

高产油突变藻株 *Desmodesmus* sp. D90G-19 的光合作用特征

张 蕾¹, 胡光荣², 范 勇², 袁 程², 杨晓红¹, 李福利²

(1. 西南大学 园艺园林学院 南方山地园艺学教育部重点实验室, 重庆 400716; 2. 中国科学院 青岛生物能源与过程研究所, 山东 青岛 266101)

摘要: *Desmodesmus* sp. S-1 藻株经重离子诱变后得到的一株突变体 D90G-19, 较其野生型的油脂产率提高了 20.6%; 同时对野生型和突变株的光合放氧速率, 色素组成和叶绿素荧光动力学进行了分析。与野生型相比, 突变体 D90G-19 的光合作用有如下特点: 1. D90G-19 的光饱和点为 500 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 无论是在强光还是在弱光下, D90G-19 的光合作用效率都显著高于其野生型; 2. 突变体 D90G-19 对高温的适应性比野生型强; 3. 在弱碱性条件下, D90G-19 的光合效率的提升较之野生型更为显著。培养 D90G-19 的最佳光照强度应在 250~400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 之间, 最适温度在 25~30 $^{\circ}\text{C}$, 培养液 pH 值则以弱碱性为宜(7<pH \leq 8)。叶绿素荧光动力学数据表明, 突变体 D90G-19 的光合作用系统在强光下的损伤程度小于野生型, 能够耐受更高的光强胁迫。

关键词: *Desmodesmus* sp.; 光合放氧速率; 叶绿素荧光; 光合作用特征

中图分类号: XX 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2013)11-0021-06

微藻利用光合作用将 CO_2 转化为有机碳, 约占全球有机碳固定量的 50%, 在全球生态系统中占有重要地位。许多微藻在面临不利的生长环境时, 会将其多数碳源转化为能量密度较高的脂类, 储存在脂体中, 其含量约占细胞干质量的 20%~50%^[1], 而且微藻具有生长速度快, 不与粮争地的优点而被认为是新一代生物燃料的原料来源^[2-3]。*Desmodesmus* sp. (Sphaeropleales, Scenedesmeaceae) 广泛分布于淡水环境中, 在淡水生态系统中扮演重要角色^[4]。由于 *Desmodesmus* sp. 抗污染能力强, 能够吸收重金属离子, 因此国内外对它的研究主要集中在生物修复上^[5-6]。近年来, 一些 *Desmodesmus* 属的藻类因其生长速率快, 生物量大, 脂类含量高而被认为是生产新一代生物燃料的原料供应者^[7]。*Desmodesmus* sp. S-1 是一株分离自淡水中的单细胞绿藻, 椭圆形, 长约 5~10 μm , 叶绿体呈环状。该藻株生长速度快, 油脂含量高, 可以超过细胞干质量的 50%, 油脂产率可以达到 0.25 g/(L·d)。为了进一步提高油脂产率, 在中国科学院近代物理所利用兰州重离子加速器对 S-1 藻株进行了重离子诱变, 并从其突变体库中筛选到了一株突变体 D90G-19, 其油脂产率较野生型提高了 20.6%^[8]。研究表明, 这株突变体不仅油脂含量和产率得到明显提高, 而且其光合作用能力较其野生型也有显著提高。本实验以 *Desmodesmus* sp. 野生型及其突变体

D90G-19 为材料, 通过对野生型和突变株的光合放氧速率, 色素组成和叶绿素荧光动力学进行分析, 比较它们的光合效率特性, 分析突变体光合效率提升的原因, 同时分析突变体对环境的适应性及适宜的培养条件, 为生产实践提供理论依据和参考。

1 材料与amp;方法

1.1 实验藻种与培养基

Desmodesmus sp. S-1 藻株的野生型和突变体 D90G-19 由中科院青岛生物能源与过程研究所藻种库提供。所有实验均使用 BG-11 培养基。

上述藻株接种于含有 300 mL BG-11 培养液的柱状光照培养管中, 室温下通气(2% CO_2)培养(25 $^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$), 光照强度为 110 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。藻株生长到对数期时收集藻细胞。

1.2 叶绿素含量测定

取 5 mL 藻液, 8 000 r/min 离心 5 min, 收集藻细胞,

收稿日期: 2012-11-01; 修回日期: 2013-01-10

基金项目: 中国科学院国际合作项目(31010103907); 中国科学院西部之光项目(Y106140XBL)

