



氮源对杜氏盐藻生长及光合系统Ⅱ的影响

杨宋琪,王丽娟,谢婷,罗光宏,祖廷勋*

(河西学院,甘肃省微藻工程技术研究中心,甘肃省河西走廊特色资源利用重点实验室,甘肃张掖 734000)

摘要:以 NaNO_3 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 、 NaNO_2 、 NH_4Cl 作为氮源,并设无氮处理,研究杜氏盐藻(*Dunaliella salina*)生长及其PSⅡ对不同氮源的响应特征,以明确杜氏盐藻对不同氮源的利用情况,为盐藻培养基的优化和营养盐的筛选提供理论依据。结果表明:(1)杜氏盐藻在 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 环境中具更高的比增长速率 $[\mu_{\max}, (0.482 \pm 0.032)/\text{d}]$ 。(2) NaNO_2 、 NaNO_3 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 作氮源时,杜氏盐藻快速光响应曲线的初始斜率(α)、最大光量子产率(F_v/F_m)及反应活性中心所捕获的光能(ABS/RC)、反应活性中心捕获的激发能用于还原 Q_A 的能量(TR_0/RC)、最大光化学效率(φ_{P_0})、 $t=0$ 时捕获的激子将电子传递到电子传递链中超过 Q_A 的其他电子受体的概率(ψ_0)和 $t=0$ 时用于电子传递的量子产额(φ_{E_0})在处理间均差异不显著($P>0.05$),但三者与无氮和 NH_4Cl 处理组相比均具有显著差异。(3)与 NaNO_2 、 NaNO_3 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 处理组相比,无氮环境使得盐藻相对可变荧光(V_i)显著升高,盐藻光合电子从 Q_A^- 到 Q_B 的传递受阻,导致 Q_A^- 大量积累;而 NH_4Cl 做氮源时,杜氏盐藻叶绿素荧光动力学曲线的K相出现,使得其PSⅡ放氧复合体(OEC)受损。研究认为,杜氏盐藻在 NaNO_3 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 、 NaNO_2 作为唯一氮源时均可良好生长,并在 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 环境中生长得更快;缺氮胁迫使得盐藻生长受到显著抑制,PSⅡ反应活性中心的数量降低,电子传递受阻;而 NH_4Cl 对杜氏盐藻的毒性效应使得其PSⅡ放氧复合体(OEC)受损,藻体在短期内开始死亡。

关键词:杜氏盐藻;氮源;光系统Ⅱ;叶绿素荧光

中图分类号:Q945.11; Q945.79

文献标志码:A

Effect of Nitrogen on Growth and Photosystem II of *Dunaliella salina*

YANG Songqi, WANG Lijuan, XIE Ting, LUO Guanghong, ZU Tingxun*

(Hexi University, Gansu Engineering Technology Research Center for Microalgae, Key Laboratory of Hexi Corridor Resources Utilization of Gansu, Zhangye, Gansu 734000, China)

Abstract: In order to investigate the response of growth and PSⅡ of *Dunaliella salina* to different nitrogen sources, we performed experiments by using NaNO_3 , $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, NaNO_2 , and NH_4Cl as nitrogen sources and -N control was set in this study. Our results showed that: (1) *D. salina* grew faster under $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ with a maximum growth rate $[\mu_{\max}, (0.482 \pm 0.032)/\text{d}]$ per day than under other nitrogen sources. (2) Results of chlorophyll fluorescence indicated no significantly different in the initial slope of the RLC before the onset of saturation (α), the maximum potential ETR (rETR_{max}), the maximum photochemistry efficiency (F_v/F_m), the maximum quantum yield of primary photochemistry (φ_{P_0}), quantum yield for electron transport (φ_{E_0}), probability($t=0$) that a trapped exit on moves an electron into the electron transport chain beyond Q_A^- (ψ_0), absorption flux per RC (ABS/RC) and trapped energy flux per RC ($t=0$) (TR_0/RC) among NaNO_3 , $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, and NaNO_2 groups ($P>0.05$), while there is significantly

收稿日期:2017-02-27;修改稿收到日期:2017-05-15

基金项目:甘肃省科技支撑计划-社会发展类项目(1604FKC090);河西学院青年基金(QN2015-03)

作者简介:杨宋琪(1988—),男,硕士,助教,主要从事藻类生理生态学方面研究。E-mail:sqyang@hxu.edu.cn

*通信作者:祖廷勋,硕士,教授,主要从事微藻资源开发与利用研究。E-mail:zutingxun@163.com

different in these parameters when compared with NH_4Cl and -N controls ($P < 0.05$). (3) Compared with the NaNO_2 , NaNO_3 , and $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ groups, the relative variable fluorescence (V_j) of *D. salina* increased significantly under nitrogen free treatment ($P < 0.05$), which suggesting restriction of photosynthetic electron transport of *D. salina* from Q_A^- to Q_B and accumulation of Q_A^- . However, we can infer destroy of the oxygen evolving complex (OEC) of *D. salina* by the NH_4Cl from the appearance of K phase under NH_4Cl . As a whole, these results showed that *D. salina* grew much faster under $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ than that under NaNO_3 and NaNO_2 , whereas the growth of *D. salina* was inhibited significantly by nitrogen deficiency, and the number of reactive centers in PS II was decreased, and the electron transport was blocked. However, toxicity effect of NH_4Cl on *D. salina* caused its death in a short time and the OEC of *D. salina* was damaged.

