

鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)对邻苯二甲酸二甲酯(DMP)胁迫的响应*

吕 芳^{1,2} 丁 刚^{1,3} 王翔宇^{1,2} 房 慧¹ 吴海一^{1,2①}

(1. 山东省海洋生物研究院 青岛 266104; 2. 青岛市大型海藻工程技术研究中心 青岛 266104;
3. 山东省海水健康养殖工程技术研究中心 青岛 266104)

摘要 邻苯二甲酸二甲酯(dimethyl phthalate, DMP)是近海环境有机污染物之一, 不仅对海洋生物造成毒害, 且能在生物体内富集和放大, 对海洋生态系统形成严重威胁。本文以鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)为研究对象, 通过测定比生长速率、叶绿素 *a* 含量、光合和呼吸速率、光合基因 *rbcL* 转录水平上的相对表达量等指标, 研究了鼠尾藻对不同浓度 DMP 的响应。结果表明, 低浓度的 DMP(0.1mg/L)短时间内(≤ 15 d)能促进鼠尾藻的生长和叶绿素 *a* 的合成, 并使藻体的光合作用增强, 诱导光合基因 *rbcL* 的表达, 而在高浓度 DMP(≥ 0.3 mg/L)的作用下, 鼠尾藻的生长速率、光合和呼吸速率、*rbcL* 基因的表达量均随着暴露时间的延长呈明显下降趋势, 且 DMP 浓度越高, 降幅越大。以上研究结果对了解 DMP 对鼠尾藻胁迫的影响机制奠定了基础, 为保护海洋经济藻类的养殖环境提供了理论依据。

关键词 鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*); 邻苯二甲酸二甲酯(DMP); 叶绿素 *a*; 光合放氧速率; 呼吸速率; *rbcL*

中图分类号 S917.3

doi: 10.11693/hyh20160900192

有机物是近海环境的主要污染物之一, 这类污染物难以降解、易于积蓄, 对海洋生物造成毒害, 使一些海洋水产资源受到严重影响(颜天等, 2000; Chen *et al.*, 2005)。藻类作为海洋环境中的初级生产者, 是生态系统中物质循环和能量流动的重要基础, 其生长和代谢会直接受到有机污染物的影响, 进而影响到初级消费者和次级消费者的生命活动。因此, 研究藻类对有机污染物的响应, 有助于揭示有机污染物对整个生态系统造成的威胁, 为解决海洋环境的污染问题提供科学依据。

邻苯二甲酸酯类(phthalate esters, PAEs)是海洋中主要的有机污染物之一, 对人和动物具有致癌、致畸、致突变和干扰内分泌等毒性(Kasahara *et al.*, 2002), 对水生生物(如浮游动物、鱼类、藻类)的生长和繁殖

产生影响(Rhodes *et al.*, 1995; 况琪军, 2003; Chen *et al.*, 2005; 余江等, 2007), 且能在生物体内富集和放大(迟杰等, 2005; 聂湘平等, 2008), 其中邻苯二甲酸二甲酯(dimethyl phthalate, DMP)、邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate, DBP)和邻苯二甲酸二异辛酯[Di(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP]被我国列为环境优先控制污染物(陈济安, 2007)。因此 PAEs 对海洋环境的污染日益引起学者的重视。

国内外在有机污染物对大型海藻生理生化特征的影响方面已有一些报道, 主要集中在色素、蛋白及抗氧化防疫指标的测定方面(李钦等, 2004; 吴志辉等, 2006; Yu *et al.*, 2007)。对于大型海藻, 光合生理特征的变化是衡量其生长状况的一个首要指标, 但目前关于有机污染物对大型海藻光合生理特征以及关键

* 国家自然科学基金项目, 41306122 号; 海洋公益行业科研专项经费项目, 201405040 号, 201505022 号; 山东省优秀中青年科研奖励基金项目, BS2012HZ013 号。吕 芳, 助理研究员, 博士, E-mail: lvfang8254@163.com

