

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2017.20291

石琦, 梅洪, 张成军, 黄建, 吴红艳. 缺磷和高光对集球藻光合生理和油脂积累的影响[J]. 植物科学学报, 2017, 35(2): 291-298

Shi Q, Mei H, Zhang CJ, Huang J, Wu HY. Phosphorus deficiency and high light treatment affect the photophysiology and lipid accumulation of *Palmelloccoccus miniatus*[J]. *Plant Science Journal*, 2017, 35(2): 291-298

缺磷和高光对集球藻光合生理和油脂积累的影响

石琦, 梅洪, 张成军, 黄建, 吴红艳*

(湖北工业大学工业发酵湖北省协同创新中心, 河湖生态修复与藻类利用湖北省重点实验室, 武汉 430068)

摘要: 以产油微藻集球藻为材料, 在低、高两种不同光照强度下(100 和 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), 研究缺磷对集球藻光合特性和油脂含量的影响。结果显示, 缺磷显著抑制了集球藻的生物量以及光化学效率 F_v/F_m , 阻碍了 Q_A^- 向 Q_B 的电子传递, 降低了细胞内的蛋白含量, 诱导了油脂含量增加; 高光的耦合作用使集球藻光化学效率 F_v/F_m 以及 Q_A^- 向 Q_B 电子传递受抑制更严重, 细胞内的蛋白含量进一步下降, 油脂含量却进一步上升。本研究表明缺磷导致集球藻的代谢从碳同化进入油脂合成, 促使油脂含量增加, 高光的耦合作用使集球藻的油脂含量进一步增加。

关键词: 集球藻; 缺磷; 高光; 光合作用; 油脂积累

中图分类号: Q945

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2017)02-0291-08

Phosphorus deficiency and high light treatment affect the photophysiology and lipid accumulation of *Palmelloccoccus miniatus*

Shi Qi, Mei Hong, Zhang Cheng-Jun, Huang Jian, Wu Hong-Yan*

(Hubei Collaborative Innovation Center for Industrial Fermentation, Hubei University of Technology, Key Laboratory of Ecological Remediation for Lakes and Rivers and Algal Utilization of Hubei Province, Wuhan 430068, China)

Abstract: *Palmelloccoccus miniatus*, a lipid-rich green microalgae, was selected as an experimental material. We exposed *P. miniatus* cultures to low (100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) and high (600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) light, and investigated the effect of phosphorus deficiency on the photophysiology and lipid accumulation in *P. miniatus*. Results showed that phosphorus deficiency decreased the photosystem II maximum photochemical yield (F_v/F_m), inhibited the electron transfer from Q_A^- to Q_B , and lowered the protein content, thus resulting in a reduction in growth and biomass. However, phosphorus deficiency induced a significant accumulation of lipids. When supplemented with high light, the photosynthesis of *P. miniatus* was further suppressed and protein content was markedly decreased, whereas lipid content increased significantly. Our results show that the combined treatments of phosphorus deficiency and high light stimulated lipid accumulation in *P. miniatus*.

Key words: *Palmelloccoccus miniatus*; Phosphorus deficiency; High light; Photosynthesis; Lipid accumulation

收稿日期: 2016-08-18, 退修日期: 2016-10-13。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31270452); 教育部科学技术项目(213026A); 湖北省自然科学基金面上项目(2014CFB607)。

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (31270452), Key (Key grant) Project of the Chinese Ministry of Education (213026A), and Natural Science Foundation of Hubei Province (2014CFB607).

作者简介: 石琦(1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向为藻类生理生态(E-mail: 1554972697@qq.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: why-z-z@hotmail.com)。

经济的飞速发展导致全球范围内能源危机日益严重。微藻相比传统油料作物具有培养简单、生长速度快、无需额外添加高成本原料等特点,已成为未来最具潜力的生物柴油原料^[1]。研究发现,环境胁迫会诱导微藻细胞内油脂积累,如盐胁迫、营养盐限制以及金属离子浓度等^[2]。有研究认为,氮缺乏时会导致普通小球藻(*Chlorella vulgaris* Beierinck)细胞油脂含量上升^[3,4]、胶球藻(*Coccomyxa* sp.)的脂肪酸含量增加^[5];过高的 Mg^{2+} 含量会使小球藻脂肪酸组成发生变化^[6]。磷也是影响微藻细胞油脂含量的关键因素。还有研究发现,缺磷对微藻的影响具有种间差异,缺磷会使微茫藻(*Micractinium reisseri*)、布朗葡萄藻(*Botryococcus braunii* Kütz.)以及凯氏拟小球藻(*Parachlorella kessleri*)细胞油脂含量积累^[7-9];却使得四片藻(*Tetraselmis* sp.)和微拟球藻(*Nannochloropsis gaditana*)细胞内的油脂含量降低^[10]。磷作为植物遗传物质 DNA 以及膜结构的主要元素,当缺磷时会影响植物的光合作用以及生长代谢。磷还参与细胞中能量转移、信号转导、高分子合成等过程^[11],但有关磷对产油微藻光合生理影响的研究少有报道。此外,光照作为微藻合成细胞的能量来源,对微藻生理代谢影响较大。研究发现光强对微藻细胞内油脂含量的影响与微藻的种类有关。如低光会诱导小新月菱形藻(*Nitzschia closterium* f. minutissima)、等鞭金藻 8701 (*Isochrysis galbana* Parke 8701)细胞内油脂积累^[12];高光会诱导海洋小球藻(*Chlorella* sp.)的油脂积累^[13]。然而缺磷和高光耦合对产油微藻光合生理以及油脂含量的影响如何尚不可知。

