

doi: 10.7541/2020.079

独脚金内酯对单针藻油脂积累的影响

宋雪婷 赵永腾 余旭亚

(昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500)

摘要: 文章研究了独脚金内酯(Strigolactone, SL)对单针藻*Monoraphidium* sp. QLY-1生长、油脂积累、生理指标和与油脂合成相关酶活性的影响, 探讨了SL对藻细胞内信号分子活性氧(ROS)、一氧化氮(NO)和 Ca^{2+} 与油脂合成的关系。结果表明, 在1 $\mu\text{mol/L}$ SL诱导条件下, 其油脂含量可达48.76%, 比对照组(38.12%)提高了27.91%。此外, SL提高了胞内 Ca^{2+} 、NO水平、乙酰辅酶A羧化酶(ACC)和苹果酸酶(ME)的活性, 同时下调了ROS和磷酸烯醇式丙酮酸(PEPC)的活性。研究表明, SL促进单针藻积累油脂与调控胞内信号分子水平和油脂合成关键酶活性有关, 为利用SL诱导微藻积累油脂提供了一定的理论基础。

关键词: 单针藻; 独脚金内酯; Ca^{2+} ; 油脂含量; NO; ROS; 酶活

中图分类号: Q949.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2020)03-0647-08

目前, 随着化石燃料的不断使用, 产生了化石燃料枯竭、生态破坏以及环境污染等一系列的问题^[1]。因此寻求一种环保型的能源成为必要。生物柴油因具有可再生、十六烷值高、能量密度高、稳定性好和安全性能好等优点而备受关注。微藻由于生长周期短、生长速度快、生物量大、不占用耕地等特点成为生产生物柴油的理想原料, 也成为近年来研究的热点^[2, 3]。但是由于传统培养下生产成本高, 生物量产率和油脂产率低等成为限制大规模生产生物柴油的主要障碍^[4]。

单针藻(*Monoraphidium* sp.)是一种具有产油能力的微藻, 因生长速度快、油脂含量高和光合效率高等优点被认为是一种有前景的可再生的原料^[5-7]。植物生长调节剂作为一种外源的非营养化学物质, 因其能够调控微藻细胞生长以及次级代谢产物的积累, 而备受关注^[8-10]。不同浓度的植物生长调节剂可以影响微藻的生长及油脂的合成, 研究表明, 在氮限制条件下, 添加5 mg/L的赤霉素能够有效提高绿藻*Acutodesmus obliquus*的油脂产率^[11]。Che等^[12]添加25 mg/L的黄腐酸诱导微藻油脂含量达到54.3%, 是对照组的1.12倍。而SL是一类类胡萝卜素衍生物, 不仅广泛存在于植物体内, 还存在于苔藓、轮

藻及绿藻内。作为一种植物生长调节剂, SL可调节植物的生长、发育及气孔关闭等生理活性。Kapulnik等^[13]报道了SL参与调节侧根形成并诱导根毛伸长。植物在非生物胁迫条件下添加SL能够缓解由胁迫引起的氧化性损伤、促进植物生长、调节根部发育^[14]。因此SL可能有利于微藻积累油脂。

细胞代谢通常是由多种信号转导途径共同调控的。ROS被认为是一种氧化性损伤的标志, 也是细胞间通讯的重要特征^[15, 16]; NO是一种重要的胞间信号分子, 参与植物细胞成熟、衰老、激素调节和气孔关闭并参与调节植物防御反应^[17]。 Ca^{2+} 是一种参与植物生长、发育的重要的信号分子, 增加培养基中钙离子浓度能够有效地提高微藻生长速度及生长比率^[18]。且SL与信号转导通路有关, 在植物生长、发育和生物耐受性过程中SL利用 Ca^{2+} 、NO、脱落酸(ABA)、细胞分裂素等形成多个信号网络^[14, 19, 20]。Lv等^[20]研究拟南芥*Arabidopsis thaliana*在SL作用下通过调节ABA信号和NO水平触发慢离子通道进而诱导气孔关闭。在*Medicago truncatula*中SL能增强根部的短链甲壳素寡聚物, 促进了胞内 Ca^{2+} 的表达^[21]。而SL调控微藻生长和油脂积累与胞内信号分子NO、 Ca^{2+} 和ROS水平

收稿日期: 2019-05-08; 修订日期: 2019-07-11

基金项目: 国家自然科学基金(21766012); 云南省教育厅科学研究基金(2020Y0084)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (21766012); Scientific Research Foundation of Yunnan Provincial Department of Education (2020Y0084)]

作者简介: 宋雪婷(1993—), 女, 硕士研究生; 研究方向为微藻资源开发。E-mail: sxueting_kmust@163.com

通信作者: 余旭亚(1969—), 男, 博士, 教授; E-mail: xuya_yu@163.com

之间的关系还没未见报道。

本实验以单针藻*Monoraphidium* sp. QLY-1为研究对象,在两阶段培养的基础上研究了不同浓度的SL对单针藻生物量以及油脂含量的影响,并探究了SL生理生化 and 油脂合成相关的酶活性的影响。此外探讨了SL诱导下胞内信号分子水平与单针藻生长和油脂合成的关系。本文为提高微藻油脂含量提供了一种思路,且提出了微藻中信号分子与油脂合成的可能性机制,这些机制可用于开发SL或其他植物激素诱导微藻中油脂或其他高附加值代谢产物积累。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