① 通讯作者: 吴海一, 副研究员, 博士, E-mail: wuhaiyi1997@163.com

收稿日期: 2016-09-07, 收修改稿日期: 2016-11-18

基因表达变化的研究还较少。

鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)是我国沿海常见的经济海藻,其藻体长、生长快、适应环境能力强,可用于提取褐藻胶、甘露醇、碘等工业原料以及褐藻多酚、多糖等活性物质,而且是海洋生态环境修复的理想生物材料(詹冬梅等, 2006; 吴海一等, 2010),具有广泛的应用前景。本试验以鼠尾藻为研究对象,选取海洋环境中常见的有机污染物 DMP 为代表,研究鼠尾藻对 DMP 的响应,以期为保护海洋经济藻类的养殖环境提供评价指标和管理依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

鼠尾藻采自青岛市太平湾潮间带(36°05'N, 120°35'E)。采集的藻体用低温采集箱运回实验室,海水反复清洗去除泥沙及杂质后,置于温度 15°C,光照 1000lx 的恒温光照培养箱中充气培养,5 天后用于实验。选取生长健壮、形态较一致、长度在 4—5cm 的个体用于实验。

1.2 实验方法

实验培养基质是加 DMP 的过滤海水, DMP 浓度设为 0.1mg/L(低)、0.3mg/L(中)、1.0mg/L(高)三个梯度,以天然海水加等量的丙酮作为对照组。

实验在容积为 3000mL 的三角瓶中进行,每个三角瓶装 2000mL 培养液。每个实验处理组设置 3 个重复,每个重复放置 15 株藻体。实验在温度 15°C、光周期 12h : 12h、光照强度 3000lx 的恒温光照培养箱内充气进行,每天更换培养液。于实验开始后的第 3、5、10、15 天取样测定鼠尾藻的比生长速率、叶绿素 *a* 含量、光合放氧速率和呼吸速率、*rbcL* 基因的表达量等指标。

1.3 比生长速率的测定

比生长速率(relative growth rate, RGR)的计算公式如下:

$$RGR = [(W_t/W_0)^{1/t} - 1] \times 100,$$

式中 W_t 为实验中期或结束时藻体鲜重(g), W_0 为实验

开始时藻体鲜重(g), t 为培养时间(d)。

1.4 叶绿素 *a* 含量的测定

参照 Jeffrey 等(1975)与王丽梅(2011)的方法测定。将藻体在液氮中研磨成匀浆状,加入 8mL 80%丙酮于 4°C 黑暗处抽提 12h。4000r/min, 4°C 离心 15min,弃沉淀,上清用 80%丙酮定容至 10mL。以 80%丙酮作为空白对照,通过分光光度计测定 639、647 和 664nm 处的光密度值。重复 3 次以上,计算平均值。叶绿素 *a* 的浓度($C_{chl\ a}$)按照公式 $C_{chl\ a} = 11.85 \times OD_{664} - 1.54 \times OD_{647} - 0.08 \times OD_{639}$ 计算,单位为 mg/L。最后根据稀释倍数计算每克鲜重藻体中的色素含量,单位为 mg/g。

1.5 光合放氧速率和呼吸速率的测定

采用氧电极(Chlorolab-3, Hansatech, 英国)测定藻体的光合放氧速率和呼吸速率。测定反应杯的环境温度为 20°C。光照强度选择预实验测定的饱和光强 300μmol/m²·s, 光合速率表示为每单位鲜重藻体的放氧速率(nmolO₂/min·gFW), 呼吸速率表示为每单位鲜重藻体的耗氧速率(nmolO₂/min·gFW), 以净光合放氧速率与呼吸耗氧速率之比获得 *P/R* 的值。

1.6 *rbcL* 基因 mRNA 相对表达量的测定

以 E.Z.N.A.TM Plant RNA Kit(Omega Biotek)提取待测藻体的总 RNA, 以 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit 参照说明书反转录合成 cDNA 第一链。以 18S rRNA 作为内参基因, 设计特异性扩增引物(表 1), PCR 反应在 CFX96 实时荧光定量 PCR 检测系统(Bio Rad, USA)中进行, 所有反应均设置 3 个重复, 反应条件如下: 95°C 预变性 10min; 95°C 处理 10s, 58°C 处理 30s, 40 个循环; 应用 CFX96 Manager 软件分析实验数据。以自然海水中生长的藻体作为参照, 用 ΔΔCT 法(Livak *et al*, 2001)计算待测组藻体 *rbcL* 基因的相对表达量。

