

多环芳烃对近头状尖胞藻光合系统的 影响及转录调控机制*

李玥^{1,2}, 罗丽娟^{1,2}, 栾天罡^{1,2,3}

- 广东省流域水环境治理与水生生态修复重点实验室 / 广东工业大学生态环境与海洋学院, 广东 广州 510006
- 化学与精细化工广东省实验室揭阳分中心, 广东 揭阳 515200
- 水产动物疫病防控与健康养殖全国重点实验室 / 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275

摘要:多环芳烃(PAHs, polycyclic aromatic hydrocarbons)是一类广泛分布于大气、水体和土壤中的持久性有机污染物,具有致畸性、致癌性和致突变性,严重威胁水生生态系统安全。藻类作为水生生态系统的初级生产者,其光合系统是PAHs毒理作用的敏感靶点,但目前PAHs对藻类光合系统的损伤及转录调控机制尚未明确。本研究以模式淡水绿藻——近头状尖胞藻(*Raphidocelis subcapitata*)为研究对象,结合叶绿素荧光成像技术与转录组学分析方法,探究PAHs对藻类光合系统的影响及其调控机制。研究表明,苯并[a]芘对近头状尖胞藻最大光化学效率的抑制作用整体弱于菲(PHE)和芘(PYR),PHE和PYR处理组藻的电子传递速率分别降至对照组的43%和49%,而PAHs对藻的非光化学猝灭系数影响较小。藻类光合系统的5个关键基因(*cabII-1*、*LHCA4*、*LHCA5*、*PsbP*和*PsaN*)表达呈时间依赖性,在暴露第3~5天呈显著上调趋势,至第7天表达量回落;随着暴露时间的延长,藻类光合系统的转录调控机制逐渐失衡,最终导致光合功能持续受损。本实验从生理与分子水平明确了PAHs对藻类光合系统的损伤机制及转录调控特征,为PAHs的生态毒理及水生生态风险评估提供理论参考。

关键词:多环芳烃;近头状尖胞藻(*Raphidocelis subcapitata*);转录组;光合作用

中图分类号:X17 **文献标志码:**A **文章编号:**2097-0137(XXXX)XX-0001-10

Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on the photosynthesis system of *Raphidocelis subcapitata* and transcriptional regulatory mechanisms

Li Yue^{1,2}, Luo Lijuan^{1,2}, Luan Tiangang^{1,2,3}

- Guangdong Provincial Key Laboratory of Water Quality Improvement and Ecological Restoration for Watershed / School of Ecology, Environment and Ocean, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China
- Guangdong Provincial Laboratory of Chemistry and Fine Chemical Engineering Jieyang Center, Jieyang 515200, China
- State Key Laboratory of Biocontrol / School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

* 收稿日期:2026-03-02

录用日期:2026-04-20

网络首发日期:2026-05-XX

基金项目:国家自然科学基金(22376035);国家自然科学基金基础科学中心项目(52388101);

广东省重点实验室项目(2023B1212060068)

作者简介:李玥(2001年生),女;研究方向:新污染物降解转化;E-mail:2112324037@mail2.gdut.edu.cn

通信作者:罗丽娟(1984年生),女;研究方向:新污染物降解转化、海洋蓝碳碳汇核算;

E-mail:luolij3@gdut.edu.cn

全文阅读



ZR20260052

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a class of persistent organic pollutants widely distributed in the air, water and soil. They are teratogenic, carcinogenic and mutagenic, posing a serious threat to the safety of aquatic ecosystems. As primary producers in aquatic ecosystems, algal photosynthetic systems are sensitive targets of PAHs toxicity, but the mechanisms of PAHs-induced damage and transcriptional regulation on algal photosynthetic systems remain unclear. In this study, the model freshwater green alga *Raphidocelis subcapitata* was used as the research object, combining chlorophyll fluorescence imaging technology and transcriptomic analysis to explore the effects of PAHs on the algal photosynthetic system and its regulatory mechanism. The results showed that the inhibitory effect of benzo[a]pyrene on the maximum photochemical efficiency of *R. subcapitata* was generally weaker than that of phenanthrene (PHE) and pyrene (PYR). The electron transport rate of algae in the PHE and PYR treatment groups decreased to 43% and 49% of the control group, respectively, while PAHs exposure had little effect on the non-photochemical quenching coefficient of algae. The expression of five key genes in the algal photosynthetic system (*cabII-1*, *LHCA4*, *LHCA5*, *PsbP* and *PsaN*) was time-dependent, showing a significant upward trend on days 3 to 5 of exposure and decreasing on day 7. With the extension of exposure time, the transcriptional regulation mechanism of the algal photosynthetic system gradually became imbalanced, eventually leading to continuous damage to photosynthetic function. This study clarified the damage mechanism and transcriptional regulation characteristics of PAHs on the algal photosynthetic system at the physiological and molecular levels, providing a theoretical reference for the ecotoxicological study of PAHs and the assessment of aquatic ecological risks.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons; *Raphidocelis subcapitata*; transcriptomics; photosynthesis

多环芳烃(PAHs, polycyclic aromatic hydrocarbons)是一类由2个或以上苯环以线状、角状或簇状排列组合而成的稠环化合物,广泛分布于大气、水体和土壤中,具有致畸性、致癌性和致突变性(Sun et al., 2020)。根据苯环数目,PAHs可分为低环、中环、高环多环芳烃。PAHs可以在大气中进行长距离迁移,并通过干湿沉降、颗粒物沉积等途径进入水体、土壤和植被等不同环境介质(Usman et al., 2016)。

目前,针对环境中PAHs的去除已开展大量研究,主要修复技术可分为物理法、化学法和生物法(Gao et al., 2023; Satpati et al., 2023; Tang et al., 2022),其中,生物法因其高效、低成本和环境友好等优点而被广泛运用。该方法通过利用细菌、真菌、藻类等微生物的代谢作用,将PAHs转化为无毒害的小分子物质(Ghosal et al., 2016)。有研究发现,施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)、简单芽孢杆菌(*Bacillus simplex*)和短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*),在72 d内对芴和菲(PHE, phenanthrene)的降解率分别可达65%~86%和86%~95%(Rabodonirina et al., 2019)。然而,细菌一般难以单

