

氮源对紫球藻和蓝隐藻胞外多糖及藻胆蛋白含量的影响*

梁英¹, 胡乃霞¹, 黄徐林^{1,2}, 田传远¹, 闫译允¹, 王帅³

(1. 海水养殖教育部重点实验室(中国海洋大学), 山东 青岛 266003; 2. 广东海大集团股份有限公司, 广东 广州 511400;

3. 海洋活性物质与现代分析技术重点实验室(自然资源部第一海洋研究所, 山东 青岛 266061)

摘要: 本文研究了4种不同氮源(硝酸钠、氯化铵、脲和硝酸铵)对紫球藻(*Porphyridium* sp.)和蓝隐藻(*Chroomonas placoidea*)叶绿素荧光参数(PSII最大光能转化效率 F_v/F_m 、相对电子传递效率rETR、光化学淬灭系数qP、非光化学淬灭系数NPQ)、细胞密度、干重、胞外多糖和藻胆蛋白含量的影响。研究表明,有利于紫球藻和蓝隐藻生长和光合作用的最佳氮源是硝酸钠,在此条件下,实验结束时,2种微藻的 F_v/F_m 、rETR、qP、细胞密度和干重均达到最大值,而氯化铵则对其上述参数均有抑制作用。有利于紫球藻分泌胞外多糖和合成藻胆蛋白的最佳氮源分别是氯化铵和硝酸铵,在此条件下,该藻胞外多糖和藻胆蛋白含量分别达到干重的29.0%和17.5%;有利于蓝隐藻分泌胞外多糖和合成藻胆蛋白的最佳氮源分别是脲和硝酸铵,在此条件下,该藻胞外多糖和藻胆蛋白含量分别达到干重的17.5%和18.8%。综合考虑生物量和活性物质含量,获取2种微藻胞外多糖的较理想氮源是脲,获取2种微藻藻胆蛋白的较理想氮源是硝酸钠。该结果为2种微藻的培养及开发利用提供了理论依据。

关键词: 紫球藻; 蓝隐藻; 氮源; 叶绿素荧光参数; 胞外多糖; 藻胆蛋白

中图法分类号: S917.3; Q178.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-5174(2020)05-031-09

DOI: 10.16441/j.cnki.hdxh.20180395

引用格式: 梁英, 胡乃霞, 黄徐林, 等. 氮源对紫球藻和蓝隐藻胞外多糖及藻胆蛋白含量的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2020, 50(5): 31-39.

LIANG Ying, HU Nai-Xia, HUANG Xu-Lin, et al. Effects of nitrogen sources on exopolysaccharide and phycobiliprotein contents of *Porphyridium* sp. and *Chroomonas placoidea*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2020, 50(5): 31-39.

微藻种类繁多,数量庞大,在水域生态系统中扮演主要初级生产者的角色^[1]。由于微藻具有进化多源性和遗传多样性,可以产生众多独具特色、结构新颖的次级代谢产物^[2-4]。其中,胞外多糖是微藻在生长过程中向外分泌的胞外产物的主要组成成分^[5],具有许多特殊的理化性质和生物活性^[6]。藻胆蛋白属于捕光色素蛋白,不仅在光合作用中起到吸收和传递能量的作用,而且还能在氮源缺乏的情况下作为储存蛋白供微藻继续生存^[7]。目前,国内外研究发现微藻胞外多糖和藻胆蛋白具有许多重要的药用价值^[8-12],其含量变化很大程度上与微藻种类及培养条件有关^[13-18]。

氮是四大基本元素之一,为细胞进行能量代谢和物质代谢等重要生命活动所必需^[19],大多数微藻主要利用硝态氮、铵态氮和有机氮等形式^[20]。近年来,已有学者进行了氮源对微藻生长、胞外多糖及藻胆蛋白含量影响方面的研究^[14-17]。尤珊等^[14]研究发现以尿素和

硝酸钠为氮源时均有利于钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)的生长,但藻细胞对硝酸钠的利用率更高,陈新美等^[15]则发现用适宜质量浓度的尿素代替硝酸钠为氮源培养钝顶螺旋藻时,既可以加快细胞生长又利于增加其藻胆蛋白含量。李战^[16]的实验结果表明,铵盐对淡色紫球藻(*Porphyridium purpureum* 806)和血色紫球藻(*Porphyridium cruentum*)分泌胞外多糖有促进作用,史磊^[17]的实验结果则表明,铵盐对紫球藻分泌胞外多糖无促进作用。上述研究表明,氮源对微藻生长、胞外多糖及藻胆蛋白含量的影响与微藻种类及培养条件有关,即使对同一种微藻的研究,不同学者也得出了不同的结论,因此需要进一步研究。

紫球藻(*Porphyridium* sp.)是一种单细胞红藻^[21],内有一大而呈星形的色素体,贮存着大量藻胆蛋白^[22],一般进入生长稳定期后,紫球藻会在细胞膜外层分泌胞外多糖形成粘质鞘^[23]。蓝隐藻(*Chroomonas placoidea*)

* 基金项目:山东省重点研究发展计划项目(2017GHY15104);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2017Q09);国家自然科学基金项目(41806201)资助

Supported by the Key Research and Development Program of Shandong Province(2017GHY15104); the Basic Scientific Fund for National Public Research Institutes of China(2017Q09); the National Natural Science Foundation of China(41806201)

收稿日期:2019-03-03; 修订日期:2019-06-05

作者简介:梁英(1967-),女,博士,教授,主要从事微藻生理生化研究。E-mail: yiliang@ouc.edu.cn

是隐藻门(Cryptophyta)中的一种运动微藻^[24],藻细胞内只含有一种藻胆蛋白^[25]。目前,仅见李战^[16]和史磊^[17]有关氮源对紫球藻胞外多糖含量影响的报道以及肖华山等^[18]有关氮源对紫球藻藻胆蛋白含量影响的报道,还未见氮源对蓝隐藻生长、胞外多糖及藻胆蛋白含量影响的报道。本文以紫球藻和蓝隐藻为研究对象,比较分析了不同氮源对2种微藻的生长、叶绿素荧光参数、胞外多糖和藻胆蛋白含量的影响,以期为2种微藻的培养及开发利用提供重要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 藻种来源

实验所用藻种均取自中国海洋大学微藻种质库,分别为紫球藻(*Porphyridium* sp., MACC/A165)和蓝隐藻(*Chroomonas placoidea*, MACC/T11)。