Key words: *Dunaliella salina*; nitrogen sources; photosystem II; chlorophyll fluorescence

氮是蛋白质和叶绿素等物质的重要组成部分,对植物光合速率、暗反应主要酶以及光呼吸等都有显著影响^[1]。当藻细胞受到氮限制时,其光合作用中光能的捕获、能量的转移、碳固定等过程均会受到限制^[2-3]。自然界中,藻类能够利用的氮源主要包括硝酸盐、亚硝酸盐、铵盐、尿素、氨基酸等,其中,硝酸盐和铵盐是藻类生长繁殖的主要氮源^[4]。在海洋环境中,氮源常缺乏而成为藻类生长的主要限制因子。除部分具有固氮能力的蓝藻外,其他所有藻类必须从外界环境中摄取氮素以满足自身的需要,且不同藻种对氮源形态和浓度的需求不同^[5]。

杜氏盐藻(*Dunaliella salina*)隶属于绿藻门盐藻科盐藻属,是一种不具细胞壁的嗜盐单细胞绿藻。迄今所知,盐藻是植物界中 β -类胡萝卜素含量最高的植物,可达干重的14%,同时又含有丰富的蛋白质和甘油,因此,盐藻具有良好的经济价值而倍受关注^[6]。目前,更多研究主要着眼于氮浓度对盐藻生长和 β -类胡萝卜素积累的影响方面,Uriarte指出盐藻生长与氮浓度呈正相关^[7],且10 mmol/L的 NO_3^- 环境中其生长最优^[8],同时氮限制又是盐藻积累 β -类胡萝卜素的必要条件之一^[9]。目前,关于不同氮源对杜氏盐藻PS II影响的研究尚未见报道。因此,本研究通过探究不同氮源对杜氏盐藻生长和光合作用机制影响,揭示杜氏盐藻对不同氮源的利用情况,为盐藻培养基的优化和营养盐的筛选提供理论支持。

1 材料和方法

1.1 藻种培养

实验所用藻种杜氏盐藻(*Dunaliella salina*)由天津开发区天光高科技开发有限公司提供。将藻种置于杜氏盐藻培养基中培养,培养条件为:pH 7.5,温度(25±1)℃,光照强度80 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光暗比12 h:12 h,培养期间每天定时摇动藻液3次。

1.2 实验处理

以杜氏盐藻培养基氮含量为基准(氮为5 mmol/L),分别以 NaNO_3 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 、 NaNO_2 、 NH_4Cl 等4种不同形态的氮为唯一氮源,并设置无氮处理,各处理设置3个重复。将对数期藻液进行离心、洗涤,并转接至无氮培养基中饥饿培养3 d。然后将饥饿的藻细胞分别接入含有不同氮源的300 mL杜氏盐藻培养基中,初始藻密度为 1.1×10^5 cells/mL,每隔24 h取样进行藻密度和叶绿素荧光参数的测定。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 藻密度 每个处理各取3 mL藻液加100 μL 鲁哥固定,运用浮游生物计数框于奥林巴斯CX-41显微镜下计数50~100个视野,计算藻密度。

比生长速率(μ)计算公式为:

$$\mu = \frac{\ln(x_2/x_1)}{(t_2 - t_1)}$$

$$\mu_{\max} = \max(\mu_1, \mu_2, \mu_3, \dots, \mu_n)$$

式中: μ 表示杜氏盐藻在某一时间段内的比生长速率, μ_{\max} 表示最大比生长速率, x_2 表示 t_2 时间的藻类现存量, x_1 表示 t_1 时间的藻类现存量。

1.3.2 快速光响应曲线 待培养的藻种进入对数期后,利用PHYTO-PAM荧光仪(PhytoPAM Phytoplankton Analyzer 德国 Walz公司)测定盐藻快速光响应曲线,测定参数包括光响应曲线的起始斜率 α 、最大光量子产率(F_v/F_m)、最大PS II表观电子传递速率(ETR_{\max})、非光化学淬灭(NPQ)。测定前将藻液暗适应20 min,然后分别在1、32、64、128、192、320、448、576、960、1 472和1 856 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光强下测定其光响应曲线。相对电子传递速率通过下列方程计算获得^[10]:

$$rETR = ETR_{\max} \times (1 - e^{-\alpha PAR / ETR_{\max}}) \times e^{\beta PAR / ETR_{\max}}$$