独降解去除高环的PAHs,而藻类对高环PAHs的去除率可超过90%(Luo et al., 2014),在PAHs降解领域展现出巨大的应用潜力。

近头状尖胞藻(*Raphidocelis subcapitata*)是一种淡水中的模式藻类,研究显示其在24 h内对苯并[k]荧蒽的降解率达到84%,并且对不同环数的PAHs均表现出良好的降解效果(Hernández Blanco et al., 2016)。在藻类降解污染物的过程中,污染物在细胞内的累积会引发毒性效应,诱导氧化应激反应(Gebara et al., 2023),造成细胞结构损伤,从而导致光合系统功能下降(Cheng et al., 2024)。有研究发现,PHE对小麦幼苗具有毒害作用,表现为叶绿体形态异常与类囊体结构破坏(Shen et al., 2019)。

光合作用的光反应主要发生在叶绿体类囊体膜上,由光系统II(PSII, photosystem II)、细胞色素 b_6f 复合体、光系统I(PSI, photosystem I)及ATP合酶等4类主要蛋白复合体共同完成,涉及光能捕获、氧气释放、电子传递以及跨膜质子梯度驱动的ATP合成等过程(Bag et al., 2020)。叶绿素荧光成像技术可用于定量分析藻类光合参数:其中最大光化学

效率(F_v/F_m)反映PSII最大光化学效率,用于评估光合结构的损伤程度;电子传递速率(ETR)代表光合电子传递效率,反映碳同化能力的潜在抑制;非光化学猝灭系数(NPQ)则表征胁迫条件下藻类对过剩光能的耗散与调节能力(Gebara et al., 2024)。随着近头状尖胞藻的基因组信息公布(Suzuki et al., 2018),研究者利用转录组学整合生理研究联合分析,发现在污染物的胁迫下,近头状尖胞藻会通过增强光合作用以获取更多能量,但光合作用的过度激发可能促进活性氧产生,从而对细胞造成氧化损伤(Peng et al., 2021)。

目前关于PAHs暴露对近头状尖胞藻光合作用损伤机制的研究仍较为缺乏。本研究选取三环的菲(PHE)、四环的芘(PYR, pyrene)和五环的苯并[a]芘(BAP, benzo[a]pyrene)作为目标污染物,以近头状尖胞藻为研究对象,系统研究PAHs胁迫下藻类光合系统相关参数的动态变化特征;同时结合转录组测序和加权基因共表达网络分析(WGCNA),筛选并鉴定PAHs暴露诱导近头状尖胞藻光合系统损伤的关键基因。本研究旨在从生理响应与分子调控层面揭示PAHs对藻类光合系统的毒性作用机制,为水生态系统中PAHs的生态风险评估提供科学理论依据。

1 材料与方法

1.1 藻类培养

近头状尖胞藻无菌藻种购自 Carolina Biological Supply Company (Burlington, NC, USA)。微藻采用灭菌土壤提取物(SE, soil extract)培养基培养,通入经0.22 μm 滤膜过滤后的空气,置于光照培养箱中进行培养。培养条件:温度为 $(22\pm 2)^\circ\text{C}$ 、光照周期为16 h光照/8 h黑暗,光照强度为8 000 lx,光源为白色荧光灯。待藻株培养5~7 d达到对数生长期后,于8 000 r/min离心10 min收集藻细胞,并用无菌水洗涤2次后备用。

1.2 主要试剂

标准品PHE购买自AccuStandard公司,PYR、BAP购买自罗恩公司,所有标准品纯度均大于98%。以丙酮为溶剂,将各标准品固体粉末分别配制成1 000 mg/L母液,低温避光保存备用。

1.3 主要仪器

光照培养箱(S-LI350B,中国舍岩公司),数控摇床(DSR-10,中国舍岩公司),紫外可见分光光度计(Q6,中国上海元析公司),超速冷冻离心机

(Sorvall ST 8R,美国Thermo Fisher公司),开放式叶绿素荧光成像系统(FluorCam,捷克PSI公司),手持研磨仪(HMR-1,中国上海沪析公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 PAHs暴露实验 将离心收集的藻细胞重悬于SE培养基中,调整藻细胞密度至 3.5×10^6 cells/mL,取100 mL上述藻液分装于250 mL锥形瓶中,向各锥形瓶中分别加入一定体积的PAHs母液,使近头状尖胞藻分别暴露于PHE、PYR和BAP的低(L)、中(M)、高(H)3个质量浓度梯度下。各污染物的暴露质量浓度依据其对近头状尖胞藻生长抑制的96 h- EC_{50} 结果(杨曾翠, 2022)设置,选择大约10%的 EC_{50} 值为PHE和PYR的低质量浓度处理组(L), EC_{50} 为中质量浓度处理组(M),2倍 EC_{50} 值为高质量浓度处理组(H)。由于BAP计算得到 EC_{50} 值的95%置信区间为 $1.514\times 10^{-4}\sim 0.180$ mg/L,区间范围较大,按照最大的质量浓度,选择约 $<\text{EC}_{50}$ 、 $=\text{EC}_{50}$ 、 $>\text{EC}_{50}$ 的质量浓度为低、中、高实验处理质量浓度,分别为0.02、0.10和0.50 mg/L。具体暴露质量浓度见表1。实验设置3个重复。

表1 3种PAHs的暴露质量浓度			
Table 1	Exposure concentrations of three PAHs		
添加水平	PHE	PYR	BAP
低(L)	0.05	0.05	0.02
中(M)	0.50	0.40	0.10
高(H)	1.00	1.00	0.50

1.4.2 光合作用参数测定 将离心收集到的藻细胞重悬于SE培养基中,调整藻细胞密度为 3.5×10^6 cells/mL,取150 mL藻液分装至250 mL锥形瓶中,其他PAHs暴露条件同1.4.1。分别于暴露的第0、1、2、3、4、5天取样20 mL,8 000 r/min,10 min,20 $^\circ\text{C}$ 离心,去除上清液,收集藻细胞,使用1.5 mL无菌水洗涤2次。然后,将藻细胞重悬于SE培养基中,并将藻液在波长680 nm处的吸光度调整至 0.4 ± 0.02 ,最后将样品置于黑箱中暗适应20 min,使用叶绿素荧光成像系统测定NPQ、 F_v/F_m 和ETR值。

1.4.3 转录组测序及分析 藻细胞培养条件同1.1,PAHs暴露处理同1.4.1。收集暴露第1天的样品进行转录组测序分析,每组设置3个重复,转录组测序及基础生物信息学分析由北京百迈克生物科技有限公司完成。总RNA采用Trizol法提取(Chomczynski et al., 2006)。用于荧光定量PCR(RT-qPCR)测定