单针藻*Monoraphidium* sp. QLY-1由本实验室筛选、保存。SL(GR24):上海翊盛科技有限公司;细胞内钙离子检测试剂盒:上海贝博生物;活性氧检测试剂盒、一氧化氮检测试剂盒:上海碧云天生物技术有限公司;乙酰辅酶A羧化酶(ACC),磷酸烯醇式丙酮酸酶(PEPC),苹果酸酶(ME)试剂盒:苏州科铭生物技术有限公司;实验所用试剂均为分析纯,均购自昆明鼎国试剂公司。

1.2 实验方法

单针藻的培养 选用BG-11培养基为基础培养基,将单针藻*Monoraphidium* sp. QLY-1接种在装有250 mL培养基的500 mL三角瓶中。25℃ 150 r/min异养培养(10 g/L葡萄糖)11d。

SL诱导处理 将上述异养种子液接种到培养基体积为250 mL的自养BG-11培养基中,使微藻初始接种量为0.7 g/L。SL溶解于丙酮中,配制成浓度为10 mmol/L母液,添加量分别为5、25和125 μ L,使实验组培养基中SL的最终浓度为0.2、1和5 μ mol/L,对照组添加等量的丙酮。以自养BG-11培养基作为对照组,添加不同浓度的SL为实验组,在温度25℃,光照强度30 μ mol/(m²·s)、转速150 r/min的条件下连续光照培养。隔天收集藻细胞测定单针藻*Monoraphidium* sp. QLY-1的生物量和油脂含量。

生物量和总油脂含量的测定 采用冻干称重的方法计算生物量,测量体积为*V*的藻细胞,通过离心收集(3500 r/min, 5min)置于-80℃低温冰箱冷冻2h以上取出,用真空冷冻干燥机冷冻干燥48h后取出称重,记冻干藻粉重量为*w*₁。

油脂提取详细步骤见Che等^[12],称取干藻粉-石英砂(*w:w*=1:2)置于研钵中,充分研磨20min后,向研钵中加入3 mL氯仿甲醇溶液(*v:v*=2:1)提取油脂,在25℃ 150 r/min的摇床中,充分提取30min,离心

(3500 r/min, 10min)取上清。重复上述提取步骤2—3次至藻体发白,将上清液并入预先称重的50 mL离心管(*w*₂)中,至于40℃真空干燥箱中恒温干燥,直到处于恒重状态,称重(*w*₃),油脂含量(%)计算公式如下:

$$\text{生物量(g/L)} = w_1/V$$

$$\text{油脂含量(\%)} = (w_3 - w_2)/w_1 \times 100\%$$

叶绿素*a*、碳水化合物和蛋白质的测定 叶绿素*a*(Chl.*a*)的测定根据以下方法:取2 mL新鲜藻液,离心(1200 r/min, 5min),弃上清,用蒸馏水洗涤2—3次,加入1 mL的二甲基亚砷溶液重新悬浮细胞,用超声波提取2min后放入摇床充分提取30min,12000×*g*离心5min取上清待测,以二甲基亚砷为对照,测定样品在649和665 nm的吸光度^[22]。计算公式如下:

$$\text{Chl.}a (\mu\text{g/mL}) = 12.47 \times A_{665} - 3.63 \times A_{663}$$

利用葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法测定单针藻中碳水化合物的含量。利用考马斯亮蓝法,以牛血清蛋白做标准曲线,来测定蛋白质含量^[23]。

NO、ROS和Ca²⁺的测定 采用DCF-FM DA方法检测细胞内的NO水平^[17]。DCF-FM DA可以穿过细胞膜,进入细胞后可以被细胞内的酯酶催化形成不能穿过细胞膜的DAF-FM,DAF-FM本身仅有很弱的荧光,但是和一氧化氮反应后可以产生强烈荧光。取5 mL的新鲜藻液,离心,用pH=7.4的PBS洗涤藻细胞2—3次,加入1 mL稀释好的DAF-FM DA,37℃孵育30min,之后用pH=7.4的PBS洗涤藻细胞2—3次,以充分去除未进入细胞内的DAF-FM DA,荧光分光光度计测在激发波长为495 nm,发射波长为515 nm时微藻细胞的荧光强度,计算NO的含量。

采用DCFH-DA(2',7'-二氯荧光素二乙酸酯)的方法检测微藻细胞内ROS水平^[24]。取5 mL新鲜藻液,离心(8000 r/min, 5min)、弃上清,加入1 mL稀释好的DCFH-DA,37℃孵育30min,离心除去上清液,PBS(0.05 mol/L, pH=7)缓冲液洗涤2—3次,之后加入3 mL 0.1 mol/L的PBS溶液重新悬浮藻细胞,荧光分光光度计检测在激发波长为488 nm,发射波长为525 nm时微藻细胞荧光强度,计算ROS的含量。

采用BB cell Probe[®] F03荧光探针来测定细胞内Ca²⁺的水平^[24]。BB cell Probe[®] F03具有极高的细胞渗透性,经过简单孵育即可实现细胞加载。穿透细胞膜后被细胞内的酯酶剪切形成Fluo-3,从而被滞留在细胞内。F03游离配体几乎是非荧光性的,其荧光不会随着钙离子浓度升高而增强。但是,当它与细胞内钙离子结合后可以产生较强的荧光,荧

光会增加60—100倍。取2 mL的新鲜藻液,离心弃上清。再用HBSS(Hanks平衡盐溶液)溶液洗涤2—3次,加入1 mL稀释好的BB cell Probe®的荧光探针(HBSS:BB cell Probe®=1:1, v:v), 37℃孵育30min,离心弃上清,用HBSS洗涤2—3次,加入3 mL的HBSS重新悬浮细胞,荧光分光光度计检测在激发波长为488 nm,发射波长为515 nm时微藻细胞荧光强度,计算Ca²⁺的含量。

