

# 富油金藻与绿藻的耐光适应性比较

崔 静<sup>1,3</sup>, 张立涛<sup>1,2</sup>, 刘建国<sup>1,2</sup>, 李 凌<sup>1</sup>, 何梅琳<sup>1,3</sup>, 林 伟<sup>1,2</sup>

(1. 中国科学院 海洋研究所 生物技术中心, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院 海洋研究所, 江苏 南通 226004; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 以金藻(*Isochrysis* sp.)、球等鞭金藻(*Isochrysis galbana* Parke)、微拟球藻(*Nannochloropsis* sp.)、东营小球藻(*Chlorella* sp.)、小球藻(*Chlorella capsulata* Guillard)等五株富油微藻为实验材料, 通过对比研究强弱光驯化后其叶绿素荧光和快速光曲线(RLC)的变化, 比较了金藻与绿藻的光适应性。结果发现: 弱光驯化后, 五株微藻有效量子产量( $\Phi_{PSII}$ )随着光照强度(PAR)的上升均呈下降趋势, 但是其下降速率在不同藻株之间存在差异, 其中以球等鞭金藻下降速率最小, 小球藻下降速率最大; 两株金藻的最大电子传递速率( $rETR_m$ )及半饱和光强( $I_K$ )均高于三株绿藻, 但是初始斜率( $\alpha$ )小于绿藻; 强光驯化后, 五株富油微藻的 $\Phi_{PSII}$ 及 $\alpha$ 均明显下降, 但两株金藻下降幅度均小于三株绿藻, 而金藻的 $rETR_m$ 及 $I_K$ 始终高于绿藻。同样, 不同藻株的快速光曲线下降斜率( $\beta$ )也都呈下降趋势, 但金藻 $\beta$ 的下降幅度大于绿藻。上述结果表明: 绿藻在弱光下有较强的光吸收能力, 但其光利用能力及热耗散能力相对较差, 在强光下易发生光抑制; 强光驯化后, 金藻比绿藻有更好的强光可塑性, 属于耐光性强的潜力产油微藻。

**关键词:** 快速光曲线; 叶绿素荧光; 富油微藻; 耐光性

中图分类号: Q 813.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2014)03-0006-08

doi: 10.11759/hykyx20121214001

随着人类对能源需求不断增加, 化石燃料日趋枯竭, 同时化石燃料燃烧释放的温室气体可导致气候变暖<sup>[1]</sup>, 因此寻求可再生生物质能源, 解决能源危机与环境问题日益受到重视。近年来, 微藻作为生物柴油生产原料已经引起人们广泛关注<sup>[2-3]</sup>。与其他油料作物相比, 微藻具有生长迅速、油脂含量高、优良特性, 有望成为最有潜力可代替化石燃料的生物原料<sup>[4]</sup>。

优良产油藻种的筛选与评价是生物柴油制备的首个关键环节。美国、日本和我国等国家的相关研究机构, 在藻种筛选方面都开展了大量工作, 结果表明, 油脂含量较高的微藻主要集中于绿藻、硅藻及金藻等真核微藻<sup>[1,5]</sup>。对藻种选育和评价指标主要是生长、总脂和脂肪酸含量<sup>[6-10]</sup>, 如蒋敏霞<sup>[7]</sup>报道球等鞭金藻油脂含量为 32.96%, 丁彦聪等<sup>[8]</sup>筛选获得一株油脂含量为 34.1%的小球藻。光照是决定微藻生长最重要的环境因子之一, 在产油微藻户外规模化培养中, 光照强度受季节、气候、日出日落等影响存在大幅度的变化, 该变化还随时受云量的瞬间影响。光照强度的变化会对微藻光合作用产生胁迫。因此在富油藻种筛选时, 仅了解生长速率和含油指标是不够的, 需进一步了解目前知之甚少的微藻耐光适应能力。

叶绿素荧光技术已应用于光合作用机理、植物抗逆生理等研究, 它以活体细胞的叶绿素荧光为探针, 研究和探测环境因子对植物光合作用的影响, 并通过对叶绿素荧光特性的分析, 反映出植物胁迫后的情况<sup>[11]</sup>。叶绿素荧光技术是一种快速、无损分析光合作用研究工具, 近年来在高等植物的抗逆生理研究方面得到了广泛的应用<sup>[12]</sup>。Belkhdja 等<sup>[13]</sup>研究表明, 叶绿素荧光测定技术在筛选麦类作物耐盐品种方面已显示出较好的应用前景。利用活体叶绿素荧光技术得到的相对电子传递速率(relative electronic transport rate,  $rETR$ )随光照强度(photosynthetic active radiation, PAR)变化的曲线, 即快速光曲线, 可以很好的反映植物对光强的耐受能力<sup>[14-15]</sup>。近年来, 快速光曲线在微藻研究中日趋增多, 但针对富油微藻耐光性比较方面尚未见报道。