式中: α 为光响应曲线的起始斜率, β 为光曲线下降时的斜率(光抑制参数), ETR_{\max} 为最大PS II

表观电子传递速率,PAR为光照强度。

1.3.3 叶绿素荧光动力学曲线(OJIP)及JIP-test

参数 取对数期藻液2.3 mL暗适应20 min后,采用植物效率分析仪(英国汉莎科技有限公司)测定OJIP曲线及荧光参数,测定光强为 $3\text{000 }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,最大激发波长650 nm,记录10 μs 到2 s叶绿素荧光的变化过程,从而准确记录O-J-I-P等相^[10]。根据Strasser等^[11]建立的高度简化的能量流动理论模型(图1),分析杜氏盐藻PSⅡ单位反应中心能量流动比活性能参数(ABS/RC 、 TR_0/RC 和 ET_0/RC)和能量分配比参数(φ_{P0} 、 ψ_0 和 φ_{E0}),各参数意义见表1^[12]。

1.4 数据统计

实验数据用SPSS 13.0进行单因素方差分析(One Way ANOVA),并用LSD法进行多重比较,使用Origin 8.5软件作图。

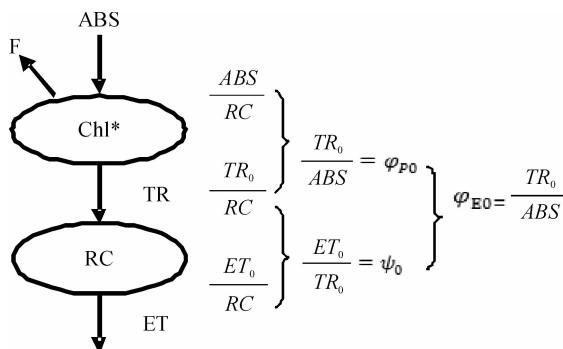


图1 光合器官中能量流动模型图^[11]

Fig. 1 A highly simplified working model of the energy fluxes of PS II^[11]

2 结果与分析

2.1 杜氏盐藻在不同氮源条件下的生长情况

图2显示,在 NaNO_2 、 NaNO_3 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 作氮源时,杜氏盐藻生长率均在培养的第3~4天时达到最大,此时最大比增长率(μ_{max})分别为0.387、0.458和0.482 d^{-1} ;同时,其细胞密度也随着培养时间推移而显著增加($P<0.05$),在培养的第8~9天时进入稳定期,此时细胞密度分别为 5.20×10^5 、 5.49×10^5 和 $5.63\times 10^5 \text{ cells/mL}$ 。在无氮和 NH_4Cl 处理组,杜氏盐藻 μ_{max} 均出现在培养的第2天,其值分别为0.228 6和0.101 d^{-1} ;同时,无氮处理组细胞密度在培养期间没有显著变化,一直维持在初期接种水平,而 NH_4Cl 处理组细胞密度在第3天时开始下降后维持在较低水平。以上结果说明添加 NaNO_2 、 NaNO_3 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 氮源有利于杜氏盐藻生长,而添加 NH_4Cl (5 mmol/L)反而显著抑制盐藻生长。

2.2 杜氏盐藻在不同氮源条件下的光响应曲线及相关参数

光响应曲线结果表明(图3),在不同氮源条件下,杜氏盐藻最大PSⅡ表观电子传递速率($r\text{ETR}_{\text{max}}$)表现为 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2 > \text{NaNO}_3 > \text{NaNO}_2 > -\text{N} > \text{NH}_4\text{Cl}$,且除 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 和 NaNO_3 两氮源处理组外,各组间 $r\text{ETR}_{\text{max}}$ 差异均达到显著水平($P<0.05$)。同时,由表2可知,杜氏盐藻快速光曲线的初始斜率(α)、最大光量子产率(F_v/F_m)和非光化学淬灭值(NPQ)在 NaNO_2 、 NaNO_3 和 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 处理组间均差异不显著($P>0.05$),但其 α 和 F_v/F_m

表1 JIP测定所用的叶绿素荧光动力学参数^[12]

Table 1 Formulae and terms used in the JIP-test in the analysis of the chlorophyll fluorescence transient^[12]

术语及公式	含义
$\varphi_{P0}=1-F_0/F_m$	最大光化学效率($t=0$) The maximum quantum yield of primary photochemistry($t=0$)
$\psi_0=1-V_J$	反应中心捕获的激子中用来推动电子传递到电子传递链中超过 Q_A 的其它电子受体的激子占用来推动 Q_A 还原激子的比率($t=0$) Probability($t=0$) that atrapped exciton moves an electron into the electron transport chain beyond Q_A^-
$\varphi_{E0}=(1-F_0/F_m)\psi_0$	用于电子传递的量子产额($t=0$) Quantum yield for electron transport($t=0$)
$\text{ABS}/\text{RC}=M_0 \cdot (1/V_J) \cdot (1/\varphi_{P0})$	单位反应中心吸收的光能 Absorption flux per RC
$\text{TR}_0/\text{RC}=M_0 \cdot (1/V_J)$	单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量($t=0$) Trapped energy flux per RC($t=0$)
$\text{ET}_0/\text{RC}=M_0 \cdot (1/V_J) \cdot \psi_0$	单位反应中心捕获的用于电子传递的能量($t=0$) Electron transport flux per RC($t=0$)