的总 RNA 使用 Omega Bio-tek Plant RNA Kit R6827 RNA 试剂盒提取。取中质量浓度 PAHs 处理下,暴露第 1、3、5、7 天的藻细胞进行 RT-qPCR 分析。样品经 8 000 r/min, 4 °C, 15 min 离心去除上清液, 收集藻细胞至 1.5 mL 无 RNA 酶离心管中; 加入经焦

碳酸二乙酯预处理的 0.5 mm 氧化锆/硅珠, 快速加入少量液氮, 使用手持研磨器置于冰上进行藻细胞研磨破碎。后续实验操作严格按照 RNA 提取试剂盒说明书进行。RT-qPCR 所用引物序列见表 2。

表 2 RT-qPCR 引物序列
Table 2 Primers used for RT-qPCR

基因	Forward(5'-3')	Reverse(3'-5')
<i>cabII-1</i>	CCAAGAAGACCGCCGCAAG	GTTGAACGAGCCCAGGAAGGTG
<i>LHCA4</i>	ACCCAGTACAGCCTGCCCAAG	GCTCCGCCATGTTGCCCTTG
<i>LHCA5</i>	CGCTGGATGGACTTCCGCAAG	GCCGTTCTTCACGCCCTTCAG
<i>PsbP</i>	CCATGTCTGAGGGCGGCTTTG	GGCGGTGCGGTTGAGGATTC
<i>PsaN</i>	AACGGCGGCATCAAGTTCATCC	AGCCCTTGGAGCCAAAGTTCATG
18S	ATGGAATAACACGATAGGACTCTGG	ACCTCTGACAATGAAATACGAATGC

1.5 数据处理

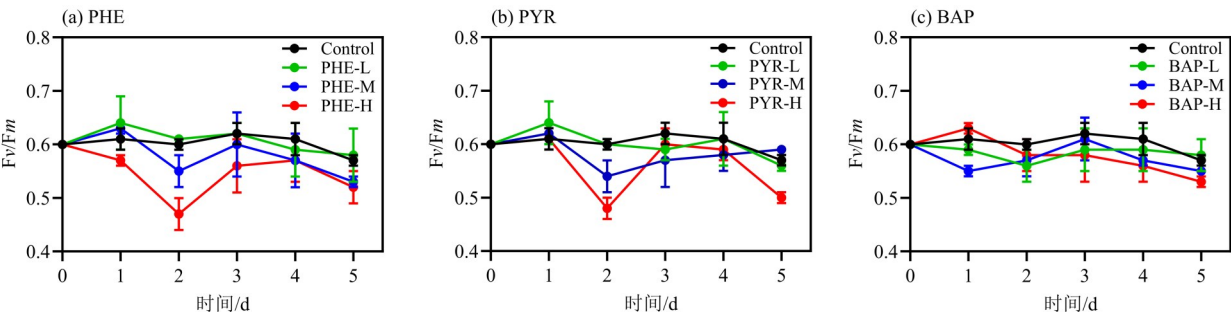
不同 PAHs 处理组间藻细胞的光合作用参数差异水平使用单因素方差分析 (one-way ANOVA)。当方差分析结果差异显著 ($P \leq 0.05$) 时, 进一步采用 Tukey 多重比较验证分析; 若方差不齐, 则先通过 Brown-Forsythe 检验判断各组均值是否存在差异, 若存在差异则采用 Games-Howell 检验进行两两比较。所有统计分析均采用 GraphPad Prism 10.1.2 软件进行。

2 结 果

2.1 PAHs 暴露对近头状尖胞藻光合作用的影响

2.1.1 对 Fv/Fm 的影响 为探究 PAHs 暴露对近头状尖胞藻光合作用的影响, 本研究对关键光合参数进行了动态监测。如图 1 所示, 在为期 5 d 的 PAHs 暴露中, 不同质量浓度 PAHs 处理下藻细胞的最大光化学效率 (Fv/Fm) 均呈现出不同程度的变

化。在 PHE 和 PYR 处理组中, 高质量浓度处理组的藻细胞 Fv/Fm 值在暴露第 2 天显著下降, 随后在第 3~4 天出现一定程度的回升; 而低、中质量浓度处理组整体波动较小, 变化趋势与对照组接近。在高质量浓度 PHE 和 PYR 处理下, 藻细胞的 Fv/Fm 值显著低于对照组, 并在第 2 天降至最低; 尽管后期表现出一定的恢复趋势, 但仍未恢复至对照水平, 这可能与藻细胞在胁迫下启动损伤修复与抗逆响应有关 (Gebara et al., 2024)。这种恢复现象与 PSII 天线结构的适应性调整以及光合自养和异养代谢之间的平衡调节存在关联, 这些变化共同构成了一种补偿机制, 使藻细胞在中等强度 PAHs 的暴露下仍能维持一定的光合作用功能 (Aksmann et al., 2008)。与 PHE、PYR 不同, BAP 处理组的 Fv/Fm 在整个暴露期内变化相对平缓, 仅在第 2 天出现小幅下降; 至暴露第 5 天, 低、中质量浓度 BAP 处理组的 Fv/Fm 已与对照组接近。上述结果表明,



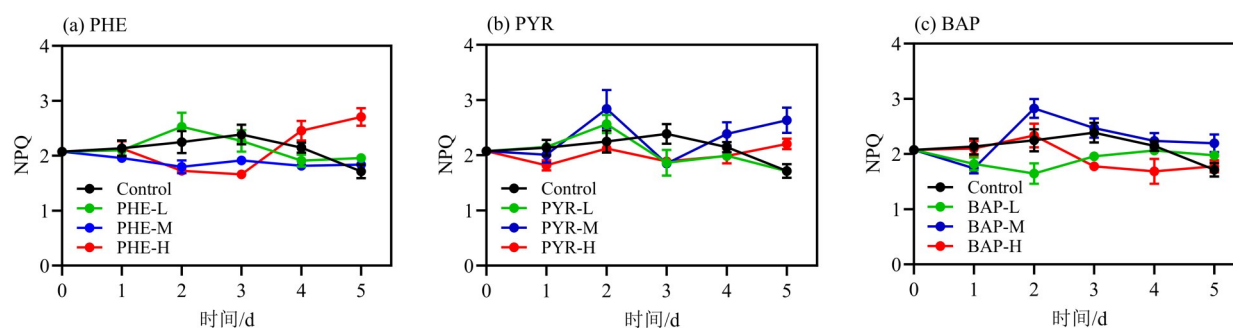
L、M 和 H 分别表示低、中和高质量浓度 PAHs 处理。

图 1 PAHs 暴露对近头状尖胞藻 Fv/Fm 的影响
Fig. 1 Effects of PAHs on Fv/Fm of *R. subcapitata*

BAP对近头状尖胞藻最大光化学效率的抑制作用整体弱于PHE和PYR。这与ben Othman et al. (2012)的研究相似,无论施加何种质量浓度的苯并[a]蒽均未引起杜氏盐藻(*Dunaliella tertiolecta*)和三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*) Fv/Fm 数值的变化。