本实验室筛选到一株耐碱性($pH > 9.0$ 、 $NaHCO_3 > 0.2 \text{ mol/L}$)产油微藻——集球藻(*Palmelloccoccus miniatus* (Kütz.) Chodat),该藻具有较强的抗逆性,在大型培养过程中不易被其他藻种和菌类污染,具有明显的养殖优势。因此,本实验以这种集球藻为研究对象,探讨缺磷和高光对其光合生理及油脂积累的影响,以期为进一步研究微藻生理及油脂合成相关机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验藻种

集球藻(*Palmelloccoccus miniatus* (Kütz.) Cho-

dat),由本实验室筛选,保存于湖北工业大学微藻实验室恒温光照培养箱,光照强度 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,温度(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,光暗周期 12 h : 12 h。

1.2 实验设置

采用 Zarrouk 培养基培养,置于恒温光照培养箱(GXZ-280B,宁波江南仪器厂)中,温度(30 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,光暗周期 12 h : 12 h,光照强度 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。培养至对数生长期后收集藻种,用无磷和磷充足($2.87 \text{ mmol/L K}_2\text{HPO}_4$)的 Zarrouk 培养基清洗过滤 2 次,然后分别接种到相应磷浓度的 Zarrouk 培养基中,并在(30 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养。实验共设置 4 组,分别为低光磷充足组(LL+P)、低光缺磷组(LL-P)、高光磷充足组(HL+P)、高光缺磷组(HL-P),每组设置 4 个平行,通气培养。

1.3 实验方法

1.3.1 生物量测定

采用紫外-可见光扫描分光光度计(UV-2700,岛津)测定每日的 OD_{550} 值来监测细胞生长。

同时结合干重法测定培养结束后集球藻的生物量。将滤纸在蒸馏水中浸泡 12 h 后放入 105°C 烘箱干燥 24 h,取 5 mL 藻液过滤后将带有藻样的滤纸放入 105°C 烘箱烘干至恒重。藻细胞干重 $W(\text{g/L})$ 计算公式如下:

$$W = 1000 \times (W_2 - W_1) / 5$$

式中, $W_1(\text{g/L})$ 是滤纸干重, $W_2(\text{g/L})$ 是过滤藻液后滤纸干重。

1.3.2 总脂的测定

将藻细胞离心(7500 g) 8 min,收集藻样,用冷冻干燥机干燥 48 h,称取 50 mg 藻粉,加入石英砂研磨后转入 50 mL 离心管,加入 1:1 的乙酸乙酯/正己烷 8 mL,放入 50°C 超声破碎仪中超声破碎 20 min 后,于 4500 g 离心 5 min,收集上清液于玻璃管中,反复提取 2 次。加入 6 mL 蒸馏水于玻璃管中,离心使其重新分层,将上层相移至另一玻璃管中用吹氮仪吹至近干,放入 105°C 干燥箱蒸干至恒重。总脂含量计算公式如下:

$$\text{总脂含量}\% = (W_1 - W_0) / W$$

式中, $W_1(\text{g/L})$ 、 $W_0(\text{g/L})$ 分别代表干燥之后和之前玻璃管的重量, $W(\text{g/L})$ 是藻粉重量。

1.3.3 总蛋白的测定

采用快速微量 Lowry 法测定总蛋白含量。用

生理盐水稀释 2 mg/mL 牛血清 γ 球蛋白标准品，创建标准浓度梯度。在酶标板分别加入蛋白标准与蛋白样品(用 pefaBloC 制备蛋白提取液提取 whatman 滤膜过滤收集的 20 mL 藻液)6 μ L、A 工作液 30 μ L 与 B 工作液 180 μ L (试剂 B 稀释 10 倍)，室温放置 10 min 后测定 750 nm 处的吸光值，根据标准蛋白吸光值梯度作标准曲线，计算待测样品总蛋白含量 (μ g/mL)。再根据过滤后藻样干重换算总蛋白含量(mg/g)。

1.3.4 叶绿素荧光参数测定

采用水样荧光仪 (PAM-WATER-ED, Walz, 德国)测定叶绿素荧光参数。最大饱和脉冲设为 5000 μ mol \cdot m⁻² \cdot s⁻¹，藻样暗适应 5 min，测定 PS II 的最大光化学效率 (F_v/F_m)、PS II 光化学能量转化的有效量子产量 (Φ_{PSII})、非光化学淬灭 (NPQ)。计算公式如下：

$$F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m;$$
$$NPQ = (F_m - F_m') / F_m'$$