收稿日期: 2013-02-04; 修回日期: 2013-05-17

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2011CB200904, 2011CB200901); 江苏省基础研究计划重点研究项目(BK2011009); 国家海洋局可再生能源专项(GHME2011SW01)

作者简介: 崔静(1984-), 女, 山东东营人, 硕士研究生, 主要研究微藻生物技术, E-mail: cuijing1512@163.com; 刘建国, 通信作者, 研究员, 博士生导师, E-mail: jgliu@qdio.ac.cn

为此,我们在前期产油藻株筛选工作基础上,选取生长快、油脂含量>30%的5株富油微藻(2株金藻和3株绿藻)。利用叶绿素荧光技术,通过测定弱光与强光驯化后微藻的快速光曲线,比较金藻和绿藻的耐光适应能力,预测微藻的光合机构对光强变化的环境响应,从而快速地比较不同藻株之间的耐光适应能力。目的为微藻生物能源开发提供基础理论指导并筛选可规模化室外培养的良种。

## 1 材料与方 法

### 1.1 藻种及培养条件

实验选用的5株富油微藻,其中2株金藻分别为金藻(*Isochrysis* sp.)、球等鞭金藻(*Isochrysis galbana* Parke),3株绿藻分别为微拟球藻(*Nannochloropsis* sp.)、东营小球藻(*Chlorella* sp.)和小球藻(*Chlorella capsulata* Guillard),藻种具体信息如表1所示。上述5株富油微藻藻种均来自于中国科学院海洋研究所生物技术中心种质库。培养微藻的培养基选用Guillard和Hargraves的L<sub>1</sub>海水培养基<sup>[16]</sup>,培养温度(25±1)°C,培养光照强度为20 μmol/(m<sup>2</sup>·s),光照周期(L:D)为14h:10h,微藻采用静止培养,培养期间每天手摇数次。

表1 耐光性实验选取的5株微藻的油脂及色素的含量  
Fig. 1 The oil and pigment content of microalgae selected for light-tolerant experiment

藻种名称	总脂含量 (%)	叶绿素 (mg/L)	类胡萝卜素 (mg/L)
微拟球藻	36	4.07	0.128
小球藻	30	2.40	0.545
小球藻	32	5.32	0.225
球等鞭金藻	36	3.66	1.07
等鞭金藻	42	3.49	0.943

### 1.2 总脂含量的测定

采用氯仿-甲醇浸提,干重法测总脂含量,参照文献<sup>[17]</sup>。

### 1.3 细胞色素含量的测定

叶绿素和类胡萝卜含量的测定方法,参见文献<sup>[18]</sup>。

### 1.4 强弱光驯化处理

待微藻生长至对数期,按照无菌操作要求,离心去除旧培养液,然后重新悬浮于新鲜的培养基中。培养在100 mL三角瓶内进行,每瓶含60 mL培养液,

初始细胞密度调整为10<sup>6</sup>个/mL,共30瓶。15瓶1组,分别置于弱光20 μmol/(m<sup>2</sup>·s)、强光150 μmol/(m<sup>2</sup>·s)下驯化,光照强度由光量子探头(Hansatech,英国)测定。驯化5 d后,设置光强梯度测定叶绿素荧光快速光曲线。

### 1.5 叶绿素荧光的测定

叶绿素荧光采用便携式植物效率分析仪(Handy PEA, Hansatech, 英国)测量,激发波长为650 nm,由高亮度红光LED聚焦阵列光源提供。饱和脉冲强度为3 000 μmol/(m<sup>2</sup>·s),检测器为快速响应光敏二极管。光强度梯度共14个,经校正后依次为10、20、30、50、100、150、200、300、500、700、1 000、1 300、1 600、2 000 μmol/(m<sup>2</sup>·s)。叶绿素荧光测定按照设置程序自动完成<sup>[19]</sup>,光照先从低光开始依次提升光照强度,在每一光照强度(PAR)强度照射10 s后,立即打开饱和脉冲光测定光系统II有效量子产量( $\Phi_{PSII}$ ),饱和脉冲光0.8 s。

在任一光照强度下,打开饱和脉冲前的荧光为 $F_s$ ,打开饱和脉冲得到的最大荧光为 $F'_m$ ,可变荧光 $\Delta F = F'_m - F_s$ ,得出光适应状态下光系统II的有效量子产量<sup>[20]</sup>:  $\Phi_{PSII} = \Delta F / F_m = (F'_m - F_s) / F'_m$ ;根据 $\Phi_{PSII}$ 和PAR可以计算出相对电子传递速率<sup>[20-21]</sup>:  $rETR = \Phi_{PSII} \times PAR \times 0.5 \times 0.84$ 。其中0.5代表一个光系统只能利用色素吸收PAR的50%,是假设吸收的光能被两个光系统均分得到的系数。0.84是吸光系数,表示入射PAR的84%可以被吸收。0.84是高等植物的吸光系数,由于微藻的吸光系数目前尚未确定,因此在计算相对电子传递速率时暂借高等植物的吸光系数。