1.2 实验设计

以 f/2 培养基^[26]为基础,选取硝酸钠、氯化铵、脲和硝酸铵4种氮源,实验浓度分别为74.8,47.0,26.4和35.2 mg/L,每种氮源的氮浓度均与 f/2 培养基的氮浓度(12.3 mg/L)相同,每种氮源设置3个平行。定时(次/2 d)定量(5 mL/次)取样测定叶绿素荧光参数和细胞密度,培养结束后测定微藻干重、胞外多糖和藻胆蛋白含量。

1.3 培养条件

2种微藻均在500 mL三角烧瓶中进行培养,紫球藻初始接种密度为 1.86×10^5 个/mL,蓝隐藻初始接种密度为 1.29×10^5 个/mL。温度(23 ± 1) °C,盐度32,光照周期18L:6D,光照强度 $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,连续充气培养,培养周期10 d。

1.4 测定方法

按Liang等^[27]方法测定叶绿素荧光参数 F_v/F_m (光系统II最大光能转化效率)、rETR(相对电子传递效率)、qP(光化学淬灭系数)和NPQ(非光化学淬灭系数),紫球藻和蓝隐藻的细胞密度分别通过标准曲线法和血球计数板法进行测定,干重分别通过标准曲线法和冷冻干燥法进行测定,胞外多糖和藻胆蛋白含量分别用苯酚硫酸法^[28]和蛋白试剂盒进行测定。

1.5 数据处理

用Origin8.5软件绘制图形,用SPSS19.0软件对数据进行单因子方差分析和多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 不同氮源对紫球藻叶绿素荧光参数的影响