1.7 数据分析

所得数值以平均值±标准误差表示。显著性差异用单因素方差分析, 分析软件为 SPSS 13.0, 当 $P < 0.05$ 时为显著性差异。

表 1 荧光定量 PCR 的引物
Tab. 1 The primers for real-time quantitative PCR

基 因	GB 序列号	引物名	序 列 (5'→3')	扩增长度
18S rDNA	DQ666483	18sF	TGATTAGACCGAAACCAATGC	104bp
		18sR	GGCAGAAACTTGAATGAAACG	
<i>rbcL</i>	JQ807790	<i>rbcL</i> F	TCTACCGAGCGAAAGCATATC	107bp
		<i>rbcL</i> R	TGCAAGAGAACCTTCCTCAA	

2 结果与分析

2.1 比生长速率

如图 1 所示,当鼠尾藻暴露在不同质量浓度的 DMP 溶液时,对照组藻体的比生长速率在实验期间没有显著变化($P>0.05$),低浓度 DMP(0.1mg/L)下藻体的生长速率在实验前 5 天内显著升高,然后逐渐下降,至 15d 时已显著低于对照组($P<0.05$)。而中、高浓度 DMP 下藻体的生长在实验期间均呈负增长,且 DMP 浓度越高,藻体的生长速率越低。

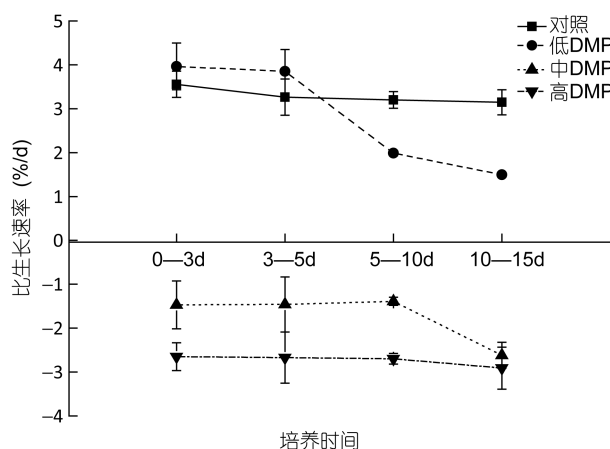


图 1 DMP 处理下鼠尾藻的比生长速率

Fig. 1 The effects of DMP on the specific growth rate of *Sargassum thunbergii*

2.2 叶绿素 a 的含量

鼠尾藻在低浓度 DMP 中,藻体的叶绿素 a 含量随着暴露时间的延长呈明显的上升趋势,至 15d 时,较对照组上升了 28.4%;但在中、高浓度 DMP 中时,叶绿素 a 含量随着培养时间的延长呈明显的下降趋势,且 DMP 浓度越高,叶绿素 a 的含量越低,至培养 15d 时,中、高质量浓度 DMP 下的叶绿素 a 含量较对照组分别下降了 17.9%、22.8%(图 2)。

2.3 光合放氧速率和呼吸速率

从图 3 的比较中可以看出,对照组藻体的光合放氧速率、呼吸速率和 P/R 值没有明显变化,而不同 DMP 浓度处理下却呈现差异性。低浓度 DMP 组藻体培养 3d 后的光合放氧速率和 P/R 都显著高于对照组($P<0.05$),而呼吸速率与对照组间差异不显著($P>0.05$)。中、高浓度 DMP 处理下藻体的光合放氧速率明显下降,在培养 15d 后,较对照组分别下降了 69%和 92.8%,而呼吸速率在培养 3d 时无显著变化,随后逐渐下降, P/R 值在培养期间持续下降,且 DMP

