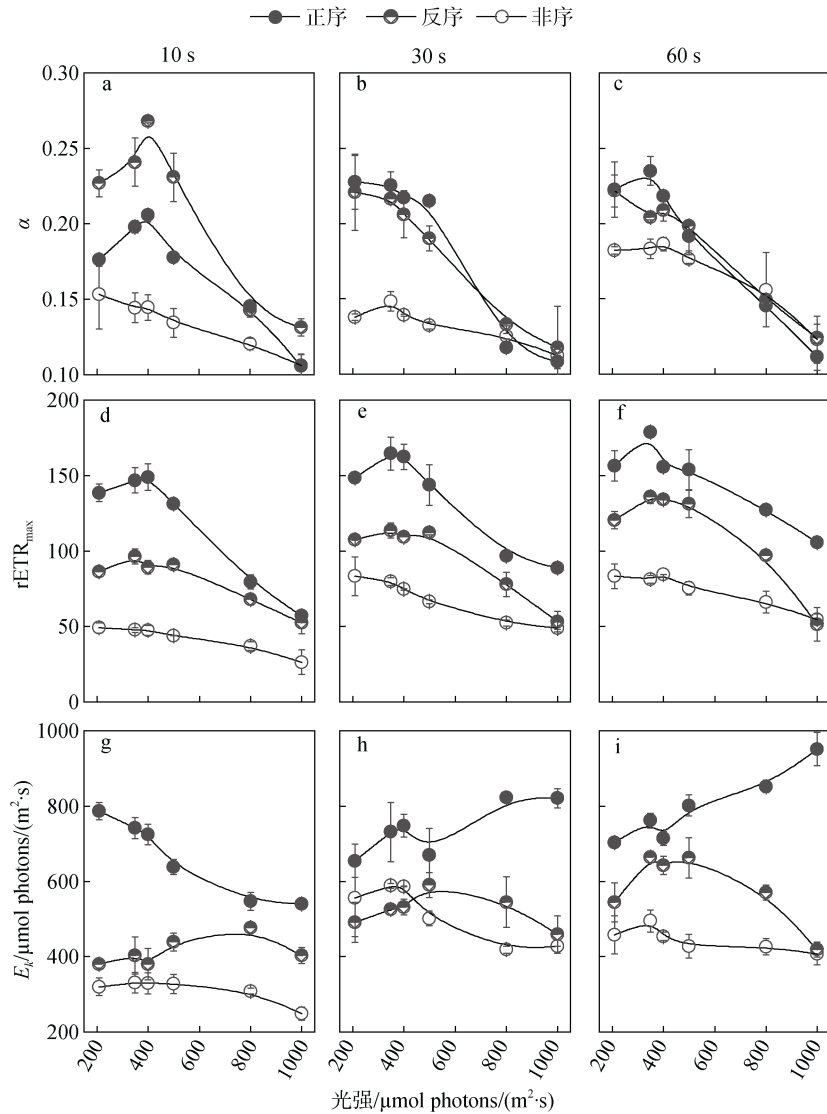


图 2 步长和光序列对光合参数的影响

Fig. 2 Impact of light duration and sequence on the parameters of RLC

3 讨论

本文设置在不同光背景驯化下,对不同光序和步长的光曲线进行比较,目的是探究 RLC 曲线中内在光适应是否会影响底栖甲藻的叶绿素荧光的测定,进而改变 RLCs 的结果以及由此衍生的光合生理参

数。而这些结果牵涉到两个光适应阶段:一是 RLCs 测定前的不同光背景驯化所导致的光适应,也正是光曲线所测定的光适应类型;二是在 RLC 期间的光适应,而这是 RLCs 技术应当避免的。因此,如果假设成立,为更好反映光背景下的光适应,减小 RLCs 期间内部光适应是必要的。