作者简介: 张蕾 (1986-), 女, 吉林长春人, 硕士研究生, 研究方向: 微藻生理学, E-mail: zhleid@163.com; 胡光荣, 通信作者, 博士, 从事微生物学和藻类学研究, E-mail: hugr@qibebt.ac.cn; 杨晓红, 通信作者, 教授, 博士, 从事园艺植物生物学与生物技术、微生物生理生态, E-mail: yangxh2@swu.edu.cn

利用液氮充分研磨, 80%丙酮萃取, 直至藻细胞变为白色为止。利用分光光度计在波长646、663、470 nm下测定丙酮的吸光度, 按Wellburn公式^[9]计算色素浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)。叶绿素a(*Chla*)= $12.21 OD_{663}-2.81 OD_{646}$; 叶绿素b(*Chlb*)= $20.12 OD_{646}-5.03 OD_{663}$; 类胡萝卜素(Carotenoids) = $(1000 \times OD_{470} - 3.27 Chla - 104 Chlb) / 198$ 。

1.3 光合放氧速率测定

使用 Clark 型液相氧电极 (Hansatech Oxygraph, UK) 测量藻的光合放氧速率, 样品体积为 2 mL, 反应体系温度($25^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$)由恒温水浴控制。藻液在磁力搅拌器的作用下持续运动, 直接读取单位时间内的溶解氧浓度 ΔDO ($\mu\text{mol O}_2/(\text{mL} \cdot \text{min})$), 计算单位时间内溶解氧的变化值, 取 6~10 个稳定的数据, 求平均值, 计算光合放氧速率:

$$\text{光合放氧速率}(\mu\text{mol}/(\text{mgChla} \cdot \text{h})) = \frac{\Delta DO \times 60}{2 \cdot Chla}$$

其中, *Chla* 为藻液的叶绿素 a 的浓度, 单位为 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

1.3.1 不同光照强度光合放氧速率测定

取对数生长期的藻细胞, 2 300 g 离心后收集, 用新鲜的 BG-11 培养基重悬, 藻细胞悬浮液的 OD_{750} 值为 0.5, 将藻液 pH 调为 7.0。25 $^\circ\text{C}$ 下, 在光强为 50、100、200、300、500 和 800 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的条件下分别测试 *Desmodesmus* sp. S-1 WT 和 D90G-19 的光合放氧速率, 每次三个平行, 重复实验 2 次。

1.3.2 不同 pH 光合放氧速率测定

取对数生长期的藻细胞, 2 300 g 离心后收集, 用新鲜的 BG-11 培养基重悬于灭菌的 50 mL 三角瓶中, 体积 30 mL, 藻细胞悬浮液的 OD_{750} 值为 0.5, pH 值分别调至 6.0、7.0、8.0、9.0、10.0, 置于光照培养箱中培养 24 h。培养过程中每隔 6 h 调节藻液的 pH。在光

强为 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 温度为 25 $^\circ\text{C}$ 时, 分别测定不同 pH 值下藻液的光合放氧速率, 每次三个平行, 重复实验 2 次。

1.3.3 不同温度光合放氧速率测定

取对数生长期的藻细胞, 2 300 g 离心后收集, 用新鲜的 BG-11 培养基重悬, 藻细胞悬浮液的 OD_{750} 值为 0.5, 藻液 pH 调至 7.0。光强设定在 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 分别测定温度为 25、30、35、40 和 45 $^\circ\text{C}$ 时的光合放氧速率, 每次三个平行, 重复实验 2 次。

1.4 叶绿素荧光动力学分析

取对数生长期的藻细胞, 2 300 g 离心后收集, 用新鲜的 BG-11 培养基重悬, 藻细胞悬浮液的 OD_{750} 值为 0.5, 将藻液 pH 调为 7.0。黑暗条件下静置 30~60 min, 然后振荡重悬, 吸取 300 μL 藻液于 96 孔板中, 每样品 3 次重复, 使用 Imaging-PAM (Walz, Germany) 调制叶绿素荧光仪分析叶绿素荧光, 定量分析其中的三个参数: ETR: 相对电子速率(relative electron transfer rate); Y(NPQ): 表征非光化学淬灭(non-photochemical quenching, NPQ); Y(NO): 表征非光诱导淬灭(non-light induced quenching)^[10]。