2.1.2 对NPQ的影响 如图2所示,在5 d PAHs暴露下,不同处理组藻细胞的非光化学猝灭系数(NPQ)随时间波动较小。在PHE和PYR处理下,中、高质量浓度处理组在暴露第2天NPQ出现升高,随后随时间呈波动变化,其中PHE高质量浓度处理组在第5天时达到最大值,NPQ的变化反映藻细胞通过热耗散调节光能分配,表明在此过程中藻

细胞启动了增强的光保护响应(Rocha et al., 2024);PYR中质量浓度处理组在第2天时达到最大值,暗示着不同相对分子质量的PAHs毒性差异;低剂量处理组NPQ则与对照组变化趋势相近,藻细胞在低质量浓度时启动了有效的保护响应。这与之前的研究一致,蒽、菲、芘等典型PAHs均可在不同程度上影响微藻的非光化学猝灭(ben Othman et al., 2023)。相比之下,BAP中质量浓度处理组在第2天时,与对照组相比,NPQ有所上升,在第3天之后与对照组接近。随着处理质量浓度的升高并未呈现NPQ对应的升高,在不同BAP质量浓度处理下NPQ整体变化幅度较小,BAP各处理组在时间点上的差异不明显。

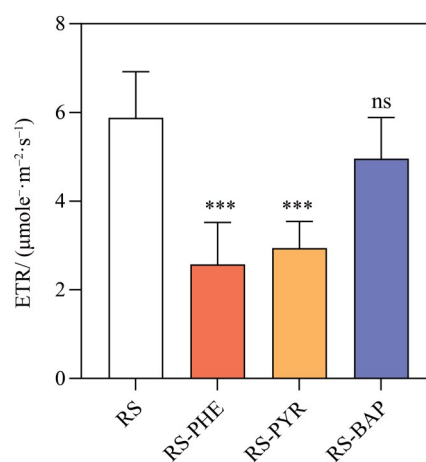


L、M和H分别表示低、中和高质量浓度PAHs处理。

图2 PAHs暴露对近头状尖胞藻NPQ的影响

Fig. 2 Effects of PAHs on NPQ of *R. subcapitata*

2.1.3 对ETR的影响 在5 d高质量浓度PAHs暴露下,不同处理组藻细胞的电子传递速率(ETR)变化结果如图3所示。与对照组相比,PHE和PYR处理组的ETR均出现显著降低($P < 0.001$),分别仅为对照组的43%和49%。说明PHE和PYR更易进入藻细胞,并作用于类囊体膜结构,从而干扰光合电子传递链,导致ETR显著下降。相比之下,BAP处理组的ETR与对照组的差异无统计学意义($P > 0.05$),说明BAP对藻细胞的毒性作用并非主要通过抑制光系统电子传递实现。在捕光天线复合体中,单个色素分子吸收的光能可通过福斯特共振能量转移传递至邻近色素分子,该过程属于非辐射性的偶极-偶极相互作用(ben Othman et al., 2012)。Subashchandrabose et al. (2014)在研究BAP在普通小球藻(*Chlorella vulgaris*)中的定位与富集行为时发现,BAP可在藻细胞内积累,并与光系统产生荧光猝灭及潜在的福斯特共振能量转移。这提示BAP可能靠近光系统并与之发生非抑制性相互作用,因此其对藻细胞的影响并非主要体现为电子传



PHE、PYR和BAP的质量浓度分别为1.00、1.00和0.50 mg/L;***表示差异具有统计学意义($P < 0.001$);ns表示差异无统计学意义($P > 0.05$)。

图3 PAHs暴露5 d对近头状尖胞藻ETR的影响

Fig. 3 Effects of PAHs on ETR of *R. subcapitata* after 5 days

递速率的降低。由此可见,PAHs对藻类光合电子传递的损伤程度并不随相对分子质量增大而增强,不

同环数/相对分子质量的PAHs对藻细胞的作用靶点与损伤途径存在明显差异。

2.2 PAHs暴露下转录组学分析

2.2.1 转录组测序质量评估 转录组测序结果显示,所有样品RNA的 $A_{260/280}$ 在1.89~2.07之间,无明显蛋白质污染;RNA完整度系数(RIN)均大于7,表明样品总RNA质量良好,满足转录组测序建库与分

析要求。本次在近头状尖胞藻中共检测到14 075个基因。样本相关性分析结果(图4a)表明,各组内3个生物学重复之间的相关系数(r)均大于0.9,说明测序数据可靠性良好。比对序列数在mRNA转录本上的覆盖分布均一旦稳定,所有样本与参考基因组的比对效率均较高(图4b),表明所选参考基因组合适用于本研究,可用于后续差异表达分析。

