

低氮对产油尖状栅藻荧光特性及色素蛋白复合物的影响

罗舒怀, 张莹, 吴琼芳, 彭倩倩, 李爱芬*, 张成武

暨南大学生态学系, 广州510632

摘要: 以产油绿藻尖状栅藻(*Scenedesmus acuminatus*)为实验材料, 采用77 K低温荧光、SDS-PAGE圆盘电泳、iTRAQ蛋白定量等方法, 研究其在低氮胁迫产油条件下, 藻细胞的低温荧光特性及光合色素蛋白复合物的变化。结果表明, 在77 K低温条件下尖状栅藻有3个荧光发射峰, 分别位于685、695和715 nm处。利用圆盘电泳从藻细胞类囊体膜上分离到6个条带, 从上至下依次为CPIa、CPI、CPa1、CPa2、LHCP和FP(游离色素), 与对照组($18 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaNO}_3$)相比, 低氮($3.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaNO}_3$)培养的藻细胞光能耗散增强, 分离的类囊体膜色素蛋白复合物代表PSII的条带CPa1和CPa2模糊, D1蛋白及捕光色素蛋白表达下调。综上低氮限制条件下产油尖状栅藻的PSII核心复合物降解, 制约藻细胞吸收和转化光能, 进而影响光合效率。

关键词: 尖状栅藻; 低氮胁迫; 色素蛋白复合物; 荧光特性

Effects of N-Depleted on Fluorescence Characteristic and Pigment-Protein Complexes of an Oleaginous *Scenedesmus acuminatus*

LUO Shu-Huai, ZHANG Ying, WU Qiong-Fang, PENG Qian-Qian, LI Ai-Fen*, ZHANG Cheng-Wu

Department of Ecology, Jinan University, Guangzhou 510632, China

Abstract: In this study, the photosynthetic apparatus of *S. acuminatus* was analyzed by purifying the thylakoids and isolating the different pigment-protein complexes upon solubilization. In addition, the effects of N-depleted on photosynthetic apparatus were investigated using SDS-PAGE, 77 K fluorescence and isobaric tags for relative and absolute quantification (iTRAQ). The results showed that, six pigment complexes bands including CPIa, CPI, CPa1, CPa2, LHCP, and FP were isolated from the thylakoid membrane of *S. acuminatus*. Under N-depleted conditions, the bands CPa1, CPa2 which represented PSII became very vague, meanwhile D1 protein and light-harvesting proteins were down-regulated. The 77 K fluorescence spectra of PSI and PSII were located at 685, 695 and 715 nm. The results from the biochemical and spectroscopic characterization showed that, during the culture period, effects of N-depleted on PSII was greater than PSI, while algal cells decreased light utilization and increased dissipation. So we concluded that, there was difference between microalgal and high plant on photosynthetic traits, otherwise the damage of PSII complexes of *S. acuminatus* in N-depleted conditions does restrict photosynthetic efficiency.

Key words: *Scenedesmus acuminatus*; N-depleted; pigment-protein complexes; fluorescence characteristic

微藻生物油脂是一种新型可替代能源, 利用微藻生产生物燃料及高附加值产品是目前替代化石能源的研究热点之一(Hankamer等2007)。微藻油脂积累与光合作用密切相关, 光能转换和碳素固定是积累油脂的能量和物质基础, 油脂积累对细胞的光合生理也有一定的反馈作用(Tüccar等2014)。研究证实, 微藻生长的环境条件如光照、温度和营养元素水平等会影响到油脂的积累(Heldt和Piechulla 2010; Hu等2008), 其中氮素作为营养

限制因子, 对油脂积累的影响尤为明显。探索在氮素限制条件下油脂积累过程的光合生理变化特征, 有助于深入系统地理解产油微藻油脂代谢的机理。

收稿 2015-07-22 修定 2015-08-19

资助 国家自然科学基金(41176105)和中央高校基本科研业务费专项资金(21614101)。

* 通讯作者(E-mail: tiger@jnu.edu.cn; Tel: 020-85224366)。

对于低氮条件下微藻高效产油机理的研究首先要认识产油微藻的光合特性。微藻作为一种低等、分布广泛的单细胞生物,生存环境比高等植物更为复杂,比如CO₂浓度低,光照强度变化大,营养物质缺乏等,因此在长期的进化中形成独有的光合响应机制,光合结构也与一般的高等植物有所差异。如蓝藻、红藻、隐藻除了含有叶绿素、类胡萝卜素外,还含有藻胆素类作为光能传递的色素(郑锡光等1996)。藻类中进行光系统状态1、2转换的捕光色素复合物占到80%,而一般高等植物则仅含15%~20% (Allen 1992)。其次研究证实,微藻在氮素缺乏条件下会促使油脂积累,光合作用过程中光能捕获、传递和转化效率下降,藻细胞能量物质来源降低(Cakmak等2012; Rochaix 2011; Niyogi 1999)。近来亦有研究报道,氮胁迫下产油效率高的藻株其PSII活性也高(Benvenuti等2015; Pan等2011),更有研究直接通过叶绿素荧光参数评估氮胁迫下微藻中性脂的积累(White等2011)。不难看出氮素水平是微藻产油过程中生长和油脂积累的重要影响因子,目前氮缺乏影响产油微藻光系统结构的相关报道还很少见。