### 1.6 RLC曲线拟合

用Platt等<sup>[22]</sup>的公式 $P = rETR_m \cdot (1 - e(-\alpha \cdot PAR / rETR_m)) \cdot e(-\beta \cdot PAR / rETR_m)$ 拟合曲线,其中 $rETR_m$ 代表无光抑制时的最大潜在相对电子传递速率, $\alpha$ 是RLC的初始斜率, $\beta$ 为RLC在强光下下降部分的斜率。半饱和光强 $I_k = rETR_m / \alpha$ 。用Sigma Plot10.0软件进行RLC曲线拟合及绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 强光和弱光驯化后富油微藻的光系统II有效量子产量( $\Phi_{PSII}$ )

强弱光适应后,5株富油微藻的 $\Phi_{PSII}$ 随PAR升高的变化趋势如图1。可以看出:弱光驯化下,5株富油微藻 $\Phi_{PSII}$ 均随PAR的增强呈现明显下降趋势,其

中金藻  $\Phi_{PSII}$  的下降速率最慢, 球等鞭金藻次之, 3 株绿藻  $\Phi_{PSII}$  下降速率快于 2 株金藻, 以小球藻  $\Phi_{PSII}$  下降的速率最快; 同样, 在强光驯化后, 2 株金藻的  $\Phi_{PSII}$  的下降速率小于 3 株实验绿藻。

为弄清上述富油微藻  $\Phi_{PSII}$  随 PAR 升高而迅速

下降的原因, 我们进一步分析了 5 株富油微藻在弱光与强光驯化后的荧光强度  $F_s$  与  $F'_m$  的变化(图 2)。从中可以看出,  $\Phi_{PSII}$  的下降主要是由 PAR 升高引起  $F'_m$  与  $F_s$  趋于靠近, 使  $\Delta F$  下降( $\Delta F = F'_m - F_s$ ) 所导致。

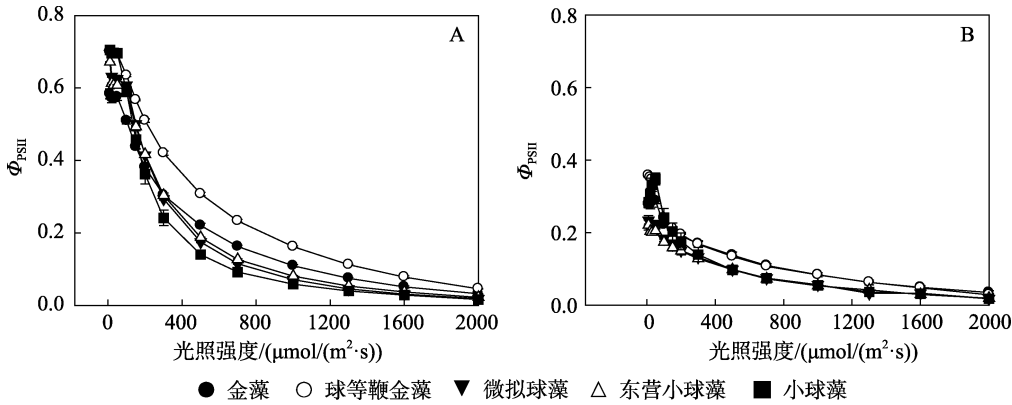


图 1 弱光(A)与强光(B)驯化后 5 株富油微藻 PSII 有效量子产量变化趋势

Fig. 1 Changes of quantum yield of five oleaginous microalgae under low light (A) and high light (B)