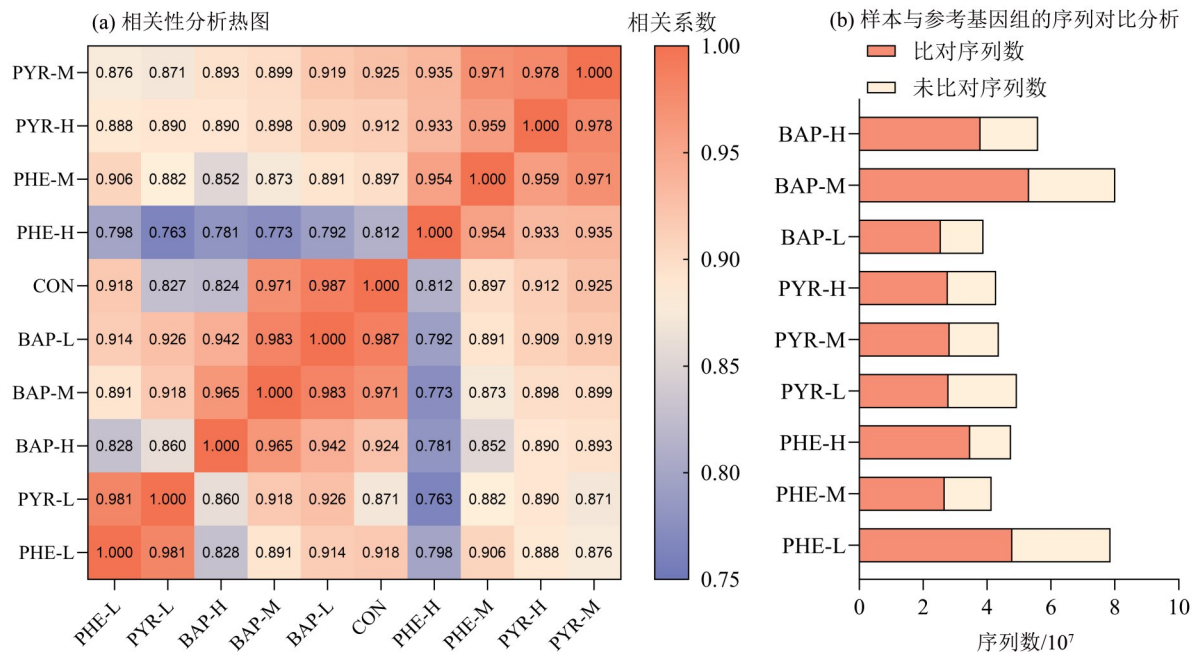


图4 相关性分析及样本序列对比分析

Fig. 4 Correlation analysis and sequence comparison analysis of samples

2.2.2 基于WGCNA分析筛选光合作用关键基因

为挖掘PAHs胁迫下影响光合系统的关键调控基因,本研究对转录组数据进行了WGCNA分析。结果显示,经质量控制后保留的14 075个基因被聚为10个共表达模块;其中MESalmon与MEblue模块与PAHs质量浓度变化呈高度相关($r > 0.9$),确定为关键模块并用于后续分析(图5)。以基因显著性 $|GS| > 0.9$ 且模块成员相关性 $|MM| > 0.9$ 为标准,在上述两个关键模块中筛选出与BAP、PYR质量浓度高度相关的候选基因。结合表达量阈值 $\max \text{FPKM} > 10$ 与差异倍数阈值 $\max |\log_2 \text{FC}| > 2$ 进一步筛选,最终获得差异表达基因。

为了进一步筛选与光合作用相关的关键基因,对筛选合格的48个候选差异基因进行KEGG富集分析(图6),发现有5个差异基因显著富集于光合作用(ko00195)和光合作用-天线蛋白(ko00196)通路,它们分别是*cabII-1*、*LHCA4*、*LHCA5*、*PsbP*和

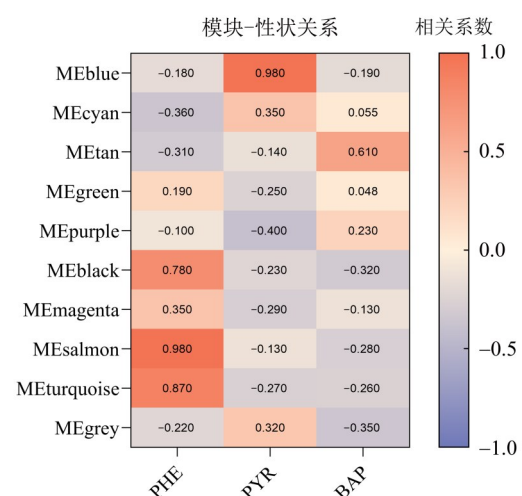


图5 基于WGCNA分析PAHs暴露下的关键候选基因

Fig. 5 Genes based on WGCNA analysis under PAHs exposure

PsaN。其中,在PHE处理下,*LHCA4*在3种质量浓度下均上调表达,*PsaN*、*PsbP*仅在高质量浓度下上

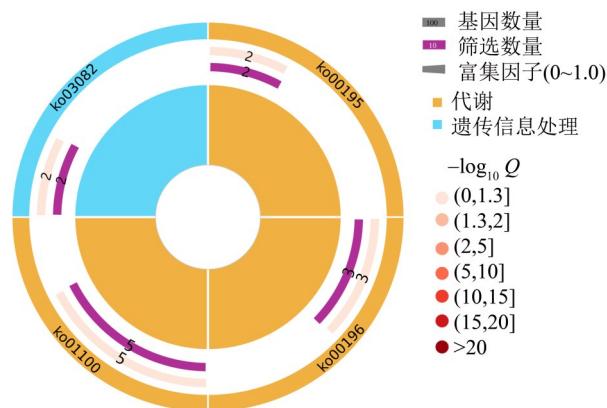


图6 候选差异表达基因的KEGG富集分析

Fig. 6 KEGG enrichment analysis of candidate DEGs

调表达;在PYR处理下,*LHCA4*在3种质量浓度下均上调表达,*PsaN*在高质量浓度和低质量浓度下上调表达;在BAP处理下,*PsbA*在低质量浓度下上调表达,中质量浓度下*PsbA*、*PsbP*、*LHCA4*上调表达;高质量浓度下*cabII-1*、*LHCA4*、*LHCA5*、*PsbP*和*PsaN*这5个基因均上调表达。综合以上结果,推测这5个基因为PAHs暴露下近头状尖胞藻光合系统损伤的关键靶标基因。

2.2.3 RT-qPCR验证关键基因表达情况 为验证近头状尖胞藻中与光合作用相关的关键基因的表达情况,本研究选取5个光合关键基因(*cabII-1*、*LHCA4*、*LHCA5*、*PsbP*、*PsaN*),在3种PAHs中质量浓度处理下进行RT-qPCR验证。由图7可知,*cabII-1*、*LHCA4*和*LHCA5*在不同PAHs暴露条件下整体呈现出先上调、后下调的表达趋势,且不同环数PAHs处理在响应时间及表达变化幅度上存在差异。暴露早期,*cabII-1*、*LHCA4*和*LHCA5*这3种天线蛋白相关基因的表达水平较对照组有所升高;随着暴露时间的增加,其表达水平逐渐降低。这类基因编码的蛋白属于捕光色素蛋白复合物(LHC),是位于外周的膜结合色素-蛋白复合物,主要负责光能捕获与传递(Littlejohn et al., 2021)。*PsbP*编码光系统II外周放氧增强蛋白,在PAHs暴露早期表现出显著的转录响应,而在暴露中后期表达受到不同程度的抑制。*PsbP*基因表达上调,表明PSII受损后相关蛋白的周转速率增加,这一结果与Shao et al.(2010)的研究结论相似,该研究发现集胞藻(*Synechocystis* sp. PCC 6803)在PYR暴露下,编码光系统II核心蛋白的基因同样呈现表达上调。对于后期的表达抑制,有研究表明,*PsbP*参与逆境胁迫调控,但在胁迫持续或过度损伤时,可引发H₂O₂累积,进而抑制其表达(Rui et al., 2025)。*PsaN*编码光系统I反应中