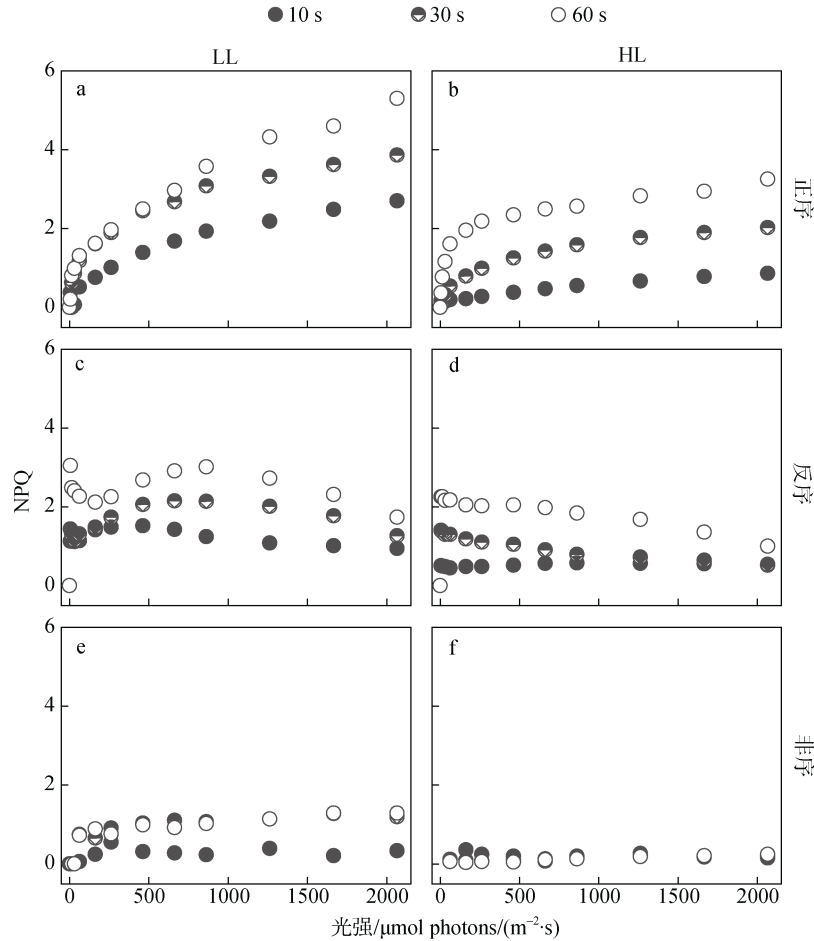


图3 步长和光序列对 NPQ 动力学曲线的影响

Fig. 3 Impact of light duration and sequence on NPQ kinetic curves

3.1 NPQ 的影响因素与对光曲线的影响

NPQ 是底栖光合生物重要的光保护机制之一，同时也是对光环境适应的必要途径^[20]。基于 NPQ 的特性，是依靠光照所造成的类囊体质子梯度的构建来驱动叶黄素循环进行热能耗散。测定 RLCs 期间光化光的照射不可避免的诱导 NPQ 的产生，而 NPQ 在序列内的强弱决定了序列内光适应程度^[21]。

NPQ 的强弱受到步长和光化光序列方式影响。步长的延长会导致 NPQ 的升高，依照最小化序列内光适应的原则，步长应尽可能的短暂，但同时需要考虑其他的因素。步长为 10 s 会造成正反序 RLCs 的 $rETR_{max}$ 和 E_k 的低估。在 phyto-PAM 参数设定优化中， $rETR_{max}$ 和 E_k 基本在 30 s 达到稳定，与本文的结果基本一致^[22]。此外，在反序 RLCs 中使用步长 10 s 时，由于前序 NPQ 累积和叶绿体呼吸导致 NPQ 的上升，造成 α 的高估(图 2a)。因此推荐使用步长 30 s 进行 RLCs 测定。

采用非序 RLCs 的方式，每个光化光的 NPQ 均由独立的样品测定，可获得最小 NPQ 强度和无序列内光适应，较为真实的反映光驯化下的光适应。因此可将其结果作为标准对正反序 RLCs 的结果进行比较。正序 RLCs 的 NPQ 由于连续光化光的刺激，上升速度远高于非序 RLCs。在非序 RLCs 已经达到光饱和或光抑制光强时，正序 RLCs 由于已累积较高 NPQ 值，使得 $rETR$ 能够继续上升，造成曲线的不饱和。反序 RLCs 的 NPQ 由于在高光强部分没有前序累积，处于较低的数值，比如在 2 064 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时为正序 RLCs 的 1/3 左右。因此曲线有光饱和或光抑制的体现，并且在 HL 的 30 s 和 60 s 时几乎与非序 RLCs 重合。因此，反序 RLCs 在控制 RLCs 序列内光适应和反映光背景驯化的光适应方面优于正序 RLCs。