CaM基因相对表达水平的测定 总RNA的提取使用TRIzol(TIANGEN, Beijing), 具体操作步骤见Zhao等^[25]方法, RNA逆转录使用RT-PCR试剂盒(TaKaRa, Japan)。18S作为内参基因, 测定样品中特定DNA序列并进行定量分析, 且18S rRNA基因作为一个内部参考基因, 调节RNA的用量和循环数, 使内标基因在不同浓度诱导下的表达丰度一致。

酶活测定 利用乙酰辅酶A羧化酶(ACC)、苹果酸酶(ME)、磷酸烯醇式丙酮酸(PEPC)试剂盒测定ACC、ME和PEPC酶活^[22]。

1.3 数据处理

全部实验均设置三个平行, 结果以平均值±标准差, 通过ANOVA (SPSS 19.0)一步法分析实验数据。最小显著性差异进行多重比较检验调查不同实验的组间差异, 图中“*”表示与对照组相比差异显著($P<0.05$); “**”表示与对照组相比差异极显著($P<0.01$)。

2 结果与讨论

2.1 SL诱导下对单针藻QLY-1生长的影响

在SL诱导条件下, 单针藻*Monoraphidium* sp. QLY-1生长情况如图1所示, 在整个诱导阶段, 对照组与实验组均呈现上升的趋势, 但是不同浓度的

SL(0.2、1、5 $\mu\text{mol/L}$)诱导后生物量均高于对照组(0.89 g/L)。结果表明, SL诱导后对单针藻生物量没有积极作用, 且与对照组之间没有显著差异性。这与Zhao等^[25]的研究结果一致, 不同浓度的甜菜碱对单针藻生长无显著性作用, 此外, 在光自养阶段, 外源添加褪黑素对单针藻生长也无促进作用^[26]。

2.2 SL诱导下对单针藻QLY-1油脂含量、生物量产率以及油脂含量的影响

如图2A所示, 随着诱导时间的增加油脂含量随之变化, 在诱导第1天时, 0.2、1和5 $\mu\text{mol/L}$ SL处理下单针藻油脂含量分别达到37.96%、48.76%和40.07%, 分别是对照组(30.35%)的1.25倍、1.61倍和1.32倍。结果表明, SL可以提高单针藻*Monoraphidium* sp. QLY-1的油脂含量, 其可能的原因是SL调控了碳的重新分配, 使得碳水化合物和蛋白质向油脂合成的方向转移。Che等^[22]研究也表明黄腐酸诱导微藻中油脂的合成与调控胞内碳水化合物和蛋白质

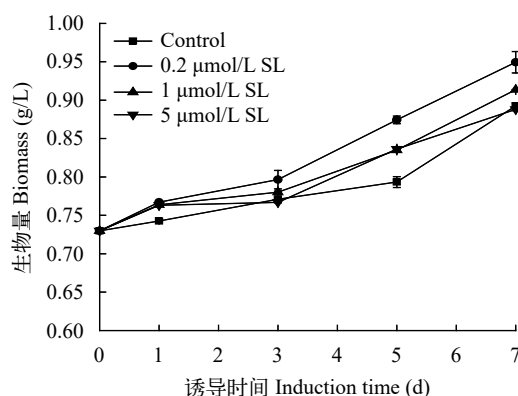


图1 不同浓度的SL诱导条件下对单针藻*Monoraphidium* sp. QLY-1生物量的影响

Fig. 1 The effect of SL on the biomass of *Monoraphidium* sp. QLY-1

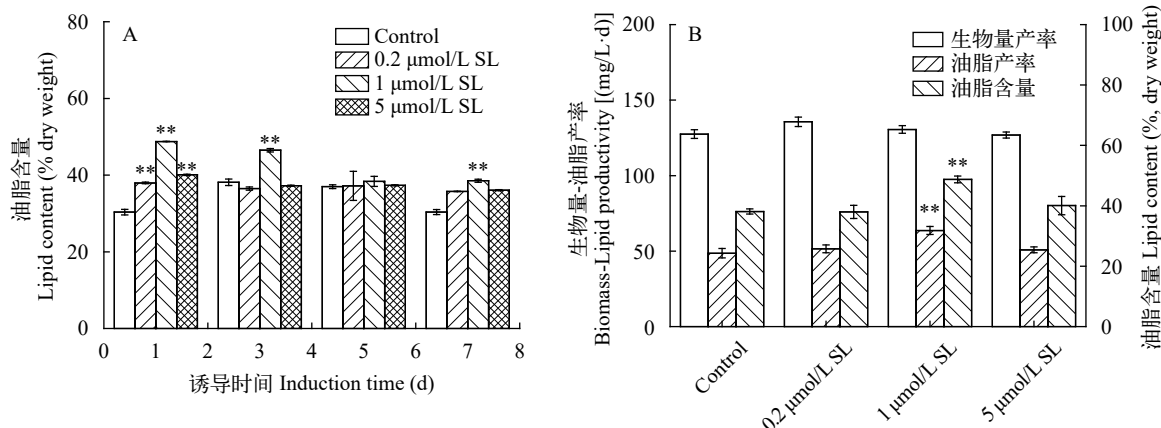


图2 不同浓度的SL诱导条件对单针藻*Monoraphidium* sp. QLY-1油脂含量、生物量产率以及油脂产率的影响

Fig. 2 The effect of SL on the lipid content, biomass productivity and lipid productivity of *Monoraphidium* sp. QLY-1