尖状栅藻(*Scenedesmus acuminatus*)是近期分离出的一株淡水产油绿藻。前期研究证实(汪亚俊等2014),在适宜氮限制下,培养后期藻细胞光合效率降低,但生物量和油脂积累显著提高,而对这一过程中类囊体膜结构及膜上执行光能电子传递与转化的色素蛋白复合物是否发生适应性调整,我们尚不知晓。本文研究了低氮对尖状栅藻低温荧光特性及类囊体膜色素蛋白复合物的影响,旨在了解微藻在氮限制产油条件下光合器官会做出怎样的响应,为进一步揭示微藻油脂积累与光合作用的协同机制提供理论依据。

材料与方法

1 藻种与培养条件

尖状栅藻[*Scenedesmus acuminatus* (Lagerh.) Chod.]采自暨南大学南湖,由暨南大学水生生物研究中心微藻生物技术与生物能源实验室保藏。

藻细胞培养至对数生长期,3 000 r·min⁻¹离心5 min,接入初始NaNO₃浓度为18和3.6 mmol·L⁻¹的改良BG-11培养基,初始接种OD₇₅₀为0.5,采用直径6

cm柱状光合生物反应器培养,光照强度为300 μmol·m⁻²·s⁻¹,24 h连续单侧照光,培养温度为(25±1) °C,通入含1% CO₂的压缩空气。培养周期为9 d,每隔3 d取样收集藻细胞,存于-80 °C备用。

2 77 K低温荧光光谱测定

采用日立F-4500型荧光分光光度计测定鲜藻细胞及色素蛋白复合物在77 K的荧光发射光谱,激发波长为436 nm,扫描速度为240 nm·min⁻¹,狭缝宽度为2 nm,扫描波长为640~750 nm。

3 类囊体膜的制备

将藻细胞置于预冷的研钵中,加入液氮反复冻融和研磨后移至离心管中,加入适量缓冲液1 (20 mmol·L⁻¹ Tricine, 5 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 15 mmol·L⁻¹ NaCl, pH 7.8), 3 000 r·min⁻¹离心10 min,收集上清液,冰浴中匀浆1 min,然后8 000 r·min⁻¹离心10 min,收集沉淀并悬浮于适量缓冲液2 (20 mmol·L⁻¹ Tricine, 40 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 80 mmol·L⁻¹ NaCl, pH 7.8)中,分装后液氮储存。

4 色素蛋白复合物分离及质谱鉴定

类囊体膜的增溶剂DDM (N-dodecyl-beta-D-maltopyranoside)为8.1%,增溶介质为0.3 mol·L⁻¹ Tris, 10%甘油, 10%丙三醇, pH 8.8。最终获得叶绿素a的终浓度为3 mg·mL⁻¹,增溶剂DDM为2.7%。避光增溶1 h后,8 000 r·min⁻¹离心5 min,取上清液上样。采用SDS-PAGE圆盘电泳,堆积胶浓度为4%,分离胶浓度为10%。将圆盘电泳分离的色素蛋白复合物切下,酶解后使用Triple TOF 5600进行LC-ESI-MS/MS分析。

基于Triple TOF 5600的LC-ESI-MS/MS分析:复溶蛋白,离心除去不溶物质,通过岛津LC-20AD型号的纳升液相色谱仪进行分离,样品分离后传输至质谱系统,测定组分。使用的机器为Triple TOF 5600,离子源为NanosprayIII source,放射器为石英材料控制的喷针(New Objectives, Woburn, MA)。

5 iTRAQ蛋白定量分析

细胞全蛋白的制备:冻融研磨藻粉,加入裂解液(7 mol·L⁻¹尿素; 2 mol·L⁻¹硫脲; 4% CHAPS; 2% IPG-buffer; 核酶混合物; 0.5 mmol·L⁻¹苯甲基磺酰氟; 2%双对氯苯基三氯乙烷; 蛋白酶抑制剂Cocktail)混匀,冰浴1 h。12 000 r·min⁻¹离心30 min,取上

清, 加入3~5倍体积的预冷丙酮混匀, 置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜。将样品离心收集沉淀, 丙酮反复抽提3~4次, 直至上清无色。将收集沉淀溶于水化液($7\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 尿素; $2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫脲; 2% CHAPS)中, 于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 中保存备用。

前处理: 采用Bradford定量样品中的蛋白质浓度, 每个样品精确取出 $100\text{ }\mu\text{g}$ 蛋白。加入蛋白酶消化后, 真空抽干复溶, 按照手册进行iTRAQ标记。不同的iTRAQ标签标记每一组肽段, 2 h室温反应。将标记后的各组肽段混合, 用SCX柱进行液相分离。