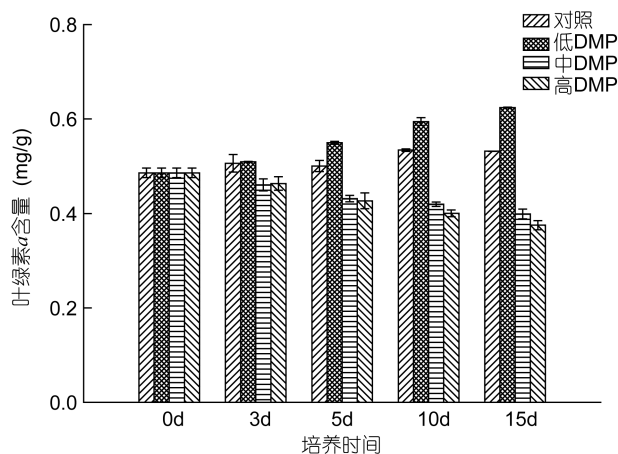


图 2 DMP 对鼠尾藻叶绿素 a 含量的影响

Fig. 2 The effects of DMP on chlorophyll a content of *S. thunbergii*

浓度越高,降幅越大,至 15d 时较对照组分别下降了 66.2%和 92.1%。

2.4 *rbcL* 基因相对表达量的变化

如图 4 所示,对照组 *rbcL* 基因的表达量无显著变化,低浓度 DMP 组 *rbcL* 基因的表达量却随着培养时间逐渐升高,15d 时升至对照组的 1.6 倍;与此同时,中、高浓度 DMP 组 *rbcL* 基因的表达量均显著下降,15d 时仅为对照的 38.4%和 17.4%。

3 讨论

3.1 不同 DMP 浓度对鼠尾藻生长的影响

本研究结果表明,有机污染物 DMP 对鼠尾藻生长的影响表现为浓度和作用时间的相关性。低浓度 DMP(0.1mg/L)下鼠尾藻生长情况良好,生物量随培养时间的增加而逐渐变大,表明低浓度的 DMP 对鼠尾藻不但没有毒害作用,反而有促进作用。而高浓度的 DMP(≥ 0.3 mg/L)则明显抑制鼠尾藻的生长,且随着 DMP 浓度的升高和暴露时间的推移,藻体的新陈代谢受到抑制,藻细胞开始衰退甚至死亡,藻体表现出发黄、发白、脱落等表观性状。余江等(2007)在龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)对 DMP 毒性响应的研究中也发现,低浓度的 DMP(0.1mg/L)对龙须菜有促进作用,而 DMP 浓度超过 0.3mg/L 时表现明显的抑制作用。此外,在其他一些种类的有机污染物对藻类毒性的研究中,也发现了同样的现象(李钧等, 2000; 李钦等, 2004),因此这可能是普遍存在的一种毒理学现象。

目前,有机污染物对藻类产生毒性的机理还没

有统一的定论。关于较低浓度污染物对藻类产生促进作用的原因, 学者们普遍认可的一种解释是生物具有一种“毒物的兴奋效应”(Hormesis), 是其自我保护的一种机制(Stebbing, 1982)。产生的机制可能是: (1)低浓度的有机污染物激活了藻细胞内一些相关酶的活性, 因而促进了藻类的代谢; (2)有机物对藻类的毒害和藻类降解有机污染物两个过程同时存在, 在浓度较低时降解过程占主导地位, 因而在整体上表现为降解(Chi *et al*, 2004; 迟杰等, 2005; Gao *et al*,