2 结果与分析

2.1 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 的叶绿素含量

Desmodesmus sp. S-1 野生型的叶绿素 a, 叶绿素 b 和类胡萝卜素的含量略高于突变体 D90G-19, 但并无显著差异。在叶绿素 a 和叶绿素 b 的相对比例(叶绿素 a/叶绿素 b)以及叶绿素与类胡萝卜素的相对比例((叶绿素 a+叶绿素 b)/类胡萝卜素)方面, 野生型和突变体 D90G-19 也没有显著变化。见表 1。

表 1 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 的色素含量

Tab. 1 The concentration of pigments in the *Desmodesmus* sp. S-1 WT and mutant D90G-19

<i>Desmodesmus</i> sp. S-1	叶绿素 a ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	叶绿素 b ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	类胡萝卜素 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	叶绿素 a/叶绿素 b	(叶绿素 a+叶绿素 b)/类胡萝卜素
WT	30.06 \pm 2.21	9.23 \pm 1.45	9.26 \pm 1.22	3.25 \pm 0.04	4.24 \pm 0.20
D90G-19	27.20 \pm 0.98	8.77 \pm 0.54	9.01 \pm 1.21	3.11 \pm 0.31	3.99 \pm 0.34

2.2 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 的光合放氧速率

2.2.1 光照强度对 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 光合放氧速率的影响

图 1 显示了 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 的光合放氧速率随着光强的增加而发生

变化的趋势。在光强为 50~300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的范围内, 野生型的光合放氧速率随着光强增加, 基本呈线性上升。光强超过 300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光合放氧速率缓慢下降, 因此, 300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 是野生型的光饱和点。此后, 随着光强度的增加, 光合放氧速率呈现出稳定态势。光合放氧速率的最大值为 45.73 $\mu\text{mol O}_2/(\text{mgChla} \cdot \text{h})$ 。

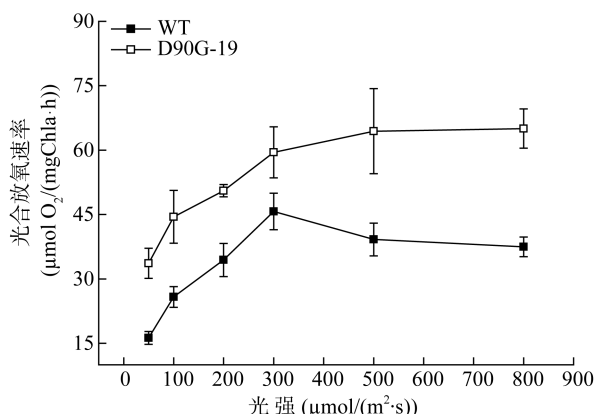


图1 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 光合放氧速率随光强变化曲线

Fig. 1 Photosynthesis-light response curve of *Desmodesmus* sp. S-1 WT and mutant D90G-19

在光强为 50~800 μmol/(m²·s) 的范围内, 突变体 D90G-19 的光合放氧速率迅速升高, 之后随着光强的增加而上升, 但速度减缓, 光强在 500 μmol/(m²·s) 时, 其光合放氧速率趋于稳定, 达到 64.41 μmol O₂/(mgChla·h), 在光强为 800 μmol/(m²·s) 时, 其光合放氧速率为 65.03 μmol O₂/(mgChla·h), 虽然略有上升, 但并无显著差异, 说明 D90G-19 的光饱和点为 500 μmol/(m²·s), 近似最大放氧速率约为 65.03 μmol O₂/(mgChla·h)。 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 光合放氧速率随光强变化曲线说明, 无论是在强光还是在弱光下, D90G-19 的光合作用效率都显著高于其野生型, 此外, D90G-19 的光饱和点也显著高于野生型, 表明该突变株比野生型能够忍受更高的光照胁迫条件。图 1 显示, 当光强在 250~400 μmol/(m²·s) 之间时, 突变体的光合放氧效率已经达到其最大值的 80%~95%, 之后随着光强的上升, 光合放氧速率的增长变得平缓。250~400 μmol/(m²·s) 的光照强度既可以使藻细胞充分发挥其光合作用的效率, 还可以避免强光对藻细胞的伤害。因此, 培养突变体 D90G-19 的最适光强为 250~400 μmol/(m²·s)。