SCX分离: 复溶标记后混合肽段, 采用岛津LC-20AB液相系统、UltremexSCX分离柱($4.6\text{ mm}\times 250\text{ mm}$)分离样品。整个过程在 214 nm 吸光度下进行监测, 筛选得到的组分用Strata X除盐柱除盐, 然后冷冻抽干。最后进行基于Triple TOF 5600的LC-ESI-MSMS分析(见上节)。

6 数据统计

所有数据采用Origin 8.5和SPSS进行统计分析。蛋白质谱数据库: NCBI下载绿藻门蛋白质数据库。差异蛋白统计: 在相对定量时, 如果同一个蛋白质的量在2个样品间没有显著的变化, 那么其蛋白质丰度比接近于1。当蛋白的丰度比即差异倍数达到1.2倍以上, 且经统计检验其 P 值小于0.05时, 视该蛋白为不同样品间的差异蛋白。

实验结果

1 色素蛋白复合物电泳分离结果

尖状栅藻类囊体膜分离得到6条含色素的条带(图1), 从上到下依次标记为条带1~6, 颜色由绿色变为浅绿, 再到深绿。与菠菜色素蛋白复合物分离结果对比, 清晰的看到尖状栅藻光系统组成与高等植物类似, 均分离到6条条带。根据菠菜经典模型初步判定, 前5条带属于光系统含色素的蛋白复合物带, 第6条带属于游离色素。

2 色素蛋白复合物条带质谱鉴定

对条带1~5进行质谱分析结果(表1)显示, 条带1、2都含有PSI反应中心A1和A2蛋白, 条带1还含有组成PSI反应中心的铁硫蛋白, 以及外周捕光天线蛋白LhcbM5, 可以判定为PSI复合物。条带3、4含有PSII反应中心D1、D2蛋白及其内周天线蛋白

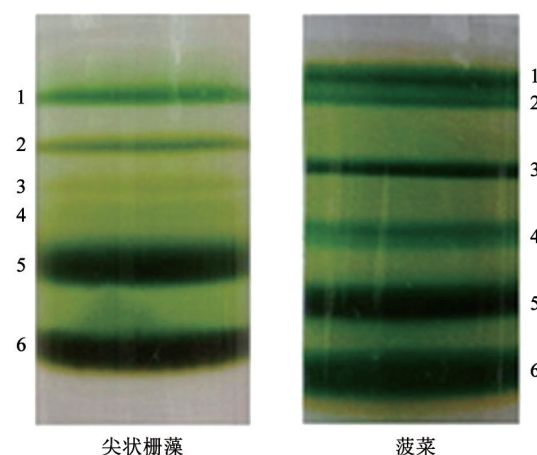


图1 尖状栅藻色素蛋白复合物分离结果

Fig.1 Separation of pigment-protein complexes of *S. acuminatus*

CP43和CP47, 另在第3条带中还出现了分子量约为 27 kDa 的外周捕光天线蛋白, 说明条带3、4为PSII复合物。条带5的主要成分为PSI和PSII的外周捕光天线蛋白。根据以上结果, 依照Anderson等(1978)对菠菜色素蛋白复合物的命名系统, 按照1~6条带的顺序, 依次命名为CPIa、CPI(条带1和2为光系统I复合物)、CPa1、CPa2(条带3和4为光系统II复合物)、LHCP(捕光复合物)、FP(游离色素)。

3 色素蛋白复合物条带及藻细胞77 K低温荧光光谱

在 77 K 低温条件下, 用Chl *a* (436 nm)的吸收峰作为激发光, 测得尖状栅藻色素蛋白复合物各个条带的荧光发射光谱(图2), 光谱结果与蛋白质谱结果相互印证。条带1、2 (PSI复合物)的荧光发射光谱相同, 都有2个荧光发射峰, 分别位于 $672\sim 674\text{ nm}$ 和 $713\sim 714\text{ nm}$ 。条带3、4 (PSII复合物)的荧光发射光谱分别存在 678 和 682 nm 的发射峰。条带5的荧光发射峰位于 679 nm , 属于捕光复合物。

在 77 K 低温条件下, 用Chl *a*的吸收峰 436 nm 作为激发波长, 测得尖状栅藻完整藻细胞(菠菜作为参照)的荧光发射光谱。由图3可知, 尖状栅藻完整藻细胞低温荧光发射峰有3个, 分别位于 685 、 695 和 715 nm 。与高等植物菠菜相比, 尖状栅藻PSI的长波发射峰蓝移至 715 nm 。结合色素蛋白复合物条带 77 K 低温荧光和质谱分析结果, 我们认为 77 K 条件下 715 nm 处的峰可作为PSI核心蛋白复合物的特征峰, 685 nm 峰来自捕光色素蛋白复合物, 695 nm 是PSII内周天线。

表1 尖状栅藻色素蛋白复合物质谱数据分析

Table 1 The mass spectrometry data of pigment-protein complexes of *S. acuminatus*