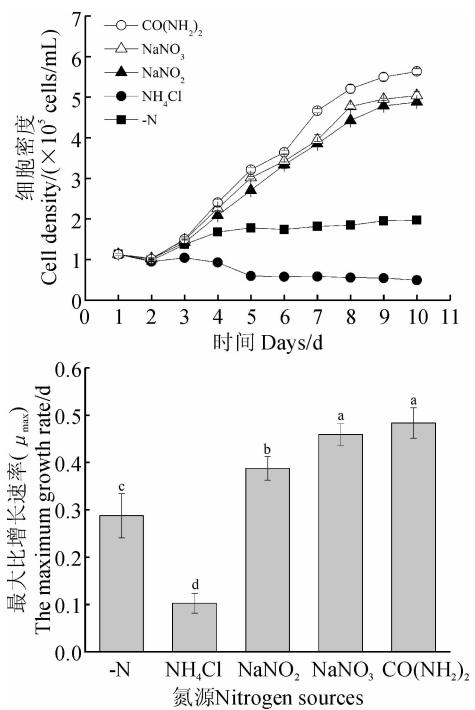


图2 杜氏盐藻在不同氮源处理中的生长曲线及最大比增长速率

Fig. 2 Effects of different phosphorus substrates on growth and the maximum specific growth rate of *Dunaliella salina*

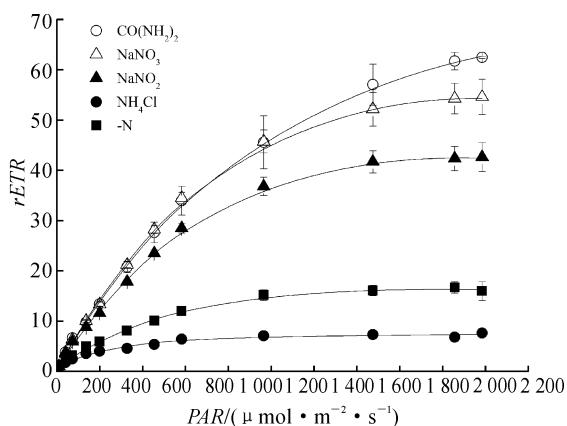


图3 杜氏盐藻在不同氮源处理条件下的光响应曲线

Fig. 3 The electron transport rates (ETR) for the treatment responses of *D. salina* in different nitrate substrates

均显著高于无氮和 NH_4Cl 处理组 ($P < 0.05$)，而其 NPQ 则反而显著低于无氮和 NH_4Cl 处理组 ($P < 0.05$)； NH_4Cl 处理组 α 、 F_v/F_m 和 NPQ 均显著低于无氮处理。以上结果说明缺氮和 NH_4Cl 处理使得杜氏盐藻受到一定的胁迫，导致其光捕获能力和光能利用效率明显降低而热耗散增加。

表2 不同氮源处理条件下杜氏盐藻光响应曲线参数

Table 2 Parameters of rapid light-responding curves of the responses of *D. salina* in different nitrate substrates

氮源 Nitrate substrate	α	F_v/F_m	NPQ
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	$0.28 \pm 0.015\text{a}$	$0.71 \pm 0.003\text{a}$	$0.110 \pm 0.008\text{a}$
NaNO_3	$0.28 \pm 0.030\text{a}$	$0.70 \pm 0.003\text{a}$	$0.126 \pm 0.012\text{a}$
NaNO_2	$0.27 \pm 0.002\text{a}$	$0.70 \pm 0.005\text{a}$	$0.136 \pm 0.008\text{a}$
NH_4Cl	$0.08 \pm 0.004\text{c}$	$0.38 \pm 0.020\text{c}$	$0.180 \pm 0.005\text{c}$
-N	$0.15 \pm 0.012\text{b}$	$0.47 \pm 0.011\text{b}$	$0.163 \pm 0.012\text{b}$

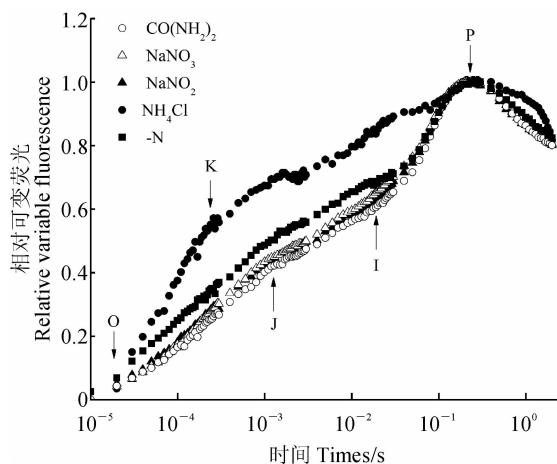


图4 不同氮源处理对杜氏盐藻快速叶绿素荧光诱导动力学曲线(OJIP)的影响

Fig. 4 Effect of different nitrate substrates on chlorophyll fluorescence transients (OJIP) of *D. salina*