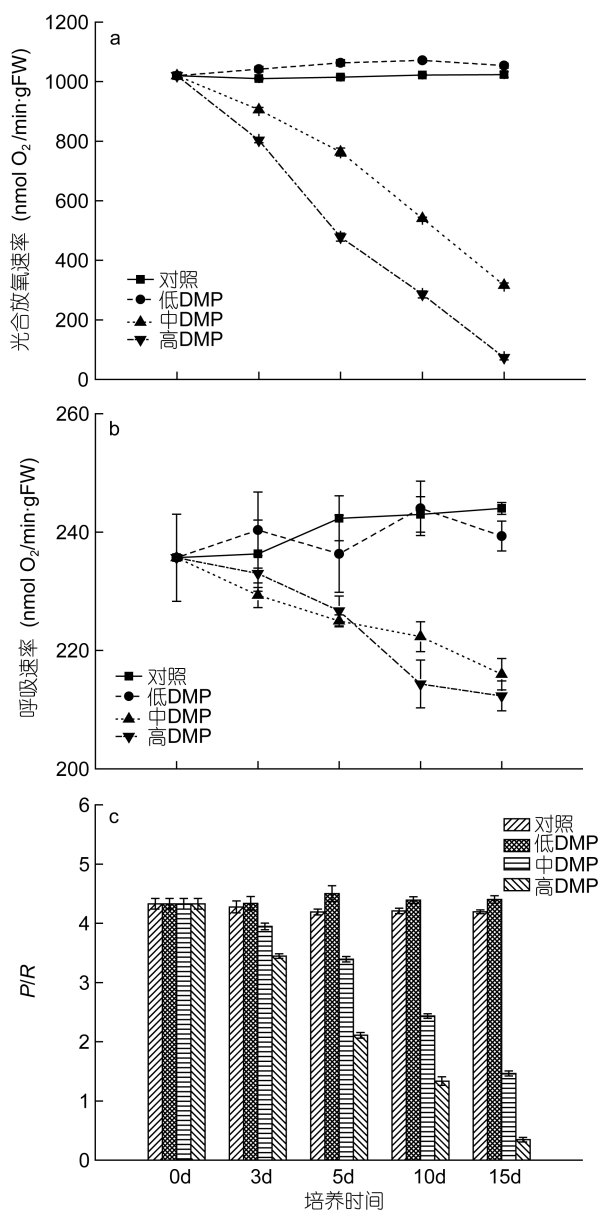


图3 DMP处理下鼠尾藻藻体的光合放氧速率(a)、呼吸速率(b)和P/R(c)的比较

Fig. 3 The effects of DMP on the oxygen exchange parameters of *S. thunbergii*

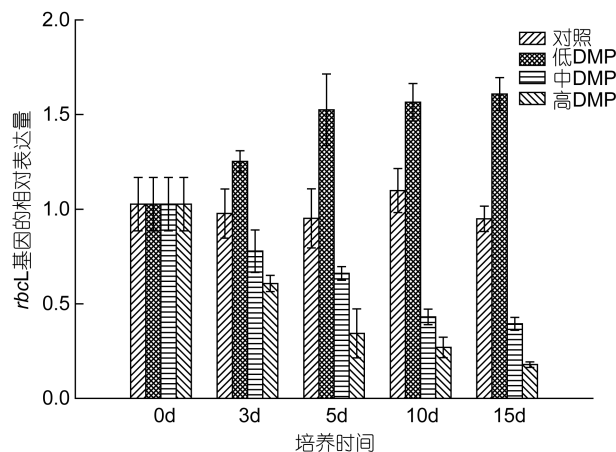


图4 DMP处理下 *rbcL* 基因在转录水平上相对表达量的变化

Fig. 4 The effects of DMP on the relative expression of *rbcL* gene at the transcriptional level of *S. thunbergii*

2015), 降解产物可作为促进藻类生长的营养源; (3)低浓度的有机污染物可以引起藻细胞脂质过氧化程度在一定范围的升高, 而此时脂质过氧化程度的升高并不引发对细胞的伤害, 反而具有刺激藻细胞生长繁殖的作用(谢荣等, 2000)。而高浓度有机污染物对藻类一般都有抑制作用, 本研究也进一步证实了这一结论。

3.2 不同 DMP 浓度对鼠尾藻光合作用的影响

高浓度有机污染物对藻类的毒性效应主要表现为抑制光合作用、呼吸作用和固氮作用, 降低酶的活性, 从而影响藻类的活性代谢和生理进程(李钧等, 2000; Yu *et al*, 2007; Liu *et al*, 2016)。叶绿素 *a* 是植物最重要的光合色素, 因此光合作用的强弱与植物体中叶绿素 *a* 的含量息息相关。李钦等(2004)对坛紫菜(*Porphyra haitannensis*)的研究表明 0.1mg/L 的甲胺磷可使叶绿素 *a* 的含量上升; 余江等(2007)对龙须菜的研究结果也表明 0.1mg/L DMP 作用下叶绿素 *a* 含量逐渐上升, 而高浓度的 DMP 则引起叶绿素 *a* 含量的降低。本文的研究结果也充分证实了这一点, 鼠尾藻暴露在 DMP 中叶绿素 *a* 含量变化表现为低浓度略升高而高浓度显著下降的趋势。在一定浓度 DMP 胁迫下, 叶绿素 *a* 含量的上升可能与低浓度 DMP 胁迫并未对藻的生长造成影响, 反而促进其生长有一定关系。而高浓度 DMP 作用下, 叶绿素 *a* 含量下降的原因可能是: (1)叶绿素 *a* 的合成受到抑制, Alberte 等(1977)研究发现, 逆境胁迫下叶绿素 *a* 含量降低的主要原因是叶绿体片层中捕光 chl *a/b*-Pro 复合体合成受到抑制; (2)已有的叶绿素 *a* 降解, 原因可能是 DMP