等有机物之间的相互转换相关。

在不同浓度SL诱导下生物量产率和油脂产率如图2B所示,生物量产率对照组与实验组相比没有显著性差异。在不同浓度的SL处理下,油脂产率均高于对照组,且在1 $\mu\text{mol/L}$ SL处理下达到最高,达到63.65 $\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$,是对照组的1.31倍。结果表明,SL可显著促进微藻中油脂积累,进而提高了微藻的油脂产率。这与Zhao等^[25]在诱导阶段利用甜菜碱诱导单针藻积累,从而大幅度提高微藻油脂产率一致。

2.3 SL诱导下对单针藻QLY-1对叶绿素a、碳水化合物、蛋白质的影响

在1 $\mu\text{mol/L}$ SL诱导条件下,单针藻*Monoraphidium* sp. QLY-1生理生化指标的变化如图3所示。叶绿素a是一种光合作用最重要的色素,叶绿素a从光中吸收能量,能量参与光合作用将二氧化碳和水转变为碳水化合物。如图3A所示,叶绿素a的含量与对照组相比呈现相同的变化趋势,对照组叶绿素a含量在诱导第3天从25.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 增加到37.45 $\mu\text{g}/\text{mL}$,高于实验组(32.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$);诱导第4天时,实验组与对照组叶绿素a含量无显著性差异,这与SL处理下生物量结果一致。褪黑素处理下微藻中叶绿素a含量较实验组没有显著性差异^[27]。

如图3B所示,在诱导第1天碳水化合物的含量实验组显著低于对照组,对照组从11.44%下降至5.58%,实验组从11.44%下降至2.41%。结果表明,碳水化合物和油脂积累具有共同的碳前体,碳水化合物的减少可能有利于脂质的积累。这与Zhao等^[24]研究在重金属胁迫下对微藻中碳水化合物的影响一致。然而,蛋白质含量的变化随着诱导时间的增加,诱导第3天达到最高,之后随着诱导时间的增加对照组从47.05%下降至41.93%,实验组从43.84%下降至41.34%(图3C)。在氮胁迫下,外源添加褪黑素诱导单针藻碳水化合物和蛋白质的减少伴随着脂质的积累^[27]。小球藻*Chlorella sorokiniana* SDEC-18在盐胁迫条件下促进了碳的再分配,将淀粉转换成油脂^[28]。因此,在SL诱导条件下,碳水化合物和

蛋白质的变化可能与脂质积累相关。而SL诱导油脂合成的机制还需进一步阐明。

2.4 SL诱导下对单针藻QLY-1 NO、ROS的影响

NO是一种气体分子和自由基,也是动植物、微生物中一种重要的信号分子和调节分子。总的NO水平可以通过测定细胞内的荧光强度来得到。如图4A,在诱导第1天外源添加SL显著提高了NO的水平,与对照组相比提高了12.25%。然而,随着诱导时间的增加,NO水平逐渐降低,但实验组均高于对照组。在非生物胁迫条件下,外源褪黑素可以提高胞内NO水平,随后通过信号转导将信号逐级级联放大,导致相关转录因子的激活而上调抗性基因的表达,从而调控雨生红球藻*Haematococcus pluvialis*中虾青素和油脂的合成^[29]。因此,在SL诱导条件下NO水平的提高可能与单针藻总油脂合成相关。

ROS作为一种代谢过程中产生的信号分子参与细胞生长增殖、衰老、凋亡等生理过程,且ROS能影响细胞的氧化平衡、生理学地位和基因转录^[30]。如图4B所示,细胞内ROS水平实验组与对照组之间没有显著性差异,且实验组低于对照组。在干旱胁迫下,SL可以缓解葡萄藤中的氧化性损伤^[31]。此外,适量ROS有助于藻细胞中油脂的积累,小球藻中发现ROS水平与中性脂含量相关^[32]。因此,在SL诱导下单针藻ROS水平下调可能与单针藻中油脂合成有关。

2.5 SL诱导下对单针藻QLY-1胞内Ca²⁺和CaM基因表达水平的影响

Ca²⁺信号在植物和微藻中扮演着一个至关重要的角色且参与信号转导途径^[30,33]。如图5所示,在SL诱导条件下,检测Ca²⁺水平以及CaM基因的表达水平。如图5A所示,在整个诱导阶段,SL处理后的Ca²⁺水平均高于对照组,且在诱导第1天达到最高,是对照组的1.2倍。这个结果说明SL诱导处理可能增加了钙离子通道的活性。而且,Ca²⁺水平增加,导致Ca²⁺/CaM活性增加,促进了CaM基因的表达。如

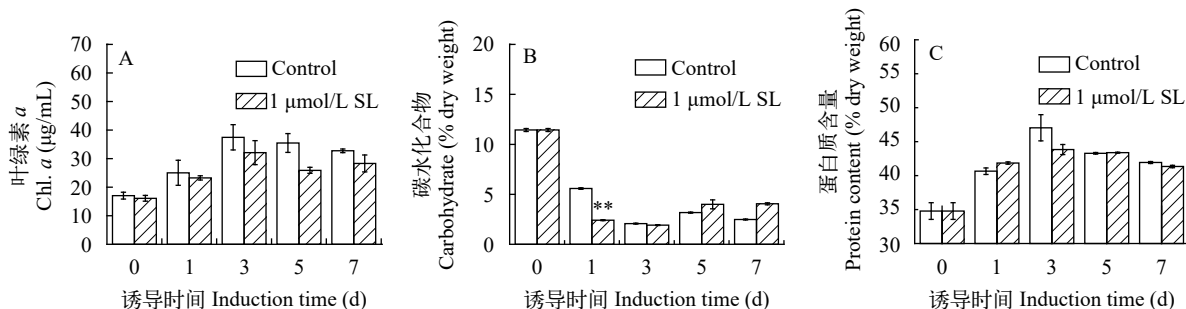


图3 1 $\mu\text{mol/L}$ SL诱导条件下对单针藻*Monoraphidium* sp. QLY-1叶绿素a、碳水化合物、蛋白质的影响

Fig. 3 The effect of 1 $\mu\text{mol/L}$ SL on the Chl. a, carbohydrate and protein of *Monoraphidium* sp. QLY-1