2.2.2 温度对 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 光合放氧速率的影响

温度对 *Desmodesmus* sp. 的光合放氧速率也有影响(图 2)。在 25~30℃ 内, 野生型和突变体 D90G-19 的光合放氧速率随温度上升而快速增加。在 30~35℃ 范围内, 野生型的光合放氧速率趋向稳定。当温度大于 35℃ 时, 光合放氧速率开始迅速下降。但突变体 D90G-19 的光合放氧速率在 30℃ 达到最大值 88.68 μmol O₂/(mgChla·h) 后, 随着温度上升, 光合放

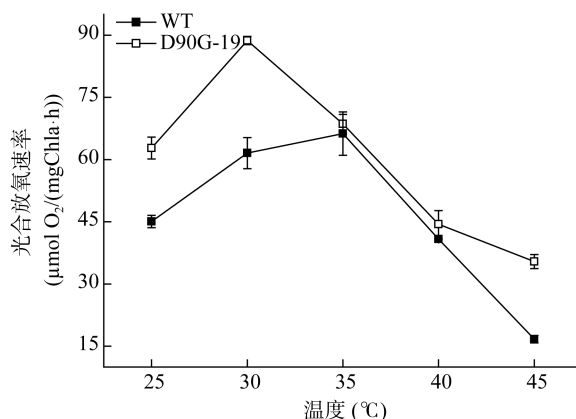


图2 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 光合放氧速率随温度变化曲线

Fig. 2 Photosynthesis-temperature response curve of *Desmodesmus* sp. S-1 WT and mutant D90G-19

氧速率迅速下降。

从以上分析得出两株藻株的光合放氧系统对温度的变化敏感, 在高温下光合放氧速率均急剧下降。在 25~45℃ 的温度范围内, 突变体 D90G-19 的光合放氧速率高于野生型, 表明突变体 D90G-19 对高温的适应性比野生型强。

2.2.3 pH 对 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 光合放氧速率的影响

在藻类的培养过程中, 培养液的 pH 值通常会发生波动, 影响藻类的光合作用效率(图 3)。pH 为 6.0~8.0 时, *Desmodesmus* sp. 野生型的光合放氧速率随着 pH 的上升而缓慢增加, 在 pH=8 时达到最高值 45.13 μmol O₂/(mgChla·h), 然后随着 pH 的增加发生快速下降。当 pH 从 7 升高到 8 时, D90G-19 的光合放氧速率有一个迅速的跃升, 从 49.58 μmol/(mg·h) 增加到 60.61 μmol/(mg·h), 提升了 22.23%, 随后随着 pH 的增加而迅速

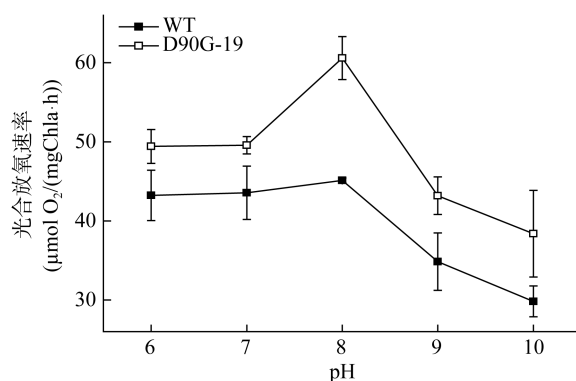


图3 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 光合放氧速率随 pH 变化曲线

Fig. 3 Photosynthesis-pH response curve of *Desmodesmus* sp. S-1 WT and mutant D90G-19

降低。因此, *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 的最佳生长 pH 值范围应在 6~8 之间。在弱碱性条件(7<pH≤8)下, D90G-19 的光合放氧速率的提升较之野生型更为显著, 光合作用效率更高。

2.3 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 的叶绿素荧光动力学分析

2.3.1 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 的相对电子传递速率

除了光合放氧速率外, 通过对叶绿素荧光参数的检测和计算^[11]得到的相对电子传递速率(electron transport rate, ETR)也可以作为藻类光合作用的指标。从图 4 可以看出, 当光强在 0~300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 之间时, 野生型和 D90G-19 的 ETR 随光强的增加而迅速上升, 在 300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时达到各自的最高点, 分别为 17.37 和 21.00 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 之后随着光强的增加而持续下降。无论是在低光还是高光条件下, D90G-19 的 ETR 始终显著高于野生型, 说明突变体 D90G-19 的光合作用效率明显高于野生型, 这与光合放氧速率的结果相吻合。但是, ETR 的数据表明 *Desmodesmus* sp. 野生型和突变体 D90G-19 的光饱和点大约在 300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 附近, 而光合放氧速率显示的 D90G-19 的光饱和点在 500 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 左右, 二者并不完全一致。造成这一现象的原因在于: 在光合作用中, 电子传递通过位于类囊体膜上的光合电子传递链进行, 而将 H_2O 裂解后释放 O_2 则是由位于基粒中的 PSII 完成, 二者之间并不存在线性关系^[2, 12-13]。