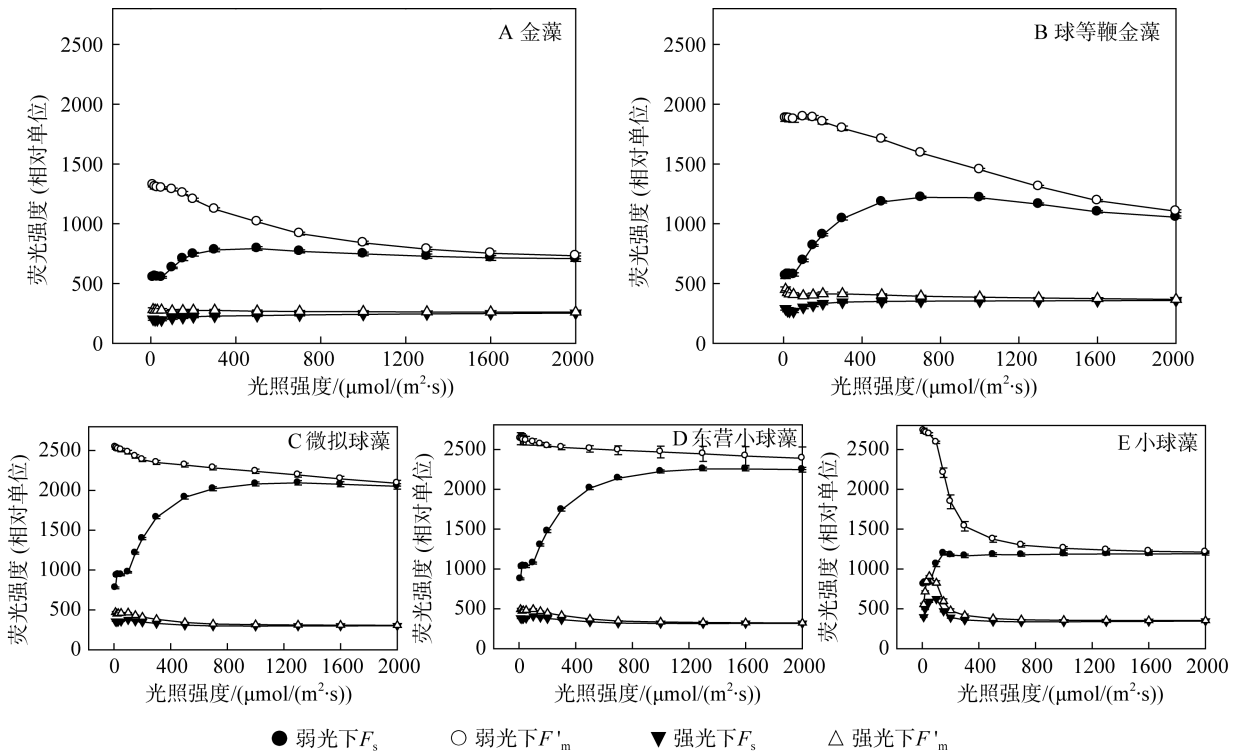


图 2 弱光与强光驯化后微藻荧光强度的变化

Fig. 2 Changes of chlorophyll a fluorescence of five oleaginous microalgae acclimated under high light or low light conditions for 5 days

从图 2 可以看出: 在弱光驯化后, 球等鞭金藻和金藻的  $F'_m$  随着 PAR 的升高分别下降了 41.3%和 44.72%, 同期  $F_s$  却分别上升了 86.8%和 28.2%。同时,

弱光驯化后, 微拟球藻、东营小球藻及小球藻的  $F'_m$  随着 PAR 的升高分别下降了 17.78%, 9.36%和 32.3%, 而  $F_s$  升幅则分别达到 164%, 157%和 70.1%。因此, 绿

藻  $\Phi_{PSII}$  的快速下降主要是由于  $F_s$  的快速上升造成的。强光驯化后, 5 株富油微藻的  $F_s$  及  $F'_m$  均显著低于弱光驯化组, 且下降的幅度均小于弱光驯化后。强光驯化后, 小球藻  $\Phi_{PSII}$  在 PAR 低于  $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  时, 随 PAR 的升高呈现升高, 当 PAR 强度超过  $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  时, 才随 PAR 的升高而降低(图 2E), 这种现象类似于存在于蓝藻的“状态转换”<sup>[24]</sup>, 该现象在而其他 4 株富油藻株中均不明显, 其原因尚不明确。

## 2.2 强、弱光驯化后富油微藻的快速光曲线(RLC)

强光和弱光驯化后, 5 株富油微藻相对电子传递

速率( $rETR$ )均随 PAR 的增加呈现先上升后下降的趋势, 但是每株富油微藻在低光区间的曲线的上升斜率( $\alpha$ )、最大相对电子传递速率( $rETR_m$ )以及强光区间的下降斜率( $\beta$ )存在差异。同时, 无论强光还是弱光驯化后的富油微藻  $rETR$  达到最大时的光照强度也存在明显差异(图 3)。

弱光驯化后, 微拟球藻、东营小球藻和小球藻在光强超过  $400 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  时, 其电子传递速率  $rETR$  明显下降; 而金藻和球等鞭金藻在光强超过  $700 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$