2.3 杜氏盐藻在不同氮源条件下的叶绿素荧光动力学

不同氮源处理条件下，杜氏盐藻快速叶绿素荧光诱导动力学曲线(OJIP)的变化情况如图4所示。其中，杜氏盐藻的相对可变荧光在 NaNO_2 、 NaNO_3 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 作氮源时差异不显著 ($P > 0.05$)；无氮处理组的相对可变荧光显著高于前3组氮源处理 ($P < 0.05$)；在 NH_4Cl 做氮源时，OJIP 曲线的 K 相出现，J、I、P 等相消失。

同时，在不同氮源处理条件下，杜氏盐藻 PS II 单位反应中心能量流动比活性参数 (ABS/RC 、 TR_0/RC 和 ET_0/RC) 和能量分配比参数 ($\varphi_{\text{P}0}$ 、 $\varphi_{\text{I}0}$ 和 $\varphi_{\text{E}0}$) 变化情况如图5所示。结果表明，杜氏盐藻反应活性中心所捕获的光能 (ABS/RC) 和反应活性中心捕获的激发能用于还原 Q_A 的能量 (TR_0/RC) 在 NaNO_2 、 NaNO_3 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 氮源处理组显著低于无氮和 NH_4Cl 处理组，无氮组又大幅显著低于 NH_4Cl 处理组 ($P < 0.05$)；而其反应活性中心捕获的

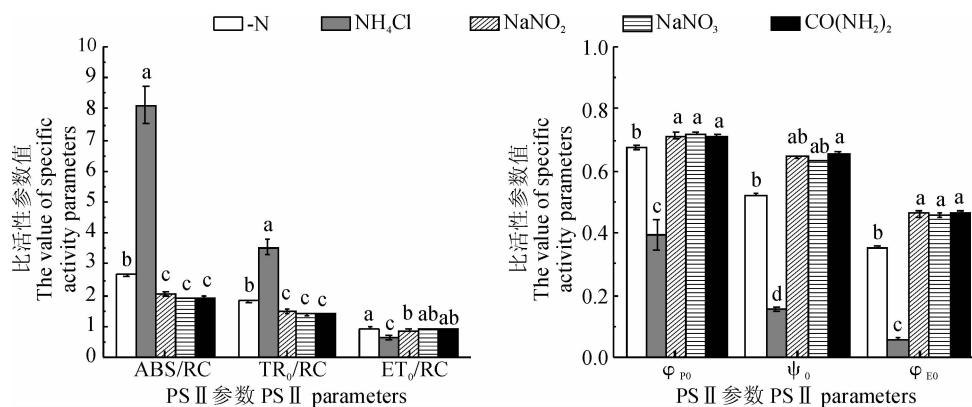


图 5 不同氮源处理对杜氏盐藻 JIP-test 参数的影响

Fig. 5 Effect on JIP test parameters of *D. salina* in different nitrate substrates

光能用于电子传递的能量(ET_0/RC)在 NH_4Cl 组中显著低于其他 4 组处理($P<0.05$)。另外,杜氏盐藻的最大光化学效率(φ_{P0})、 $t=0$ 时捕获的激子将电子传递到电子传递链中超过 Q_A 的其他电子受体的概率(ψ_0)和 $t=0$ 时用于电子传递的量子产额(φ_{E0})在 $NaNO_3$ 、 $NaNO_2$ 、 $CO(NH_2)_2$ 处理组间差异不显著,但均显著高于无氮和 NH_4Cl 处理组,而无氮又显著高于 NH_4Cl 处理组($P<0.05$)。以上结果说明,相比于 $NaNO_2$ 、 $NaNO_3$ 、 $CO(NH_2)_2$ 处理,无氮胁迫和 NH_4Cl 的毒性使得杜氏盐藻 PSⅡ电子传递受到抑制,从而导致叶绿素荧光诱导动力学曲线及 JIP-test 参数发生显著变化。

3 讨 论

自然界氮源种类丰富,包括无机氮如硝酸盐、亚硝酸盐、铵盐、氮气等,有机氮源如尿素、腐殖质、氨基酸等^[13]。有研究表明,铵氮是藻类能够优先利用的氮源^[14],其次为硝酸盐、尿素和亚硝酸盐。而 Il'yash 研究发现海洋藻类 *Pseudonitzschia delicatissima*、*Thalassiosira weissflogii* 和 *Tetraselmis viridis* 在尿素和甘氨酸作为唯一氮源时能够良好地生长,而且这两种有机氮源使得以上 3 种海洋藻类的可变荧光、最大光量子传递速率和光饱和点值增加,光合作用强度增加^[15]。