式中， F_m 为最大荧光值，即在暗适应状态下，当 PS II 所有反应中心处于关闭状态并且非光化学过程处于最小时的荧光值。 F_m' 为光适应状态下最大荧光值，即在光适应状态下当 PS II 的所有反应中心处于关闭状态并且所有的非光化学过程处于最优状态时的荧光值。 F_0 为初始荧光，是在暗适应状态下，当 PS II 的所有反应中心处于完全开放状态并且所有非光化学过程处于最小时的荧光值。 $F_v = F_m - F_0$ ，即暗适应状态下，当非光化学过程处于最小时的最大可变荧光。

1.3.5 快速叶绿素荧光动力学(快相)测定

利用植物效率仪 (Handy PEA, Hansatech, 英国)于室温下测得叶绿素荧光诱导曲线。藻样暗适应 5 min 后，用 Handy PEA 检测记录样品照射激发光后 10 μ s 到 2 s 内的荧光信号。加除草剂 DCMU(抑制 Q_A^- 向 Q_B 的传递^[14])作为对照组，得到 J 点的相对可变荧光值 V_J 以及 Q_A^- 向 Q_B 的电子传递效率 Ψ_0 ，单位反应中心吸收的光能 ABS/RC 、单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量 TR_0/RC ($t = 0$ 时)、单位反应中心捕获的用于电子传递的能量 ET_0/RC ($t = 0$ 时)、单位反应中心耗散掉的能量 DI_0/RC ($t = 0$ 时)。电子传递效率 (Ψ_0) 的计算公式如下：

$$\Psi_0 = ET_0 / TR_0 = (1 - V_J)$$

式中， ET_0 为反应中心捕获的用于电子传递的能量； TR_0 为反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量； V_J 为 J 点的相对可变荧光值。

1.4 数据统计与分析

采用 SPSS 19 分析软件对实验数据进行 t 检验， $P < 0.05$ 为两者具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 缺磷和高光对集球藻生物量的影响

实验结果显示，磷浓度和光照对集球藻生物量的影响显著(图 1)。在磷充足(+P)培养条件下，集球藻的 OD_{550} 值随着培养时间的延长不断上升，高光使其上升速度更快，经过 9 d 培养后，高光(HL)培养下的 OD_{550} 值是低光(LL)培养下的 2.97

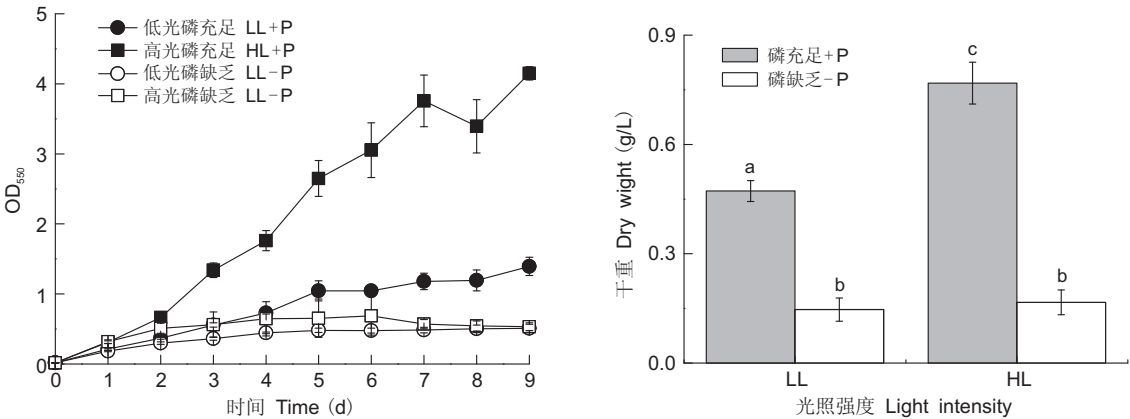


图 1 不同磷浓度与光强下集球藻生物量变化
Fig. 1 Biomass measured by optical density (OD_{550}) and dry weight in *Palmellococcus miniatus* cultures grown at light levels of 100 (LL) or 600 (HL) μ mol \cdot m⁻² \cdot s⁻¹ under different phosphorus conditions[data are means \pm SD ($n = 4$)]

倍；而缺磷（-P）培养条件下，集球藻的 OD₅₅₀ 值受到明显抑制。无论在高光强还是低光强下，集球藻的 OD₅₅₀ 值在前 5 d 增长缓慢，之后几乎处于停滞状态。培养到第 9 d 时，测定集球藻的干重可见，在高光磷充足（HL+P）培养条件下，集球藻干重相比低光磷充足（LL+P）培养条件下增加了 62%（ $P < 0.05$ ）；缺磷培养结束时，集球藻的干重相比磷充足培养时降低了 69.1%（ $P < 0.05$ ），缺磷与高光耦合（HL-P）时干重相比低光磷充足（LL+P）培养条件时下降了 64.7%（ $P < 0.05$ ）。