条带编号	蛋白名称	蛋白编码	蛋白大小/kDa	蛋白评分	等电点	
1	光系统I A1蛋白	gi 122179542	83.42	869.02	7.54	
	光系统I A2蛋白	gi 122179520	82.08	583.08	6.98	
	光系统I铁硫蛋白反应中心	gi 122225255	9.47	170.43	6.95	
	捕光色素复合物M5	gi 87313211	26.79	103.94	6.79	
2	光系统I A1蛋白	gi 122179542	83.40	839.87	7.54	
	光系统I A2蛋白	gi 122179520	82.10	471.10	6.98	
3	光系统II 47 kDa蛋白	gi 108773059	56.10	1639.00	6.63	
	光系统II CP 43蛋白	gi 122179541	50.69	282.16	6.45	
	光系统II CP 47蛋白	gi 224179512	56.15	544.49	6.40	
	光系统II D1蛋白	gi 190360087	38.35	275.00	5.70	
	光系统II D2蛋白	gi 131290	39.65	212.00	5.55	
	捕光色素复合物M5	gi 87313211	26.79	701.30	6.79	
	捕光色素复合物M4	gi 87313209	27.17	436.00	7.50	
	捕光色素复合物M3	gi 87313207	26.48	417.00	4.70	
	4	光系统II D1反应中心32 kDa蛋白	gi 145907405	24.65	211.00	6.70
		光系统II CP 47蛋白	gi 108773059	56.15	968.93	6.63
光系统II D1蛋白		gi 122225251	39.09	847.32	5.06	
光系统II CP 43蛋白		gi 122179541	50.69	822.61	6.45	
光系统II D2蛋白		gi 131290	39.65	442.90	5.55	
光系统II CP 47蛋白		gi 224179512	56.14	390.17	6.40	
5		捕光色素复合物M5	gi 87313211	26.79	558.86	6.79
	捕光色素复合物M4	gi 87313209	27.17	374.41	7.50	
	捕光色素复合物M3	gi 87313207	26.49	261.92	4.74	
	I型捕光色素复合物II	gi 115827	27.00	145.50	6.28	

4 氮限制对藻细胞色素蛋白复合物和荧光特性的影响

尖状栅藻在2种氮浓度(18、3.6 mmol·L⁻¹)下第3、6、9天的色素蛋白复合物分离结果如图4。由图4可以看出,在初始氮浓度18 mmol·L⁻¹培养条件下,随培养时间的延长,类囊体膜上光系统反应中心及其捕光天线色素蛋白复合物没有明显变化,说明氮素充足有利于维持光系统结构的稳定。相反,在3.6 mmol·L⁻¹低氮条件下,各条带随着培养时间的延长颜色变浅,2个光系统中心色素蛋白复合物条带CPI、CPa1和CPa2变化最明显,其中光系统II中心复合物条带CPa1和CPa2在培养第6天开始模糊,几乎消失。以上结果说明氮限制对产油尖状栅藻2个光系统的稳定性存在一定差异,对光系统II中心复合物的影响更为显著,会导致CPa1和CPa2不同程度的降解。

培养周期内2个初始氮浓度下藻细胞的77 K低温荧光光谱如图5。18 mmol·L⁻¹氮处理组相对

荧光强度随着时间延长呈现降低趋势,685 nm处相对荧光强度在第9天仅43,715 nm处峰值则先降低再上升,相对荧光强度在第6天最低为39。3.6 mmol·L⁻¹组培养周期中荧光强度均呈现增强,685和715 nm处相对荧光峰值在第9天分别达到最高的299和274。这说明低氮浓度下藻细胞在3~9 d内光系统发生了较大的变化,PSI和PSII比全氮条件下的活跃程度显著下降。

5 氮限制对光系统蛋白表达的影响

差异蛋白统计结果如表2。在初始氮浓度为18 mmol·L⁻¹实验组,第9天比第3天光系统相关蛋白表达均上调,捕光色素蛋白比反应中心蛋白上调幅度大,其中上调最高的Lhcb1达到3.1。当初始氮浓度为3.6 mmol·L⁻¹时,第9天比第3天光系统相关蛋白多表达下调,Cyt *b_{6/f}*上PetB下调最大,达到1.1,仅有位于PSI上的PsaC上调1.0。