图 5B 所示, SL 诱导处理后提高了 *CaM* 基因的表达水平, 这与 Ca^{2+} 水平一致。Genre 等^[21] 证明在 *Medicago truncatula* 根部 SL 能够增加短链甲壳素低聚物, 能够模拟 AM GSE 诱导 Ca^{2+} 升高。Chen 等^[30] 通过改变胞内 Ca^{2+} 水平提高了小球藻 *Chlorella sp.* C 中性脂的合成。在氮胁迫条件下, Ca^{2+} 通过调节小球藻 *Chlorella sorokinian* 中的电子流, 调控脂质积累^[33]。此外, 外源 Ca^{2+} 可通过调控 ROS 信号和油脂合成相关基因表达, 从而进一步调控胁迫下藻细胞的生长和油脂积累^[24]。结果表明, 在 SL 诱导下 Ca^{2+} 信号参与调控了单针藻中油脂合成。此外,

SL 诱导条件下也可能与油脂合成相关的酶活性有关。

2.6 SL 诱导下对单针藻 QLY-1 乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC)、苹果酸酶 (ME) 和磷酸烯醇式丙酮酸酶 (PEPC) 活性的影响

乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 是脂肪酸生物合成的第一个限速酶, 催化乙酰辅酶 A 转化成丙二酰辅酶 A。如图 6A 所示, 在整个诱导阶段实验组 ACC 的酶活性均高于对照组, 且在诱导第 1 天达到最高, 是对照组的 1.33 倍, 这与藻细胞在诱导初期油脂的快速积累一致。结果表明, ACC 活性的提高伴随着油脂的快速积累。在氮胁迫下, 衣藻 *Chlamydomonas re-*

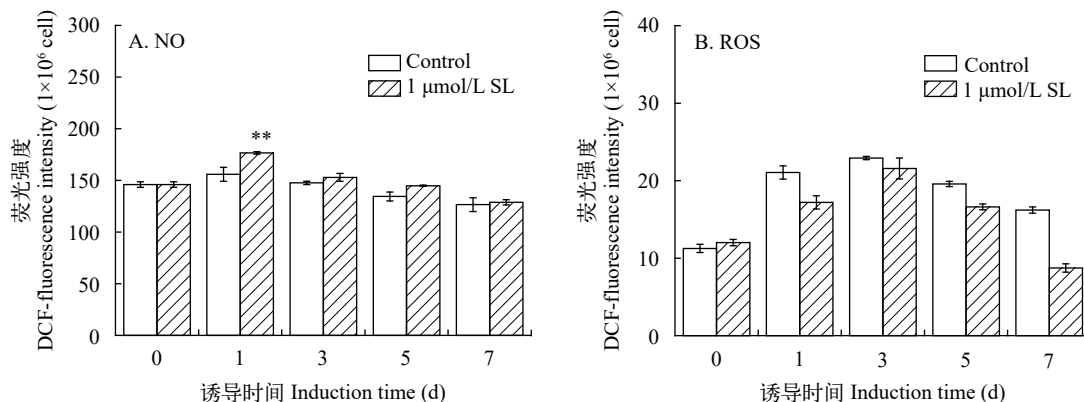


图 4 1 μmol/L SL 诱导条件下对单针藻 *Monoraphidium sp.* QLY-1 NO、ROS 的影响

Fig. 4 The effect of 1 μmol/L SL on the NO and ROS of *Monoraphidium sp.* QLY-1

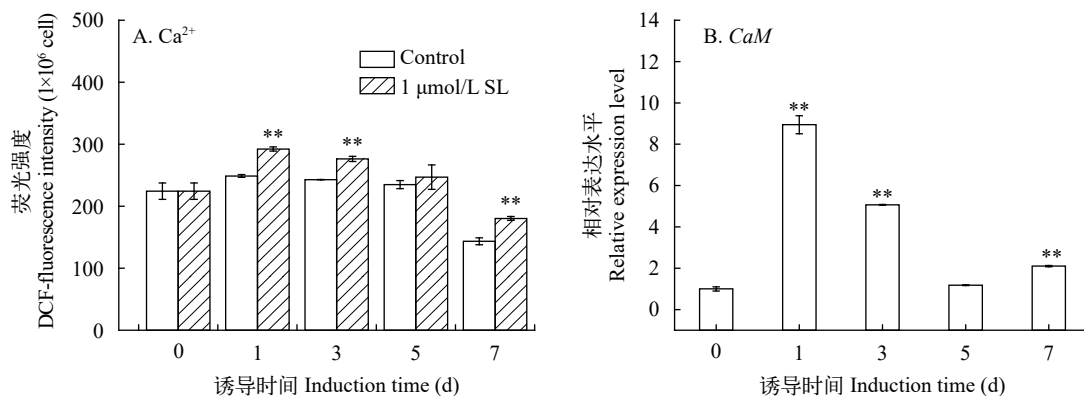


图 5 1 μmol/L SL 诱导条件下对单针藻 *Monoraphidium sp.* QLY-1 Ca^{2+} 和 *CaM* 基因表达水平的影响

Fig. 5 The effect of 1 μmol/L SL on the Ca^{2+} and *CaM* gene expression level of *Monoraphidium sp.* QLY-1