胁迫使一些叶绿素酶的活性增强, 因此促进了叶绿素 *a* 的分解或者 DMP 胁迫导致藻细胞中活性氧和自由基的催化合成, 进一步引起叶绿素 *a* 的降解。

从氧电极的检测结果来看(图 3), 低浓度 DMP 处理下藻体的光合放氧速率高于对照组($P < 0.05$), 而呼吸速率与对照组间差异不显著, 中、高浓度 DMP 处理下藻体的光合放氧速率迅速下降, 而呼吸速率在处理 3d 才出现下降趋势。这表明在藻细胞内, 叶绿体可能比线粒体更易受到 DMP 的毒害, 但这还需要进一步的实验证实。净光合放氧速率与净呼吸耗氧速率的比值 P/R 是衡量细胞代谢水平的有效参数(Humphrey, 1975), 它受众多因素影响, 如细胞生长状态(Ryther, 1955)、营养环境(McAllister *et al.*, 1964)等, 在正常藻体中这一比值约为 4 (Melis *et al.*, 2006)。本实验中正常藻体的 P/R 比为 4.3, 低浓度 DMP 下 P/R 值约为 4.4, 呈现出正常的光合能力, 且光合活性略微增强。而中、高浓度 DMP 处理 5d 后, P/R 值分别降为 3.4 和 2.1, 已显著低于正常值, 至 15d 时, P/R 值只有约 1.5 和 0.3(图 3), 表明此时藻体的光合作用已受到极大的破坏。

3.3 不同 DMP 浓度对鼠尾藻光合基因 *rbcL* 表达的影响

核酮糖-1, 5-二磷酸羧化酶/加氧酶(ribulose biphosphate carboxylase oxygenase, Rubisco)是植物体内重要的功能蛋白和储能蛋白, 是光合碳同化过程的关键限速酶, 对光合作用的研究有重要意义, 其亚基的编码基因 *rbcL* 的表达受植物生长发育状态和生长环境的影响。许建方(2013)研究了浒苔(*Ulva prolifera*)的 *rbcL* 基因在干出、不同盐度、不同光照强度和不同温度条件下的表达模式, 结果表明 *rbcL* 基因在干出过程中的表达量逐渐降低, 而在盐度稍高(45‰)或稍低(15‰)、强光和黑暗、高温和低温等胁迫处理时表达量都会升高, 但超过一定范围时, 表达量都会有所降低。Shao 等(2014)对海带(*Saccharina japonica*)的研究发现 *rbcL* 基因的表达是一种快速光响应模式, 光照下表达量上升, 而黑暗条件下表达量下降, 呈现昼夜变化的规律。对于大型海藻在温度、盐度、光照、营养盐等环境胁迫下光合作用的分子变化机制的研究不仅局限于此, 但是有关大型海藻对有机物胁迫的研究却多在生理水平上, 在分子水平的相关研究尚未见报道。

本实验用荧光定量 PCR 技术检测了鼠尾藻在不同浓度 DMP 作用下 *rbcL* 基因相对表达量的变化。从

本研究的结果(图 4)看, 低浓度的 DMP(0.1mg/L)可以在短时间内诱导 *rbcL* 基因的表达, 长时间暴露和高浓度 DMP 则抑制 *rbcL* 基因的表达。以上结果表明, DMP 作用下, *rbcL* 基因表达量与光合作用变化规律一致, 因此我们推测 DMP 对鼠尾藻光合作用产生影响的作用机制之一可能是影响 *rbcL* 基因的表达量, 从而对细胞中 Rubisco 酶的合成量产生影响, 使藻的光合作用发生变化。