氮素对2个光系统的蛋白影响明显差异,从结果中看出PSII反应中心D1蛋白(PsbA)、D2蛋白

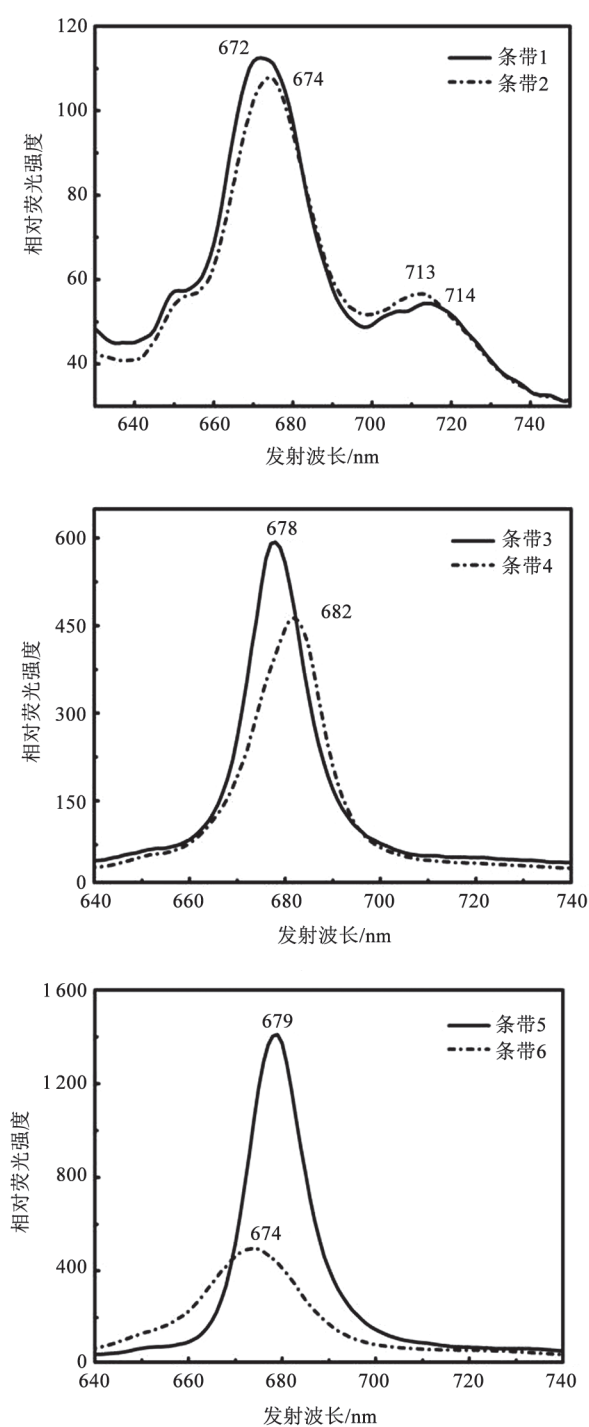


图2 尖状栅藻色素蛋白复合物77 K荧光发射光谱
Fig.2 Fluorescence emission spectra of pigment-protein complexes at 77 K of *S. acuminatus*

(PsbD), 内周天线CP43 (PsbC)和CP47 (PsbB), 电子递体Cyt b_{559} 的2个亚基PsbE、PsbF均明显受到氮素的影响, 然而PSI反应中心仅PsaB和PsaC两个亚

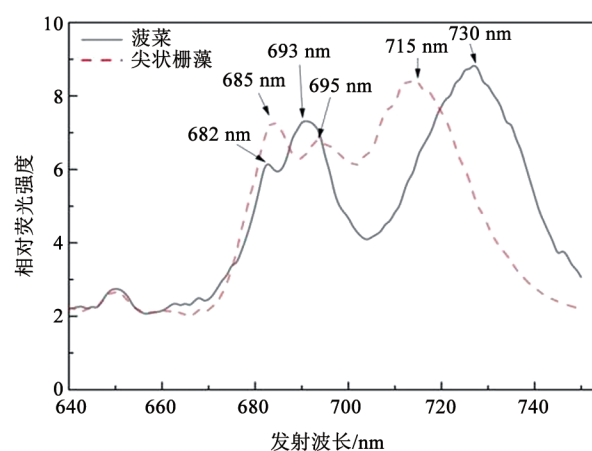


图3 尖状栅藻77 K荧光发射光谱

Fig.3 Fluorescence emission spectra at 77 K of *S. acuminatus*

基受到影响, 差异蛋白表达分析也说明氮素限制对PSII反应中心的影响明显大于PSI。两个光系统的捕光色素蛋白复合物及电子递体的Cyt b_6/f 调节趋势与反应中心一致。

讨论

尖状栅藻色素蛋白复合物分离结果与菠菜大致相同, 均分离到6个条带且所含结构顺序一致。微拟球藻(*Nannochloro psisoculata*) (Basso等2014)色素蛋白复合物蔗糖密度梯度离心后也含有6条相似的条带, 莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*) (Drop等2014)的2个光系统分离后的SDS-PAGE电泳结果则较精细地看到复合物组成与高等植物相似, 因此推测在光系统结构组成上微藻与高等植物不存在较大差异。尖状栅藻与高等植物菠菜的荧光发射峰(682、693和730 nm)相比, 缺少来自PSI捕光复合物上叶绿素发出的730 nm长波荧光峰(Kuang等1984), 其PSI的77 K荧光发射峰蓝移至705~720 nm之间, 这种现象在其他绿藻(陈敏和宫宝安2003)和褐藻(李爱芬等2003)中均有报道。藻类的77 K低温荧光谱显示其荧光特性与陆生的高等植物明显不同, 可能由于藻类适应水环境进化成特有的光合特性。高等植物的730 nm长波荧光峰具有能量陷阱的作用, 以荧光的形式泄露多余的能量, 而藻类的光系统对不同环境适应尤其在弱光环境下要尽可能多地吸收光能, 不需要多余的能量泄露(韩博平等2003)。尖状栅藻在培养过程中, 初始氮浓度18