2.2 缺磷和高光对集球藻蛋白含量的影响

实验结果显示，集球藻总蛋白含量受高光和缺磷的影响较大(图 2)。将低光磷充足（LL+P）培养条件下集球藻蛋白含量设为实验对照组。低光缺磷（LL-P）培养条件下蛋白含量下降到 51.2 mg/g，较磷充足培养时降低了 17%（ $P < 0.05$ ）。高光磷充足（HL+P）培养条件下总蛋白含量较对照组降低了 13%，高光与缺磷耦合（HL-P）时，蛋白含量进一步下降到 38.3 mg/g，比对照组降低了 46%（ $P < 0.05$ ）。

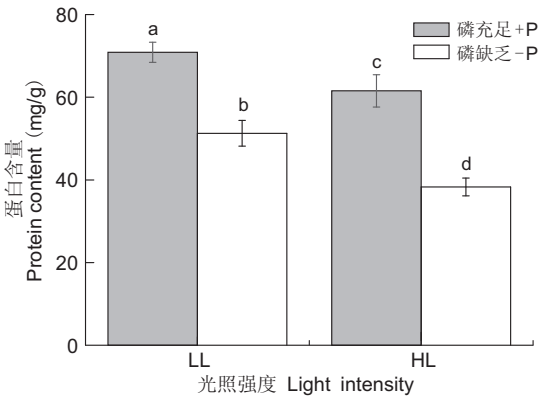


图 2 不同磷浓度与光强下集球藻总蛋白变化
Fig. 2 Protein content in *Palmellocooccus miniatius* grown at light levels of 100 (LL) or 600 (HL) $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ under different phosphorus conditions [data are means \pm SD ($n = 4$)]

2.3 缺磷和高光对集球藻油脂含量的影响

实验结果显示，高光和缺磷诱导集球藻细胞内油脂积累(图 3)。将低光磷充足（LL+P）培养下的集球藻油脂含量设为实验对照组，此时集球藻的油脂含量占干重的 29.4%。高光磷充足（HL+P）培养条件对集球藻细胞内油脂含量无影响。缺磷培养下，集球藻细胞内油脂大量积累，培养 9 d 后油脂含量占干重的 49.9%，是对照组的 1.7 倍（ $P <$

0.05），缺磷与高光耦合（HL-P）能进一步诱导集球藻细胞内油脂积累，为干重的 63.6%，是对照组的 2.17 倍（ $P < 0.05$ ）。

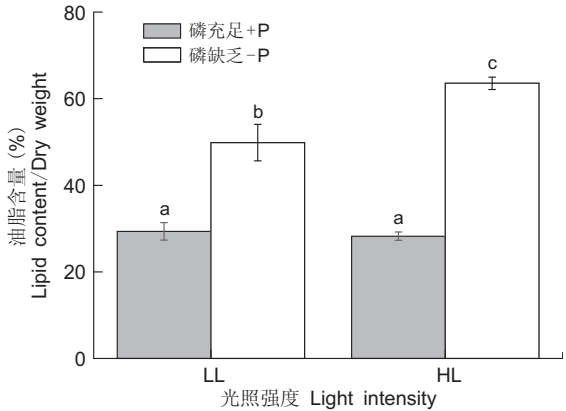


图 3 不同磷浓度与光强下集球藻油脂含量
Fig. 3 Total lipids in *Palmellocooccus miniatius* grown at light levels of 100 (LL) or 600 (HL) $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ under different phosphorus conditions [data are means \pm SD ($n = 4$)]

2.4 缺磷和高光对集球藻 PS II 光合活性的影响

从不同磷浓度与光强下集球藻最大潜在光化学效率(F_v/F_m)和非光化学淬灭 (NPQ)变化的实验结果可见(图 4)，在磷充足培养条件下，集球藻的 F_v/F_m 值不受光照强度的影响；但在缺磷培养下，集球藻的 F_v/F_m 值逐渐下降，在第 9 d 时下降至 0.6，与高光耦合时下降更多，第 9 d 下降至 0.46。高光能诱导出集球藻的 NPQ 保护机制保护细胞。在高光磷充足培养条件下， NPQ 在前 4 d 不断升高，之后保持平稳；与缺磷耦合时 NPQ 进一步增加，但第 5 d 后 NPQ 有所下降。低光培养下，集球藻 NPQ 无显著变化，说明磷的浓度在低光下对集球藻 NPQ 值无显著影响。