图1A~D反映了不同氮源对紫球藻叶绿素荧光参数的影响。由图1可以看出,在整个培养周期内,不

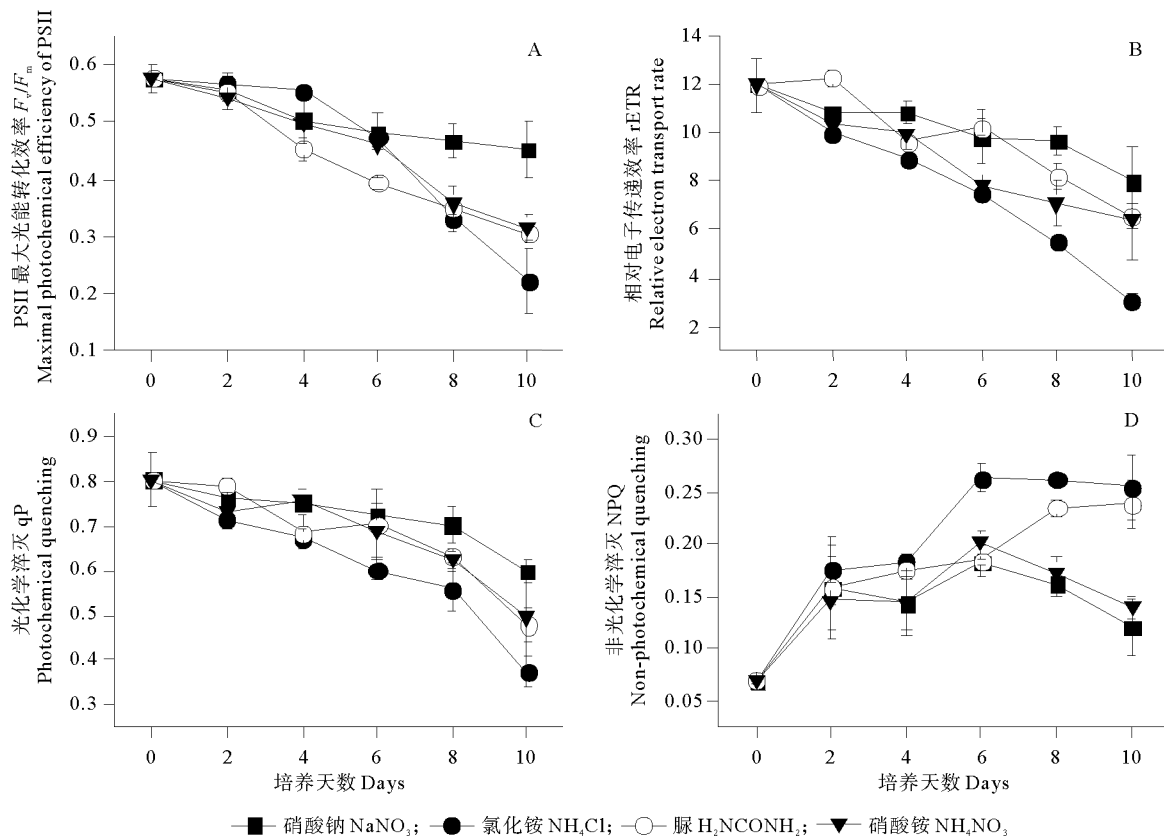


图1 不同氮源对紫球藻叶绿素荧光参数的影响

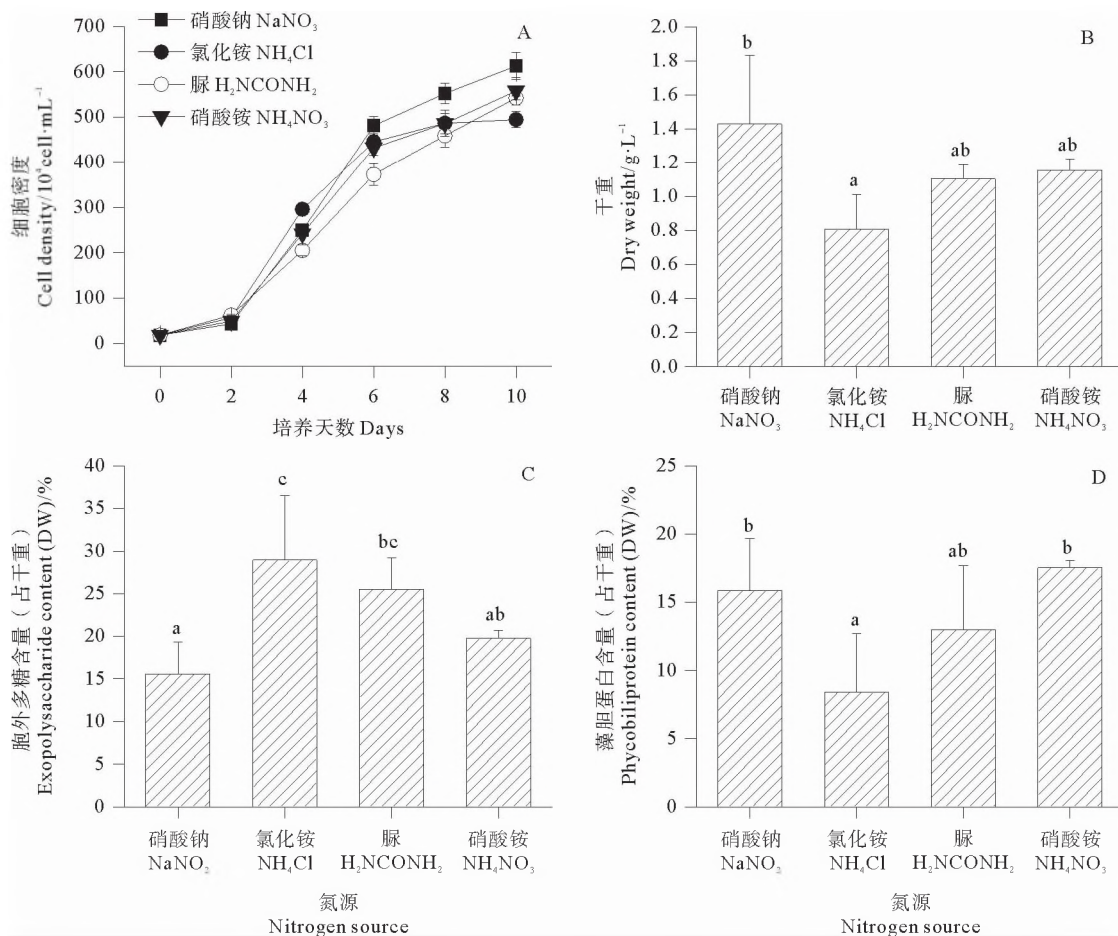
Fig.1 Effects of different nitrogen sources on the chlorophyll fluorescence parameters of *Porphyridium* sp.

同氮源处理组的 F_v/F_m 、 $rETR$ 和 qP 值总体呈下降趋势。第 2~4 天, 氯化铵处理组的 F_v/F_m 值最大, 但第 6~10 天该值迅速下降, 第 8~10 天硝酸钠处理组的 F_v/F_m 值显著高于其他处理组。第 8~10 天, 硝酸钠处理组的 $rETR$ 值最大, 氯化铵处理组的 $rETR$ 值最小。从第 2 天开始, 4 种氮源对紫球藻的 qP 值均有显著影响 ($P < 0.05$), 第 8~10 天, 硝酸钠处理组的 qP 值显著高于其他各组, 氯化铵处理组的 qP 值显著低于其他各组。实验结束时, 氯化铵处理组的上述 3 个荧光参数均显著低于其他 3 组。氮源对紫球藻 NPQ 值的影响随着培养时间的不同而变化, 第 0~4 天, 各氮源处理组的 NPQ 值无显著差异 ($P > 0.05$), 第 4~10 天, 氯化铵和脲处理组的 NPQ 值整体处于上升趋势, 2 个硝酸盐处理组的 NPQ 值在第 6 天达到最大值后持续下降, 第 8~10 天, 氯化铵和脲处理组的 NPQ 值显著高于 2 个硝酸盐处理组。

2.2 不同氮源对紫球藻细胞密度、干重、胞外多糖和藻

胆蛋白含量的影响

不同氮源对紫球藻细胞密度、干重、胞外多糖和藻胆蛋白含量的影响见图 2A~D。从图 2 中可以得出, 4 个氮源处理组紫球藻的细胞密度在实验周期内一直呈上升趋势。多重比较结果显示, 实验结束时硝酸钠处理组的细胞密度最高 (6.13×10^6 个/mL), 氯化铵处理组的最终细胞密度最低 (4.95×10^6 个/mL), 且 2 个处理组均与硝酸铵和脲处理组差异显著 ($P < 0.05$)。不同氮源对细胞干重和藻胆蛋白含量的影响规律相似: 硝酸钠处理组的干重最高 (1.4 g/L), 氯化铵处理组的干重最低 (0.8 g/L); 2 个硝酸盐处理组的藻胆蛋白含量差异不显著 ($P > 0.05$), 但均显著高于氯化铵处理组, 其中, 硝酸铵处理组的藻胆蛋白含量最大, 占干重的 17.5%。该藻胞外多糖含量随不同氮源的变化趋势与藻胆蛋白相反, 以氯化铵为氮源时, 紫球藻胞外多糖含量最高 (占干重的 29.0%), 显著高于 2 个硝酸盐处理组, 但与脲处理组差异不显著 ($P > 0.05$)。



(abc 表示方差分析差异程度, 相同字母表明处理组间差异不显著 ($P > 0.05$); 不同字母表明处理组间差异显著 ($P < 0.05$). abc indicates variance analysis in the difference degree, the same letters indicates no significant difference from each other ($P > 0.05$); The different letters indicates a significant difference from each other ($P < 0.05$).)

图 2 不同氮源对紫球藻细胞密度、干重、胞外多糖和藻胆蛋白含量的影响

Fig.2 Effects of different nitrogen sources on the cell density, dry weight, exopolysaccharide and phycobiliprotein contents of *Porphyridium* sp.

2.3 不同氮源对蓝隐藻叶绿素荧光参数的影响

蓝隐藻在不同氮源培养条件下叶绿素荧光参数的变化趋势见图3A~D。如图3所示,在整个培养周期中,各个氮源处理组的叶绿素荧光参数 F_v/F_m 、rETR 和 qP 值变化规律相似,除氯化铵处理组的 rETR 值以外,其他处理组的上述参数均在第2天达到最大值后持续下降。多重比较结果显示,第6~10天,硝酸钠处理组的 F_v/F_m 值显著高于其他处理组,氯化铵处理组的 F_v/F_m 值则显著低于其他处理组。第4~10天,硝

酸钠处理组的 rETR 值最大,氯化铵处理组的 rETR 值最小。从第4天开始,不同氮源对蓝隐藻的 qP 值均有显著影响($P < 0.05$),并且氯化铵处理组的 qP 值均显著低于其他处理组,实验结束时硝酸钠处理组的 qP 值显著高于其他处理组。不同氮源对蓝隐藻 NPQ 值的影响与其他参数不同,第2~10天,氯化铵处理组的 NPQ 值最大,且第8~10天,氯化铵处理组的 NPQ 值显著大于其他3个处理组。