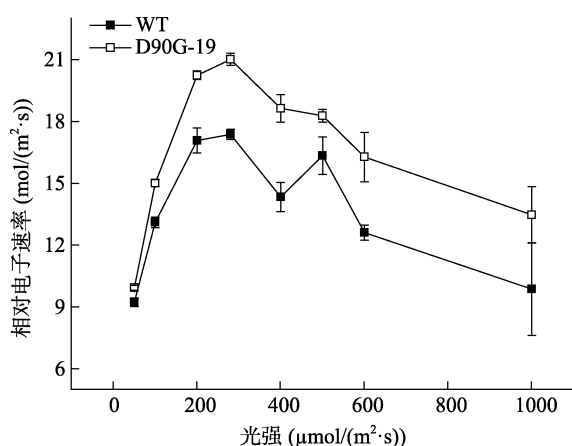


图 4 光强对 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 的相对电子速率的影响

Fig. 4 Effects of light intensity on the relative electron transport rate (ETR) of *Desmodesmus* sp. S-1 WT and mutant D90G-19

2.3.2 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 的光保护能力

Y(NPQ)反映了叶绿素荧光中因热扩散而导致的能量损失, 是一种主动下调光能利用的光保护机制。图 5 显示随着光强的上升, *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体的 Y(NPQ)的变化可以分为两个阶段, 在光强达到 500 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 之前, 两株藻株的 Y(NPQ)随着光强的增加而快速上升, 之后则缓慢的逐渐增加, 直至趋向平稳。在前期, 野生型通过热扩散比 D90G-19 耗散了更多的光能, 但是当光强超过 500 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时, 野生型和 D90G-19 的 Y(NPQ)趋向一个稳定的极大值, 说明在过高的光强下(>500 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$), 野生型和 D90G-19 不得不将吸收的光能的 50%~60% 左右以热的形式扩散来保护自身(图 5)。

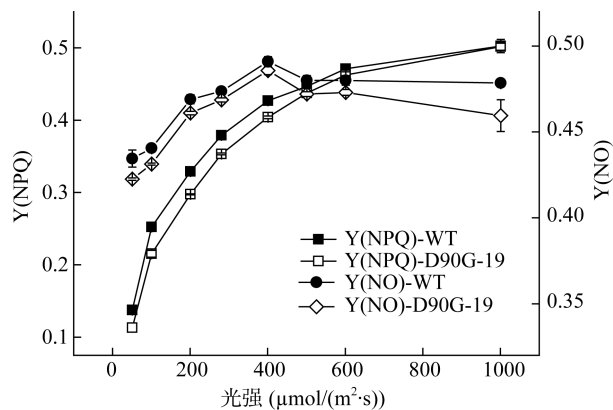


图 5 光强对 *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 的 Y(NPQ)和 Y(NO)的影响

Fig. 5 Effects of light intensity on the Y(NPQ) and Y(NO) of *Desmodesmus* sp. S-1 WT and mutant D90G-19

Y(NO)反映了叶绿素荧光中由于非光能因素引致的能量损失^[10], 通常被认为是光损伤的重要指标。随着光强从 50 上升到 400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, *Desmodesmus* sp. S-1 野生型和突变体 D90G-19 的 Y(NO)也逐渐增加, 在 400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时分别达到 0.491 和 0.485 的最大值。之后, 虽然光强持续上升, 野生型的 Y(NO)略有下降, 并稳定在 0.48 左右, 但 D90G-19 的 Y(NO)在高光条件(600~1000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)下保持了缓慢但持续的下降。在光强由低到高的整个过程中, D90G-19 的 Y(NO)值均小于野生型, 高光下更为显著。D90G-19 对于高光胁迫环境条件的耐受性显然高于其野生型。