心亚基N,在PAHs暴露中后期整体呈上调趋势,提示该基因可能在持续胁迫条件下参与光合系统的维持与修复。

总体来看,多数光合相关基因在第3~5天呈明显上调,表明近头状尖胞藻可通过增强光捕获、电子传递相关基因的表达,抵御PAHs引起的氧化损伤与光合抑制;而在暴露第7天,多数基因表达回落,提示长期胁迫会导致光合系统调控失衡、功能受损。不同PAHs处理组间存在差异:PHE对光合系统相关基因的诱导效应更为显著,尤其是*PsaN*在第3天上调极明显,说明不同环数、不同结构的PAHs对藻类光合系统的作用方式与损伤机制存在差异。整体而言,RT-qPCR结果与转录组测序的表达变化趋势高度一致,证实PAHs暴露可显著改变近头状尖胞藻光合系统相关基因的转录水平,进而影响光合生理功能(Wang et al., 2017)。

3 讨论

基于叶绿素荧光动力学与转录组学分析,本研究从光合作用功能响应与基因转录调控两个层面,系统解析了PAHs暴露对近头状尖胞藻光合系统的损伤机制。

叶绿素荧光参数结果表明,PAHs暴露能够在不同程度上干扰近头状尖胞藻的光合作用,破坏光合系统的稳定运行,具体表现为光能转化效率下降与电子传递受阻。其中,PHE和PYR对光合系统的抑制效应更为显著,暴露5 d后电子传递速率受到明显抑制;而BAP对光合作用整体功能的干扰相对较弱。这说明不同环数PAHs对藻类光合系统的毒性效应并不随相对分子质量或环数增加而呈简单递增关系,其作用靶点与干扰途径存在明显差异。在PAHs胁迫下,近头状尖胞藻并未出现光合系统的完全崩溃,而是通过光能利用与能量耗散的动态调节维持光合系统的相对稳定(Juneau et al., 2002)。中、高质量浓度PHE和PYR处理下,NPQ在暴露早期显著升高,表明藻细胞可通过增强非光化学能量耗散缓解光能利用失衡带来的压力。NPQ的上调是藻类典型的光保护响应,有助于降低PSII遭受的瞬时氧化损伤,这与Fv/Fm下降的结果相互印证。PAHs胁迫还伴随活性氧(ROS)的过量积累,进一步激活藻细胞的抗氧化防御系统。Tomar et al.(2021)在小球藻降解荧蒽的过程中,发现超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等关键抗氧化酶的协同响应,并用于清除过量ROS、

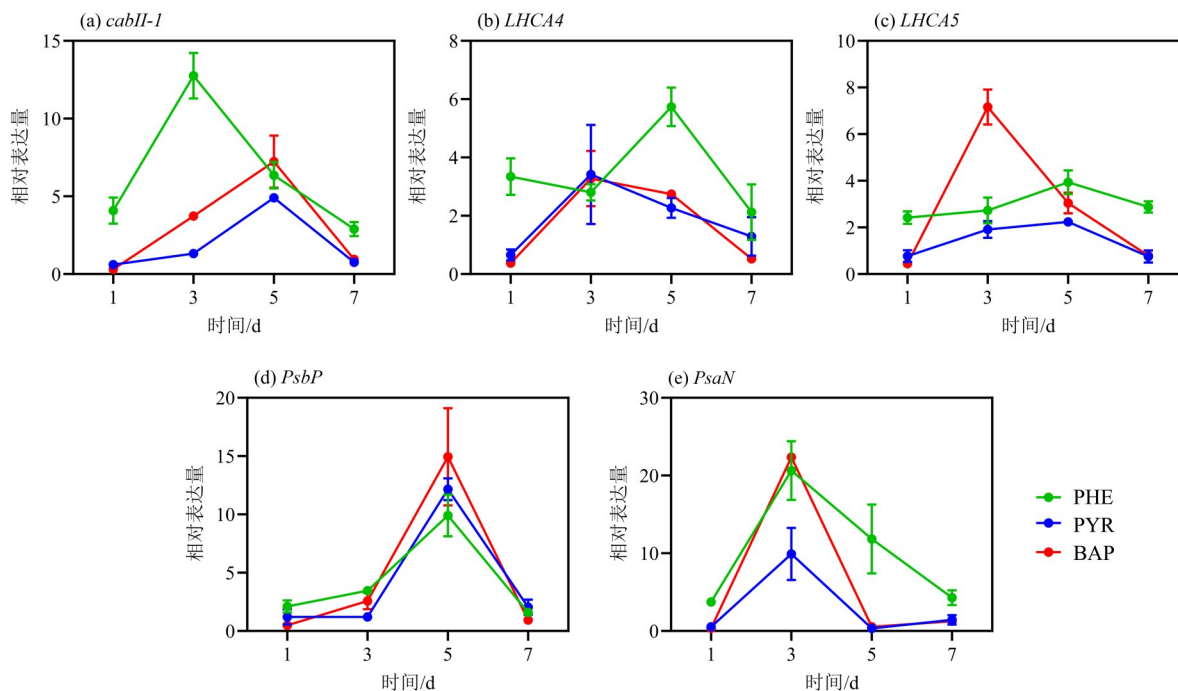


图7 RT-qPCR验证基因表达情况

Fig. 7 Gene expression verified by RT-qPCR

减轻膜脂过氧化并缓解光系统的氧化伤害。在PSII功能受损时,藻细胞倾向于将过剩激发能以热能形式耗散,以维持光合结构的相对稳定。相比之下,BAP处理对NPQ影响幅度较小,表明其引发的光保护需求较弱,对藻类光能耗散系统的影响有限。