本研究结果发现,杜氏盐藻在 $NaNO_2$ 、 $NaNO_3$ 、 $CO(NH_2)_2$ 分别作为唯一氮源时均可良好生长,且在尿素环境中获得了更高的比生长率(0.482 d^{-1})和细胞密度($5.63\times 10^5\text{ cells/mL}$)。McCarthy 发现浮游植物吸收 NH_4-N 需要耗费更低的能量,以 NH_4-N 作为氮源是一种经济的竞争策略^[16],然而魏东等研究表明当铵盐作为藻类生长的唯一氮源时,随着 NH_4^+ 被吸收利用,导致培养液 pH 下降,

抑制藻类生长^[17];张清春等发现细胞内 NH_4^+ 浓度的增加会对藻细胞产生一定的毒性^[18-19],从而抑制藻类的生长;王培磊研究也发现,当 NH_4Cl 浓度为 4.0 mmol/L 时, NH_4^+ 对盐藻细胞的生长和分裂具有抑制作用^[9]。本研究也得出相同的结果,即氯化铵初始浓度为 5 mmol/L 时,杜氏盐藻在培养的第 3 天便开始死亡。因此,对于杜氏盐藻而言,铵盐不适合作为其生长所需的氮源。

当植物受外界环境作用时,其光合结构与功能的变化,以及光系统对光能的吸收、传递、耗散和分配等均可通过叶绿素荧光诱导动力学技术进行检测^[20-21]。其中, F_v/F_m 是表征植物光化学反应的重要参数,其下降被认为是植物受到胁迫的首要条件^[22]。本实验结果表明,当 $NaNO_2$ 、 $NaNO_3$ 、 $CO(NH_2)_2$ 作氮源时,杜氏盐藻 F_v/F_m 均显著高于无氮和 NH_4Cl 处理组($P<0.05$),并在 $CO(NH_2)_2$ 组中 F_v/F_m 值最高。梁英等^[23] 研究也发现, $CO(NH_2)_2$ 环境使得筒柱藻在生长的前期获得更高的 F_v/F_m 值,暗示了杜氏盐藻可能含有尿素酶而能够迅速水解尿素所致^[24]。当受到氮限制时,本研究中杜氏盐藻 F_v/F_m 大幅下降,该结果与 Young 等、尹翠玲等研究结果相吻合^[25-27]。另外,光响应曲线中, $rETR_{max}$ 表示最大 PSⅡ 表观电子传递速率; α 表示藻细胞光能利用效率, α 值的增减可直观反映藻类捕光色素吸收的光能的增减,由此可推断其光合机构捕光色素蛋白复合体合成情况; NPQ 是指 PSⅡ 天线色素吸收的光能不能用于光化学电子传递的份额,一般以热的形式耗散掉,是藻类对自身光合机构的一种保护机制^[21]。本研究发现,在 $NaNO_2$ 、 $NaNO_3$ 、 $CO(NH_2)_2$ 氮源环境中,杜氏盐藻 $rETR_{max}$ 和 α 显著高于无氮和 NH_4Cl 处理组,而 NPQ 则呈现相反的特征。说明无氮和 NH_4Cl 处理使得杜氏

盐藻 PS II 反应中心的开放程度降低, 导致电子由 PS II 的氧化侧向 PS II 反应中心的传递受阻, 热耗散增加, 能量利用效率降低。

快速叶绿素荧光诱导动力学曲线包括 O、J、I、P 等相, 相对可变荧光值(V_j)的变化是电子受体连续还原、PS II 反应中心逐渐关闭的过程。PS II 反应中心受光激发后使 Q_A 被还原为 Q_A^- , 由于 Q_B 不能及时从 Q_A^- 接受电子将它氧化, 造成 Q_A^- 的大量积累, 从而引起 J 相的出现^[28]。本研究结果发现, 无氮环境中杜氏盐藻具有较高的 V_j , 说明电子从 Q_A^- 到 Q_B 的传递受阻, 导致 Q_A^- 大量积累, 荧光值升高, 此时可知盐藻受到了明显的缺氮胁迫; 而 NaNO_2 、 NaNO_3 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 作氮源时 V_j 值差异不显著, 又说明杜氏盐藻均能很好利用这 3 种氮源而不受氮限制。另有研究表明, 光合植物 PS II 供体侧受到伤害时, 其水裂解系统会被抑制, 放氧复合体(OEC)受损, 从而在植物照光后大约 300 μs 时出现特征位点(OJIP 曲线 J 点之前), 此时叶绿素荧光产量会迅速上升, 出现 K 点, 多相荧光 O-J 变为 O-K-J^[29]。本研究中, 当 NH_4Cl 做氮源时, OJIP 曲线的 K 相出现, 说明 NH_4Cl 使得杜氏盐藻 PS II 放氧复合体(OEC)受损。