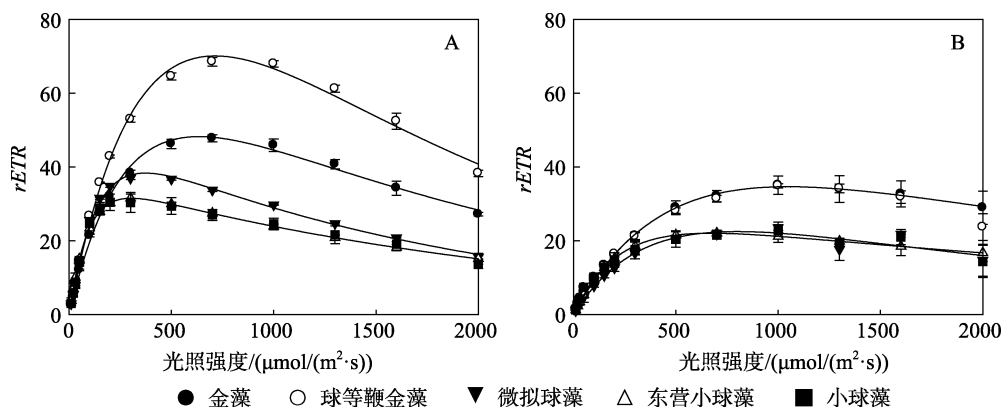
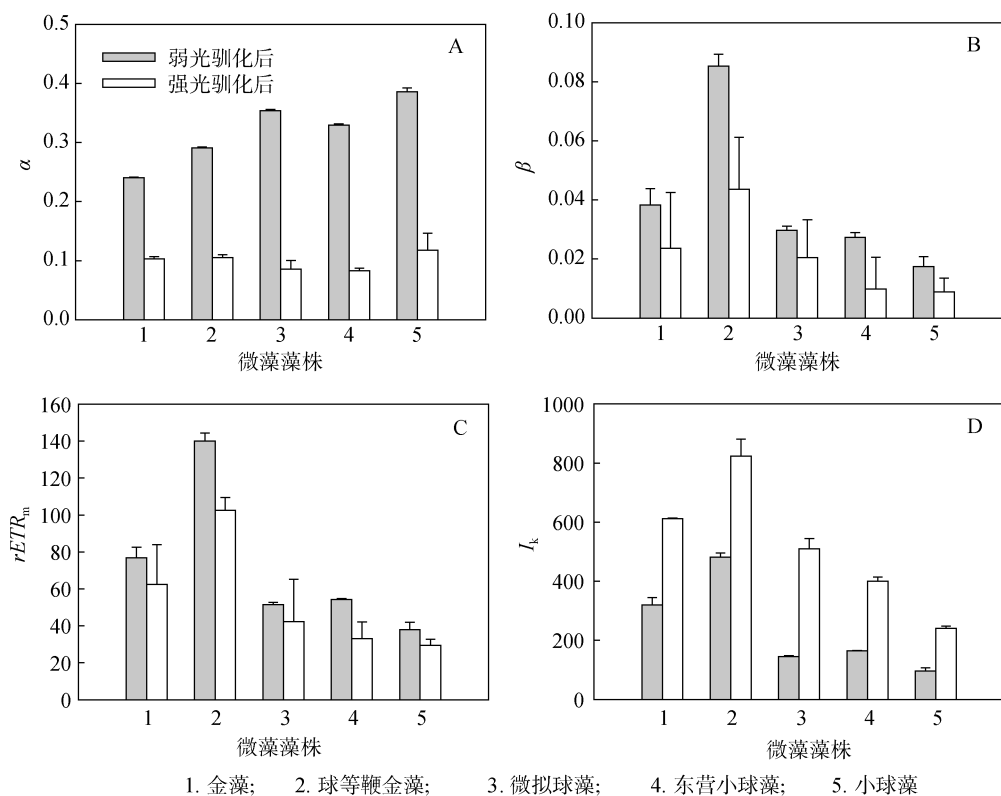


图 3 富油微藻在弱光(A)与强光(B)驯化后相对电子传递速率的变化曲线

Fig. 3 Rapid light curves of five oleaginous microalgae after acclimated under low and high light for five days



1. 金藻; 2. 球等鞭金藻; 3. 微拟球藻; 4. 东营小球藻; 5. 小球藻

图 4 快速光曲线的拟合参数

Fig. 4 Fitted parameters of Rapid Light Curves of five oleaginous microalgae

时, 其  $rETR$  才出现下降趋势(图 3A)。同时, 弱光驯化适应后, 小球藻、微拟球藻及东营小球藻的  $\alpha$  均显著高于球等鞭金藻与金藻(图 4A), 说明低光条件下绿藻(小球藻、微拟球藻和东营小球藻)的捕光能力较强, 可以更好地在低光下进行光合作用。造成该现象这可能与三株绿藻中叶绿素的含量高有关<sup>[25]</sup>(表 1), 这与韩志国等的研究结果一致<sup>[26]</sup>。但是随着光强增大, 3 株绿藻的  $\beta$  均显著低于 2 株金藻(图 4B)。

强光驯化后, 2 株金藻的  $rETR$  在 1 000~1 200  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  时达到最大; 而 3 株绿藻的  $rETR$  在 700~1 000  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  时就达到最大(图 3B)。与弱光驯化后相比, 强光驯化后微藻的  $rETR$  达到最大值时的光照强度有了大幅度提升(图 3), 而强光驯化后微藻的  $rETR_m$  值均明显下降(图 3), 下降幅度在不同藻株之间存在不同, 可从 41.5% 至 71.4% 不等。