2.5 缺磷和高光对集球藻 PS II 电子传递的影响

为了探究缺磷和高光对集球藻光系统 II 电子传递的影响，在培养结束后分别测定了不同培养条件下细胞的快速叶绿素荧光诱导曲线，结果可见，在磷充足培养条件下，集球藻有明显的 OJIP 相(图 5)，此时，光强对 J 点的相对可变荧光与 Q_A^- 向 Q_B 的电子传递效率(Ψ_0)影响不显著（ $P > 0.05$ ）(图 6)；在缺磷培养条件下，J 点相对可变荧光较磷充足培养下明显升高（ $P < 0.05$ ），与高光耦合时进一步上升， Ψ_0 在低光培养下较高光培养下下降更明显（ $P < 0.05$ ），表明缺磷阻碍了集球藻电子从 Q_A^- 向 Q_B 的传递，导致 Q_A^- 大量累积， Q_A^- 重新氧化

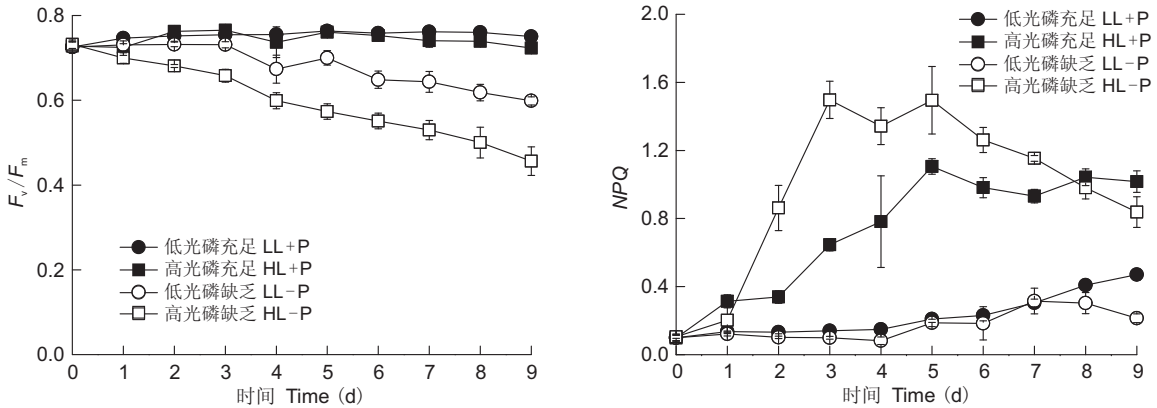


图 4 不同磷浓度与光强下集球藻的 PS II 光合活性变化
Fig. 4 Changes in maximum quantum yield of PS II (F_v/F_m) and nonphotochemical quenching (NPQ) of *Palmelloccoccus miniatius* grown at light levels of 100 (LL) or 600 (HL) $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ under different phosphorus conditions [data are means \pm SD ($n = 4$)]

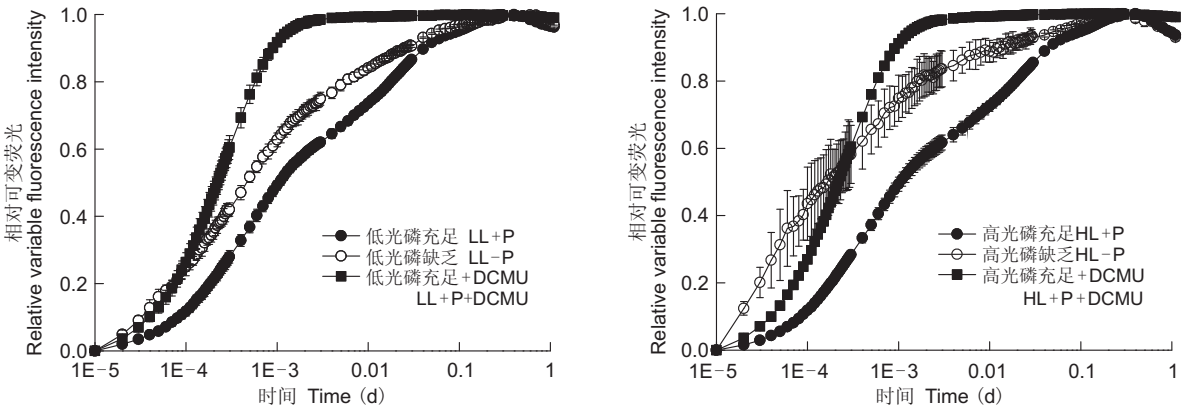


图 5 不同磷浓度与光强下集球藻叶绿素荧光诱导曲线 (OJIP)
Fig. 5 Chlorophyll a fluorescence transients (OJIP) in *Palmelloccoccus miniatius* grown at light levels of 100 (LL) or 600 (HL) $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ under different phosphorus conditions