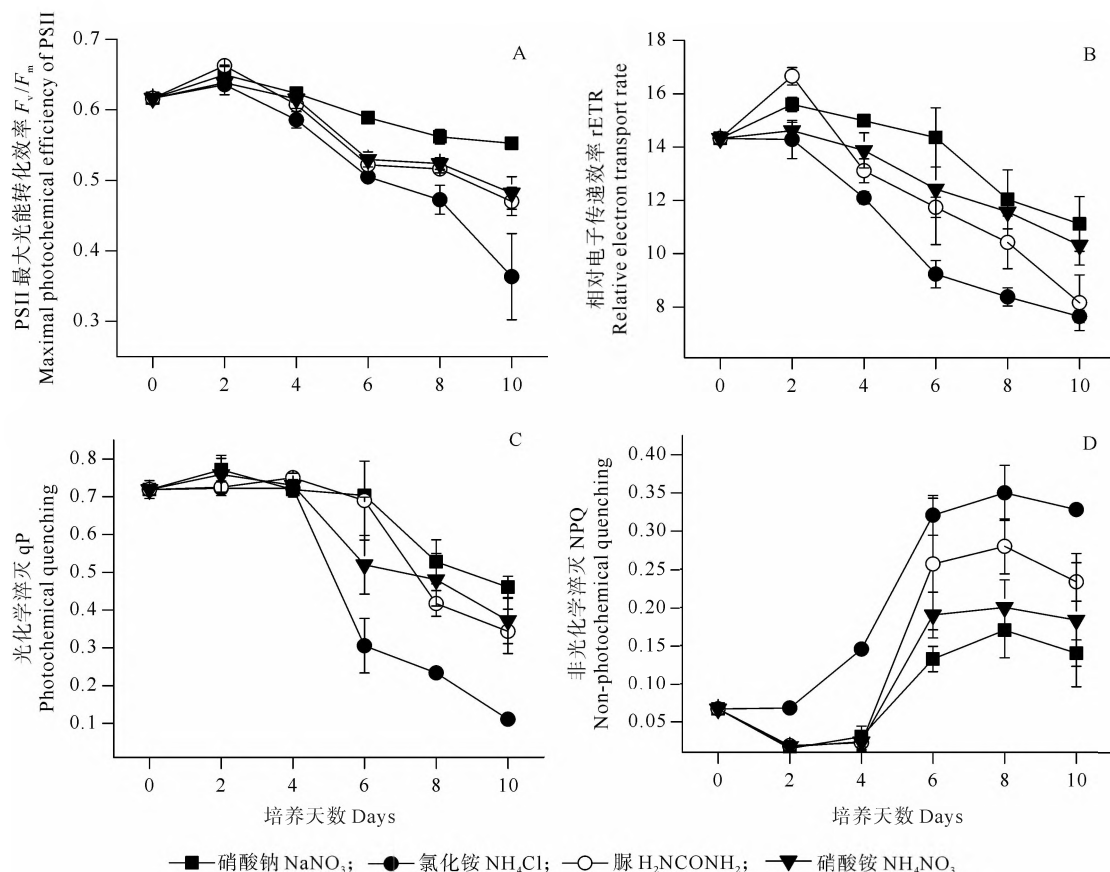


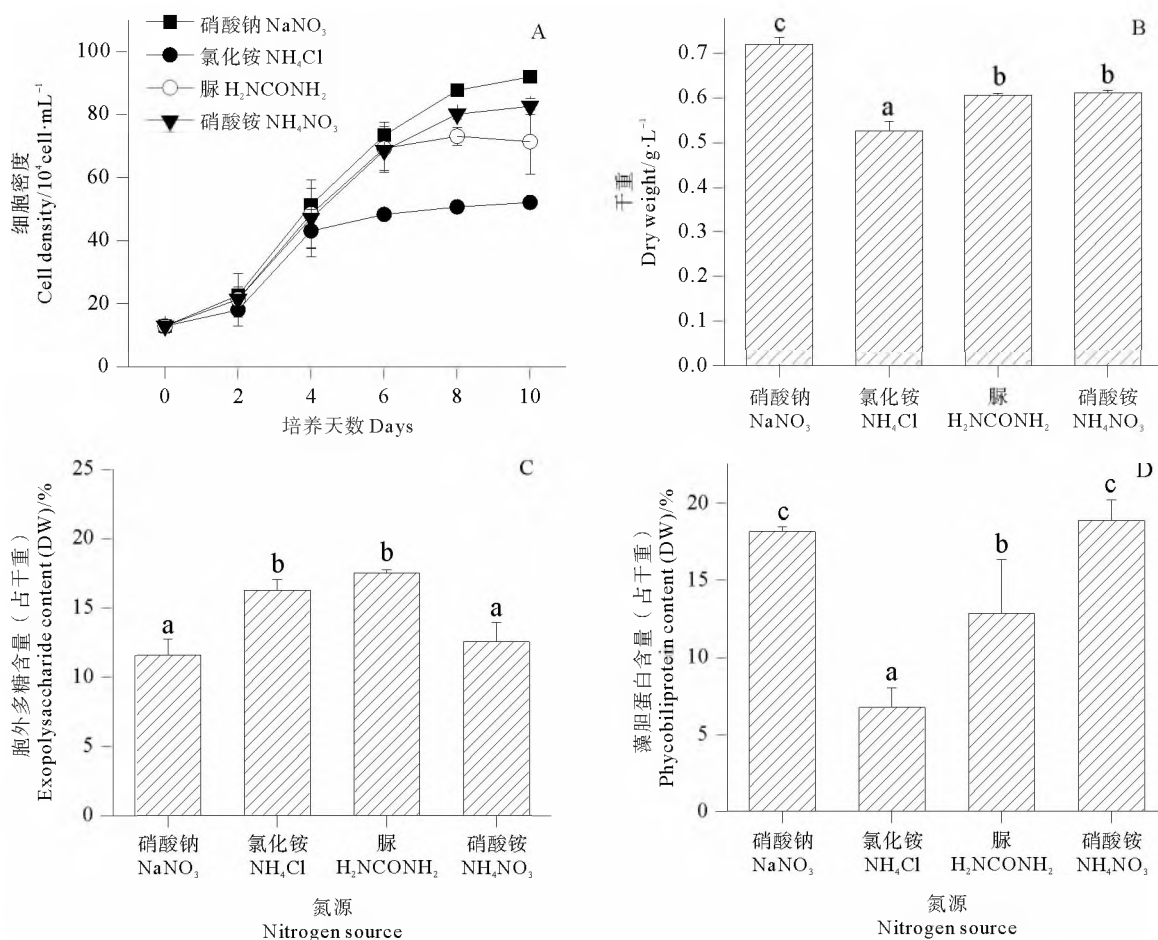
图3 不同氮源对蓝隐藻叶绿素荧光参数的影响

Fig.3 Effects of different nitrogen sources on the chlorophyll fluorescence parameters of *C. placodea*