与弱光驯化后相比, 强光驯化各藻株的  $\alpha$  均显著下降, 其中金藻下降幅度最小, 下降了 57.1%, 其次是球等鞭金藻和小球藻, 分别下降了 65% 和 70%, 东营小球藻下降了 74.8%, 微拟球藻下降的幅度最大, 达 75.8%(图 4A)。而各微藻的  $I_K$  在强光驯化后都明显上升(图 4D)。尽管强光驯化后 3 株绿藻的  $I_K$  都有大幅度上升, 但由于在弱光驯化后其  $I_K$  绝对值较低, 因此球等鞭金藻在强光驯化后的  $I_K$  依然最高, 金藻半饱和光强次之, 2 株金藻的  $I_K$  比绿藻的要高, 在 3 株绿藻中, 又以小球藻在强光驯化后的  $I_K$  最低(图 4D)。

### 3 讨论

微藻能源产业化的首要条件是获得性状优良藻种。优良藻种不仅具有生长速率快、油脂含量高的特性, 而且还要具有抗逆性强及易于室外规模化培养等特点<sup>[27]</sup>。光是影响微藻户外生长最重要的因子之一。在适光范围内, 光合作用随光强增强而加速, 而超过饱和光强后光合作用减弱甚至发生光抑制<sup>[28]</sup>。因此有必要了解富油微藻的耐光性能, 以期获得微藻生长的最佳光照强度, 建立快速筛选适应于不同季节及地域生长的优良产油藻株的方法。叶绿素荧光及快速光曲线(RLC)对环境光强变化响应迅速, 与叶黄素循环、状态转换及光系统 II 的电子传递有高度的相关性, 可以准确的反映水生植物对强光的适应能力<sup>[29]</sup>。

强弱光适应后, 5 株富油微藻  $\Phi_{PSII}$  均随 PAR 的增强而下降。无论强光还是弱光适应后, 在相同的光强度条件下, 球等鞭金藻和金藻的  $\Phi_{PSII}$  普遍高于绿藻, 说明本实验中金藻的光利用效率高于绿藻。 $\Phi_{PSII}$  随着 PAR 的增强而下降主要是由  $F_s$  的升高和  $F'_m$  下降所致(图 2)。在弱光驯化后, 两株金藻的  $F'_m$  随 PAR 的升高而下降的程度高于三株绿藻, 表明金藻在强光下有更多的能量通过非光化学淬灭耗散<sup>[23]</sup>, 从而减轻了光抑制, 提高了藻株耐受高光强的能力。同时, 三株绿藻  $F_s$  的升幅则远远大于两株金藻, 这也表明绿藻在强光下有更多的反应中心关闭, 同时也可以解释为什么微拟球藻及东营小球藻的光能利用效率较低。强光驯化后, 5 株富油微藻的  $F_s$  及  $F'_m$  均显著低于弱光驯化组, 且下降的幅度均小于弱光驯化后, 表明强光驯化提高了所有微藻的光强耐受能力。

从快速光曲线(图 3A)中可以看出, 弱光驯化后, 3 株绿藻在光强超过 400  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  时  $rETR$  就开始明显下降; 而 2 株金藻在光强超过 700  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  时  $rETR$  才开始下降, 表明弱光驯化适应后, 金藻的耐强光能力普遍大于绿藻。而此时三株绿藻的  $\alpha$  显著高于两株金藻(图 4A)。Myers 等<sup>[30]</sup>认为初始斜率  $\alpha$  由叶绿素的吸收截面积和最大光量子产量决定。三株绿藻的  $\alpha$  高, 但是量子产量低, 说明其吸收截面积大。正是由于绿藻吸收截面积大, 所以光合效率可以很快达到饱和, 从而导致  $rETR_m$  及  $I_K$  显著地低于金藻(图 4)。但是 3 株绿藻的  $\beta$  均显著低于 2 株金藻(图 4B), 表明金藻比绿藻具有更强的强光适应性。强光驯化后, 2 株金藻在 1 000~1 200  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  时  $rETR$  最大, 而 3 株绿藻在 700~1 000  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$  时  $rETR$  就达到最大, 这进一步表明金藻较绿藻具有更强的耐光适应性。

另外, 与弱光驯化后藻株的 RLC 曲线相比, 强光驯化后藻株  $rETR$  达到最大值时的光照强度有了大幅度提升(图 3), 说明强光驯化明显有利于提高富油微藻的耐强光适应性能。强光驯化后, 对比五株富油微藻在弱光和强光驯化后的  $\alpha$ (图 4A), 可以发现弱光驯化后藻株的  $\alpha$  均显著高于强光驯化藻株, 这表明弱光驯化可提高藻株光能捕获率, 该结果与韩志国在研究蛋白核小球藻光驯化的快速光曲线变化时的结果类似<sup>[28]</sup>。强光驯化后金藻的半饱和光强  $I_K$  为 600~800  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ , 明显高于弱光驯化后藻株的

$I_k$ (图 4)。但是在我们前期实际中发现,于上述光强下培养的藻体会出现光漂白现象,尤其是初始培养藻细胞密度较低时,这可能是由于高光强会导致叶绿素被分解所造成<sup>[29]</sup>。因此,在培养初期,要适当地控制光强,待细胞生长到一定的密度时,再提高光照的强度。