JIP-test 参数能够直观反映 PS II 反应中心及电

子供体侧和受体侧的生理状态^[20]。与 NaNO_2 、 NaNO_3 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 这 3 种氮源相比, 无氮和 NH_4Cl 处理使得杜氏盐藻 ABS/RC 和 TR_0/RC 显著增加($P < 0.05$), 表明无氮和 NH_4Cl 处理使得部分藻类反应中心失活或裂解, 导致剩余的有活性的反应中心负担加重, 迫使剩余的有活性的反应中心效率提高, 从而更好地耗散电子传递链中的能量^[29]。 $\varphi_{\text{P}0}$ 反映藻暗适应后 PS II 最大光化学效率, 表征 PS II 反应中心供体侧的电子传递性能^[30], ψ_0 和 $\varphi_{\text{E}0}$ 反映 PS II 受体侧 Q_A 、 Q_B 和 PQ 库的变化情况。本实验结果发现, 氮饥饿(N-) 和 NH_4Cl 处理显著降低了杜氏盐藻的 $\varphi_{\text{P}0}$ 、 ψ_0 和 $\varphi_{\text{E}0}$ 值, 表明此时杜氏盐藻电子传递链能量的传递受抑制, PS II 受体侧电子传递受到抑制, Q_A 传递电子的能力下降, 有活性反应中心的开放程度下降。

综上所述, NaNO_2 、 NaNO_3 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 氮源均可供杜氏盐藻良好地生长, 而缺氮胁迫使得盐藻生长受到显著抑制, PS II 反应活性中心的数量降低, PS II Q_A^- 到 PQ 库的电子传递受阻, 进而导致 OJIP 曲线中 J 点的显著升高。当 NH_4Cl 作为唯一氮源时, 杜氏盐藻 PS II 放氧复合体(OEC)受损, 藻体在短期内则开始死亡。

参考文献:

- [1] 赵平, 孙谷畴, 彭少麟. 植物氮素营养的生理生态学研究[J]. 生态科学, 1998, 17(2): 37-42.
- ZHAO P, SUN G C, PENG S L. Ecophysiological research on nitrogen nutrition of Plant[J]. Ecological Science, 1998, 17(2): 37-42.
- [2] HERZIG, R & FALKOWSKI, P G. Nitrogen limitation in *Isochrysis galbana* (Haptophyceae). I. Photosynthetic energy conversion and growth efficiencies[J]. Journal of Phycology, 1989, 25: 462-71.
- [3] GEIDER R J, LAROCHE J, GREENE R M, et al. Response of the photosynthetic apparatus of *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae) to nitrate, phosphate, or iron starvation [J]. Journal of Phycology, 1993, 29: 755-66.
- [4] 刘春光, 金相灿, 孙凌, 等. 不同氮源和曝气方式对淡水藻类生长的影响[J]. 环境科学, 2006, 27(1): 101-104.
- LIU C G, JIN X C, SUN L, et al. Effects of nitrogen source and aeration mode on algae growth in freshwater[J]. Environmental Science, 2006, 27(1): 101-104.
- [5] XU N, ZHANG X, XIAO F, et al. Effects of nitrogen source and concentration on growth rate and fatty acid composition of *Ellipsoidion* sp. (Eustigmatophyta)[J]. Journal of Applied Phycology, 2001, 13(6): 463-469.
- [6] OREN A. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905-2005 [J]. Saline Systems, 2005, 04: 1-14.
- [7] URIARTE I, FARIAS A, HAWKINS A J S, et al. Cell characteristics and biochemical composition of *Dunaliella primolecta* Butcher conditioned at different concentrations of dissolved nitrogen[J]. Journal of Applied Phycology, 1993, 5(4): 447-453.
- [8] SOSIK H M & MITHELL B. Effects of temperature on growth, light absorption, and quantum yield in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae)[J]. Journal of Phycology, 2010, 30(5): 833-840.
- [9] 王培磊. 盐生杜氏藻研究[M]. 济南: 山东人民出版社, 2013, 70-82.
- [10] PLATT T, GALLEGOS C L, HARRISON W G. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton[J]. Journal Marine Research, 1980, 38: 687-701.
- [11] STRASSER B J, STRASSER R J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP test[M]// In: Mathis P ed. Photosynthesis: from light to biosphere. Dordrecht: KAP Press, 1995: 977-980.
- [12] STRASSER R J, TSIMILL, MICHAEL M, et al. Analysis of the Chlorophyll a Fluorescence Transient[M]. Nether-