3.2 光合生理参数对光适应的反映

由光曲线获得光合作用参数已经在多种光合生物

的野外和室内研究中用于反映短期或长期的光适应状态^[15, 23]。*C. tropicalis* 在低于 500 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时的 α 和 rETR_{max} 基本维持不变甚至呈现上升趋势, 当光强超过 500 光强时, α 和 rETR_{max} 均呈现下降趋势。 α 为光利用效率, 为光捕获系统向光反应中心 PSII 传递光能的比率; 而 rETR 和卡尔文循环有着密切的联系, rETR_{max} 可反映卡尔文循环的最大能力^[24]。Pniewski 等^[25]利用 RLCs 技术在底栖微藻的调查中观察到长期适应低光环境的细胞在高光强下 α 和 rETR_{max} 均下降; 而长期接触高光环境的细胞在高光条件下 rETR_{max} 仍能够升高。比较本研究的结果, 说明了 *C. tropicalis* 在一定光强范围内能够提升卡尔文循环来加速电子的传递, 但过高的光强在 1 h 光驯化中超出最适范围, 甚至可能存在光抑制。在反序和非序 RLCs 步长 30 s 和 60 s 结果中, 当驯化光强低于 500 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时 E_k 维持不变或上升趋势, 其值在 450~650 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 范围之内; 而超过 500 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 之后呈现下降趋势。 E_k 反映细胞的最大最适光强, 这一趋势和数值均与上述的结论相一致。但在 30 s 和 60 s 正序 RLCs 中, E_k 随驯化光强升高而升高, 且其值也远超反序和非序 RLCs 的结果, 存在严重的高估。

4 结论

普通正序 RLCs 在反映底栖甲藻 *C. tropicalis* 的光合状态时, 由于测定序列内 NPQ 的快速累积, 造成曲线的不饱和和光合参数 E_k 的高估。采用反序 RLCs 可减缓序列内 NPQ 的累积问题, 尤其在高光化光部分。曲线结果可观察到光饱和或光抑制, 反映光背景的光合参数趋势也与非序 RLCs 的结果基本一致。在反序 RLCs 中, 步长 10 s 时对 α 存在高估, 而对 rETR_{max} 和 E_k 的低估, 在步长 30 s 时各项参数基本达到稳定。在今后底栖甲藻的光合生理研究中, 如 RLCs 出现曲线不饱和现象, 可考虑采用 30 s 反序 RLCs 进行测定。

参考文献:

- [1] Hoppenrath M, Murray S A, Chomérat N, et al. Marine Benthic Dinoflagellates-Unveiling their Worldwide Biodiversity[M]. Stuttgart: Schweizerbart, 2014: 1-276.
- [2] Cohu S, Lemée R. Vertical distribution of the toxic epibenthic dinoflagellates *Ostreopsis* cf. *ovata*, *Prorocentrum lima* and *Coolia monotis* in the NW Mediterranean Sea[J]. Cahiers de Biologie Marine, 2012, 53(3): 373-380.
- [3] Patil J S, Rodrigues R V, Paul P, et al. Benthic dinoflagellate blooms in tropical intertidal rock pools: elucidation of photoprotection mechanisms[J]. Marine Biology, 2017, 164(89): 1-19.
- [4] Jahns Peter, Holzwarth A R. The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2012, 1817(1): 182-193.
- [5] Lavaud J, Rousseau B, Van Gorkom H J, et al. Influence of the diadinoxanthin pool size on photoprotection in the marine planktonic diatom *Phaeodactylum tricoratum*[J]. Plant Physiology, 2002, 129(3): 1398-1406.
- [6] Goss R, Pinto E A, Wilhelm C, et al. The importance of a highly active and ΔpH -regulated diatoxanthin epoxidase for the regulation of the PS II antenna function in diadinoxanthin cycle containing algae[J]. Journal of Plant Physiology, 2006, 163(10): 1008-1021.
- [7] Serôdio S, Vieira S, Cruz S, et al. Short-term variability in the photosynthetic activity of microphytobenthos as detected by measuring rapid light curves using variable fluorescence[J]. Marine Biology, 2005, 146(5): 903-914.
- [8] Serôdio J, Vieira J, Cruz S, et al. Rapid light-response curves of chlorophyll fluorescence in microalgae: relationship to steady-state light curves and non-photochemical quenching in benthic diatom-dominated assemblages[J]. Photosynthesis Research, 2006, 90(1): 29-43.
- [9] Dimier C, Corato F, Tramontano F, et al. Photoprotection and xanthophylls-cycle activity in three marine diatoms 1[J]. Journal of Phycology, 2007, 43(5): 937-947.
- [10] Grouneva I, Jakob T, Wilhelm C, et al. A new multi-component NPQ mechanism in the diatom *Cyclotella meneghiniana*[J]. Plant and Cell Physiology, 2008, 49(8): 1217-1225.
- [11] Beer S, Vilenkin B, Weil A, et al. Measuring photosynthetic rates in seagrasses by pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry[J]. Marine Ecology Progress Series, 1998, 174: 293-300.
- [12] Ralph P J. Rapid light curves: a powerful tool to assess photosynthetic activity[J]. Aquatic Botany, 2005, 82(3): 222-237.
- [13] Kim J H, Kang E J, Park M G, et al. Effects of temperature and irradiance on photosynthesis and growth of a green-tide-forming species (*Ulva linza*) in the Yellow Sea[J]. Journal of Applied Phycology, 2011, 23(3): 421-432.
- [14] Cruz S, Serôdio J. Relationship of rapid light curves of variable fluorescence to photoacclimation and non-photochemical quenching in a benthic diatom[J]. Aquatic Botany, 2008, 88(3): 256-264.