我们发现,金藻的类胡萝卜素的含量远远高于绿藻中类胡萝卜素的含量(表 1)。刘建国等<sup>[31]</sup>研究发现强光照射下,胞内积累大量的  $\beta$ -胡萝卜素的盐藻能生存下来,而累积量少的盐藻容易死亡。Ben-amotz 提出细胞内胡萝卜素累积于脂质小滴中形成一层紫外线屏障,可有效地避免紫外线对藻细胞的杀伤作用<sup>[32]</sup>。因此推测金藻较绿藻有更强的光耐受性及适应性,可能得益于其细胞内丰富的类胡萝卜素等保护性色素。Hagen 等<sup>[33]</sup>发现,红球藻中次生类胡萝卜素的积累对杯状载色体有遮光作用,避免其免受光漂白,使红球藻具有更高的耐高光照能力。

光对微藻的生长是必不可少的,但是强光也会造成光损伤,严重时可导致光漂白甚至藻体死亡。绿藻较强的光吸收能力在弱光下是比较有利的,但是在高光强条件下,就会发生光抑制而不利于生长。在户外培养中,微藻处于昼夜交替等剧烈的光强变化中,需要选择对光强变化适应能力强的藻株。两株金藻在一系列光照强度下,与 3 株绿藻相比表现出较强的强光耐受性及适应性,更适应于户外培养中不断变化的光照条件。因此可以利用含油量高,生长速率快,光强耐受性高的金藻用于生物柴油的生产。同时本实验证明叶绿素荧光及快速光曲线(RLC)可以快速准确的反映水生植物对强光的适应能力,是快速筛选适应性强的产油藻株、优化微藻生长光照强度的好方法。

#### 参考文献:

- [1] Rodolfi L, Chini Zittelli G, Bassi N, et al. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2009, 102: 100-112.
- [2] Yusuf Chisti. Biodiesel from microalgae[J]. *Biotechnology Advances*, 2007, 25: 294-306.
- [3] Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E, et al. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances[J]. *The Plant Journal*, 2008, 54: 621-639.
- [4] Schenk P M, Thomas-Hall S R, Stephens E, et al. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production[J]. *Bioenergy Research*, 2008, 1: 20-43.
- [5] Sheehan J, Dunahay T, Benemann J, et al. A look back at the US department of energy's aquatic species program: biodiesel from algae[M]. US: National Renewable Energy Laboratory, 1998, 1-64.
- [6] Roger H, Rocky de N, Kirsten H. Growth, lipid content, productivity, and fatty acid composition of tropical microalgae for scale-up production[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2010, 107(2): 245-257.
- [7] 蒋霞敏, 郑亦周. 14 种微藻总脂含量和脂肪酸组成研究[J]. *水生生物学报*, 2003, 27(3): 243-247.
- [8] 丁彦聪, 高群, 刘家尧, 等. 环境因子对小球藻生长影响及高产油培养条件的优化[J]. *生态学报*, 2011, 31(18): 5307-5315.
- [9] 刘倩, 何梅琳, 李凌, 等. 一种能源微藻微小卵胞藻的筛选和优化培养[J]. *海洋科学*, 2011, 35(1): 29-34.
- [10] 张齐, 郑洪立, 唐小红, 等. 基于模糊综合评价的产生物柴油微藻藻种筛选[J]. *中国生物工程杂志*, 2010, 30(5): 69-75.
- [11] Kate M, Giles N. Chlorophyll fluorescence-a practical guide[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(345): 659-668.
- [12] Pooja M, Anjana J, Mathur S, et al. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves[J]. *Plant physiology and biochemistry*, 2010, 48: 16-20.
- [13] Belkhdja R, Mrales F, Abadia A, et al. Chlorophyll fluorescence as a possible tool for salinity tolerance screening in barley (*Hordeum vulgare* L)[J]. *Plant Physiology*, 1994, 104: 667-673.
- [14] Ralph P J, Gademann R. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity[J]. *Aquatic Botany*, 2005, 82: 222-237.
- [15] White A J, Critchley C. Rapid light curves: a new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus. *Photosynthesis Research* 1999, 59: 63-72.
- [16] Guillard R R L, Hargraves P E. *Stichochrysis immobilis*