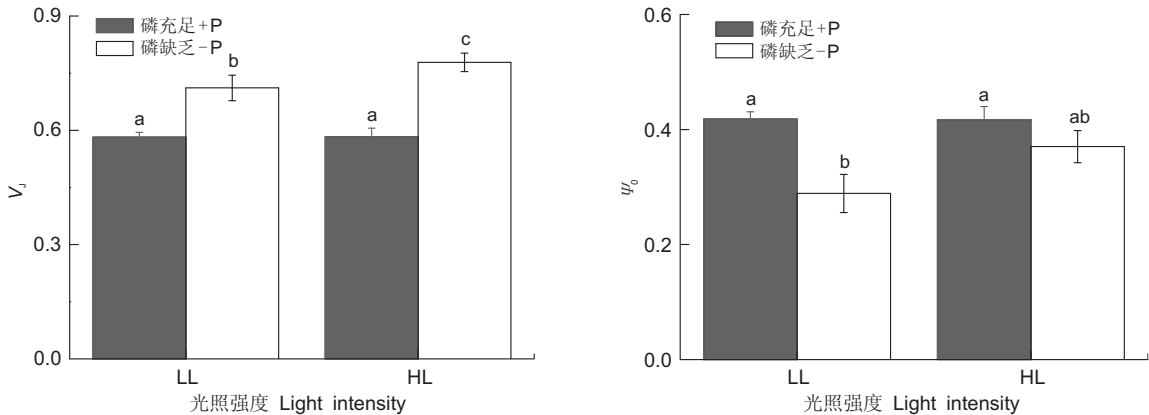


图 6 不同磷浓度与光强下集球藻 V_j 和 Ψ_0
Fig. 6 Relative variable fluorescence intensity at the J-step (V_j) and efficiency of electron transfer from Q_A^- to Q_B (Ψ_0) versus time in *Palmelloccoccus miniatius* grown at light levels of 100 (LL) or 600 (HL) $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ under different phosphorus conditions [data are means \pm SD ($n = 4$)]

的能力降低,而与高光耦合后进一步阻碍了集球藻电子从 Q_A 向 Q_B 的传递。

同时,我们分析了集球藻在不同磷浓度以及不同光照培养条件下单位反应中心的能流分配情况(表 1)。在低光培养下,缺磷条件培养时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_0/RC 、单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量 TR_0/RC 较磷充足培养时分别上升了 1.5、3.27 和 1.13 倍($P < 0.05$)。在高光培养下,缺磷条件培养时 ABS/RC 、 DI_0/RC 和 TR_0/RC 进一步上升($P < 0.05$)。而单位反应中心捕获的用于电子传递的能量 ET_0/RC 在磷充足和磷缺乏条件之间无显著变化($P > 0.05$),但在高光强培养条件下显著下降($P < 0.05$)。

3 讨论

磷是构成 DNA、RNA 以及 ATP 的必须元素,光照是微藻进行光合作用的必要条件,过量和缺乏都会影响微藻细胞的生长代谢过程^[12,13,15]。有关缺磷和高光单独对微藻的影响已有不少报道,但对两者的耦合作用研究较少。本研究结果显示,单独高光会促进集球藻的生长,但与缺磷耦合时缺磷对生长的影响更大,集球藻生长受抑制明显。同时,对微藻油脂的测定发现,缺磷和高光对油脂含量的单独作用具有种间差异,如缺磷会促进三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum* Bolin)和角毛藻(*Chaetoceros* sp.)细胞内的油脂积累,却会降低四片藻(*Tetraselmis* sp.)和微拟球藻(*Nannochloropsis atomus* Butcher)细胞内的油脂含量^[10];高光会诱导小球藻(*Chlorella* sp.)油脂积累却会降低

小新月菱形藻和等鞭金藻 8701 的油脂含量^[12,13]。在本研究中,缺磷促使集球藻油脂含量增加,达到细胞干重的 49.9%,虽然高光单独作用对集球藻油脂含量影响不大,但高光与缺磷耦合却使集球藻油脂含量达到干重的 63.6%。缺磷导致集球藻油脂积累很大一部分原因可能是由于中性脂含量增加^[16],磷也会降低磷酸烯醇丙酮酸羧化酶 PEPC 活性,从而使细胞内油脂含量增加^[17],集球藻中是否有这种机制还不得知,有待进一步探索。在本实验中,与缺磷和高光单独作用相比,两者的耦合导致集球藻蛋白质含量下降明显(图 2),集球藻的碳同化代谢更多的转为油脂合成代谢,使得集球藻中油脂含量增加。

我们进一步对集球藻光合作用进行分析发现,其 PS II 最大光化学效率 F_v/F_m 较高光来说对缺磷条件更敏感,缺磷使集球藻细胞 PS II 光化学活性下降,且缺磷和高光耦合时 F_v/F_m 进一步下降。缺磷导致 F_v/F_m 下降的现象在三角褐指藻和水华束丝藻(*Aphanizomenon flosaquae*(L.) Ralf.)中也有发现^[18,19]。有研究表明,缺磷导致微藻细胞内磷浓度降低,从而使光合磷酸化下降,ATP 合成受抑制,Calvin 循环效率下降,NADPH 和 $NADP^+$ 再生循环受阻,而 $NADP^+$ 是 PS I 的最终电子受体,其供应量不足,势必会引起 PS II 活性下降, F_v/F_m 降低^[20]。同时本研究也发现,集球藻在缺磷培养下非光化学淬灭 NPQ 相较于磷充足培养时无明显差异(图 3),而高光能启动 NPQ 保护机制来耗散过多的激发能,相对于磷浓度来说,光强显然是 NPQ 保护机制重要的诱导因素。