2.4 不同氮源对蓝隐藻细胞密度、干重、胞外多糖和藻胆蛋白含量的影响

图4A~D表示蓝隐藻在不同氮源培养条件下其细胞密度、干重、胞外多糖和藻胆蛋白含量的变化趋势。由图4可知,4个处理组的细胞密度在整个实验周期内均呈上升趋势,多重比较结果显示,第6~10天氯化铵处理组的细胞密度显著低于其他处理组。实验结束时,硝酸钠处理组的细胞密度最高(9.2×10^5 个/mL),与硝酸铵处理组无显著差异($P > 0.05$),氯化铵处理组的细胞密度最低(5.2×10^5 个/mL)。单因子方差分析结果表明,不同氮源对蓝隐藻的干重、胞外多糖和藻胆蛋白含量的影响差异显著($P < 0.05$)。多重比较结果显

示,硝酸钠处理组的干重最高(0.72 g/L),显著高于其他3个处理组,氯化铵处理组的干重最低(0.52 g/L),显著低于其他3个处理组。脲和氯化铵处理组的胞外多糖含量显著高于硝酸铵和硝酸钠处理组,其中脲处理组的胞外多糖含量最高,占干重的17.5%,但与氯化铵处理组差异不显著($P > 0.05$)。该藻藻胆蛋白含量随不同氮源的变化趋势与胞外多糖相反,硝酸铵和硝酸钠处理组的藻胆蛋白含量显著高于脲和氯化铵处理组,其中硝酸铵处理组的藻胆蛋白含量最高,占干重的18.8%,但与硝酸钠处理组差异不显著($P > 0.05$),氯化铵处理组的藻胆蛋白含量最低,仅占干重的6.7%。



(abc 表示方差分析差异程度, 相同字母表明处理组间差异不显著 ($P > 0.05$); 不同字母表明处理组间差异显著 ($P < 0.05$)。abc indicates variance analysis in the difference degree, the same letters indicates no significant difference from each other ($P > 0.05$); The different letters indicates a significant difference from each other ($P < 0.05$).

图 4 不同氮源对蓝隐藻细胞密度、干重、胞外多糖和藻胆蛋白含量的影响

Fig.4 Effects of different nitrogen sources on the cell density, dry weight, exopolysaccharide and phycobiliprotein contents of *C. placodea*

3 讨论

植物叶绿素荧光的强弱变化可以有效地反映光合作用信息^[29-30], 基于此特点叶绿素荧光技术已经获得快速发展。 F_v/F_m 表示光系统 II 最大光能转化效率, 反映了环境变化对微藻光合作用的影响, 该值在环境胁迫条件下会明显下降^[31-32]。本实验结果表明, 紫球藻和蓝隐藻硝酸钠处理组的 F_v/F_m 值分别在第 8~10 天和第 6~10 天显著大于其他处理组, 说明以硝酸钠为氮源时, 藻细胞可以获得有效氮素, 并且促使光系统 II 反应中心增大开放比例, 进而提高了光能转换效率^[33]。这与范丽敏^[34] 以硝酸钠为氮源培养棕鞭藻 (*Ochrosphaera neopolitana*) 和球等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 时, 得出其 F_v/F_m 值均高于氯化铵和尿素处理组的结果一致。 $rETR$ 表示相对电子传递效率^[35], 实验结束时, 2 种微藻硝酸钠处理组的 $rETR$ 值最大, 而氯化铵处理组的 $rETR$ 值最小, 表明氯化铵作为氮

源阻碍了藻细胞同化力形成, 不利于光合电子传递, 导致电子传递速率下降^[35]。 qP 表示光化学淬灭, 反映了光系统 II 中原初电子受体 Q_A 的还原状态^[36], 该值下降意味着参与光合作用的电子数目减少, 而以热的形式耗散的光能逐渐增加^[37]。实验结束时, 2 种微藻硝酸钠处理组的 qP 值均显著高于其他处理组, 这说明以硝酸钠为氮源时, 紫球藻和蓝隐藻的 Q_A 数量最多, 即电子传递速率最大, 保证光合作用可以正常进行。而以氯化铵为氮源时, 2 种微藻的上述 3 个荧光参数最小, 且显著低于硝酸钠处理组, 可能是在该氮浓度下, 铵态氮对藻细胞有一定的毒害作用^[38], 使得 PSII 反应中心受损, 抑制了电子传递过程。 NPQ 表示非光化学淬灭, 将不能及时耗散的光能传递至周围环境中以避免对光合机构的破坏是微藻进化过程中自我保护的一种体现^[36]。第 2~10 天, 紫球藻和蓝隐藻氯化铵处理组的 NPQ 值均最大, 可能以氯化铵为氮源时, 铵态氮的毒害作用使藻细胞的光合结构受到破坏, 不能充分

利用光能,光能大量散失使得 NPQ 值升高,这一结果正与前者相吻合。

氮元素以各种存在形式影响浮游植物的生长繁殖,在其生命活动中发挥着至关重要的作用^[20]。李战^[16]研究 5 种氮源对紫球藻的生长影响时发现,以硝酸盐为氮源时紫球藻的生长率比铵盐高。史磊^[17]也发现硝酸钠对紫球藻的生长有促进作用,氯化铵则对其有抑制作用。本实验结果与上述研究有相似之处,实验结束时,紫球藻和蓝隐藻硝酸钠处理组的细胞密度和干重最高,可能是因为藻细胞中的硝酸还原酶受到了硝酸钠的诱导,进而酶活增强,使藻细胞获得了有效氮素^[39],其次是硝酸铵处理组,之所以硝酸铵处理组的细胞密度和干重比硝酸钠处理组稍低,可能是因为在实验后期藻细胞吸收利用 NH_4^+ 时释放出的 H^+ 大量累积使培养液 pH 降低,进而导致了藻细胞的生长条件有所下降,使得该组的细胞密度和干重没有硝酸钠组高^[40]。梁英等^[41]研究表明尿素有利于三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)的生长,而杜氏盐藻(*Dunaliella salina*)和米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)则在硝酸钠组和尿素组都能获得较好的生长,本实验结果与之有所不同。之所以出现这种差异可能与微藻种类有关,即微藻对氮源的吸收利用具有种间差异性^[42]。因此,选择合适的氮源对于大规模培养微藻来说尤为重要。