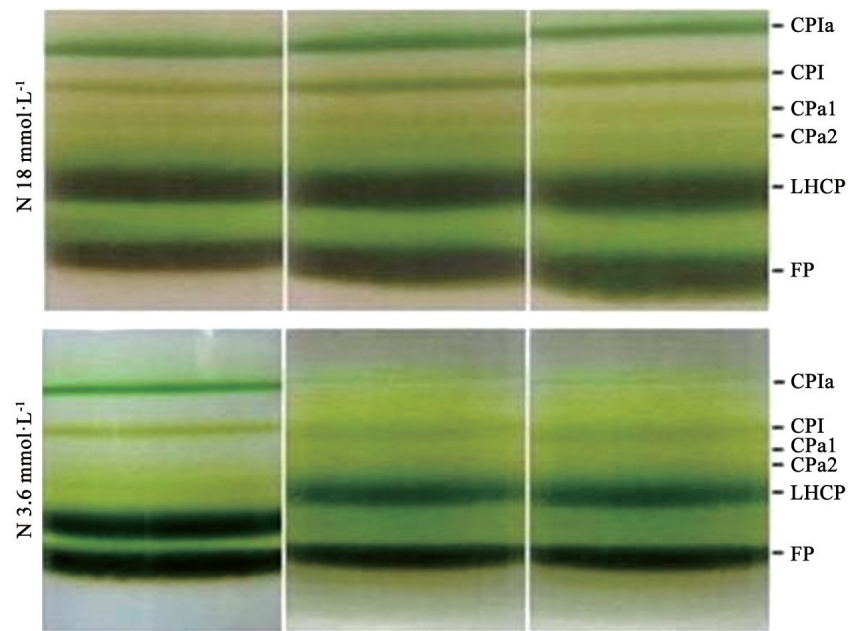


图4 氮限制对色素蛋白复合物的影响

Fig.4 Effect of N-depleted on pigment protein complexes

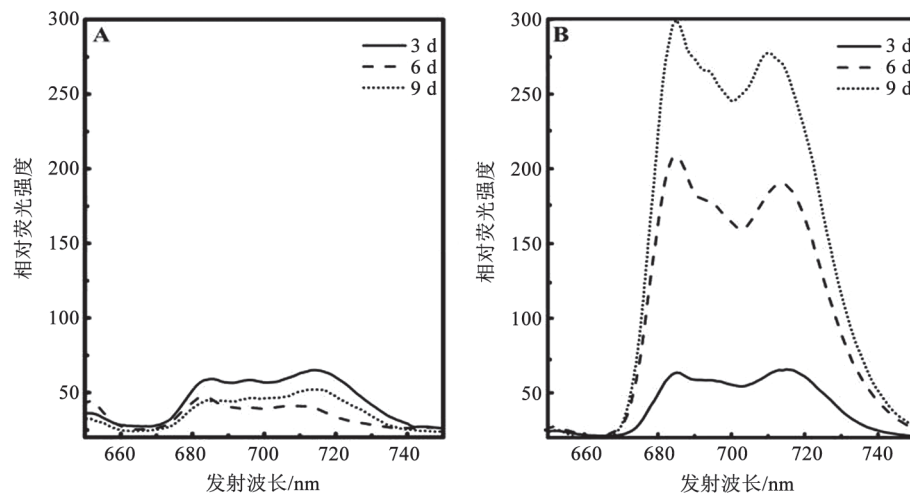


图5 氮限制对活细胞77 K荧光发射光谱

Fig.5 Effect of N-depleted on fluorescence emission spectra at 77 K

A: N 18 mmol·L⁻¹; B: N 3.6 mmol·L⁻¹。

mmol·L⁻¹组的相对荧光量下降, 低氮3.6 mmol·L⁻¹组的相对荧光量增强, 是由于低氮下色素捕获的光能传递到反应中心进行光化学反应的份额在减少, 耗散的光能增多, 最根本的原因是随着培养时间的延长, 营养盐逐渐消耗导致光系统反应中心受损 (Wang等2005; Chukhutsina等2014; Zhang等2013)。

本次研究中低氮组(3.6 mmol·L⁻¹)中PSII复合

物的条带CPa1和CPa2在第6天就消失不见, iTRAQ蛋白定量结果也显示PSII复合物的D1蛋白、D2蛋白、CP43、CP47、Lhcb1和Lhcb2均表达下调。过去相关研究报道盐藻(*Dunaliella salina*) (Berges等1996)等在氮胁迫下PSII的活性会降低, 莱茵衣藻(Philipps等2012)、微拟球藻(Simionato等2013)在无氮培养条件下PSII反应中心蛋白也出现降