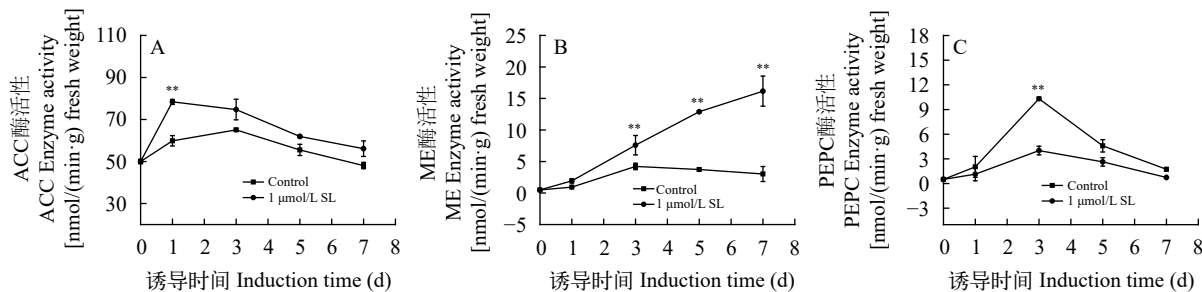


图 6 1 μmol/L SL 诱导条件下对单针藻 *Monoraphidium sp.* QLY-1 ACC、ME、PEPC 酶活性的影响

Fig. 6 The effect of 1 μmol/L SL on the ACC, ME and PEPC enzyme activity of *Monoraphidium sp.* QLY-1

inhardtii 油脂含量达到最高时, ACC 酶活性较对照组提高了 3 倍^[34]。外源黄腐酸诱导单针藻中油脂合成, 同时上调了 ACC 活性^[22]。

苹果酸酶(ME)参与多种不同的脂肪合成, 能量代谢和光合作用, 且参与脂肪酸合成限速反应, 催化苹果酸生成丙酮酸、NADPH 和 CO_2 的过程。如图 6B 所示, 在整个诱导阶段, ME 酶活性实验组高于对照组, 且在 SL 诱导后期, ME 酶活性显著性增加, 分别是对照组的 1.80、3.45 和 5.37 倍。在 SL 诱导下, ME 活性的增加促进了单针藻油脂的积累。与前人研究结果一致, 外源添加褪黑素诱导微藻积累油脂中, 实验组中 ME 的活性和油脂含量较对照组均有显著提升^[35]。在缺氮条件下, 过表达 ME 基因可显著增加 ME 的活性和油脂的积累^[36]。

酸烯醇式丙酮酸酶(PEPC)是催化酸烯醇式丙酮酸生成草酰乙酸的关键酶, 草酰乙酸进入三羧酸循环为其他物质提供前提和能量^[37]。因此 PEPC 的酶活性与油脂合成的代谢通路息息相关。如图 6C 所示, 实验组与对照组 PEPC 的酶活性刚开始升高随后迅速降低, 且实验组 PEPC 酶活性均高于实验组。Fan 等^[7]研究微藻在氮胁迫条件下油脂的快速积累过程中 PEPC 活性呈显著性下降。在绿藻 *Chlamydomonas reinhardtii* 中增加 PEPC 的酶活性, 发现三酰甘油的含量显著性下降^[38]。因此, 在 SL 处理下 PEPC 的活性与油脂积累呈负相关。此外, SL 诱导单针藻中油脂合成还可能与油脂合成基因表达有关^[22, 39, 40], 其分子机制有待进一步深入研究。

综上所述, 适量浓度的 SL 可有效地促进单针藻中油脂积累。SL 调控单针藻积累油脂的可能性机制如图 7 所示。在外源 SL 诱导下, 提高了单针藻细胞内信号分子 Ca^{2+} 、NO 水平, 促进 *CaM* 基因上调, 细胞内 ROS 水平下调, 进而促进与油脂合成相关的酶活性上调, 提高油脂积累。为 SL 或其他植物生长调节剂诱导微藻油脂积累提供一定的理论依据。

3 结论

本文提出了一种简单有效的利用外源植物激素独脚金内酯诱导单针藻积累油脂的策略。结果表明, $1 \mu\text{mol/L}$ SL 可显著提高单针藻油脂含量。并初步分析了 SL 促进单针藻油脂积累的可能性机制, 发现 SL 参与了油脂合成过程中的信号转导, 调控了胞内信号分子 ROS、NO、 Ca^{2+} 水平及油脂合成通路上相关的酶活性, 为开发 SL 或其他植物激素诱导微藻积累油脂或其他高附加值代谢产物, 以及调控植物代谢提供了一定的理论借鉴, 也为利用基因工程改造微藻积累油脂提供了新的研究方向。

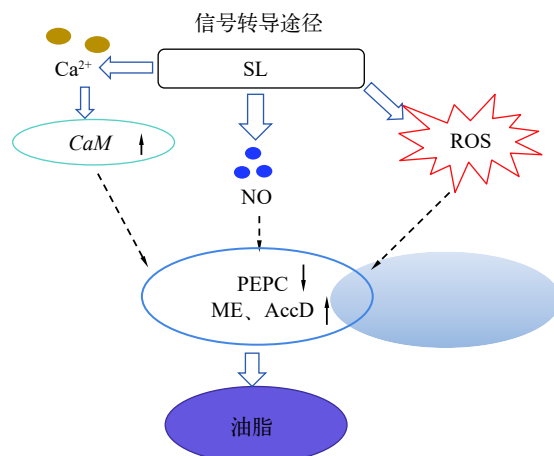


图 7 SL 调控单针藻 *Monoraphidium* sp. QLY-1 积累油脂的可能性机制

Fig. 7 The possible mechanism of SL regulating the accumulation of lipids in *Monoraphidium* sp. QLY-1