研究发现,氮源对微藻的胞外多糖和藻胆蛋白含量也有显著影响^[16-18],李战^[16]的实验结果表明,铵盐对紫球藻分泌胞外多糖有促进作用,而史磊^[17]的研究结果表明,硝酸钠对紫球藻分泌胞外多糖有促进作用,尿素和氯化铵则不起促进作用。我们的实验结果表明,紫球藻氯化铵处理组的胞外多糖含量显著高于 2 个硝酸盐处理组,蓝隐藻脲和氯化铵处理组的胞外多糖含量显著高于 2 个硝酸盐处理组,说明氯化铵促进紫球藻和蓝隐藻分泌胞外多糖,与李战^[16]对紫球藻的研究结果一致。但与史磊^[17]的研究结果不同,这种差异主要与实验藻种、培养基硝酸钠浓度和培养条件有关,史磊^[17]实验所用紫球藻由其所在单位提供,培养基硝酸钠浓度为 3.225 g/L,在恒温振荡光照培养箱中培养 15 d;而本实验所用藻种来自中国海洋大学微藻种质库,培养基硝酸钠浓度为 74.8 mg/L,连续充气培养 10 d。但是,以氯化铵为氮源培养 2 种微藻以获取胞外多糖时,藻细胞生长较慢且生物量较低,以脲为氮源时,2 种微藻的胞外多糖含量与氯化铵处理组无显著差异,而且藻细胞生长较好,加之脲的价格实惠,可以降低生产成本,综合考虑生物量、胞外多糖含量以及生产成本,本文认为通过培养紫球藻和蓝隐藻以获取胞外多糖时,脲是较为理想的氮源。肖华山等^[18]研究发现

当培养基中以硝酸钠和硝酸钾为氮源时,紫球藻可以合成大量藻胆蛋白,反之则分泌大量胞外多糖。本实验也得出了相同的结果,即紫球藻 2 个硝酸盐处理组的藻胆蛋白含量显著高于氯化铵处理组,蓝隐藻 2 个硝酸盐处理组的藻胆蛋白含量显著高于脲和氯化铵处理组,说明紫球藻和蓝隐藻以硝酸盐为氮源时可以促进藻胆蛋白合成,但会抑制胞外多糖分泌。王长海等^[21]认为当紫球藻培养液中缺乏硝酸盐时,蛋白质合成受到抑制,大多数碳化物转化为多糖,因此蛋白质含量下降,多糖含量上升,与本实验结果一致。综合考虑 2 种微藻的光合活性、生长、生物量以及藻胆蛋白含量,认为硝酸钠是获取 2 种微藻藻胆蛋白的较理想氮源。综上所述,氮源对紫球藻和蓝隐藻的胞外多糖和藻胆蛋白含量有显著影响,可以根据所需的活性物质选择合适的氮源,以满足对这 2 种微藻开发利用的需要。

4 结语

不同氮源对紫球藻和蓝隐藻的叶绿素荧光参数、细胞密度、干重、胞外多糖和藻胆蛋白含量均有显著影响。以硝酸钠为氮源有利于 2 种微藻的生长和光合作用,以氯化铵为氮源则抑制 2 种微藻的生长和光合作用;有利于紫球藻分泌胞外多糖和合成藻胆蛋白的最佳氮源分别是氯化铵和硝酸铵;有利于蓝隐藻分泌胞外多糖和合成藻胆蛋白的最佳氮源分别是脲和硝酸铵。综合考虑光合活性、生长、生物量和活性物质含量,本文认为,获取 2 种微藻胞外多糖的较理想氮源是脲,获取 2 种微藻藻胆蛋白的较理想氮源是硝酸钠。

参考文献:

- [1] 梁英,陈书秀. 微藻育种的研究现状及前景[J]. 海洋通报, 2008, 27(3): 88-94.
Liang Y, Chen S X. Current status and prospect of studies on microalgal breeding[J]. Marine Science Bulletin, 2008, 27(3): 88-94.
- [2] 韩锦华,王雪青,苗惠. 三种海洋微藻抗肿瘤活性的研究[J]. 天津科技大学学报, 2006, 21(4): 25-28.
Han J H, Wang X Q, Miao H. Study on the antitumor activity of three microalgae[J]. Journal of Tianjin University of Science & Technology, 2006, 21(4): 25-28.
- [3] 李岩,周文广,张晓东,等. 微藻资源的综合开发与应用[J]. 山东科学, 2010, 23(4): 84-87.
Li Y, Zhou W G, Zhang X D, et al. Comprehensive development and application of microalgae[J]. Shandong Science, 2010, 23(4): 84-87.
- [4] Hu J J, Nagarajan D, Zhang Q G, et al. Heterotrophic cultivation of microalgae for pigment production: A review[J]. Biotechnology Advances, 2018, 36(1): 54-67.
- [5] 鲍康德,张小平,郑维发. 海洋浮游硅藻胞外多糖研究进展[J]. 安徽师范大学学报(自然科学版), 2005, 28(2): 214-217.