3 讨论

光合作用特性是微藻最基本、最重要的生理特征。光照强度、温度和 pH 是影响微藻光合作用效率、生长

繁殖、生物量积累和物质代谢的重要环境因子^[14, 15]。对光合作用效率的表征可以通过多种方法来进行,包括光合放氧速率, CO₂ 气体交换法测定绝对电子传递速率等。在严格控制温度、光照和 CO₂ 浓度的条件下, 绝对电子速率也可以通过分析叶绿素荧光数据得到的相对电子速率代替^[16]。

光合放氧速率的实验结果表明, 在相同的光照、温度和 pH 条件下, *Desmodesmus* sp. 突变体 D90G-19 较之其野生型具有更高的光合效率。相对电子传递速率的结果也说明了同样的结果。综合分析光合放氧速率和相对电子传递速率的数据, 与野生型相比, 突变体 D90G-19 的光合作用有如下特点: 1. 无论是在强光还是在弱光下, D90G-19 的光合作用效率都显著高于其野生型, 而且比野生型能够耐受更高的光照胁迫条件; 2. 突变体 D90G-19 对高温的适应性比野生型强; 3. 在弱碱性条件下, D90G-19 的光合效率的提升较之野生型更为显著。培养 D90G-19 的最佳光照强度应在 250~400 μmol/(m²·s) 之间, 最适温度在 25~30℃, 培养液 pH 值则以弱碱性为宜(7<pH≤8)。王高鸿^[17]曾经报道过通过改变捕光色素的比例可以提高微藻的光合效率。但是在突变体 D90G-19 中, 其叶绿素和类胡萝卜素的含量和比例与野生型没有显著的差异。D90G-19 光合效率的提升应是由另外的因素造成。

在微藻的大规模培养中, 室外的高光强会造成微藻的光抑制现象。微藻对高光强的适应包括主动和被动两个方面^[18]。在一定的光强范围内, 微藻能够将过剩的光能以热的形式耗散掉, 从而保护光合系统免受损伤, Y(NPQ)反映了这种能力的强弱。在高光下(>500 μmol/(m²·s)), D90G-19 和野生型只能主动将光能的 50%~60%通过热扩散释放, 达到保护自身的目的, 但并无显著性的差异, 这与 *Chlamydomonas reinhardtii* 中的一些抗高光突变体的 NPQ 的变化相似^[3]。随着高光强的持续, 微藻光合系统将受到不可逆的损伤, 此时, 微藻吸收的光能会发生不可避免的损失, 其损伤程度可以用 Y(NO)来表征^[10]。突变体 D90G-19 的 Y(NO)值在低光和高光条件下均显著低于野生型, 而且 D90G-19 的 Y(NO)在高光条件(600~1000 μmol/(m²·s))下保持了缓慢但持续的下降, 发生这一现象的原因可能是 D90G-19 的光合作用系统在经受强光损伤后具有某种恢复机制, 可能与光合系统中 D1 等光合蛋白的重生有关^[19]。因此, D90G-19 对于高光胁迫环境的耐受性显然高于其野生型。

通过光合效率的提升和光保护机制作用的增强,

D90G-19 比野生型更能耐受高光强等胁迫条件, 更高效的利用光能固定无机碳, 并将其以脂类的形式储存在细胞中, 这一特点使得它可以代替其野生型作为优良藻种用于大规模培养, 获取更高的油脂产量, 为生物燃料的生产提供原料。

参考文献:

- [1] Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E, et al. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances [J]. *Plant J*, 2008, 54(4): 621-639.
- [2] Carr H, Björk M. A methodological comparison of photosynthetic oxygen evolution and estimated electron transport rate in tropical ulva (chlorophyceae) species under different light and inorganic carbon conditions [J]. *Journal of Phycology*, 2003, 39(6): 1125-1131.
- [3] Förster B, Osmond C B, Boynton J E, et al. Mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* resistant to very high light [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 1999, 48(2-3): 127-135.
- [4] Monteiro C M, Castro. Cadmium removal by two strains of *desmodesmus pleiomorphus* cells [J]. *Water And Soil Pollution*, 2010, 208(1-4): 17-27.
- [5] Omar H H. Bioremoval of zinc ions by *Scenedesmus obliquus* and *Scenedesmus quadricauda* and its effect on growth and metabolism [J]. *Int Biodeter Biodegr*, 2002, 50(2): 95-100.
- [6] Monteiro C M, Marques A P G C, Castro P M L, et al. Characterization of *Desmodesmus pleiomorphus* isolated from a heavy metal-contaminated site: biosorption of zinc [J]. *Biodegradation*, 2009, 20(5): 629-641.
- [7] Pan Y Y, Wang S T, Chuang L T, et al. Isolation of thermo-tolerant and high lipid content green microalgae: Oil accumulation is predominantly controlled by photosystem efficiency during stress treatments in *Desmodesmus* [J]. *Bioresource Technol*, 2011, 102(22): 10510-10517.
- [8] Hu G, Fan Y, Zhang L, et al. Enhanced Lipid Productivity and Photosynthesis Efficiency in a *Desmodesmus* sp. Mutant Induced by Heavy Carbon Ions [J]. *Plos One*, 2013, 8(4): e60700.
- [9] Wellburn A R. The Spectral Determination of Chlorophyll-a and Chlorophyll-B, as Well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometry [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1989, 49(3): 231-234.