参考文献:

- [1] Chen C Y, Zhao X Q, Yen H W, *et al.* Microalgae-based carbohydrates for biofuel production [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2013, (78): 1-10.
- [2] Debiagi P E A, Trinchera M, Frassoldati A, *et al.* Algae characterization and multistep pyrolysis mechanism [J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2017, (128): 423-436.
- [3] Sun H, Zhao W, Mao X, *et al.* High-value biomass from microalgae production platforms: strategies and progress based on carbon metabolism and energy conversion [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2018, 11(1): 227.
- [4] Wang Y, He B, Sun Z, *et al.* Chemically enhanced lipid production from microalgae under low sub-optimal temperature [J]. *Algal Research*, 2016, (16): 20-27.
- [5] Yu X, Zhao P, He C, *et al.* Isolation of a novel strain of *Monoraphidium* sp. and characterization of its potential application as biodiesel feedstock [J]. *Bioresource Technology*, 2012, (121): 256-262.
- [6] Huang L, Xu J, Li T, *et al.* Effects of additional Mg^{2+} on the growth, lipid production, and fatty acid composition of *Monoraphidium* sp. FXY-10 under different culture conditions [J]. *Annals of Microbiology*, 2014, 64(3): 1247-1256.
- [7] Fan J, Yan C, Andre C, *et al.* Oil accumulation is controlled by carbon precursor supply for fatty acid synthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2012, 53(8): 1380-1390.
- [8] Xia L, Ge H, Zhou X, *et al.* Photoautotrophic outdoor two-stage cultivation for oleaginous microalgae *Scenedesmus obtusus* XJ-15 [J]. *Bioresource Technology*, 2013(144): 261-267.
- [9] Luo B F, Du S T, Lu K X, *et al.* Iron uptake system media-

- tes nitrate-facilitated cadmium accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, **63**(8): 3127-3136.
- [10] Salama E S, Kabra A N, Ji M K, *et al.* Enhancement of microalgae growth and fatty acid content under the influence of phytohormones [J]. *Bioresource Technology*, 2014, (172): 97-103.
- [11] Renuka N, Guldhe A, Singh P, *et al.* Combined effect of exogenous phytohormones on biomass and lipid production in *Acutodesmus obliquus* under nitrogen limitation [J]. *Energy Conversion and Management*, 2018, (168): 522-528.
- [12] Che R, Ding K, Huang L, *et al.* Enhancing biomass and oil accumulation of *Monoraphidium* sp. FXY-10 by combined fulvic acid and two-step cultivation [J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2016, (67): 161-165.
- [13] Kapulnik Y, Delaux P M, Resnick N, *et al.* Strigolactones affect lateral root formation and root-hair elongation in Arabidopsis [J]. *Planta*, 2011, **233**(1): 209-216.
- [14] Mostofa M G, Li W, Nguyen K H, *et al.* Strigolactones in plant adaptation to abiotic stresses: An emerging avenue of plant research [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2018, **41**(10): 2227-2243.
- [15] Marcec M J, Gilroy S, Poovaiah B W, *et al.* Mutual interplay of Ca^{2+} and ROS signaling in plant immune response [J]. *Plant Science*, 2019, (283): 343-354.
- [16] Mallick N, Mohn F H. Reactive oxygen species: response of algal cells [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2000, **157**(2): 183-193.
- [17] Ding W, Zhao Y, Xu J W, *et al.* Melatonin: a multifunctional molecule that triggers defense responses against high light and nitrogen starvation stress in *Haematococcus pluvialis* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, **66**(29): 7701-7711.
- [18] Di Caprio F, Altimari P, Pagnanelli F. Effect of Ca^{2+} concentration on *Scenedesmus* sp. growth in heterotrophic and photoautotrophic cultivation [J]. *New Biotechnology*, 2018, (40): 228-235.
- [19] Kolbert Z. Strigolactone-nitric oxide interplay in plants: The story has just begun [J]. *Physiologia Plantarum*, 2019, **165**(3): 487-497.
- [20] Lv S, Zhang Y, Li C, *et al.* Strigolactone-triggered stomatal closure requires hydrogen peroxide synthesis and nitric oxide production in an abscisic acid-independent manner [J]. *New Phytologist*, 2017, **217**(1): 290-304.
- [21] Genre A, Chabaud M, Balzergue C, *et al.* Short-chain chitin oligomers from arbuscular mycorrhizal fungi trigger nuclear Ca^{2+} spiking in *Medicago truncatula* roots and their production is enhanced by strigolactone [J]. *New Phytologist*, 2013, **198**(1): 190-202.
- [22] Che R, Huang L, Xu J W, *et al.* Effect of fulvic acid induction on the physiology, metabolism, and lipid biosynthesis-related gene transcription of *Monoraphidium* sp. FXY-10 [J]. *Bioresource Technology*, 2016, (227): 324-334.
- [23] Wang X P, Xing S L. Determination of protein content by coomassie brilliant blue method [J]. *Tianjin Chemical Industry*, 2009, **23**(3): 40-41. [王孝平, 邢树礼. 考马斯亮蓝法测定蛋白含量的研究 [J]. *天津化工*, 2009, **23**(3): 40-41.]
- [24] Zhao Y, Song X, Yu L, *et al.* Influence of cadmium stress on the lipid production and cadmium bioresorption by *Monoraphidium* sp. QLY-1 [J]. *Energy Conversion and Management*, 2019, (188): 76-85.
- [25] Zhao Y, Li D, Ding K, *et al.* Production of biomass and lipids by the oleaginous microalgae *Monoraphidium* sp. QLY-1 through heterotrophic cultivation and photochemical modulator induction [J]. *Bioresource Technology*, 2016, (211): 669-676.
- [26] Li D, Zhao Y, Ding W, *et al.* A strategy for promoting lipid production in green microalgae *Monoraphidium* sp. QLY-1 by combined melatonin and photoinduction [J]. *Bioresource Technology*, 2017, (235): 104-112.
- [27] Song X T, Zhao Y T, Yu X Y. Effect of exogenous melatonin on lipid synthesis in *Monoraphidium* sp. QLY-1 under nitrogen deficiency stress [J]. *China Lipid*, 2019, **44**(1): 80-85. [宋雪婷, 赵永腾, 余旭亚. 外源褪黑素对缺氮胁迫下单针藻 *Monoraphidium* sp. QLY-1 中油脂合成的影响 [J]. *中国油脂*, 2019, **44**(1): 80-85.]
- [28] Zhang L, Pei H, Chen S, *et al.* Salinity-induced cellular cross-talk in carbon partitioning reveals starch-to-lipid biosynthesis switching in low-starch freshwater algae [J]. *Bioresource Technology*, 2018, (250): 449-456.
- [29] Ding W, Zhao P, Peng J, *et al.* Melatonin enhances astaxanthin accumulation in the green microalga *Haematococcus pluvialis* by mechanisms possibly related to abiotic stress tolerance [J]. *Algal Research*, 2018, (33): 256-265.
- [30] Chen H, Zhang Y, He C, *et al.* Ca^{2+} signal transduction related to neutral lipid synthesis in an oil-producing green alga *Chlorella* sp. C2 [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2014, **55**(3): 634-644.
- [31] Min Z, Li R, Chen L, *et al.* Alleviation of drought stress in grapevine by foliar-applied strigolactones [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, (135): 99-110.
- [32] Shi K, Gao Z, Shi T Q, *et al.* Reactive oxygen species-mediated cellular stress response and lipid accumulation in oleaginous microorganisms: the state of the art and future perspectives [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, (8): 793.
- [33] Chen H, Chen S L, Jiang J G. Effect of Ca^{2+} channel block on glycerol metabolism in *Dunaliella salina* under hypoosmotic and hyperosmotic stresses [J]. *PLoS. One*, 2011, **6**(12): e28613.
- [34] Msanne J, Xu D, Konda A R, *et al.* Metabolic and gene