转录组与WGCNA分析结果显示,PAHs暴露诱导了与污染物质量浓度高度相关的基因共表达,且相关基因显著富集于光合作用及光合作用-天线蛋白通路,这表明PAHs可在转录水平引发光合相关基因的协同响应(Mo et al., 2022)。其中,捕光复合体基因和光系统结构蛋白基因是PAHs暴露下的关键调控靶点,包括*cabII-1*、*LHCA4*和*LHCA5*等捕光复合体基因,以及参与PSII与PSI功能维持的*PsbP*和*PsaN*。这些基因在PAHs胁迫下呈现出显著的转录变化,说明PAHs主要通过干扰光能捕获、反应中心稳定性及光系统协同运作等关键过程,从而影响整体光合效率(Peng et al., 2021)。同时,结合方燕玲(2023)在中质量浓度PHE、PYR和BAP暴露下获得的近头状尖胞藻蛋白组学研究结果,可知PAHs暴露可影响多个光合系统相关蛋白,包括天线捕光复合体蛋白、PSII反应中心相关蛋白以及PSI反应中心亚基等,提示PAHs对近头状尖胞藻光合系统的影响不仅体现在转录水平,也进一步反映了蛋白复合体的稳定性和装配过程,从而导致光能捕获、能量传递及电子传递效率下降。RT-qPCR结果

进一步表明,多数光合作用相关基因在PAHs暴露过程中呈现先诱导、后抑制的动态表达模式。胁迫初期,藻细胞可能通过上调保护及光合修复相关基因缓解损伤(Guo et al., 2021);但随着暴露时间延长,调控机制逐渐失衡,最终表现为光合功能持续受损。

综合光合生理与分子证据可见,PAHs对近头状尖胞藻光合系统的影响是一个功能受损-光保护调节-转录调节的过程。PHE和PYR对PSII最大光量子效率及电子传递的抑制作用更显著,而BAP的影响相对较弱。藻细胞通过NPQ调节、捕光复合体基因及光系统关键亚基基因的转录调控,实现对PAHs胁迫的动态适应。基于上述结果,PAHs对近头状尖胞藻光合系统的潜在影响机制归纳总结如图8所示。PAHs进入藻细胞后可损伤细胞膜与类囊体膜结构,造成光系统损伤并抑制电子传递,使Fv/Fm和ETR下降;藻细胞初期通过提升NPQ与上调相关基因进行防御,随暴露时间延长调控失衡,最终光合功能持续受损。

本研究主要基于叶绿素荧光参数、转录组分析及RT-qPCR验证,对PAHs诱导近头状尖胞藻光合系统损伤的机制进行推断。由于本研究未同步开展蛋白水平的验证工作,基因转录水平变化与蛋白质响应之间的关联性仍有待后续实验进一步验证与完善。尽管存在上述局限,本研究结果仍可为揭

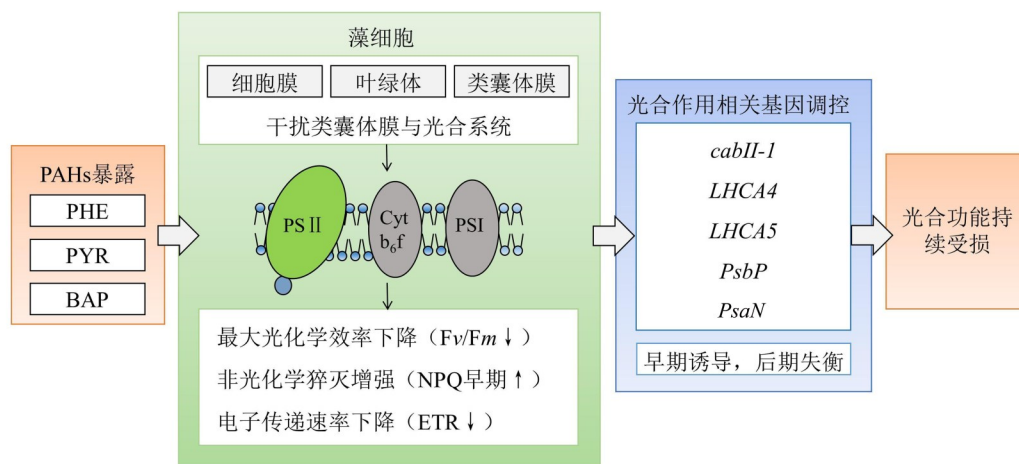


图8 PAHs胁迫下近头状尖胞藻光合系统损伤及转录调控机制示意图

Fig. 8 Schematic diagram of photosynthetic system damage and transcriptional regulation mechanism in *R. subcapitata* under PAHs stress

示PAHs暴露对近头状尖胞藻光合系统的毒性效应及其机制提供重要参考。

4 结 论

本研究表明,不同环数PAHs对近头状尖胞藻光合系统的毒性效应存在显著差异,其中PHE、PYR对藻细胞PSII最大光化学效率及电子传递速率的抑制作用显著强于BAP,且毒性与环数或相对分子质量不呈简单递增关系。在PAHs胁迫下,藻类可通过提高非光化学猝灭实现光保护,同时调控*cabII-1*、*LHCA4*、*LHCA5*、*PsbP*、*PsaN*等关键光合基

因的表达以应对胁迫,整体呈现“先诱导适应,后调控失衡”的生理与转录响应规律,证实PAHs通过干扰光能捕获、光系统稳定性及电子传递过程,最终影响藻类光合功能。

本研究从生理与分子层面揭示了PAHs对藻类光合系统的损伤机制,未来可结合代谢组学、蛋白组学及关键基因功能验证,进一步阐明其调控网络;同时可将叶绿素荧光参数作为生物标志物,应用于水环境PAHs污染的早期生态风险评价,并深入探究藻类毒性响应与污染物降解能力之间的关联,为基于藻类的水生态环境修复提供理论支撑。

参考文献:

- 方燕玲, 2023. 近头状尖胞藻对多环芳烃胁迫的响应及蛋白质组学分析[D]. 广州: 广东工业大学.
- 杨曾翠, 2022. 近头状尖胞藻对不同分子量多环芳烃的降解差异研究[D]. 广州: 中山大学.
- Aksmann A, Tukaj Z, 2008. Intact anthracene inhibits photosynthesis in algal cells: A fluorescence induction study on *Chlamydomonas reinhardtii* cw92 strain [J]. *Chemosphere*, 74(1): 26–32.
- Bag P, Chukhutsina V, Zhang Z, et al, 2020. Direct energy transfer from photosystem II to photosystem I confers winter sustainability in Scots Pine [J]. *Nat Commun*, 11(1): 6388.
- ben Othman H, Leboulanger C, le Floc' H E, et al, 2012. Toxicity of benz(a)anthracene and fluoranthene to marine phytoplankton in culture: Does cell size really matter? [J]. *J Hazard Mater*, 243: 204–211.
- ben Othman H, Pick F R, Sakka Hlaili A, et al, 2023. Effects

of polycyclic aromatic hydrocarbons on marine and freshwater microalgae – A review [J]. *J Hazard Mater*, 441: 129869.