- meters of Different Resolution [J]. *J Plant Physiol*, 1994, 144(3): 307-313.
- [10] Kramer D, Johnson G, Kiirats O, et al. New Fluorescence Parameters for the Determination of Q_A Redox State and Excitation Energy Fluxes [J]. *Photosynthesis Research*, 2004, 79(2): 209-218.
- [11] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide [J]. *J Exp Bot*, 2000, 51(345): 659-668.
- [12] Longstaff B J, Kildea T, Runcie J W, et al. An in situ study of photosynthetic oxygen exchange and electron transport rate in the marine macroalga *Ulva lactuca* (Chlorophyta) [J]. *Photosynthesis Research*, 2002, 74(3): 281-293.
- [13] 张曼, 曾波, 张怡, 等. 温度变化对藻类光合电子传递与光合放氧关系的影响 [J]. *生态学报*, 2010, 30(24): 7077-7091.
- [14] 韩博平, 韩志国, 付祥. 藻类光合作用机理与模型 [M]. 北京: 科学出版社. 2003.
- [15] 王铭, 李涛, 李爱芬, 等. 光照、温度和 pH 对雨生红球藻光合特性的影响 [J]. *水生生物学报*, 2009, 33(3): 400-405.
- [16] Baker N R. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59: 89-113.
- [17] 王高鸿, 陈兰洲, 李根保, 等. 改变捕光色素比例用于提高微藻光合效率 [J]. *科学通报*, 2005, 50(14): 1475-1479.
- [18] Aro E M, Virgin I, Andersson B. Photoinhibition of Photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1993, 1143(2): 113-134.
- [19] Ishikawa Y, Nakatani E, Henmi T, et al. Turnover of the aggregates and cross-linked products of the D1 protein generated by acceptor-side photoinhibition of photosystem II [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1999, 1413(3): 147-158.

The photosynthetic characteristics of a *Desmodesmus* sp. mutant D90G-19 with improved lipid productivity

ZHANG Lei¹, HU Guang-rong², FAN Yong², YUAN Cheng², YANG Xiao-hong¹, LI Fu-li²

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University Key Laboratory of Horticulture Science for Southern Mountainous Regions, Ministry of Education Chongqing 400716; 2. Qingdao Institute of Bioenergy and Bioprocess Technology, Chinese Academy of Sciences Shandong Qingdao 266101)

Received: Nov., 1, 2012

Key words: *Desmodesmus* sp.; photosynthetic oxygen evolution rate; Chlorophyll fluorescence; photosynthetic characteristics

Abstract: After induced by heavy-ion beam, a mutant of *Desmodesmus* sp., D90G-19 was obtained, which had a lipid productivity 20.6% higher than the wild type. The photosynthetic characteristics of mutant D90G-19 was characterized by analysis of photosynthetic oxygen evolution rate, chlorophyll concentration and chlorophyll fluorescence. Compared to the wild type, the D90G-19 had a higher photosynthetic efficiency regardless of high or low light intensity, the D90G-19 had a higher temperature tolerance and the D90G-19 had a more significant increase in photosynthetic efficiency under weak base condition. The optimum light intensity, temperature and pH for D90G-19 were 250-400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 25-30°C and $7 < \text{pH} \leq 8$ respectively. The photo saturation point of D90G-19 was about 500 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, and the Y(NO) suggested that the damage of photosynthesis system II in D90G-19 was less than that in wild type when they were exposed to high intensity light.

(本文编辑: 康亦兼)