以上结果可以看出, 有机物胁迫与温度、盐度、光照、营养盐等环境因子一样均可导致 *rbcL* 基因表达的变化, *rbcL* 基因的表达量与藻的生长状况有一定的相关性, 因此, *rbcL* 基因可以作为诊断大型海藻生长状况的潜在分子指标, 通过 *rbcL* 基因的表达量来评估大型海藻应对环境变化的响应特征, 这将为评价海洋经济藻类养殖环境的影响提供一种新的思路。

4 结论

水体有机物污染和藻类生长发育有明显的相关性, 即低浓度的 DMP 能促进鼠尾藻的生长和叶绿素 *a* 的合成, 并使藻体的光合作用增强, 诱导 *rbcL* 基因的表达, 而高浓度的 DMP 则抑制鼠尾藻的生长、光合作用和 *rbcL* 基因的表达。藻类对有机物胁迫的响应是多层次的, 既有生理生化方面的, 也有基因转录方面的, 并且这种调控在不同的藻类中可能不同。因此我们下一步将对大量藻种开展广泛研究, 用多项指标综合评价环境胁迫对藻类的潜在影响, 从而更有效地对水环境污染做出早期预警, 对藻类个体、种群、群落和生态系统造成的环境胁迫做出更准确的预测。

参 考 文 献

- 王丽梅, 李世国, 柴雨等, 2011. 鼠尾藻幼苗的室内培养及有性生殖同步化. 水产学报, 35(3): 395—404
- 许建方, 2013. 浒苔中 C_3 和 C_4 途径关键酶的研究. 国家海洋局第一海洋研究所硕士学位论文, 49—58
- 李钦, 魏凤琴, 陈纪新等, 2004. 甲胺磷、辛硫磷对坛紫菜叶状体的生理效应. 水产学报, 28(2): 221—224
- 李钧, 于仁诚, 李正炎等, 2000. 三苯基氯化锡(TPTC)对孔石莼光合作用及生长的影响. 海洋与湖沼, 31(4): 404—407
- 吴志辉, 杨宇峰, 聂湘平等, 2006. 酞酸酯对龙须菜的生态毒理研究. 海洋科学, 30(6): 46—50
- 吴海一, 詹冬梅, 刘洪军等, 2010. 鼠尾藻对重金属锌、铜富集及排放作用的研究. 海洋科学, 34(1): 69—74
- 余江, 杨宇峰, 2007. 龙须菜对邻苯二甲酸二甲酯(DMP)毒性的响应. 中山大学学报(自然科学版), 46(5): 88—92
- 况琪军, 赵文玉, 邓萍, 2003. DBP 对斜生栅藻及天然混合藻类致毒效应研究. 水生生物学报, 27(1): 103—105