- ilisis a diatom, not a chrysophyte[J]. *Phycologia*, 1993, 32: 234-236.
- [17] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification[J]. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 1959, 37: 911-917.
- [18] Sükran D, Tohit G, Rıdvan S. Spectrophotometric Determination of Chlorophyll-A, B and Total Carotenoid Contents of Some Algae Species Using Different Solvents[J]. *Turkish Journal of Botany*, 1998, 22: 13-17.
- [19] Genty B, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quenching of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1989, 990: 87-92.
- [20] Schreiber U. Pulse amplitude modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: An overview [C]//Papar georgiou G C, Govindjee. *Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2004.
- [21] Bjrkmán O, Demmig B. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chloroplast fluorescence characteristics at 77 K in nonvascular plants of diverse origins[J]. *Planta*, 1987, 170: 489-504.
- [22] Platt T, Gallegos C L, Harrison W G. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton[J]. *Marine Research*, 1980, 38: 687-701.
- [23] 郭峰, 曲妍妍, 信长鹏, 等. 弱光下生长的高产小麦品系 PH01-35 旗叶光合机构对不同光强的响应[J]. *作物学报*, 2009, 35(1): 179-184.
- [24] Schreiber U, Gademann R, Ralph P J, et al. Assessment of photosynthetic performance of *Prochloron* in *Lissoclinum patella* in hospite by chlorophyll fluorescence measurements[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1997, 38: 945-951.
- [25] MacIntyre H I, Kana T M, Anning T, et al. Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria [J]. *Journal of Phycology*, 2002, 38: 17-38.
- [26] 韩志国, 欧阳昊, 林娴, 等. 蛋白核小球藻光驯化的快速光曲线变化[J]. *生态科学*, 2006, 25(1): 32-33.
- [27] 黄英明, 王伟良, 李元广, 等. 微藻能源技术开发和产业化的发展思路与策略[J]. *生物工程学报*, 2010, 26(7): 907-913.
- [28] 李文权, 黄贤芒, 陈清花, 等. 4种海洋单胞藻生化组成的环境因子效应研究[J]. *海洋学报*, 1999, 21(3): 59-65.
- [29] White A J, Critchley C. Rapid light curves: A new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus[J]. *Photosynthesis Research*, 1999, 59: 63-72.
- [30] Myers J, Graham J R. The photosynthetic unit in *Chlorella* measured by repetitive short flashes[J]. *Plant Physiology*, 1971, 48: 282-286.
- [31] 刘建国, 吴超元. *植物抗逆生理研究*[M]. 济南: 山东出版社, 1992: 247-251.
- [32] Ben-Amotz A, Iers A, Avorn M. The wavelength dependent of massive carotene synthesis in *Dunaliella bardwili* (Chlorophyceae)[J]. *Journal of Phycology*, 1989, 25: 175-178.
- [33] Hagen C, Grunewald k, Schmidt S, et al. Accumulation of secondary carotenoids in flagellates of *Haevoautococcus Pluvialis* (Chlorophyta) is accompanied by an increase in Per unit chlorophyll Productivity of photosynthesis[J]. *European Journal of Phycology*, 2000, 35: 75-82.

# Comparison of the light adaptability among oil enriched chrysophyte and green algae

CUI Jing<sup>1, 3</sup>, ZHANG Li-tao<sup>1, 2</sup>, LIU Jian-guo<sup>1, 2</sup>, LI Ling<sup>1</sup>, HE Mei-lin<sup>1, 3</sup>, LIN-Wei<sup>1, 2</sup>

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of sciences, Qingdao 266071, PR. China; 2. Nantong, Institute of Oceanology, Chinese Academy of sciences, Nantong 226004; 3. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Received:** Feb., 4, 2013

**Key words:** Rapid light curve; chlorophyll fluorescence; oil-riched microalgae; light-tolerance

**Abstract:** In this paper, we compared the light tolerance of five oil-riched stains, including two strains of chrysophyte (*Isocrysis galbana* Parke and *Isochrysis* sp) and three strains of green algae (*Nannochloropsis* sp., *Chlorella* sp., and *Chlorella capsulata* Guillard). Changes of rapid light curves of the five strains under high-light and low-light acclimated for five days were analyzed using chlorophyll fluoremeter to assess the light-tolerant ability of microalgae. The results showed that after acclimated by low light, the effective quantum yield of PSII ( $\Phi_{PSII}$ ) decreased as the photosynthetically active radiation (PAR) elevated. The decrease rate of *Isocrysis galbana* Parke in quantum yield is the slowest, while *Chlorella* sp. has the fastest one. Both the maximum of relative electron transport rate ( $rETR$ ) and semi-saturating irradiance ( $I_K$ ) of *Isocrysis galbana* Parke and *Isochrysis* sp. were higher than *Nannochloropsis* sp., *Chlorella* sp. and *Chlorella capsulata* Guillard. However, the initial slope of rapid light curves ( $\alpha$ ) of the two strains of chrysophyte was lower than that of the three green algae. After acclimated by high light, the  $\Phi_{PSII}$  and  $\alpha$  decreased with the increase of the PAR. The two chrysophyte strains decreased slower than the three green algae. The decline slope of rapid light curves ( $\beta$ ) decreased after high-light acclimation in all strains. *Isocrysis galbana* Parke showed the most significant decrease. Based on the data above, we concluded that green algae possessed better light capture ability, but the ability of light utilization and dissipation was weak. After high-light acclimation, *Isocrysis galbana* Parke and *Isochrysis* sp. showed better applicability than other three green algae. Therefore, the two chrysophyte strains may be considered as high-light tolerant candidates for mass production.

(本文编辑: 康亦兼)