- expression changes triggered by nitrogen deprivation in the photoautotrophically grown microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* and *Coccomyxa* sp. C-169 [J]. *Phytochemistry*, 2012, (75): 50-59.
- [35] Li D F, Zhao Y T, Yu X Y. Effect of exogenous melatonin on lipid synthesis in *Monoraphidium* sp. QLY-1 [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, **42**(2): 421-427. [李大菲, 赵永腾, 余旭亚. 褪黑素对单针藻油脂积累的影响 [J]. *水生生物学报*, 2018, **42**(2): 421-427.]
- [36] Xue J, Niu Y F, Huang T, *et al.* Genetic improvement of the microalga *Phaeodactylum tricornutum* for boosting neutral lipid accumulation [J]. *Metabolic Engineering*, 2015, (27): 1-9.
- [37] Ikarán Z, Suárez-Alvarez S, Urreta I, *et al.* The effect of nitrogen limitation on the physiology and metabolism of *Chlorella vulgaris* var L3 [J]. *Algal Research*, 2015, (10): 134-144.
- [38] Deng X, Li Y, Fei X. The mRNA abundance of *pepc2* gene is negatively correlated with oil content in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2011, **35**(5): 1811-1817.
- [39] Wan M, Liu P, Xia J, *et al.* The effect of mixotrophy on microalgal growth, lipid content, and expression levels of three pathway genes in *Chlorella sorokiniana* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, **91**(3): 835-844.
- [40] Sharma T, Gour R S, Kant A, *et al.* Lipid content in *Scenedesmus* species correlates with multiple genes of fatty acid and triacylglycerol biosynthetic pathways [J]. *Algal Research*, 2015, (12): 341-349.

EFFECTS OF STRIGOLACTONE ON LIPID ACCUMULATION IN *MONORAPHIDIUM* SP. QLY-1

SONG Xue-Ting, ZHAO Yong-Teng and YU Xu-Ya

(Faculty of Life Sciences and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: Strigolactone (SL) is a class of carotenoid - derived phytohormones. In this study, the effect of SL on the growth, lipid accumulation and biochemical and lipid biosynthesis-related enzyme activities of *Monoraphidium* sp. QLY-1 was investigated. Furthermore, the relationship between SL and the synthesis of reactive oxygen species (ROS), nitric oxide (NO) and Ca^{2+} in lipid synthesis of QLY-1 under SL induction was discussed. The results showed that the lipid content under 1 $\mu\text{mol/L}$ SL induction achieved 48.76% and increased by 27.91% compared with the control group (38.12%). Furthermore, SL application elevated the levels of endogenous Ca^{2+} and nitric oxide (NO), upregulated ACC and ME activities, and downregulated PEPC activities. These results indicated that SL promoted lipid synthesis in QLY-1 by regulating the levels of endogenous signal molecules and the activities of key lipid biosynthetic enzymes. This study provides a theoretical basis for the use of plant hormones to induce the accumulation of lipids in microalgae.

Key words: *Monoraphidium*; Strigolactone; Ca^{2+} ; Lipid content; NO; ROS; Enzyme activity