- Bao K D, Zhang X P, Zheng W F. Research advance extracellular polysaccharides of marine planktonic diatom[J]. Journal of Anhui Normal University (Natural Science), 2005, 28(2): 214-217.
- [6] 孙海红, 毛文君, 钱叶苗, 等. 海洋微生物活性胞外多糖的研究进展[J]. 海洋科学, 2011, 35(11): 134-138.
- Sun H H, Mao W J, Qian Y M, et al. Advances on the characteristics and bioactivities of exopolysaccharides from marine microorganism[J]. Marine Sciences, 2011, 35(11): 134-138.
- [7] Boussiba S, Richmond A E. C-phycocyanin as a storage protein in the blue-green alga *Spirulina platensis* [J]. Archives of Microbiology, 1980, 125(1): 143-147.
- [8] Eitsuka T, Nakagawa K, Igarashi M, et al. Telomerase inhibition by sulfoquinovosyldiacylglycerol from edible purple laver (*Porphyra yezoensis*) [J]. Cancer Letters, 2004, 212(1): 15-20.
- [9] Hoda A M, Sahara H S, Kdodier M H, et al. Antiviral effect of e-daphic cyanophytes on rabies and herpes-1 viruses[J]. Acta Biologica Hungarica, 2011, 62(2): 194-203.
- [10] Huleihel M, Ishanu V, Tal J, et al. Activity of *Porphyridium* sp. polysaccharide against herpes simplex viruses in vitro and vivo [J]. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 2002, 50(2): 189-192.
- [11] Soni B, Visavadiya N P, Madamwar D. Ameliorative action of cyanobacterial phycoerythrin on CCl₄-induced toxicity in rats[J]. Toxicology, 2008, 248(1): 59-65.
- [12] Park J K, Kim Z H, Lee C G, et al. Characterization and immunostimulating activity of a water-soluble polysaccharide isolated from *Haematococcus lacustris* [J]. Biotechnology and Bio-process Engineering, 2011, 16(6): 1090-1098.
- [13] Markou G, Nerantzis E. Microalgae for high-value compounds and biofuels production: A review with focus on cultivation under stress conditions [J]. Biotechnology Advance, 2013, 31(8): 1532-1542.
- [14] 尤珊, 郑必胜, 郭祀远. 氮源对螺旋藻生长及胞外多糖的影响[J]. 食品科学, 2004, 25(4): 32-35.
- You S, Zheng B S, Guo S Y. Effect of nitrogen on accumulation of *Spirulina platensis* exopolysaccharide[J]. Food Science, 2004, 25(4): 32-35.
- [15] 陈新美, 梅兴国, 房伟, 等. 培养条件对螺旋藻生长和藻胆蛋白含量的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2003(1): 21-25.
- Chen X M, Mei X G, Fang W, et al. Effect of culture conditions on growth of *S. platensis* and phycobiliprotein content[J]. Amino Acids & Biotic Resources, 2003(1): 21-25.
- [16] 李战. 三种紫球藻培养、胞外多糖提取及 RAPD 分析[D]. 上海: 上海师范大学, 2004.
- Li Z. Culture, Polysaccharide Extraction and RAPD Analysis of Three Species *Porphyridium* [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2004.
- [17] 史磊. 平板式光生物反应器中紫球藻培养条件的优化[D]. 烟台: 烟台大学, 2008.
- Shi L. Optimization of Culture Conditions for *Porphyridium cruentum* in the Flat Plate Photobioreactors[D]. Yantai: Yantai University, 2008.
- [18] 肖华山, 谢志强, 郭建生, 等. 5 种不同形式氮源对紫球藻生长影响的研究[J]. 福建师范大学学报(自然科学版), 2001, 17(2): 78-80.
- Xiao H S, Xie Z Q, Guo J S, et al. Effects of five different nitrogen resources on *Porphyridium purpureum* growth[J]. Journal of Fujian Teachers University (Natural Science), 2001, 17(2): 78-80.
- [19] Paytan A, Mclaughlin K. The oceanic phosphorus cycle [J]. Chemical Reviews, 2007, 107(2): 563-576.
- [20] 胡章喜, 徐宁, 段舜山. 不同氮源对 4 种海洋微藻生长的影响[J]. 生态环境学报, 2010, 19(10): 2452-2457.
- Hu Z X, Xu N, Duan S S. Effects of nitrogen sources on the growth of *Heterosigma akashiw*, *Karenia* sp., *Phaeocystis globosa* and *Chaetoceros* sp. [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2010, 19(10): 2452-2457.
- [21] 王长海, 李叙风, 鞠宝, 等. 紫球藻及其应用研究[J]. 海洋通报, 1998, 17(3): 79-85.
- Wang C H, Li X F, Ju B, et al. Studies on *Porphyridium cruentum* and its applications[J]. Marine Science Bulletin, 1998, 17(3): 79-85.
- [22] 温少红, 赵呈龙, 张莉萍. 紫球藻 B-藻红蛋白的分离纯化[J]. 中国海洋药物, 2001(3): 33-35, 24.
- Wen S H, Zhao C L, Zhang L P. Separation and purification of B-Phycoerythrin in *Porphyridium cruentum* [J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2001(3): 33-35, 24.
- [23] 顾宁琰, 刘宇峰. 紫球藻生物活性物质及其应用[J]. 中国海洋药物, 2001(6): 43-48.
- Gu N Y, Liu Y F. Bioactive substances of *Porphyridium* and their applications[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2001(6): 43-48.
- [24] 赵文. 水生生物学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 74-75.
- Zhao W. Hydrobiology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005: 74-75.
- [25] 张允允, 陈敏. 蓝隐藻藻蓝蛋白的分离、纯化及性质研究[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2011, 24(4): 281-286.
- Zhang Y Y, Chen M. Isolation, purification and characterization of phycocyanin from *Chroomonas placoidea* [J]. Journal of Yantai University (Natural Science and Engineering Edition), 2011, 24(4): 281-286.
- [26] Guillard R R L, Ryther J H. Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella nana* (Hustedt) and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1962, 8(2): 229-239.
- [27] Liang Y, Sun M H, Tian C Y, et al. Effects of salinity stress on the growth and chlorophyll fluorescence of *Phaeodactylum tricornutum* and *Chaetoceros gracilis* (Bacillariophyceae) [J]. Botanica Marina, 2014, 57(6): 469-476.
- [28] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 194-197.
- Li H S. Experiment Principle and Technology of Plant Physiology and Biochemistry[M]. Beijing: High Education Press, 2000: 194-197.
- [29] Perron M C, Qiu B S, Boucher N, et al. Use of chlorophyll *a* fluorescence to detect the effect of microcystins on photosynthesis and photosystem II energy fluxes of green algae [J]. Toxicon, 2012, 59(5): 567-577.
- [30] Blache U, Jakob T, Su W, et al. The impact of cell-specific absorption properties on the correlation of electron transport rates