- lands: KAP Press. 2004: 1-47.
- [13] BERMAN T. Dissolved organic nitrogen utilization by an Apha-nizomenon bloom in Lake Kinneret [J]. *Journal of Plankton Research*, 1997, **19**(5): 577-586.
- [14] CHRISTINA W C, PEDRO A C. Factors in fluenceing the development of *Cylindrospermopsis racibor skii* and *Microcystis aeruginosa* in the Para2 noa Reserv oir, Brasilia, Brazil [J]. *Algological Studies/Archiv fur hydrobiologie*, 1994, **75**: 85- 96.
- [15] ILYASH L V, BELECICH T A, Ulanova A Y, et al. Fluorescence parameters of marine plankton algae at the assimilation of organic nitrogen[J]. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, 2007, **62**(3): 111-116.
- [16] MCCARTHY J J, WYNNE D, BERMAN T. The Uptake of Dissolved Nitrogenous Nutrients by Lake Kinneret (Israel) Microplankton[J]. *Limnology & Oceanography*, 1982, **27**(4): 673-680.
- [17] 魏东, 张学成, 隋正红, 等. 氮源和N/P对眼点拟微球藻的生长、总脂含量和脂肪酸组成的影响[J]. 海洋科学, 2000, **24**(7): 46-51.
- WEI D, ZHANG X C, SUI Z H, et al. Effect of nitrongen and N/P ration on cell growth, total lipid content and fatty acid composition of *Nannochloropsis oculata*[J]. *Marine Science*, 2000, **24**(7): 46-51.
- [18] 张清春, 于仁诚, 周名江, 等. 不同类型含磷营养物质对微小亚历山大藻(*Alexandrium minutum*)生长和毒素产生的影响[J]. 海洋与湖沼, 2005, **36**(5): 465- 474.
- ZHANG Q C, YU R C, ZHOU M J, et al. Effect of different phosphorus substrates on growth and toxin generation of *Alexandrium minutum*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2005, **36**(5): 465-474.
- [19] 颜天, 周名江, 邹景忠, 等. 香港及珠江口海域有害赤潮发生机制初步探讨[J]. 生态学报, 2001, **21**(10): 1 634-1 641.
- YAN T, ZHOU M J, ZOU J Z, et al. Preliminary studies on red tide formation mechanism in Hong Kong and Pearl River Estuary[J]. *Acta Ecological Sinica*, 2001, **21**(10): 1 634-1 641.
- [20] STRASSER R J, SRICASTACA A, GOVINDJEE. Polyphasic chlorophyll alpha fluorescence transient in plants and cyanobacteria[J]. *Photochemistry and Photobiology*, 1995, **61**: 32-42.
- [21] 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): 2 186-2 196.
- LI X, FENG W, ZENG X C. Advances in chlorophyll fluorescence analysis and its uses[J]. *Acta Botanica Boreal-Occidentalia Sinica*, 2006, **26**(10): 2 186-2 196.
- [22] 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.
- [23] 梁英, 孙明辉, 田传远, 等. 氮磷源对筒柱藻叶绿素荧光特性和生长的影响[J]. 水产科学, 2014, **5**: 269-276.
- LIANG Y, SUN M Y, TIAN C H, et al. Effects of nitrogen and phosphorus sources on chlorophyll fluorescence characteristics and growth of green alga *Cylindrotheca* sp. [J]. *Fisheries Science*, 2014, **5**: 269-276.
- [24] FAN C, GLIBERT P M, BURKHOLDER J A M. Characterization of the affinity for nitrogen, uptake kinetics, and environmental relationships for prorocentrum minimum, in natural blooms and laboratory cultures[J]. *Harmful Algae*, 2003, **2**(4): 283-299.
- [25] YOUNG E B, BEARDALL J. Photosynthetic function in *Dunaliella tertiolecta*, (chlorophyta) during a nitrogen starvation and recovery cycle[J]. *Journal of Phycology*, 2003, **39**(5), 897-905.
- [26] 尹翠玲. 营养盐限制对6株微藻叶绿素荧光特性的影响[D]. 山东青岛:中国海洋大学, 2006.
- [27] 陈元印, 唐运来, 陈梅. 限氮培养对小球藻水分含量和叶绿素荧光参数的影响[J]. 西北植物学报, 2012, **32**(3): 491-497.
- CHEN Y Y, TANG Y L, CHEN M. Effects of nitrogen-limited culture on water content and chlorophyll fluorescence parameters in *Chlorella sorokiniana*[J]. *Acta Botanica Borealis-Occidentalis Sinica*, 2012, **32**(3): 491-497.
- [28] LUKAC M, AEGERTER R. Influence of trace metals on growth and toxin production of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Toxicon*, 1993, **31**: 293-305.
- [29] 李鹏民, 高辉远, STRASSER J. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, **31**(6): 559-566.
- LI P M, GAO H Y, STRASSER J. Application of the chlorophyll fluorescence induction dynamics in photosynthesis study[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, **31**(6): 559-566.
- [30] BUENO B, FILLAT M F, STRASSER R J, et al. Effect of lindane on the photosynthetic apparatus of the cyanobacterium *Anabaena*: fluorescence induction studies and immunolocalization of ferredoxin NADP⁺ reductase[J]. *Environmental Science Pollution Research*, 2004, **11**: 98-106.

(编辑:裴阿卫)