- 迟 杰, 刘 华, 郎铁柱, 2005. 普通小球藻与 DBP 的相互作用. 环境科学与技术, 28(2): 26—28
- 陈济安, 邱志群, 舒为群等, 2007. 我国水环境中邻苯二甲酸酯污染现状及其生物降解研究进展. 癌变·畸变·突变, 19(3): 212—214
- 聂湘平, 李桂英, 吴志辉等, 2008. 4 种酞酸酯在龙须菜-篮子鱼食物链中的积累放大研究. 海洋科学, 32(1): 19—23
- 谢 荣, 唐学玺, 李永祺等, 2000. 丙溴磷影响海洋微藻生长机理的初步研究. 环境科学学报, 20(4): 473—477
- 詹冬梅, 李美真, 丁 刚等, 2006. 鼠尾藻有性繁育及人工育苗技术的初步研究. 海洋水产研究, 27(6): 55—59
- 颜 天, 李 钧, 李正炎等, 2000. 三苯基氯化锡对黑褐新糠虾的毒性效应. 海洋与湖沼, 31(5): 485—489
- Alberte R S, Thornber J P, 1977. Water stress effects on the content and organization of chlorophyll in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize. Plant Physiology, 59(3): 351—353
- Chen W L, Sung H H, 2005. The toxic effect of phthalate esters on immune responses of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) via oral treatment. Aquatic Toxicology, 74(2): 160—171
- Chi J, Liu H, Ji M, 2004. Interaction between DEHP and particulate in a eutrophic lake. Transactions of Tianjin University, 10(3): 167—170
- Gao J, Chi J, 2015. Biodegradation of phthalate acid esters by different marine microalgal species. Marine Pollution Bulletin, 99(1—2): 70—75
- Humphrey G F, 1975. The photosynthesis: respiration ratio of some unicellular marine algae. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 18(2): 111—119
- Jeffrey S W, Humphrey G F, 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae, and natural phytoplankton. Biochemie and Physiologie der Pflanzen, 167: 191—194
- Kasahara E, Sato E F, Miyoshi M *et al*, 2002. Role of oxidative stress in germ cell apoptosis induced by di(2-ethylhexyl) phthalate. Biochemical Journal, 365(3): 849—856
- Liu N, Wen F L, Li F M *et al*, 2016. Inhibitory mechanism of phthalate esters on *Karenia brevis*. Chemosphere, 155: 498—508
- Livak K J, Schmittgen T D, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods, 25(4): 402—408
- McAllister C D, Shah N, Strickland J D H, 1964. Marine phytoplankton photosynthesis as a function of light intensity: a comparison of methods. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 21(1): 159—181
- Melis A, Melnicki M R, 2006. Integrated biological hydrogen production. International Journal of Hydrogen Energy, 31(11): 1563—1573
- Rhodes J E, Adams W J, Biddinger G R *et al*, 1995. Chronic toxicity of 14 phthalate esters to daphnia magna and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Environmental Toxicology and Chemistry, 14(11): 1967—1976
- Ryther J H, 1955. The ratio of photosynthesis to respiration in marine plankton algae and its effect upon the measurement of productivity. Deep Sea Research, 2(2): 134—139
- Shao Z R, Liu F L, Li Q Y *et al*, 2014. Characterization of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and transcriptional analysis of its related genes in *Saccharina japonica* (Laminariales, Phaeophyta). Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 32(2): 377—389
- Stebbing A R D, 1982. Hormesis—the stimulation of growth by low levels of inhibitors. Science of the Total Environment, 22(3): 213—234
- Yu J, Yang C C, Yu R A *et al*, 2007. Toxic response of dimethyl phthalate (DMP) to *Gracilaria Lemaneiformis*. Electronic Journal of Biology, 3(4): 80—86

RESPONSE OF *SARGASSUM THUNBERGII* TO THE STRESS OF DIMETHYL PHTHALATE

LÜ Fang^{1,2}, DIND Gang^{1,3}, WANG Xiang-Yu^{1,2}, FANG Hui¹, WU Hai-Yi^{1,2}

(1. Marine Biology Institute of Shandong Province, Qingdao 266104, China;

2. Qingdao Macroalgae Engineering Technology Research Center, Qingdao 266104, China;

3. Engineering Research Center of Healthy Marine Aquaculture, Shandong province, Qingdao 266104, China)

Abstract Dimethyl phthalate (DMP) is one of the organic pollutants in coastal environment. It is not only harmful to marine organisms, but also can be accumulated in organism bodies, building up serious problems to the ecosystem. We measured the specific growth rate, chlorophyll content, photosynthesis and respiration rate, and the expression level of the *rbcL* gene to study the response of *Sargassum thunbergii* under different concentrations of DMP. The results show that lower DMP concentration (0.1mg/L) could promote the growth of *S. thunbergii*; the content of chlorophyll *a*, the photosynthesis, and expression of *rbcL* gene increased obviously when exposure time lasted. Under the higher DMP concentration (≥ 0.3 mg/L), the growth rate, oxygen evolution rate, respiration rate, and *rbcL* gene transcript level decreased continuously with exposure, and the higher the DMP concentration was, the greater the decrease would occur. These findings may provide a theoretical basis for understanding the mechanism of the effect of DMP on *S. thunbergii*, and the protection of breeding environment of the economic algae.

Key words *Sargassum thunbergii*; dimethyl phthalate (DMP); chlorophyll *a*; photosynthesis rate; respiration rate; *rbcL*