- measured by chlorophyll fluorescence and photosynthetic oxygen production in planktonic algae[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2011, 49(8): 801-808.
- [31] Parkhill J, Maillet G, Cullen J J. Fluorescence-based maximal quantum yield for PSII as a diagnostic of nutrient stress[J]. *Journal of Phycology*, 2001, 37(4): 517-529.
- [32] 温国胜, 田海涛, 张明如, 等. 叶绿素荧光分析技术在林木培育中的应用[J]. *应用生态学报*, 2006, 17(10): 1973-1977.
Wen G S, Tian H T, Zhang M R, et al. Application of chlorophyll fluorescence analysis in forest tree cultivation[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(10): 1973-1977.
- [33] 张绪成, 于显枫, 马一凡. 施氮和大气 CO₂ 浓度升高对小麦旗叶光合电子传递和分配的影响[J]. *应用生态学报*, 2011, 22(3): 673-680.
Zhang X C, Yu X F, Ma Y F. Effects of nitrogen application and elevated atmospheric CO₂ on electron transport and energy partitioning in flag leaf photosynthesis of wheat[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(3): 673-680.
- [34] 范丽敏. 高脂海洋金藻选育的初步研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
Fan L M. Preliminary Study on the Breeding of High-Lipid Content Marine Golden Algae [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [35] 梁英, 石伟杰, 田传远. 氮浓度对海绿球藻生长及总脂含量的影响[J]. *水产科学*, 2011, 30(11): 653-658.
Liang Y, Shi W J, Tian C Y. Effects of nitrogen concentrations on growth and total lipid contents in green alga *Halochlorococcum sarcotum*[J]. *Fisheries Science*, 2011, 30(11): 653-658.
- [36] 李晓, 冯伟, 曾晓春. 叶绿素荧光分析技术及应用进展[J]. *西北植物学报*, 2006, 26(10): 2186-2196.
Li X, Feng W, Zeng X C. Advances in chlorophyll fluorescence analysis and its uses[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2006, 26(10): 2186-2196.
- [37] 王帅, 梁英. 盐胁迫对盐生杜氏藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2015, 45(3): 33-38.
Wang S, Liang Y. Effects of salt stress on the growth and chlorophyll fluorescence of *Dunaliella salina*[J]. *Periodical of Ocean University of China(Natural Science Edition)*, 2015, 45(3): 33-38.
- [38] 张青春, 于仁诚, 周名江, 等. 不同氮源对微小亚历山大藻生长和毒素产生的影响[J]. *海洋学报*, 2005, 27(6): 140-147.
Zhang Q C, Yu R C, Zhou M J, et al. Effects of four nitrogen substrates on growth and toxin production of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae)[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2005, 27(6): 140-147.
- [39] 王金花, 唐洪杰, 王修林, 等. 氮、磷营养盐对东海原甲藻生长和硝酸还原酶活性的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2008, 15(5): 620-623.
Wang J H, Tang H J, Wang X L, et al. Effects of nitrate and phosphate on growth and nitrate reductase activity of *Prorocentrum donghaiense* [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2008, 15(5): 620-623.
- [40] 苏怡, 高保燕, 黄罗冬, 等. 不同氮源及氮浓度对真眼点藻纲微藻生长及油脂积累的影响[J]. *水生生物学报*, 2017, 41(3): 677-691.
Su Y, Gao B Y, Huang L D, et al. Effects of different nitrogen source and concentration supplies on the growth and lipid accumulation of Eustigmatophycean microalgae[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, 41(3): 677-691.
- [41] 梁英, 孙明辉, 刘春强, 等. 氮源对三角褐指藻、盐藻和米氏凯伦藻生长和种间竞争的影响[J]. *海洋环境科学*, 2015, 34(1): 29-35.
Liang Y, Sun M H, Liu C Q, et al. Effects of nitrogen sources on the growth and interspecific competition of *Phaeodactylum tricornutum*, *Dunaliella salina* and *Karenia mikimotoi* [J]. *Marine Environmental Science*, 2015, 34(1): 29-35.
- [42] Lin Q, Lin J. Effects of nitrogen source and concentration on biomass and oil production of a *Scenedesmus rubescens* like microalga [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(2): 1615-1621.

Effects of Nitrogen Sources on Exopolysaccharide and Phycobiliprotein Contents of *Porphyridium* sp. and *Chroomonas placodea*

LIANG Ying¹, HU Nai-Xia¹, HUANG Xu-Lin^{1,2}, TIAN Chuan-Yuan¹, YAN Yi-Yun¹, WANG Shuai³

(1. The Key Laboratory of Mariculture (Ocean University of China), Ministry of Education, Qingdao 266003, China; 2. Guangdong Haid Group Co., Ltd., Guangzhou 511400, China; 3. The Key Laboratory of Marine Bioactive Substance, the First Institute of Oceanography Ministry of Natural Resources, Qingdao 266061, China)

Abstract: The chlorophyll fluorescence parameters (the maximal photochemical efficiency of PSII (F_v/F_m), the relative electron transport rate (rETR), the photochemical quenching (qP), the non-photochemical quenching (NPQ)), the cell density, the dry weight, the exopolysaccharide and phycobiliprotein contents of *Porphyridium* sp. and *Chroomonas placodea* were investigated when sodium nitrate, ammonium chloride, urea and ammonium nitrate were used independently as the nitrogen source. The results indicated that the optimal nitrogen source for the growth and photosynthesis of *Porphyridium* sp. and *C. placodea* was sodium nitrate. When sodium nitrate was used as the sole nitrogen source, the F_v/F_m , rETR, qP, cell density and dry weight of the two microalgae maximized at the end of experiment. In contrast, these parameters were suppressed when ammonium chloride served as the sole nitrogen source. The results showed that the best nitrogen sources for the exopolysaccharide secretion and phycobiliprotein synthesis in *Porphyridium* sp. were ammonium chloride and ammonium nitrate, respectively, while those in *C. placodea* were urea and ammonium nitrate, respectively. When these two nitrogen sources were used, the contents of exopolysaccharide and phycobiliprotein in *Porphyridium* sp. were 29.0% and 17.5% of dry weight while those in *C. placodea* were 17.5% and 18.8%, respectively. By considering comprehensively the biomass and active substance content, the ideal nitrogen source for obtaining exopolysaccharide from the two microalgae was urea while that for phycobiliprotein was sodium nitrate. These findings provided a theoretical basis for the culture and exploration of two microalgae.

Key words: *Porphyridium* sp.; *Chroomonas placodea*; nitrogen source; chlorophyll fluorescence parameters; exopolysaccharide; phycobiliprotein

责任编辑 朱宝象