表2 两种氮浓度下光系统相关蛋白的表达差异

Table 2 Differences of photosynthetic protein expressed in two N concentrations

光系统	差异蛋白	蛋白表达	
		N 18	N 3.6
PSII	PsbA	+1.3	-0.6
	PsbD	+1.2	0
	PsbC	+2.2	-0.6
	PsbB	+2.1	-0.8
	PsbE	+1.9	-0.5
	PsbF	+1.3	0
	Lhcb1	+3.1	-0.4
	Lhcb2	+2.7	-0.4
PSI	PsaB	+1.7	0
	PsaC	0	+1.0
	Lhca2	+1.4	-0.7
	Lhca4	+1.4	-0.7
Cyt <i>b₆/f</i>	PetB	+1.5	-1.1
	PetA	+1.4	0

表中数据为第3天与第9天的差异, +表示蛋白上调, -表示蛋白下调; N浓度单位为 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

解。可见微藻PSII复合物对环境氮素浓度十分敏感, 这是缺氮条件下PSII反应中心蛋白修复速率降低, 同时被降解作为内源氮供给细胞基础代谢共同作用的结果(Ördög等2012)。Eisenstadt等(2008)发现不同光环境下三角褐指藻(*Phaeodactylum tri-cornutum*) PSII的改变能调节光系统的能量流, 认为胁迫环境下PSII复合物的变化具有重要生理意义。PSII复合物的降解会导致能量流入减少(Salomon等2013), 因为过多的能量流入会导致光合器官的过度还原, 进而导致超氧阴离子的产生损害藻细胞, 可以认为低氮条件下尖状栅藻PSII复合物的降解也是一种保护机制。目前有研究者发现缺氮下PSII复合物受损, 会导致围绕PSI的环式电子传递链被激发, 改变电子传递链的途径, 提高非光化学猝灭, 保护细胞(Zhang等2013; Bellafiore等2005)。低氮下Cyt *b₆/f*复合物下调的结果与氮胁迫下微拟球藻光系统蛋白双向电泳结果(Simionato等2013)相同, 这可能是反应中心降解后光合电子传递链强度减弱导致的。过去的相关研究发现绿藻中Cyt *b₆/f*复合物可能与藻细胞配子激活有关(Bulte和Wollman 1992), 这可能是控制低氮条件下藻细胞分裂的因素之一, 然而尚未得到其他证据证实。

综上, 尖状栅藻与一般高等植物光系统的差异主要表现在缺少730 nm处荧光发射峰, 低温荧光光谱出现蓝移。低氮条件下藻细胞类囊体膜上PSII核心复合物发生降解, 导致光能利用效率下降。这些结果提示我们尖状栅藻在适宜氮素限制时高效产油过程中, 油脂物质积累所需的能量来源可能存在其他代偿路径, 再是在营养缺乏的条件下, 尖状栅藻光合电子传递链是否重新调整并分配能量等还需进一步分析。关于这些问题的研究对于深入认识产油微藻的光合代谢机理具有重要的理论意义和实际参考价值。

参考文献

- 陈敏, 宫宝安(2003). 海洋绿藻77 K低温光谱特性的比较研究. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 16 (2): 119~123
- 韩博平, 韩志国, 付翔(2003). 藻类光合作用机理与模型. 北京: 科学出版社
- 李爱芬, 段舜山, 陈敏, 宫宝安, 周百成(2003). 褐藻裙带菜光系统I的能量传递特性. 水生生物学报, 27 (2): 214~216
- 汪亚俊, 孙明哲, 李爱芬, 张成武(2014). 不同氮素水平对产油尖状栅藻生长及光合生理的影响. 中国生物工程杂志, 34 (12): 51~58
- 郑锡光, 汪河洲, 余振新, 高兆兰, 朱晋昌, 蒋丽金(1996). 藻胆素的构象变化及其对光吸收的影响. 生物化学与生物物理进展, 23 (5): 433~436
- Allen JF (1992). Protein phosphorylation in regulation of photosynthesis. Biochim Biophys Acta, 1098 (3): 275~335
- Anderson JM, Waldron JC, Thorne SW (1978). Chlorophyll—protein complexes of spinach and barley thylakoids: Spectral characterization of six complexes resolved by an improved electrophoretic procedure. FEBS Lett, 92 (2): 227~233
- Basso S, Simionato D, Gerotto C, Segalla A, Giacometti GM, Morosinotto T (2014). Characterization of the photosynthetic apparatus of the Eustigmatophycean *Nannochloropsis gaditana*: evidence of convergent evolution in the supramolecular organization of photosystem I. Biochim Biophys Acta, 1837 (2): 306~314
- Bellafiore S, Barneche F, Peltier G, Rochaix JD (2005). State transitions and light adaptation require chloroplast thylakoid protein kinase STN7. Nature, 433 (7028): 892~895
- Benvenuti G, Bosma R, Cuaresma M, Janssen M, Barbosa MJ, Wijffels RH (2015). Selecting microalgae with high lipid productivity and photosynthetic activity under nitrogen starvation. J Appl Phycol, 27: 1425~1431
- Berges A, Charlebois DO, Mauzerall DC, Falkowski PG (1996). Differential effects of nitrogen limitation on photosynthetic efficiency of photosystems I and II in microalgae. Plant Physiol, 110 (2): 689~696
- Bulte L, Wollman FA (1992). Evidence for a selective destabilization of an integral membrane protein, the cytochrome *b₆/f* complex, during gametogenesis in *Chlamydomonas reinhardtii*. Eur J Bio-