- Cheng S, Keang K, Cross J S, 2024. Evidence that microplastics at environmentally relevant concentration and size interfere with energy metabolism of microalgal community [J]. *J Hazard Mater*, 476: 134995.
- Chomczynski P, Sacchi N, 2006. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate–phenol–chloroform extraction: Twenty-something years on [J]. *Nat Protoc*, 1(2): 581–585.
- Gao Y, Xue Y, Ji J, et al, 2023. Remediation of industrial site soil contaminated with PAHs using stage persulfate oxidation activated by Fe^{2+} chelated with sodium citrate [J]. *Chemosphere*, 313: 137450.
- Gebara R C, de Abreu C B, Rocha G S, et al, 2024. Effects of ZnWO_4 nanoparticles on growth, photosynthesis, and

- biochemical parameters of the green microalga *Raphidocelis subcapitata*[J]. Chemosphere, 353: 141590.
- Gebara R C, de Oliveira Gonçalves Alho L, da Silva Mansano A, et al, 2023. Single and combined effects of Zn and Al on photosystem II of the green microalgae *Raphidocelis subcapitata* assessed by pulse-amplitude modulated (PAM) fluorometry[J]. Aquat Toxicol, 254: 106369.
- Ghosal D, Ghosh S, Dutta T K, et al, 2016. Current state of knowledge in microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review [J]. Front Microbiol, 7: 1369.
- Guo J, Ma Z, Peng J, et al, 2021. Transcriptomic analysis of *Raphidocelis subcapitata* exposed to erythromycin: The role of DNA replication in hormesis and growth inhibition [J]. J Hazard Mater, 402: 123512.
- Hernández Blanco F J, García de Llasera M P, 2016. Monitoring dihydrodiol polyaromatic hydrocarbon metabolites produced by the freshwater microalgae *Selenastrum capricornutum*[J]. Chemosphere, 158: 80–90.
- Juneau P, el Berdey A, Popovic R, 2002. PAM fluorometry in the determination of the sensitivity of *Chlorella vulgaris*, *Selenastrum capricornutum*, and *Chlamydomonas reinhardtii* to copper [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 42(2): 155–164.
- Littlejohn G R, Breen S, Smirnov N, et al, 2021. Chloroplast immunity illuminated [J]. New Phytol, 229 (6): 3088–3107.
- Luo L, Wang P, Lin L, et al, 2014. Removal and transformation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons in water by live and dead microalgae [J]. Process Biochem, 49(10): 1723–1732.
- Mo J, Qi Q, Hao Y, et al, 2022. Transcriptional response of a green alga (*Raphidocelis subcapitata*) exposed to triclosan: Photosynthetic systems and DNA repair [J]. J Environ Sci, 111: 400–411.
- Peng J, Guo J, Lei Y, et al, 2021. Integrative analyses of transcriptomics and metabolomics in *Raphidocelis subcapitata* treated with clarithromycin [J]. Chemosphere, 266: 128933.
- Rabodonirina S, Rasolomampianina R, Krier F, et al, 2019. Degradation of fluorene and phenanthrene in PAHs-contaminated soil using *Pseudomonas* and *Bacillus* strains isolated from oil spill sites [J]. J Environ Manag, 232: 1–7.
- Rocha G S, Melão M G G, 2024. Does cobalt antagonize P limitation effects on photosynthetic parameters on the freshwater microalgae *Raphidocelis subcapitata* (Chlorophyceae), or does P limitation acclimation antagonize cobalt effects? More questions than answers [J]. Environ Pollut, 341: 122998.
- Rui L, Yang S Q, Zhou X H, et al, 2025. The important role of chloroplasts in plant immunity [J]. Plant Commun, 6 (8): 101420.
- Satpati G G, Gupta S, Biswas R K, et al, 2023. Microalgae mediated bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: Strategies, advancement and regulations [J]. Chemosphere, 344: 140337.
- Shao J, Yu G, Wu Z, et al, 2010. Responses of *Synechocystis* sp. PCC 6803 (*Cyanobacterium*) photosystem II to pyrene stress [J]. J Environ Sci, 22(7): 1091–1095.
- Shen Y, Li J, Gu R, et al, 2019. Proteomic analysis for phenanthrene-elicited wheat chloroplast deformation [J]. Environ Int, 123: 273–281.
- Subashchandrabose S R, Krishnan K, Gratton E, et al, 2014. Potential of fluorescence imaging techniques to monitor mutagenic PAH uptake by microalga [J]. Environ Sci Technol, 48(16): 9152–9160.
- Sun Y, Niu W K, Hu X J, et al, 2020. Oxidative degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated industrial soil using chlorine dioxide [J]. Chem Eng J, 394: 124857.
- Suzuki S, Yamaguchi H, Nakajima N, et al, 2018. *Raphidocelis subcapitata* (= *Pseudokirchneriella subcapitata*) provides an insight into genome evolution and environmental adaptations in the Sphaeropleales [J]. Sci Rep, 8: 8058.
- Tang L, Zhang X, Li Z, Et al, 2022. Enhanced PAHs-contaminated site soils remediation by mixed persulfate and calcium peroxide [J]. J Environ Manage, 306: 114363.
- Tomar R S, Jajoo A, 2021. Enzymatic pathway involved in the degradation of fluoranthene by microalgae *Chlorella vulgaris* [J]. Ecotoxicology, 30(2): 268–276.
- Usman M, Hanna K, Haderlein S, 2016. Fenton oxidation to remediate PAHs in contaminated soils: A critical review of major limitations and counter-strategies [J]. Sci Total Environ, 569/570: 179–190.
- Wang R, Diao P, Chen Q, et al, 2017. Identification of novel pathways for biodegradation of bisphenol A by the green alga *Desmodesmus* sp. WR1, combined with mechanistic analysis at the transcriptome level [J]. Chem Eng J, 321: 424–431.