- [15] Warner M E, Berry-Lowe S. Differential xanthophyll cycling and photochemical activity in symbiotic dinoflagellates in multiple locations of three species of Caribbean coral[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2006, 339(1): 86-95.
- [16] Perkins R G, Mouget J L, Lefebvre S, et al. Light response curve methodology and possible implications in the application of chlorophyll fluorescence to benthic diatoms[J]. *Marine Biology*, 2006, 149(4): 703-712.
- [17] Herlory O, Richard P, Blanchard G F. Methodology of light response curves: application of chlorophyll fluorescence to microphytobenthic biofilms[J]. *Marine Biology*, 2007, 153(1): 91-101.
- [18] Leung P T Y, Yan M, Yiu S K F, et al. Molecular phylogeny and toxicity of harmful benthic dinoflagellates *Coolia* (Ostreopsidaceae, Dinophyceae) in a sub-tropical marine ecosystem: the first record from Hong Kong[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 124(2): 878-889.
- [19] Platt T, Gallegos C L. *Modelling primary production*[M]. Boston, MA: Springer, 1980: 339-362.
- [20] Blommaert L, Huysman M J J, Vyverman W, et al. Contrasting NPQ dynamics and xanthophyll cycling in a motile and a non-motile intertidal benthic diatom[J]. *Limnology and Oceanography*, 2017, 62: 1466-1479.
- [21] Raven J A, Geider R J. *Adaptation, acclimation and regulation in algal photosynthesis*[M]. Dordrecht: Springer, 2003: 385-412.
- [22] 张曼, 曾波. PhytoPAM 浮游植物分析仪用于微藻光合作用研究中几种参数设置的优化[J]. *植物生理学通讯*, 2007, 43(1): 148-152.
- Zhang man, Zeng bo. Optimal parameterization of PhytoPAM phytoplankton analyzer in microalgae photosynthesis analysis[J]. *Plant Physiology Journal*, 2007, 43(1): 148-152.
- [23] Ferrier-Pagès C, Richard C, Forcioli D, et al. Effects of temperature and UV radiation increases on the photosynthetic efficiency in four scleractinian coral species[J]. *The Biological bulletin*, 2007, 213(1): 76-87.
- [24] Salleh S, McMinn A, Mohammad M, et al. Effects of temperature on the photosynthetic parameters of antarctic benthic microalgal community[J]. *ASM Science Journal*, 2010, 4(1): 81-88.
- [25] Pniewski F F, Richard P, Latała A, et al. Long- and short-term photoacclimation in epipsammon from non-tidal coastal shallows compared to epipelon from intertidal mudflat[J]. *Journal of Sea Research*, 2018, 136: 1-9.

Application of optimized rapid light curves in the study of photoacclimation characteristics of benthic dinoflagellates

HUANG Kai-xuan, CHEN Heng, XU Shuai-shuai, LIU Sha-sha, LV Song-hui
(Research Center for Harmful Algae and Marine Biology, Jinan University, Guangzhou 510362, China)

Received: May 5, 2019

Key words: chlorophyll fluorescence; rapid light curves; benthic dinoflagellates; non-photochemical quenching; photosynthetic parameter

Abstract: To obtain a better understanding of the photoacclimation of benthic dinoflagellates under different light history, we compared the construction (up-, down-, and non-sequences) and duration (10s, 30s, and 60s) of rapid light curves (RLCs) to reflect the photosynthetic status of the benthic dinoflagellate, *Coolia tropicalis*, under six gradients of light history. Results demonstrated that curves with up-sequence failed to saturate, and their maximal rETR (rETR_{max}) and light saturation coefficient (E_k) were overrated due to non-photochemical quenching rapidly accumulating during the sequence. In contrast, curves obtained using the durations of 30s and 60s with down- and non-sequences exhibited saturation or photoinhibition, and their parameters showed similar trends under six light gradients. Therefore, a duration of 30s with down-sequence RLCs can be used for the photosynthetic study of benthic dinoflagellates.

(本文编辑: 康亦兼)