- chem, 204 (1): 327~336
- Cakmak T, Angun P, Demiray YE, Ozkan AD, Elibol Z, Tekinay T (2012). Differential effects of nitrogen and sulfur deprivation on growth and biodiesel feedstock production of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biotechnol Bioeng*, 109 (8): 1947~1957
- Chukhutsina VU, Büchel C, van Amerongen H (2014). Disentangling two non-photochemical quenching processes in *Cyclotella meneghiniana* by spectrally-resolved picosecond fluorescence at 77 K. *Biochim Biophys Acta*, 1837 (6): 899~907
- Drop B, Yadav KNS, Boekema EJ, Croce R (2014). Consequences of state transitions on the structural and functional organization of photosystem I in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant J*, 78 (2): 181~191
- Eisenstadt D, Ohad I, Keren N, Kaplan A (2008). Changes in the photosynthetic reaction centre II in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* result in non-photochemical fluorescence quenching. *Environ Microbiol*, 10 (8): 1997~2007
- Hankamer B, Lehr F, Rupprecht J, Mussgnug JH, Posten C, Kruse O (2007). Photosynthetic biomass and H₂ production by green algae: from bioengineering to bioreactor scale-up. *Physiol Plant*, 131 (1): 10~21
- Heldt HW, Piechulla B (2010). *Plant Biochemistry*. Burlington: Elsevier Academic Press
- Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E., Ghirardi M, Posewitz M, Seibert M, Darzins A (2008). Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *Plant J*, 54 (4): 621~639
- Kuang TY, Argyroudi-Akoyunoglou JH, Nakatani HY, Watson J, Arntzen CJ (1984). The origin of the long-wavelength fluorescence emission band (77 K) from photosystem I. *Arch Biochem Biophys*, 235 (2): 618~627
- Niyogi KK (1999). Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. *Plant Physiol Biochem*, 50: 333~359
- Ördög V, Stirk WA, Bálint P, Staden JV, Lovász C (2012). Changes in lipid, protein and pigment concentrations in nitrogen-stressed *Chlorella minutissima* cultures. *J Appl Phycol*, 24 (4): 907~914
- Pan YY, Wang ST, Chuang LT, Chang YW, Chen CNN (2011). Isolation of thermo-tolerant and high lipid content green microalgae: oil accumulation is predominantly controlled by photosystem efficiency during stress treatments in *Desmodesmus*. *Bioresour Technol*, 102 (22): 10510~10517
- Philipps G, Happe T, Hemschemeier A (2012). Nitrogen deprivation results in photosynthetic hydrogen production in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Planta*, 235 (4): 729~745
- Rochaix JD (2011). Reprint of: regulation of photosynthetic electron-transport. *Biochim Biophys Acta*, 1807 (8): 878~886
- Salomon E, Bar-Eyal L, Sharon S, Keren N (2013). Balancing photosynthetic electron flow is critical for cyanobacterial acclimation to nitrogen limitation. *Biochim Biophys Acta*, 1827 (3): 340~347
- Simionato D, Block MA, La Rocca N, Rocca NL, Jouhet J, Maréchal E, Finazzi G, Morosinotto T (2013). The response of *Nannochloropsis gaditana* to nitrogen starvation includes *de novo* biosynthesis of triacylglycerols, a decrease of chloroplast galactolipids, and reorganization of the photosynthetic apparatus. *Eukaryot Cell*, 12 (5): 665~676
- Tüccar G, Özgür T, Aydın K (2014). Effect of diesel-microalgae biodiesel-butanul blends on performance and emissions of diesel engine. *Fuel*, 132: 47~52
- Wang GH, Chen LZ, Li GB, Li DH, Hu CX, Chen HF, Liu YD, Song LR (2005). Improving photosynthesis of microalgae by changing the ratio of light-harvesting pigments. *Chin Sci Bull*, 50 (15): 1622~1626
- White S, Anandraj A, Bux F (2011). PAM fluorometry as a tool to assess microalgal nutrient stress and monitor cellular neutral lipids. *Bioresour Technol*, 102 (2): 1675~1682
- Zhang YM, Chen H, He CL, Wang Q (2013). Nitrogen starvation induced oxidative stress in an oil-producing green alga *Chlorella sorokiniana* C3. *PLoS ONE*, 8 (7): e69225