我们借助快速叶绿素荧光诱导曲线,分析了缺

表 1 不同磷浓度和不同光照下集球藻快速叶绿素荧光动力学曲线(OJIP 曲线)的相关参数
Table 1 OJIP test related parameters of *Palmellococcus miniatus* grown at light levels of 100 (LL) or 600 (HL) $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ under different phosphorus conditions. Superscripts with different letters represent significant differences among treatments

光照强度 Light intensity ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	磷处理 Phosphorus deficiency / Repletion conditions	ABS/RC	DI_0/RC	TR_0/RC	ET_0/RC
100	+P	2.08 \pm 0.057a	0.47 \pm 0.042 a	1.58 \pm 0.080 a	0.66 \pm 0.035 a
	-P	3.15 \pm 0.191 b	1.52 \pm 0.232 b	1.79 \pm 0.034 b	0.68 \pm 0.041 a
600	+P	2.24 \pm 0.046 a	0.62 \pm 0.041 c	1.63 \pm 0.026 a	0.52 \pm 0.071 b
	-P	3.75 \pm 0.592 c	2.16 \pm 0.467 d	2.09 \pm 0.100 b	0.57 \pm 0.011 b

注: ABS/RC , 单位反应中心吸收的光能; TR_0/RC , 单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量; ET_0/RC , 单位反应中心捕获的用于电子传递的能量; DI_0/RC , 单位反应中心耗散的能量。
Notes: Specific energy fluxes (per RC) considered as functional parameters: absorption flux (ABS/RC), dissipation flux (DI_0/RC), trapping flux (TR_0/RC), and electron transport flux (ET_0/RC).

磷和高光对集球藻电子传递的影响, 发现缺磷和高光的耦合作用相比缺磷单独作用来说, J点进一步升高, 说明电子从 Q_A^- 向 Q_B 的传递进一步受阻。缺磷培养条件下, 集球藻 J 点升高 (图 6), Ψ_0 降低表明 Q_A^- 之后的电子传递受到抑制, 而较高的 V_j 值也反映了活性反应中心部分关闭。在集球藻细胞能流分配中表现出缺磷和高光耦合条件下 ABS/RC 、 Dl_0/RC 和 TR_0/RC 上升, 说明有活性反应中心减少, 迫使剩余有活性反应中心的效率提高。但集球藻的 ET_0/RC 与磷浓度无关, 这可能是因为藻细胞在缺磷时下调 PS II 活性反应中心正是通过增加 ABS/RC 、 Dl_0/RC 以及维持 ET_0/RC 的稳定来保护自身光合系统功能的完整性^[21,22]。

综上分析, 我们认为缺磷和高光耦合使集球藻细胞 PS II 光化学活性下降, 从而抑制集球藻生长, 碳同化代谢更多的转为油脂合成代谢, 使得集球藻中油脂含量增加。

参考文献:

- [1] 梅洪, 张成武, 殷大聪, 耿亚红, 欧阳峥嵘, 李夜光. 利用微藻生产可再生能源研究概况[J]. 武汉植物学研究, 2008, 26(6): 650-660.
Mei H, Zhang CW, Ying DC, Gen YH, OuYang ZR, Li YG. Survey of studies on renewable energy production by microalgae[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2008, 26(6): 650-660.
- [2] Guschina IA, Harwood JL. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae[J]. *Prog Lipid Res*, 2006, 45(2): 160-186.
- [3] Cheng LH, Shen QH, Gong YP, Fang WZ, Bi ZC, Xu XH, Chen HL. Saline wastewater treatment by *Chlorella vulgaris* with simultaneous algal lipid accumulation triggered by nitrate deficiency[J]. *Bioresour Technol*, 2015, 193: 68-75.
- [4] Lee K, Mujtaba G, Choi W, Lee CG. Lipid production by *Chlorella vulgaris* after a shift from nutrient-rich to nitrogen starvation conditions[J]. *Bioresour Technol*, 2012, 123(123): 279-283.
- [5] Ruiz-Domínguez MC, Vaquero I, Obregón V, Morena B, Vilchez C, Vega J. Lipid accumulation and antioxidant activity in the eukaryotic acidophilic microalga *Coccomyxa* sp. (strain onubensis) under nutrient starvation[J]. *J Appl Phycol*, 2015, 27(3): 1099-1108.
- [6] Wang Y, Liu ZY, Qin S. Effects of iron on fatty acid and astaxanthin accumulation in mixotrophic *Chromochloris zofingiensis*[J]. *Biotechnol Lett*, 2013, 35(3): 351-357.
- [7] 刘平怀, 杨勋, 郝宗娣, 王丽波, 黄艳, 朱齐南, 黄斌. 氮、磷源及海盐对微藻细胞生长和油脂积累的影响[J]. 食品工业科技, 2013, 34(7): 186-189.
Liu PH, Yang X, Hao ZD, Wang LB, Huang Y, Zhu QN, Huang B. Effect of nitrogen, phosphorus and sea salt on the cell growth and lipid accumulation of *Micractinium reisseri*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34(7): 186-189.
- [8] 靳同霞, 董文静, 郭萌, 代克岩, 杨程, 徐婷婷, 马剑敏. 富营养废水中碳氮磷浓度对布朗葡萄藻总脂和总烃的影响[J]. 植物科学学报, 2012, 30(3): 293-298.
Jin TX, Dong WJ, Guo M, Dai KY, Yang C, Xu TT, Ma JM. Effects of carbon, nitrogen, phosphorus concentration in eutrophic wastewater on total lipids and total hydrocarbons of *Botryococcus braunii*[J]. *Plant Science Journal*, 2012, 30(3): 293-298.
- [9] Zachleder V, Li XL, Přibyl P, Bišová K, Kwano S, Cepák V. The microalga *Parachlorella kessleri* — a novel highly efficient lipid producer[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2013, 110(1): 97-107.
- [10] Reitan KI, Rainuzzo JR, Olsen Y. Effect of nutrient limitation on fatty-acid and lipid-content of marine microalgae[J]. *J Phycol*, 1994, 30(6): 972-979.
- [11] Raghothama KG. Phosphate transport and signaling[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2000, 3(3): 182-187.
- [12] 石娟, 潘克厚. 不同光照条件对小新月菱形藻和等鞭金藻 8701 生长及生化成分的影响[J]. 中国水产科学, 2004, 11(2): 121-128.
Shi J, Pan KH. Effects of different light intensities on growth and biochemical composition of *Nitzschia closterium* f. *minutissima* and *Isochrysis galbana* Parke 8701[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2004, 11(2): 121-128.
- [13] 李荷芳, 周汉秋. 光照强度对海洋微藻脂肪含量及脂肪酸组成影响的研究[J]. 海洋科学集刊, 2001, 43: 178-183.
Li HF, Zhou HQ. Effect of light intensity on the content of total lipid and fatty acid composition of marine microalgae[J]. *Studia Marine Sinica*, 2001, 43: 178-183.
- [14] Strasser BJ, Strasser RJ. Measuring Fast Fluorescence Transients to Address Environment Questions: The JIP Test[M]//Mathis P ed. Photosynthesis: from Light to Biosphere Amsterdam: Kluwer Academic Publishers, 1995: 977-980.
- [15] Rodolfi L, Zittelli GC, Bassi N, Tredici M. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor[J]. *Biotechnol Bioengin*, 2009, 102(1): 100-112.
- [16] Parrish CC, Wangersky PJ. Particulate and dissolved lipid classes in cultures of *Phaeodactylum triornutum* grown in cage culture turbidostats with a range of nitrogen supply

- rates[J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1987, 35: 119–128
- [17] Deng XD, Li YJ, Fei XW. The mRNA abundance of *pepc2* gene is negatively correlated with oil content in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Biomass Bioenerg*, 2011, 35(5): 1811–1817.
- [18] 李小梅, 夏建荣. 氮磷营养限制影响三角褐指藻光合无机碳利用和碳酸酐酶活性[J]. 水生生物学报, 2013, 37(3): 405–412.
- Li XM, Xia JR. Effects of nitrogen of phosphorus limitation on photosynthetic inorganic carbon utilization and carbonic anhydrase activity in *Phaeodactylum tricornutum*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, 37(3): 405–412.
- [19] 施军群, 吴忠兴, 马剑敏, 马帅. 水华束丝藻对磷的生理响应研究[J]. 水生生物学报, 2011, 35(5): 857–861.
- Shi JQ, Wu ZX, Ma JM, Ma S. Physiological response to phosphours in *Aphanizomenon flosaquae* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, 35(5): 857–861.
- [20] Jacob J, Lawlor D. *In vivo* photosynthetic electron transport does not limit photosynthetic capacity in phosphate-deficient sunflower and maize leaves[J]. *Plant Cell Environ*, 2006, 16(7): 785–95.
- [21] Rensburg V, Krüger GHJ, Eggenberg P, Strasser RJ. Can screening criteria for drought resistance in *Nicotiana tabacum* L. be derived from the polyphasic rise of the chlorophyll *a* fluorescence transient (OJIP)? [J]. *S Afr J Bot*, 1996, 62(6): 337–341.
- [22] Krüger GHJ, TsimilliMichael M, Strasser RJ. Light stress provokes plastic and elastic modifications in structure and function of photosystem II in camellia leaves[J]. *Physiol Plant*, 1997, 101(2): 265–277.

(责任编辑: 张 平)